

Área: Ciência de Alimentos

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM FILMES A BASE DE ÁGAR EXTRAÍDO DA MACROALGA *Gracilaria domingensis*.

**Karina Oliveira Lima, Alan Carvalho de Sousa Araujo, Carolina Dias Medeiros Saad*,
Camila da Costa de Quadros, Meritaine da Rocha, Carlos Prentice-Hernández.**

*Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande,
Rio Grande, RS*

**E-mail: csaad97@gmail.com*

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da adição de ácidos orgânicos (ácido ascórbico e ácido benzóico) nas propriedades de filmes a base de ágar proveniente da macroalga *Gracilaria domingensis*. O ágar utilizado para a elaboração dos filmes foi extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* e a partir disso, os filmes foram elaborados pelo método *casting* com 1,2 de ágar para o tratamento controle e 0,7 g de ágar para os filmes com adição de 1,4g dos ácidos orgânicos, seguido do ajuste do pH para 5,26. Os filmes foram avaliados quanto as suas propriedades óticas, espessura, umidade, solubilidade e propriedades mecânicas. A adição dos ácidos ascórbico e benzóico na concentração 1,4 g resultaram em diferença de coloração, aumento da opacidade, espessura, umidade (ác. benzóico), diminuição da resistência à tração e alongação. Vale ressaltar, que todos os filmes apresentaram 100% de solubilidade e aspecto homogêneo. Dessa forma, em vista das propriedades observadas e alta solubilidade, esses filmes poderiam ser utilizados como embalagens para polpa de frutas, frutas e vegetais afim de proteger a integridade e pela possível ação contra micro-organismos como *Escherichia coli* e *Salmonella* provenientes dos ácidos orgânicos. No entanto, são necessários maiores estudos.

Palavras-chave: Propriedades mecânicas; polissacarídeo; ácido ascórbico e benzóico

1 INTRODUÇÃO

As macroalgas são usadas em todo o mundo devido sua ampla possibilidade de aplicação, sendo o uso principal na alimentação humana. Estas possuem hidrocolóides que são extraídos das suas paredes celulares, como as do Gênero *Gracilaria*, maiores produtores de ágar. De acordo com Werling et al., (2004), o ágar é um polissacarídeo bastante usado na indústria alimentícia, devido apresentar-se em forma de gelatina quando mantido em temperatura ambiente.

Nesse contexto, o ágar extraído dessas macroalgas também pode ser utilizados na produção de filmes com o objetivo de manter ou melhorar a qualidade dos produtos embalados e diminuir a poluição ambiental, por serem

biodegradáveis (SOUZA, SILVA & DRUZIAN, 2012). Os biopolímeros naturais, como os polissacarídeos, se apresentam mais promissores no desenvolvimento de filmes, em razão de serem abundantes, renováveis, econômicos e capazes de formar uma matriz contínua (QUINTERO & SOBRAL, 2000).

Alguns agentes microbianos mais utilizados na elaboração de filmes para aplicação em alimentos são os ácidos orgânicos. Os ácidos ascórbico e benzoico possuem efeitos ativos contra mofo, fungos e bactérias (GUILLARD et al., 2009). Rocha et al., (2014) observaram que filmes de isolados proteicos de anchoita incorporados com ácidos orgânicos inibiram a ação de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis e *Listeria monocytogenes*. O presente estudo teve por objetivo avaliar filmes elaborados a base de ágar extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* e com adição de diferentes tipos de ácidos orgânicos, como forma de verificar a potencialidade de aplicação destes na indústria alimentícia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e extração do ágar da macroalga *Gracilaria domingensis*

A coleta foi realizada no litoral piauiense, mais precisamente na cidade de Luís Correia, praia do Coqueiro, localizada na região norte do Estado do Piauí. As algas foram coletadas manualmente no período de baixa mar (maré de sizígia). Após coleta, foram acondicionadas em sacos de polietileno etiquetados, contendo água do mar, sendo, em seguida encaminhados ao Laboratório de Tecnologia do Pescado- LATEP, para realização posterior da triagem, limpeza das sujidades, lavagem, pesagem, secagem natural e trituração até a farinha em pó. Em seguida a farinha foi encaminhada ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos – LTA, da Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS.

Para a extração do ágar, foi utilizada metodologia segundo Vasconcelos (2014), com algumas modificações. Foram pesadas 35 gramas da farinha em pó, aplicando-se, seguidamente 50 mL de água resfriada ($2,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5$), em seguida acrescentou-se 900 ml de água destilada em becker de 1000 mL, o produto resultante (sólido e líquido) foi posto em aquecimento com agitação durante 30 minutos, e após esse período o material foi filtrado. O ágar extraído foi colocado em ultrafreezer num período de 24 horas e por fim liofilizadas.

2.2 Síntese dos filmes

Os filmes foram preparados pelo método *casting*, que baseia-se na solubilização do polímero formando uma solução coloidal, conforme descrito por Gimenez et al. (2013), Rocha et al. (2014) e Rocha et al. (2018) com modificações. Foram aplicados 3 tratamentos para a elaboração dos filmes. Tratamento (1) (Controle) sem adição de ácidos orgânicos, Tratamento (2) adição de ácido ascórbico e, Tratamento (3) adição de ácido benzoico. Para o preparo da solução filmogênica foram utilizados no controle 1,2 g de ágar/120 mL de água destilada, e 0,36 g de glicerol, já para os tratamentos 2 e 3, 0,7g de ágar/70 mL de água destilada, 0,21 g de glicerol e 1,4g de ácido com ajuste de pH para 5,26. As soluções foram agitadas por 30 min a 90°C .

A solução foi adicionada em placas de Petri na concentração de 23,10 g para o controle e 10,0 g para os demais tratamentos, colocadas sob secagem em estufa com circulação de ágar durante 24 h para a formação dos

filmes e por fim, mantidas em dessecador por 24 horas a 55% de umidade relativa até posteriores análises de caracterização. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

2.3 Caracterização dos filmes

2.3.1 Propriedades óticas

A cor e a opacidade dos filmes foram avaliadas utilizando colorímetro (Minolta, CR 400, Japão) e os parâmetros de cor CIELab (Comission International de l'Eclairage). O equipamento foi calibrado com uma placa de calibração branca padrão. Os parâmetros de cor L^* (0: preto e 100: branco), as coordenadas de cromaticidade a^* (negativo: verde e positivo: vermelho) e b^* (negativo: azul e positivo: amarelo) foram avaliados através da média de cinco medições, sendo uma no centro e as outras na periferia do filme. A opacidade dos filmes foi calculada através da razão entre os valores obtidos para os filmes sobrepostos ao padrão preto (P_{preto}) pelo padrão branco (P_{branco}) x 100 (Hunterlab, 1997).

2.3.2 Espessura, umidade e solubilidade em água

A espessura dos filmes foi obtida utilizando um micrômetro digital (INSIZE, IP-54, Brasil), de acordo com o método descrito pela ASTM F2251-13 (ASTM, 2013), avaliando 8 medidas de posições aleatórias para cada filme.

Os filmes foram recortados em pedaços de 2 cm de diâmetro e secos em estufa a 105°C até peso constante, para determinar a umidade (peso seco inicial). A solubilidade dos filmes em água foi calculada como a porcentagem de matéria seca lixiviada do filme após a imersão em água durante 24 h a 25 °C, de acordo o método proposto por Gontard et al., (1994). Resumidamente, os filmes secos (após a realização da umidade) foram imersos em 50 mL de água destilada, agitados a 100 rpm a 25 ° C por 24 h usando um agitador (Cientec, CT-712RNT, Piracicaba, Brasil). Depois da imersão, os filmes foram secas a 105 ° C a peso constante (peso seco final).

2.3.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas utilizando um Analisador de Textura (TA.XT.plus, Stable Micro Systems) de acordo com a norma ASTM D-882-02 (ASTM, 2002). Foram determinados os parâmetros de resistência à tração e percentual de alongação no momento da ruptura. As amostras foram cortadas em forma de retângulos (100 x 20 mm) e fixadas em garras com separação inicial de 50 mm.

2.4 Análise estatística

As determinações das amostras foram realizadas em triplicata, as quais foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de nível de significância por análise de variância (ANOVA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes elaborados a partir de amido de ágar extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* sem ou com adição de ácidos orgânicos apresentaram-se homogêneos, sem bolhas e o lado do filme em contato com a placa de Petri apresentou maior brilho. Os filmes apresentaram grandes diferenças na cor e opacidade conforme pode ser observado macroscopicamente na Figura 1. Os valores de cor e opacidade dos filmes de ágar extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* estão apresentados na Tabela 1. Através dos resultados observados para o parâmetro L*, o qual indica a variação do preto ao branco, foi observado que os filmes com adição de ácido ascórbico tenderam menos ao branco que os demais filmes ($p < 0,05$), esse mesmo filme tendeu a uma coloração mais para o vermelho e amarelo (conforme pode-se observar na Figura 1). A adição de ácido benzóico ao filme acarretou em aumento significativo na opacidade dos filmes (cerca de 200%), o que também pode ser observado macroscopicamente na Figura 1, isso pode ter ocorrido por o ácido atuar como um bloqueador da passagem da luz, aumentando a opacidade. As propriedades óticas são parâmetros importantes em termos de aparência geral e aceitação dos filmes.

Figura 1- Avaliação macroscópica dos filmes Controle (a), com adição de ácido ascórbico (b) e com adição de ácido benzoico (c).

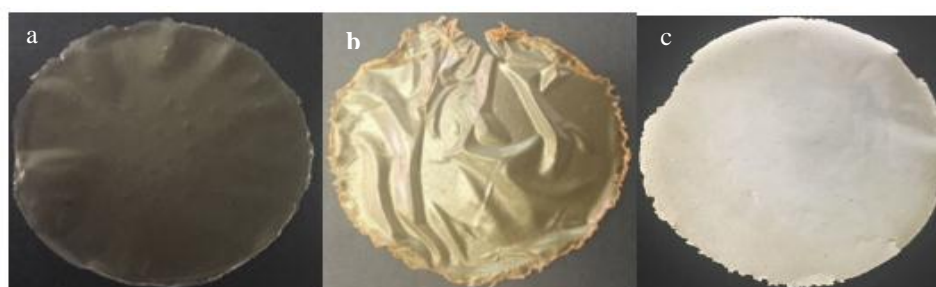


Tabela 1- Cor e opacidade dos filmes de ágar extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* (controle) e incorporados com ácidos orgânicos.

Filmes	L*	a*	b*	Opacidade (%)
T1	86,03 ± 0,65 ^a	-2,37 ± 0,14 ^c	19,15 ± 0,30 ^b	14,9 ± 0,68 ^b
T2	83,81 ± 0,74 ^b	1,45 ± 0,21 ^a	26,35 ± 2,26 ^a	15,5 ± 1,50 ^b
T3	84,63 ± 0,30 ^{ab}	-1,95 ± 0,13 ^b	19,92 ± 0,47 ^b	45,4 ± 0,94 ^a

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

T1: Filmes sem adição de ácidos orgânicos; T2: Filmes de ágar com adição de ácido ascórbico; T3: Filmes de ágar com adição de ácido benzóico.

Os valores de espessura, umidade, solubilidade e propriedades mecânicas dos filmes de ágar extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* estão apresentados na Tabela 2. De acordo com os resultados, pode-se observar que a adição de ácido benzóico acarretou em acréscimo na espessura do filme ($p < 0,05$) frente ao filme controle e com adição de ácido ascórbico, embora todos os filmes tenham sido elaborados com a mesma quantidade de sólidos por área da placa. No entanto, mesmo com o acréscimo na espessura, os filmes com a adição de ácido

benzóico apresentaram menores valores de resistência a tração e alongação e maior teor de umidade frente ao filme controle. Vale destacar, que todos os filmes apresentaram 100% de solubilidade em água. Rocha et. al. (2018) ao estudarem filmes de ágar comercial observaram espessura de 0,043 mm e solubilidade de 21,95%, ambas propriedades inferiores ao verificado neste estudo.

Tabela 2- Espessura, umidade, solubilidade e propriedades mecânicas dos filmes de ágar extraído da macroalga *Gracilaria domingensis* (controle) e incorporados com ácidos orgânicos.

Filmes	Espessura (mm)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	RT (MPa)	Elongação (%)
T1	0,054 ± 0,00 ^b	18,0 ± 0,46 ^b	100,0	9,98 ± 0,46 ^a	24,5 ± 0,12 ^a
T2	0,064 ± 0,01 ^b	14,8 ± 0,64 ^b	100,0	-	-
T3	0,091 ± 0,01 ^a	24,5 ± 2,28 ^a	100,0	1,11 ± 0,02 ^b	0,2 ± 0,09 ^b

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p <0,05)

T1: Filmes sem adição de ácidos orgânicos; T2: Filmes de ágar com adição de ácido ascórbico; T3: Filmes de ágar com adição de ácido benzóico.

Os melhores resultados para as propriedades mecânicas foram observados para os filmes controle (Tabela 2; p <0,05) e não foi possível realizar a análise das propriedades mecânicas para os filmes com adição de ácido ascórbico, pois os filmes eram extremamente adesivos. Os resultados observados podem ser devido ao ajuste do pH para 5,3 nos filmes com adição dos ácidos orgânicos, para permitir com que os mesmos estivessem no pka de dissociação. Esse ajuste de pH não foi realizado no filme controle, pois em um estudo realizado anteriormente pelo grupo (dados não mostrados), foi observado que os filmes de ágar obtido da extração da macroalga *Gracilaria domingensis* apresentam melhores características em pH básico. Ou ainda, os ácidos orgânicos podem ter atuado como pontos de enfraquecimento na estrutura polimérica do ágar, reduzindo a resistência a tração e a mobilidade entre as cadeias. Lima et al. (2017) ao estudarem adição de precursor inorgânico a filmes a base de amido de feijão carioca, observaram uma diminuição no valor de alongação sugerindo uma perda de mobilidade macromolecular e deslizamento entre as cadeias do amido. Rocha et al. (2014) ao estudarem filmes proteicos de anchova (*Engraulis anchoita*) incorporadas com ácido ascórbico e ácido benzóico também observaram uma diminuição na resistência a tração, no entanto esses autores relataram um aumento na alongação, o que não foi observado neste estudo. Em outro estudo Rocha et al. (2018) relataram maior valor de RT (27,46 MPa) e menor valor de Elongação (22,24%) para filmes de ágar comercial.

4 CONCLUSÃO

Observando os resultados encontrados na caracterização dos filmes, se pode afirmar que os filmes foram totalmente solúveis em água e que a adição dos ácidos orgânicos influenciou nas propriedades óticas, diminuindo a transparência e aumentando a opacidade. Os filmes controle apresentaram melhores propriedades mecânicas do que os adicionados de ácidos orgânicos, o que proporcionaria uma maior proteção a integridade dos alimentos, Por outro lado, os ácidos orgânicos podem atuar como compostos ativos frente a inibição de micro-organismos.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos órgãos financiadores CAPES e CNPQ, bem como a Universidade Federal do Rio Grande e ao Laboratório de Tecnologias de Alimentos- LTA. A Universidade Federal do Piauí e ao Laboratório de Tecnologia do Pescado – LATEP.

6 REFERÊNCIAS

- ASTM D882-02. (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, www.astm.org
- ASTM F2251-13. (2013). Standard Test Method for Thickness Measurement of Flexible Packaging Material, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, www.astm.org
- GIMENÉZ, B.; LÓPEZ DE LACEY, A.; PÉREZ-SATÍN, E.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, P. Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 264-271, 2013.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190-199, 1992.
- GUILLARD, V., ISSOUPOV, V., REDL, A., GONTARD, N. Food preservative content reduction by controlling sorbic acid release from a superficial coating. **Innovative Food Sci. and Emerging Tech.**, 10, 108-115, 2009.
- LIMA, K. O.; BIDUSKI, B.; DA SILVA, W. M. F.; FERREIRA, S. M.; PEREIRA MONTENEGRO, L. M.; DIAS, A. R. G.; BIANCHINI, D. Incorporation of tetraethylorthosilicate (TEOS) in biodegradable films based on bean starch (*Phaseolus vulgaris*). **European Polymer Journal**, v. 89, p. 162–173, 2017.
- QUINTERO, E.S.M.; SOBRAL, P.J.A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nylo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.35, n. 1, 2000.
- ROCHA, M.; LOIKO, M. R.; TONDO, E. C.; PRENTICE, C. Physical, mechanical and antimicrobial properties of Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) protein films incorporated with organic acids. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 213–220, 2014.
- ROCHA, M.; ALEMÁN, A.; ROMANI, V. P.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P.; PRENTICE, C. Effects of agar films incorporate with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 351-363, 2018.
- SOUZA, C.O.; SILVA, L.T.; DRUZIAN, J.I. Comparative studies on the characterization of biodegradable cassava starch films containing mango and acerola pulps. **Química Nova**, v.35, p.262-267, 2012.
- VASCONCELOS, M. M. M. **Manual de beneficiamento de algas marinhas: uma ação extensionista no litoral do Piauí**. 1. ed. Teresina: EDUFPI, 2014. v. 1. 32p.
- WERLINGER, C. *et al.* Acuicultura: cultivo y producción de organismos acuáticos In: Biología Marina y Oceanografía: Conceptos y Procesos. **Nacional del libro y la Lectura**. Universidad de Concepción. Chile. Trama Impresores. v. II, p. 559 -594, 2004.