



**INSTITUTO
FEDERAL**
Brasília

Instituto Federal de Brasília
Campus Gama
Licenciatura em Química

ÉRICA DOS SANTOS RIBEIRO

**DESENVOLVIMENTO DE BLENDS POLIMÉRICAS A PARTIR DE
PVA/QUITOSANA MODIFICADAS COM BETALAÍNAS COM POSSÍVEL
APLICAÇÃO PARA EMBALAGENS ATIVAS**

Brasília - DF
2025

ÉRICA DOS SANTOS RIBEIRO

**DESENVOLVIMENTO DE BLENDA POLIMÉRICAS A PARTIR DE
PVA/QUITOSANA MODIFICADAS COM BETALAÍNAS COM POSSÍVEL
APLICAÇÃO PARA EMBALAGENS ATIVAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Licenciatura em
Química do Instituto Federal de Brasília,
Campus Gama como parte da exigência
para obtenção do título de Licenciada em
Química.

Orientador(a): Dra. Nizamara Simenremis
Pereira

Brasília - DF
2025

Ribeiro, Érica dos Santos.

Desenvolvimento de blendas poliméricas a partir de PVA/QUITOSANA modificadas com betalaínas com possível aplicação para embalagens ativas / Érica dos Santos Ribeiro ; orientação Nizamara Simenremis Pereira. — Brasília: 2025.

49 f. : il. color. ; 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) — Campus Gama, Instituto Federal de Brasília, Brasília, 2025.

Orientador(a): Nizamara Simenremis Pereira.

1. Filmes biodegradáveis. 2. Betalaínas. 3. Quitosana. 4. Embalagens ativas. 5. Atividade antimicrobiana. I. Pereira, Nizamara Simenremis, orient. II. Instituto Federal de Brasília. III. Título.

Dedico este trabalho de conclusão de curso à minha família, em especial aos meus pais, que mesmo distantes fisicamente, nunca deixaram de me apoiar.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por nunca ter me desamparado e por me conceder força, coragem e determinação para seguir em frente, mesmo diante das dificuldades.

Aos meus pais, Silvânia dos Santos Ribeiro e Raimundo de Castro Ribeiro, minha eterna gratidão. Mesmo distantes fisicamente, sempre estiveram comigo em pensamento e coração, torcendo por cada conquista e sendo minha maior motivação para não desistir.

À minha tia Edilene de Castro R. França, ao seu esposo e filhos, agradeço de coração por me acolherem como parte da família e por todo incentivo, carinho e apoio oferecidos ao longo dessa caminhada. Vocês fizeram a diferença.

Ao meu namorado Caio Sudário Alves e aos amigos que estiveram ao meu lado, especialmente nos momentos mais intensos da reta final, muito obrigada pelo suporte, pela escuta e pelas palavras de incentivo que me ajudaram a seguir em frente.

À professora Nizamara Simenremis Pereira, deixo registrada minha sincera gratidão e admiração pela orientação dedicada, pelos ensinamentos compartilhados, pela paciência diante das dificuldades e pelas palavras de ânimo nos momentos mais desafiadores. Como disse o Papa Francisco: *“As árvores não comem dos seus próprios frutos”* — obrigada por ter sido fruto para mim, com sua sabedoria, generosidade e apoio constante.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa etapa da minha vida, o meu muito obrigada!

"É justo que muito custe o que muito
vale."

— **Santa Teresa d'Ávila**

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar filmes poliméricos biodegradáveis à base de álcool polivinílico (PVA), quitosana (QT) e extrato de beterraba, visando aplicações com propriedades funcionais, como atividade antioxidante e antimicrobiana. As blendas foram preparadas com diferentes proporções dos componentes e caracterizadas por espectroscopia UV-Vis, espectroscopia no infravermelho (FTIR), fotoluminescência (PL) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), além das propriedades antioxidantes e antimicrobianas analisadas. A presença do extrato contendo betalaínas conferiu coloração aos filmes e influenciou diretamente sua estrutura. Os espectros UV-VIS revelaram absorções características das betaxantinas, especialmente na amostra com maior concentração do extrato (PVA/CH/Bet3). As análises por FTIR indicaram interações intermoleculares entre os constituintes, como formação de ligações de hidrogênio entre PVA, QT e compostos fenólicos do extrato. A fotoluminescência demonstrou emissão dependente da concentração do extrato, com redução na intensidade à medida que a proporção do extrato aumentava. A atividade antioxidante foi maior nas formulações com betalaínas, sendo o filme PVA/Bet o mais eficiente. Nos testes antimicrobianos, observou-se maior eficácia frente à bactéria *Staphylococcus aureus* (gram-positiva), sugerindo seletividade microbiológica. A ausência de insetos nos testes com morangos levanta a hipótese de um possível efeito repelente.

Palavras-chave: Filmes biodegradáveis. Betalaínas. Quitosana. Embalagens ativas. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

This study aimed to develop and characterize biodegradable polymer films based on polyvinyl alcohol (PVA), chitosan (QT), and beetroot extract, targeting applications with functional properties such as antioxidant and antimicrobial activity. The blends were prepared with different proportions of the components and characterized by UV-Vis spectroscopy, infrared spectroscopy (FTIR), photoluminescence (PL), and scanning electron microscopy (SEM), in addition to analyzing their antioxidant and antimicrobial properties. The presence of the extract containing betalains imparted color to the films and directly influenced their structure. UV-VIS spectra revealed absorptions characteristic of betaxanthins, especially in the sample with the highest extract concentration (PVA/CH/Bet3). FTIR analyses indicated intermolecular interactions between the constituents, such as hydrogen bonding between PVA, QT, and phenolic compounds in the extract. Photoluminescence demonstrated emission dependent on extract concentration, with a decrease in intensity as the extract proportion increased. Antioxidant activity was higher in formulations containing betalains, with the PVA/Bet film being the most effective. In antimicrobial tests, greater efficacy was observed against the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*, suggesting microbiological selectivity. The absence of insects in the strawberry tests raises the hypothesis of a possible repellent effect.

Keywords: Biodegradable films. Betalains. Chitosan. Active packaging. Antimicrobial activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química da quitosana	13
Figura 2 - Estrutura química do PVA; (a) totalmente hidrolisado e (b) parcialmente hidrolisado	14
Figura 3 – Estrutura geral das betalaínas com variações nos grupos R ¹ e R ²	15
Figura 4 – Estruturas químicas representativas de uma betacianina e de uma betaxantina	15
Figura 5 - Imagens dos filmes produzidos e secos na estufa. (A) PVA/QT (B) PVA/Bet (C) PVA/QT/Bet1 (D) PVA/QT/Bet2 (E) PVA/QT/Bet3	21
Figura 6 - Espectro de UV-VIS - PVA/QT/Bet 1, PVA/QT/Bet 2, PVA/QT/Bet 3, PVA/QT puro, PVA/Bet puro.	22
Figura 7 - Espectro de IR da quitosana	23
Figura 8 - Espectro de IR do PVA	24
Figura 9 - Espectro de IR do extrato da beterraba contendo as betalaínas	24
Figura 10 - Espectro IR dos filmes PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3, PVA/QT, PVA/Bet3	25
Figura 11 - Microscopia óptica 40x dos filmes (A) PVA/CH (B) PVA/Bet (C) PVA/CH/Bet1 (D) PVA/CH/Bet2 (E) PVA/CH/Bet3. Microscopia óptica 100x dos filmes (F) PVA/CH (G) PVA/Bet (H) PVA/CH/Bet1 (I) PVA/CH/Bet2 (J) PVA/CH/Bet3	27
Figura 12 - Imagens MEV de filmes poliméricos preparados pela solução de casting. Morfologias da superfície externa dos filmes. (A) PVA/CH/Bet1 (B) PVA/CH/Bet2 (C) PVA/CH/Bet3 (D) PVA/CH (E) PVA/Bet puro - Com ampliação 3000x	28
Figura 13 - Imagens MEV de filmes poliméricos preparados pela solução de casting. Morfologias da parte interna dos filmes. (A) PVA/CH/Bet1 (B) PVA/CH/Bet2 (C) PVA/CH/Bet3 (D) PVA/CH (E) PVA/Bet puro - Com ampliação 500x	29
Figura 14 - Espectros de fotoluminescência (PL) do PVA puro, QT puro, PVA/Bet, PVA/QT, PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3 utilizando λ_{exc} 240nm	30
Figura 15 - Espectros de fotoluminescência (PL) PVA/Bet, Bet, PVA/CH/Bet1, PVA/CH/Bet2, PVA/CH/Bet3 utilizando λ_{exc} 450nm	31

Figura 16 - Espectro de Fotoluminescência (PL) do PVA puro e PVA/CH utilizando λ_{exc} 450nm	32
Figura 17 - Espectro de fotoluminescência da solução de quitosana	32
Figura 18 - Atividade antioxidante dos filmes	34
Figura 19 - Atividade antimicrobiana - Leitura sem TTC	35
Figura 20 - Atividade antimicrobiana - Leitura com TTC	36
Figura 21 - Terceiro dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções	38
Figura 22 - Quinto dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções	38
Figura 23 - Sétimo dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções	39
Figura 24 - Oitavo dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções	39
Figura 25 - Décimo primeiro dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções	40
Figura 26 - Décimo quarto dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções	40
Figura 27 - morangos mergulhados em diferentes soluções após 60 dias	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bet	Beterraba
CH ₃ COOH	Ácido acético
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PLA	Ácido Polilático
PL	Fotoluminescência
PVA	Polivinilálcool
PVAc	Poli(acetato de vinila)
QT	Quitosana
TTC	Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta-Visível
VAc	Acetato de vinila

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes contra E. coli e S. aureus	35
Tabela 2 - Numeração dos filmes correspondentes aos morangos	37

SUMÁRIO

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2 OBJETIVO GERAL	18
2.1 Objetivos Específicos	18
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	19
3.1 Preparação do extrato de beterraba (Bet)	19
3.1.1 Preparação da solução de quitosana (QT)	19
3.1.2 Preparação da solução de PVA com glicerol	19
3.1.4 Preparação dos filmes poliméricos de PVA/QT modificados com extrato de betalaínas(PVA/QT/Bet)	20
3.2 Caracterização dos filmes poliméricos	20
3.2.1 Espectroscopia no UV-VIS	20
3.2.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)	20
3.2.3 Microscopia Óptica	21
3.2.4 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)	21
3.2.5 Espectroscopia de Fotoluminescência (PL)	21
3.2.7 Atividade Antimicrobiana	22
3.2.8 Testes de Revestimento dos Filmes com Morangos Frescos	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
4.1 Compósito Polimérico De PVA/CH/Bet	23
4.2 Espectroscopia De UV-VIS	24
4.3 Espectroscopia De Infravermelho (FTIR)	25
4.4 Microscopia Óptica	29
4.5 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)	29
4.6 Espectroscopia De Fotoluminescência (PL)	31
4.7 Atividade Antioxidante	35
4.8 Atividade Antimicrobiana	36
4.9 Teste Com Morangos Mergulhados Em Soluções Poliméricas	39
4 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

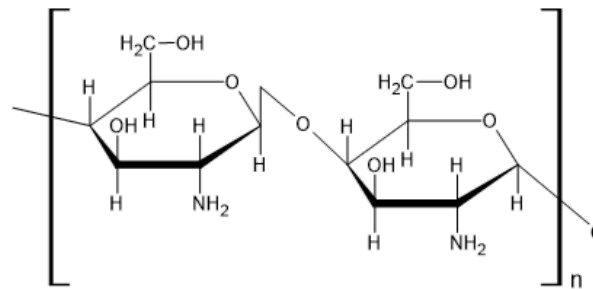
A crescente demanda por alimentos mais seguros, sustentáveis e com maior tempo de prateleira tem impulsionado o desenvolvimento de novas tecnologias no setor de embalagens. Nesse contexto, as embalagens ativas surgem como uma alternativa promissora às embalagens convencionais, pois são projetadas não apenas para conter os alimentos, mas também para interagir com eles de maneira a prolongar sua qualidade e segurança (RODRIGUES *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2020; SHUKLA; CHONG, 2022). Esse tipo de embalagem pode liberar ou absorver substâncias, como antioxidantes e antimicrobianos, ou ainda, atuar como indicadores de frescor, contribuindo para a redução do desperdício alimentar (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2017; GHANI *et al.*, 2023).

Com o aumento das preocupações ambientais, torna-se essencial que as tecnologias de embalagem também sejam sustentáveis. Nesse sentido, os biopolímeros têm se destacado como matérias-primas renováveis, biodegradáveis e de baixa toxicidade, sendo ideais para aplicações em embalagens ativas. Quimicamente, biopolímeros são macromoléculas biológicas formadas pela polimerização de monômeros específicos, como aminoácidos (proteínas), nucleotídeos (ácidos nucleicos) e açúcares (polissacarídeos). Dentre esses, destacam-se, para embalagens, os polissacarídeos (amido, celulose, quitosana), proteínas (gelatina, caseína) e poliésteres biosintéticos como o ácido polilático (PLA), valorizados por sua biodegradabilidade integral, abundância natural e baixo impacto ambiental (RAY; BOSE, 2015). Estudos recentes, como os de Bui *et al.* (2021) e Jahromi e Ghaderi (2022), têm explorado o uso desses materiais, evidenciando seu potencial na formação de filmes com propriedades funcionais desejáveis, tais como atividade antioxidante, capacidade de barreira e biodegradabilidade.

A quitosana (QT), conforme apontado por Dias (2003), é um copolímero natural obtido pela desacetilação da quitina. Este biopolímero possui uma estrutura química composta por unidades repetitivas de 2-amino-2-desoxi- β -D-glicopiranoose, o que a caracteriza como um polissacarídeo catiônico (ZHANG *et al.*, 2016). Sua versatilidade é atribuída à presença dos grupos amino ($-NH_2$) (Figura 1),

responsáveis por várias de suas propriedades, como a capacidade de formar filmes, interagir com outras moléculas bioativas e conferir ação antimicrobiana. Além disso, a quitosana é biodegradável e biocompatível, características que a tornam atrativa para diversas aplicações nas áreas de materiais e saúde. No entanto, uma das principais limitações da quitosana é sua baixa resistência mecânica, o que restringe sua aplicação direta em embalagens e dispositivos estruturais. Para superar essa desvantagem, uma alternativa frequentemente adotada é a combinação da quitosana com outros polímeros, isto é, formação de blendas poliméricas, o que pode melhorar significativamente suas propriedades mecânicas, tornando-a mais adequada para aplicações industriais (LOPES *et al.*, 2020).

Figura 1 - Estrutura química da quitosana



Fonte: Viégas (2016)

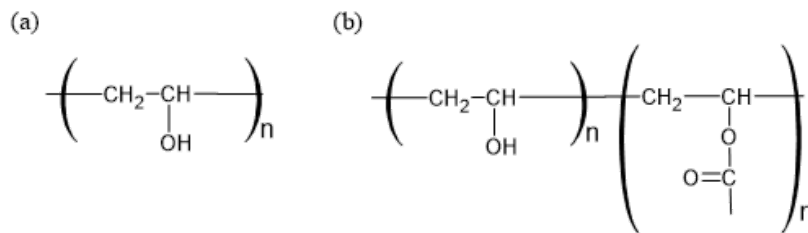
As blendas poliméricas são sistemas formados pela mistura de dois ou mais polímeros distintos com o objetivo de explorar as propriedades sinérgicas dos materiais. Esses sistemas podem ser compostos por polímeros naturais, sintéticos ou semissintéticos. A formação de blendas apresenta várias vantagens, como o baixo custo e a facilidade de preparo. A mistura de polímeros pode ser realizada de diversas formas, como mistura em solução ou fusão, o que proporciona uma abordagem simples e eficaz para a produção de novos materiais com características aprimoradas. A combinação de polímeros pode melhorar propriedades como resistência mecânica, flexibilidade, biodegradabilidade e interações com compostos bioativos, tornando-as úteis para várias aplicações industriais e ambientais (CUI *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2019).

Dentre vários polímeros que podem ser combinados com a QT pode-se citar o polivinilálcool (PVA), um polímero sintético amplamente utilizado devido às suas excelentes propriedades de solubilidade em água, biodegradabilidade e formação de

filmes. Sua estrutura química é formada por unidades repetitivas de $[-CH_2CH(OH)-]_n$, o que lhe confere alta solubilidade e facilidade de processamento. O PVA é obtido pela polimerização de acetato de vinila (VAc) para formar o poli(acetato de vinila) (PVAc), seguido de hidrólise para formar a cadeia polimérica de PVA, o que pode resultar em diferentes graus de hidrólise (JUVENCIO, 2017). A reação da síntese é apresentada na Figura 2.

Além disso, a escolha de polímeros como a quitosana e o PVA (álcool polivinílico) oferece benefícios econômicos e ambientais, uma vez que são substâncias relativamente baratas e biodegradáveis. As blends PVA/QT, por exemplo, têm se mostrado promissoras para a produção de filmes com propriedades adequadas para embalagens e outros materiais sustentáveis (JIA *et al.*, 2017).

Figura 2 - Estrutura química do PVA; (a) totalmente hidrolisado e (b) parcialmente hidrolisado

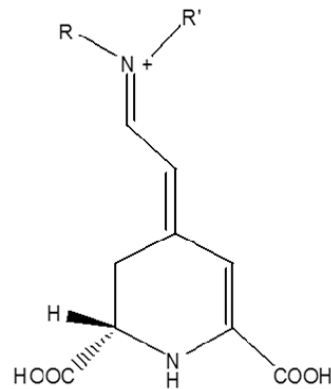


Fonte: JODAR (2014)

Dependendo do grau de hidrólise, o PVA pode apresentar diferentes propriedades térmicas e mecânicas, com temperatura de fusão entre 180 °C e 230 °C (MUPPALLA *et al.*, 2014). Além disso, sua compatibilidade com compostos naturais o torna ideal para aplicações em embalagens ativas, como as que incorporam betalaínas.

As betalaínas constituem uma classe de pigmentos naturais solúveis em água e estruturalmente derivados do ácido betalâmico, cuja modificação estrutural por diferentes radicais em posições específicas da molécula (comumente denominados R^1 e R^2) origina uma diversidade de compostos com cores vibrantes e propriedades funcionais variadas (Figura 3). A substituição desses grupos determina características fundamentais como cor, estabilidade ao pH e atividade antioxidante, sendo essa diversidade resultado da origem botânica e das condições de extração (KUMAR *et al.*, 2021; DADBINA *et al.*, 2023).

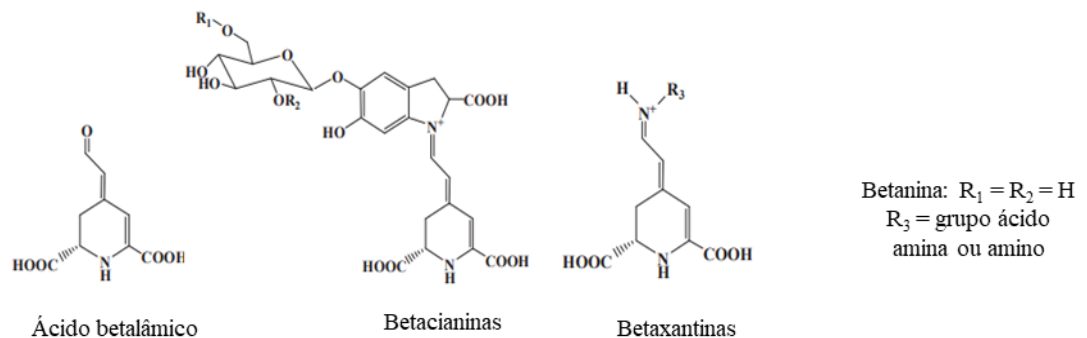
Figura 3 – Estrutura geral das betalainas com variações nos grupos R¹ e R²



Fonte: Adaptado de Damodaran e Parkin (2019)

As betalainas são classificadas em dois grupos principais: betacianinas, de coloração vermelha a roxa, e betaxantinas, de tonalidade amarela a laranja. A Figura 4 apresenta as estruturas representativas desses compostos. Em beterrabas, por exemplo, a betanina representa a principal betacianina, podendo compor até 95% do extrato total (PARK; LEE; SHIN, 2022; TAVARES *et al.*, 2019).

Figura 4 – Estruturas químicas representativas de uma betacianina e de uma betaxantina



Fonte: Qin et al. (2020)

Além da coloração, as betalainas são valorizadas por suas propriedades antioxidantes, sua baixa toxicidade e sua sensibilidade a mudanças de pH, o que as torna úteis em aplicações como embalagens ativas (RODRÍGUEZ-AMAYA, 2019; CALVA-ESTRADA *et al.*, 2022).

Estudos têm demonstrado a eficácia de extratos de betalainas na conservação de alimentos, atuando como antimicrobianos naturais e indicadores

visuais de deterioração. GONZÁLEZ *et al.* (2018) desenvolveram filmes de QT com betalaínas que mostraram potencial como indicadores de frescor, enquanto PEREIRA *et al.* (2020) investigaram a preservação de alimentos perecíveis com filmes biodegradáveis à base de PVA e QT com betalaínas. ALMEIDA *et al.* (2019) também demonstraram o uso desses pigmentos em embalagens inteligentes com resposta ao pH.

Diante disso, o objetivo deste trabalho é produzir e caracterizar blendas poliméricas de PVA/QT, incorporadas com betalaínas extraídas de extratos aquosos ricos nesses pigmentos, avaliando suas propriedades térmicas, morfológicas, ópticas e funcionais com vistas à possível aplicação em embalagens ativas.

2 OBJETIVO GERAL

Produzir e caracterizar as blendas polimérica de PVA/QT incorporadas com betalaínas obtidas a partir do extrato de beterraba contendo betalaínas para possível aplicação em embalagens ativas.

2.1 Objetivos Específicos

1. Obtenção do extrato aquoso rico em betalaínas a partir da beterraba.
2. Produção de filmes poliméricos de PVA/QT/betalaínas (PVA/QT/Bet) pela técnica de *casting*.
3. Avaliar os filmes produzidos por espectroscopia no UV-VIS.
4. Investigação das amostras por espectroscopia no infravermelho (FTIR).
5. Exame morfológico por microscopia óptica.
6. Caracterizar os materiais poliméricos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
7. Estudo das propriedades ópticas dos filmes por espectroscopia de fotoluminescência (PL).
8. Determinação da atividade antioxidante dos materiais poliméricos.
9. Analisar a atividade antimicrobiana das blendas poliméricas.
10. Testes de revestimento dos filmes com morangos frescos.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Preparação do extrato de beterraba (Bet)

Para a extração das betalaínas a partir da beterraba, inicialmente, o pH da água foi ajustado para 5 com ácido cítrico para evitar a degradação das betalaínas. Lavou-se e secou-se a beterraba, que, em seguida, foi pesada e triturada com o auxílio de um mixer. A extração foi realizada por 100 minutos a 45°C. Posteriormente foi realizada filtração à vácuo e o extrato congelado para uso posterior.

3.1.1 Preparação da solução de quitosana (QT)

Inicialmente, pesou-se 0,2g de quitosana que foi dissolvida em 30 mL de uma solução de ácido acético 1% (CH₃COOH). A solução resultante foi submetida a um processo de sonificação por 2 h em temperatura ambiente e, posteriormente, foi mantida em agitação magnética por 15 horas a 40°C.

3.1.2 Preparação da solução de PVA com glicerol

Foram dissolvidos 3g de PVA foram dissolvidos em 50 mL de água. Em seguida, 0,5 mL de glicerol foram adicionados à solução de PVA a qual permaneceu sob agitação magnética por uma hora a temperatura de aproximadamente a 50°C.

3.1.3 Preparação dos filmes poliméricos de PVA/QT

Para produção dos filmes de PVA/QT foi realizada a mistura das soluções de PVA e QT na proporção 1:1 e mantidas sob agitação por 10 minutos para completa homogeneização. Em seguida, a solução final foi transferida para um recipiente antiaderente e colocado em uma estufa a uma temperatura média 50°C durante 15 h a 17 h (dependendo da espessura dos filmes) para obtenção do filme de PVA/QT puro considerado como amostra de referência.

3.1.4 Preparação dos filmes poliméricos de PVA/QT modificados com extrato de betalaínas(PVA/QT/Bet)

Os filmes de PVA/QT com extrato de betalaínas foram preparados de forma similar. Após a obtenção da solução de PVA/QT, o extrato de betalaínas foi incorporado à solução de PVA/QT em proporções 1:1:1(v/v), 1:1:2 (v/v), 1:1:3 (v/v) em relação ao extrato, ou seja, alterou-se apenas a quantidade betalaínas no filme de PVA/QT.

Neste caso, as blendas foram nomeadas da seguinte forma:

- PVA/QT/betalaínas 1:1:1 (v/v) - PVA/CH/Bet1
- PVA/QT/betalaínas 1:1:2 (v/v) - PVA/CH/Bet2
- PVA/QT/betalaínas 1:1:3 (v/v) - PVA/CH/Bet3

As soluções com os extratos foram homogeneizadas por 10 minutos a 25°C e, após o processo de homogeneização, as soluções foram depositadas em uma superfície antiaderente e levadas à estufa a uma temperatura média de 50°C por aproximadamente 15 h à 17 h.

3.2 Caracterização dos filmes poliméricos

3.2.1 Espectroscopia no UV-VIS

Os espectros UV-VIS dos filmes foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer (modelo Lambda 35), operando na faixa de 800-190 nm.

3.2.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

As amostras foram analisadas em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da Perkin Elmer, operando na faixa de 4000 - 650 cm^{-1} , com resolução em 4 cm^{-1} e 16 varreduras

3.2.3 Microscopia Óptica

Utilizando um microscópio óptico, foram realizadas as análises morfológicas dos filmes, utilizando duas lentes de ampliação, que nos proporcionaram uma visão panorâmica de aproximadamente 40x e 100x.

3.2.4 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)

As micrografias dos filmes foram obtidas considerando a superfície dos filmes e a parte interna dos materiais poliméricos. Para as análises da parte interna dos materiais, os filmes foram cortados nas dimensões 1 x 2 cm e congelados em nitrogênio líquido e, posteriormente, fraturados. Os materiais foram fixados em suporte de latão de forma que as fraturas ficassem voltadas para cima. Em seguida, as amostras foram recobertas com ouro, utilizando-se um Sputter Coater Balzers SCD 500 nas condições de 40 mV por 60 s. A espessura do ouro depositada foi 10 nm. As micrografias foram obtidas utilizando-se microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM IT300LV, sob tensão de 15 de 5 kV. Para a análise da superfície dos filmes, os materiais foram cortados em dimensões de aproximadamente 1 cm x 2 cm, fixados em suporte de latão e, posteriormente, recobertos com ouro. As micrografias foram obtidas usando o JEOL JSM IT300LV microscópio, sob tensão de 15 e 5 kV, alocado no Laboratório de Microscopia e Microanálise do Instituto de Biologia da UnB.

3.2.5 Espectroscopia de Fotoluminescência (PL)

Os espectros de fluorescência foram capturados utilizando um espectrofotômetro de fluorescência LS-55 (Perkin Elmer). As análises da fotoluminescência (PL) foram realizadas com comprimento de onda de excitação em 240 nm e 450 nm e os espectros foram obtidos na faixa de 250 - 750 nm. Esse intervalo espectral foi selecionado por abranger a região característica de emissão dos compostos presentes nas amostras, permitindo uma avaliação detalhada de suas propriedades ópticas. Dessa forma, foi possível correlacionar a resposta de emissão observada com a estrutura dos materiais analisados.

3.2.6 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada pelos métodos modificados de acordo com Dordevic e outros. Aproximadamente 100 mg da amostra de filme foram pesados e 20 mL de etanol foram adicionados. As amostras foram sonicadas por 30 min e mantidas por 24h em etanol. Após 24h, os extratos foram filtrados, 3 mL de extrato e 1 mL de solução 0,1 mM de 1, DPPH (1-difenil-2-picril-hidrazil) em etanol foram misturados. As amostras foram incubadas em temperatura ambiente no escuro por 30 min e a absorbância foi medida a 517 nm por espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 35.

Cada amostra foi medida triplicata e a propriedade antioxidante dos filmes foi expressa como porcentagem de inibição do radical DPPH (DPPH inibição %), calculado de acordo com a Eq. 1:

$$\text{DPPH inibição (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

onde:

A_0 é a absorbância do radical DPPH

A_1 é a absorbância da amostra.

3.2.7 Atividade Antimicrobiana

Preparou-se os meios e soluções para o experimento, incluindo caldo Mueller-Hinton e água peptonada para diluições bacterianas. No primeiro dia, foram separados os materiais necessários, como a placa de ELISA e pipetas, além da solução de McFarland 0,5 para ajustar a concentração bacteriana. As cepas utilizadas no ensaio foram *Escherichia coli* (E. coli) e *Staphylococcus aureus* (S. aureus). No segundo dia, ajustou-se a concentração da solução bacteriana a 2×10^8 UFC/mL e, em seguida, a 2×10^4 UFC/mL, vertido 200 μ L de caldo e soluções bacterianas na placa com filmes e antibióticos. A placa foi incubada a 24°C por 19 horas. No terceiro dia, adicionou-se o reagente cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) para avaliar a presença de crescimento bacteriano pela coloração vermelha. O experimento foi realizado em triplicata com controles positivo e negativo.

3.2.8 Testes de Revestimento dos Filmes com Morangos Frescos

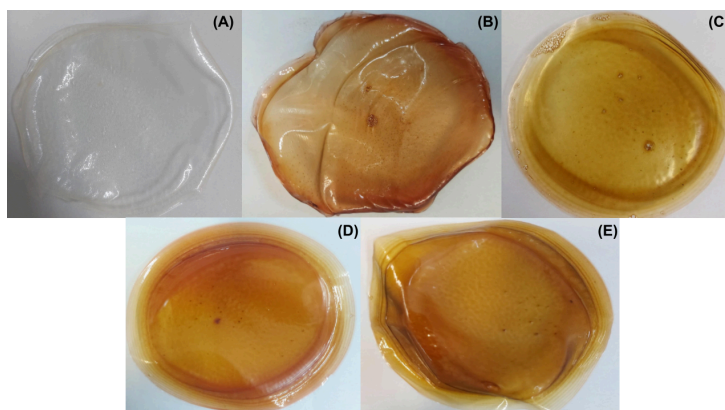
Foram utilizadas as soluções, PVA, QT, PVA/QT, PVA/Ext PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3 para realizar o revestimento dos filmes com morangos frescos adquiridos no mercado local. Para isso, os morangos foram lavados e higienizados e novas soluções poliméricas foram preparadas conforme descrições anteriores. Após preparo das soluções, os morangos higienizados foram mergulhados em cada solução polimérica por 30 segundos, retirados e mantidos suspensos para eliminação do excesso de solução na superfície do fruto. Posteriormente, os morangos foram colocados em caixas com divisores e mantidos sob observação por 60 dias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Compósito Polimérico De PVA/CH/Bet

Os filmes produzidos e secos em uma estufa (Figura 5) apresentaram as seguintes características: (A) PVA/QT exibiu uma coloração incolor, com uma pequena área enrijecida; (B) PVA/Bet adquiriu uma coloração marrom e apresentou uma ligeira rigidez; (C) PVA/QT/Bet1 e (D) PVA/QT/Bet2 exibiram uma coloração marrom, com uma superfície lisa. Já o filme (E) PVA/QT/Bet3 exibiu a mesma coloração, mas mostrou-se ligeiramente enrijecido.

Figura 5 - Imagens dos filmes produzidos e secos na estufa. (A) PVA/QT (B) PVA/Bet (C) PVA/QT/Bet1 (D) PVA/QT/Bet2 (E) PVA/QT/Bet3



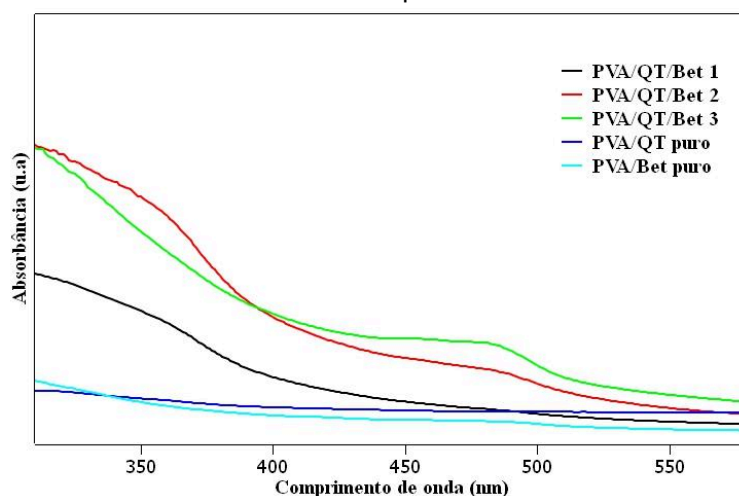
Fonte: Dados da pesquisa

Observa-se, portanto, que a coloração dos filmes foi influenciada pela presença do extrato contendo betalaínas, uma vez que o filme (A) PVA/Bet apresentou coloração marrom, enquanto o filme (B) PVA/QT apresentou uma coloração incolor. Aos filmes que apresentaram rigidez, pode ser atribuído à quantidade das soluções adicionadas para o processo de fabricação dos filmes.

4.2 Espectroscopia De UV-VIS

Os espectros UV-Vis dos filmes (Figura 6) evidenciaram variações na absorção óptica das blendas. O filme de PVA/QT mostra uma absorbância muito baixa em toda a faixa de comprimento de onda, indicando que nem o PVA nem a quitosana (em sua forma pura nesta blenda) absorvem significativamente na região da luz visível. Isso é esperado, pois geralmente são transparentes. Já as blendas modificadas com Bet mostraram uma absorbância significativamente maior, principalmente na faixa de 450 nm a 550 nm. A amostra PVA/QT/Bet3 apresentou um perfil de absorção característico na região de 350–510 nm, com um ombro pronunciado em ≈ 360 nm e pico de absorbância máximo em 481 nm. Esse comportamento é coerente com a presença de betalaínas, pois segundo Morais et al. (2021), a máxima absorção das betaxantinas ocorre por volta de 470–486 nm em filmes poliméricos hidrofílicos, sendo influenciada pela interação com a matriz, pH e concentração do extrato.

Figura 6 - Espectro de UV-VIS - PVA/QT/Bet 1, PVA/QT/Bet 2, PVA/QT/Bet 3, PVA/QT puro, PVA/Bet puro.



Fonte: Dados da pesquisa

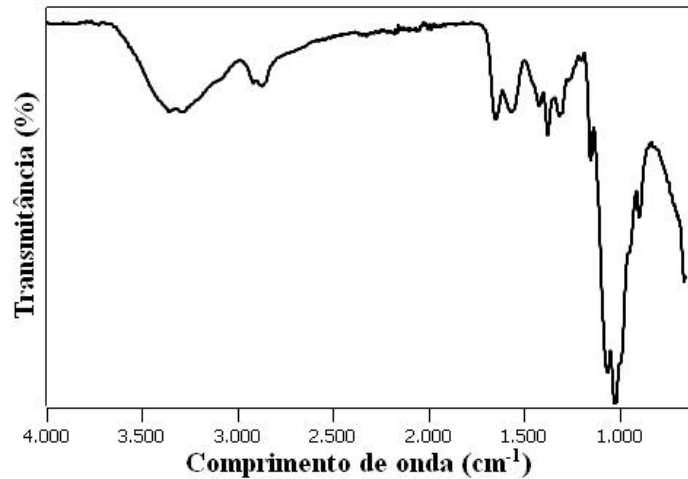
No filme PVA/QT/Bet2, observou-se um ombro discreto em 360 nm e sinais de um segundo ombro emergente na faixa de 480–500 nm. Com o aumento da concentração do extrato, como em PVA/QT/Bet3, o ombro evoluiu para um pico definido. Por contraste, PVA/QT/Bet1 exibiu absorvância residual na região visível, comportamento similar ao controle PVA/QT sem extrato.

O filme de PVA/Bet mostrou uma absorvância relativamente baixa em comparação com as blendas de PVA/QT modificadas pelo extrato de betalaínas, mas apresenta um leve aumento na absorvância em comprimentos de onda mais baixos. Isso sugere que o próprio PVA não contribui muito para a absorção visível (como era esperado), e qualquer absorvância observada é provavelmente devido a uma baixa concentração ou interação específica de betalaínas apenas com o PVA.

4.3 Espectroscopia De Infravermelho (FTIR)

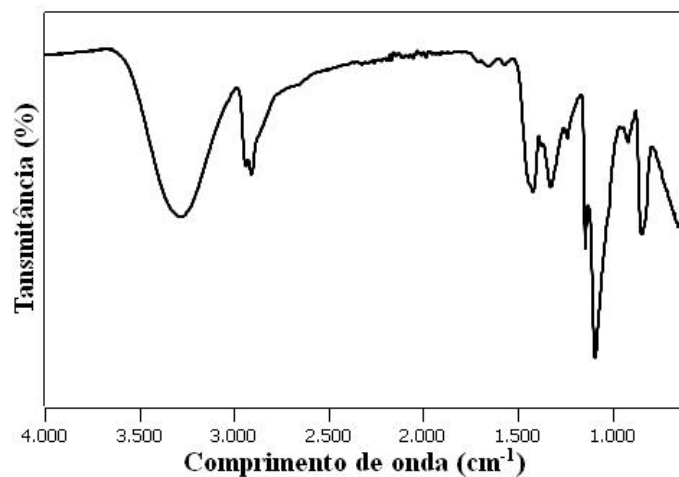
A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é amplamente utilizada para identificar grupos funcionais e interações intermoleculares em sistemas poliméricos. Essa técnica permite caracterizar modificações estruturais resultantes da mistura entre polímeros naturais e sintéticos, além da incorporação de compostos bioativos. Neste estudo, a análise espectral foi aplicada à QT, PVA, ao Bet) e às blendas PVA/QT/Bet, visando elucidar a compatibilidade entre os componentes, as ligações de hidrogênio formadas e o comportamento das misturas sob diferentes proporções. Os resultados obtidos fundamentam o desenvolvimento de filmes ativos para aplicações como embalagens com atividade antioxidante.

O espectro da QT (Figura 7) apresentou uma banda larga na região de 3350 cm^{-1} , atribuída aos alongamentos das ligações O-H e N-H, típicas de grupos hidroxila e amina presentes na estrutura da quitosana (SILVA et al., 2021). Os picos em 1650 cm^{-1} e 1560 cm^{-1} correspondem às vibrações de Amida I (C=O) e Amida II (N-H), característicos de sua estrutura parcialmente desacetilada (EL KNIDRI et al., 2018). A banda em 1070 cm^{-1} está relacionada à vibração C–O–C dos anéis de glucosamina da cadeia polimérica (GARAVAND et al., 2022).

Figura 7 - Espectro de IR da quitosana

Fonte: Dados da pesquisa

O espectro do PVA (Figura 8) apresentou uma banda larga entre 3250 e 3400 cm^{-1} , típica do alongamento O–H de grupos hidroxila, além de picos em 2910 cm^{-1} e 1420 cm^{-1} associados ao alongamento C–H e à deformação do grupo metileno (CH_2), respectivamente (ALVES et al., 2020). O pico intenso em 1090 cm^{-1} refere-se ao esvaziamento da ligação C–O, confirmando a estrutura polimérica do PVA (THAKUR; KARAK, 2020).

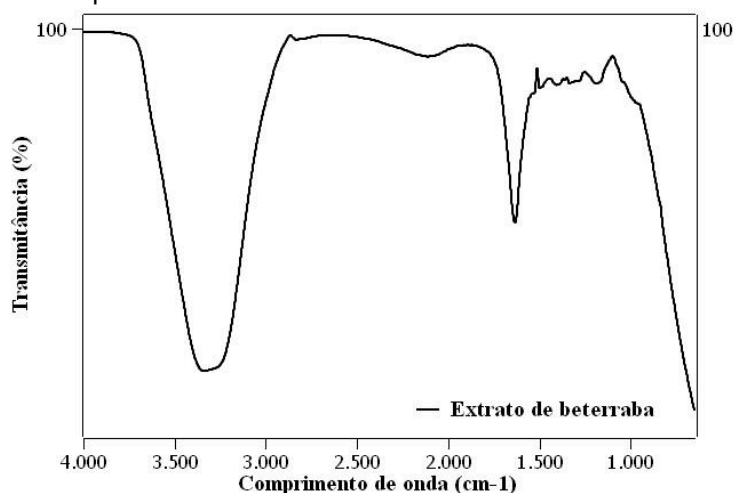
Figura 8 - Espectro de IR do PVA

Fonte: Dados da pesquisa

No espectro do extrato de beterraba contendo as betalaínas (FIGURA 9) foram observadas bandas em 3300 cm^{-1} (O–H de fenóis e água), 2920 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} (estiramento assimétrico e simétrico de C–H).

Além disso, foi identificada uma banda na região de 1600–1650 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de C=O, característico da presença de betalainas, compostos bioativos responsáveis pela coloração característica do extrato (AKANBI; ARYEE, 2020; GARAVAND et al., 2022).

Figura 9 - Espectro de IR do extrato da beterraba contendo as betalainas

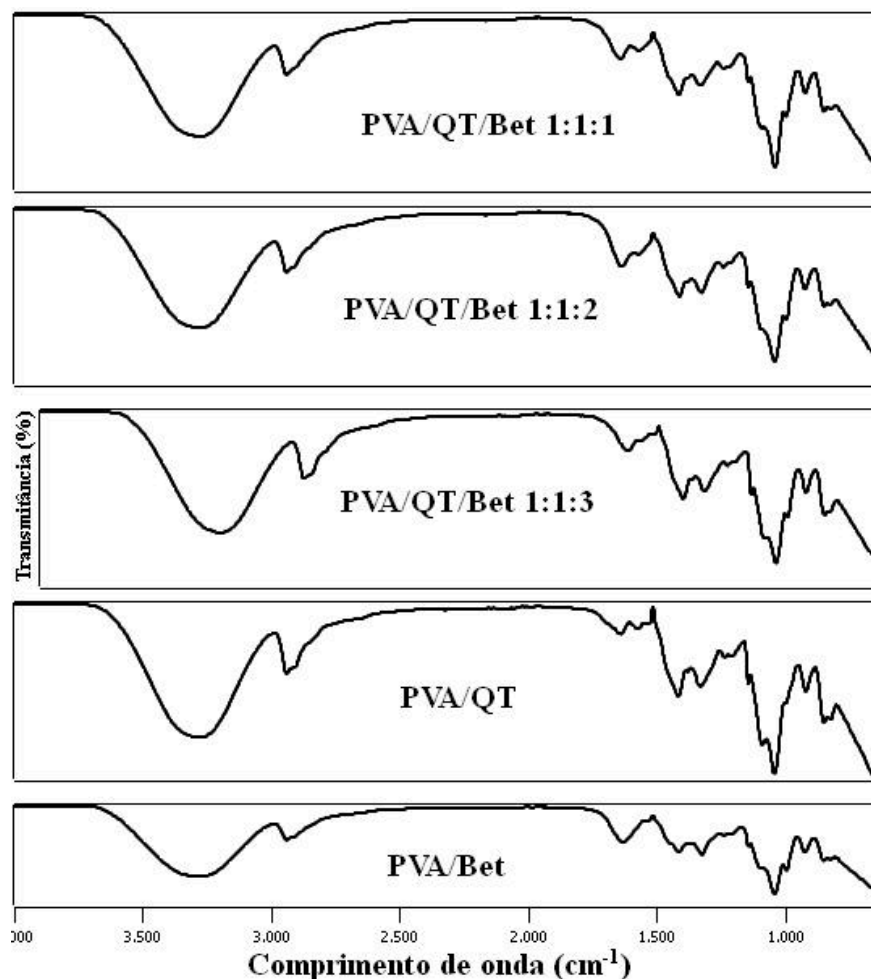


Fonte: Dados da pesquisa

As análises espectrais das blendas (Figura 10) revelaram interações relevantes entre os constituintes. Na blenda PVA/QT, observou-se o deslocamento da banda de 3350 cm^{-1} para 3280 cm^{-1} indicando a formação de ligações de hidrogênio entre grupos hidroxila do PVA e grupos amina da quitosana (SILVA et al., 2021). Além disso, a redução na intensidade do pico em 1650 cm^{-1} sugere uma interação entre os grupos carbonila (C=O) da quitosana e hidroxila do PVA (GARAVAND et al., 2022).

Com a adição do extrato de beterraba em diferentes proporções (1:1:1, 1:1:2 e 1:1:3), foi observado um alargamento e intensificação da banda em 3300 cm^{-1} , atribuído ao aumento de interações por ligações de hidrogênio devido à presença de grupos hidroxila e fenólicos do extrato (AKANBI; ARYEE, 2020). Outro deslocamento significativo foi observado na banda de 1090 cm^{-1} (PVA) que migrou para 1020 cm^{-1} nas blendas, indicando interações entre os grupos C–O do PVA e grupos OH/NH da quitosana e do extrato (MISHRA et al., 2020). A amostra 1:1:3 apresentou maior intensidade no pico de 1600 cm^{-1} , sinalizando maior concentração e melhor distribuição das betalainas, o que demonstra homogeneidade estrutural (GARAVAND et al., 2022).

Figura 10 - Espectro IR dos filmes PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3, PVA/QT, PVA/Bet3



Fonte: Dados da pesquisa

Esses resultados corroboram a compatibilidade entre os constituintes das blendas, evidenciada pelos deslocamentos e intensificações das bandas características. A interação sinérgica entre os componentes, mediada por ligações de hidrogênio, favorece a miscibilidade do sistema e pode influenciar positivamente propriedades como flexibilidade, estabilidade e atividade funcional do material.

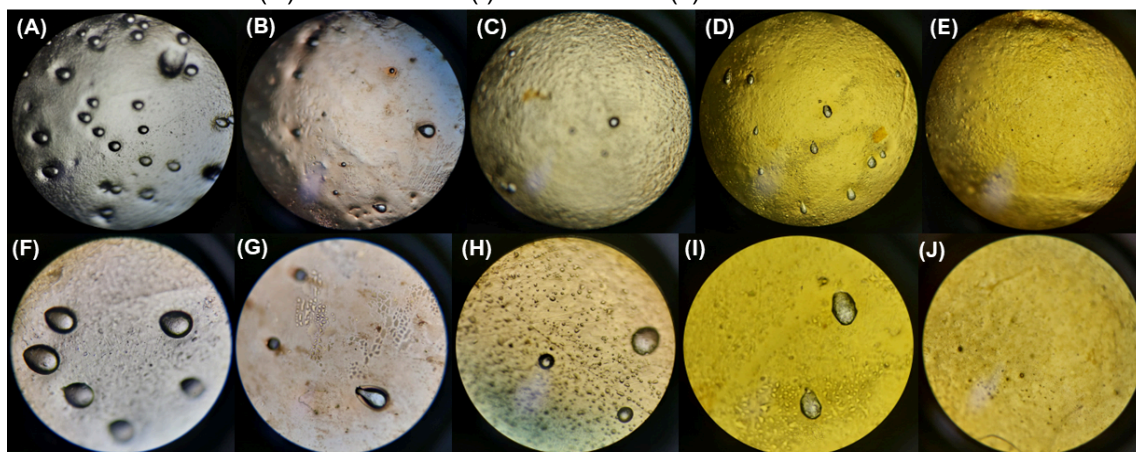
Dessa forma, conclui-se que os espectros FTIR demonstraram interações eficazes entre PVA, QT e extrato de beterraba, com destaque para a blenda na proporção 1:1:3, que apresentou maior homogeneidade e intensidade das bandas características. A compatibilidade química e a presença de compostos bioativos tornam essas blendas promissoras para o desenvolvimento de filmes funcionais com potencial para aplicações sustentáveis.

4.4 Microscopia Óptica

A microscopia óptica dos materiais poliméricos evidenciou a existência de morfologias granulares e encapsuladas na superfície de todas as blendas poliméricas, com exceção do filme composto por PVA/QT/Bet3, que exibiu uma superfície aparentemente irregular com supostos buracos, porém sem supostos grãos encapsulados (Figura 11).

Esse tipo de análise permite visualizar alterações na superfície dos filmes que podem estar diretamente relacionadas à interação entre os componentes da blenda. Com base nas análises ópticas, os grãos encapsulados constituem uma possível característica associada à combinação PVA/QT, uma vez que observa-se uma redução proporcional dos grãos à medida que aumenta a proporção de extrato na blenda polimérica.

Figura 11 - Microscopia óptica 40x dos filmes (A) PVA/CH (B) PVA/Bet (C) PVA/CH/Bet1 (D) PVA/CH/Bet2 (E) PVA/CH/Bet3. Microscopia óptica 100x dos filmes (F) PVA/CH (G) PVA/Bet (H) PVA/CH/Bet1 (I) PVA/CH/Bet2 (J) PVA/CH/Bet3



Fonte: Dados da pesquisa

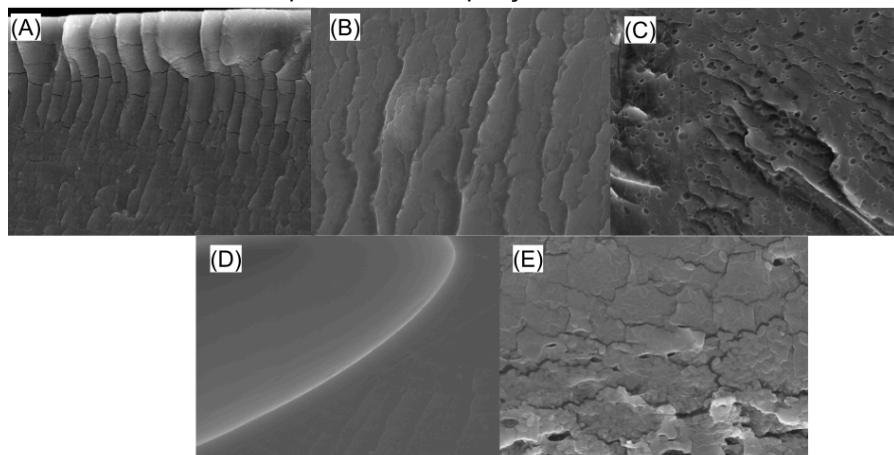
4.5 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)

A análise morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) permitiu comparar as características das superfícies externa e interna dos filmes poliméricos desenvolvidos. As micrografias da superfície externa (Figura 12) evidenciaram diferenças marcantes entre as amostras.

O filme PVA/QT/Bet1 (Figura 12A) apresentou uma morfologia caracterizada por rachaduras e descontinuidades, sugerindo a formação de camadas sobrepostas

durante o processo de secagem. De forma semelhante, o filme PVA/QT/Bet2 (Figura 12B) também exibiu uma superfície com fissuras, indicando possível fragilidade estrutural ou tensões internas na matriz polimérica. O filme PVA/QT/Bet3 (Figura 12C), por sua vez, apresentou uma superfície com cavidades irregulares e buracos, possivelmente associadas à maior concentração de extrato de betalaínas. Já o filme PVA/QT (Figura 12D) exibiu uma superfície predominantemente lisa, porém com a presença de uma área de maior brilho, sugerindo uma possível descontinuidade ou falha estrutural, como um orifício ou rachadura superficial. Por fim, o filme PVA/Bet (Figura 12E) apresentou uma morfologia que remete a um padrão de rachaduras distribuídas irregularmente, semelhante ao aspecto de solo seco, indicando provável contração do material durante a evaporação do solvente.

Figura 12 - Imagens MEV de filmes poliméricos preparados pela solução de casting. Morfologias da superfície externa dos filmes. (A) PVA/QT/Bet1 (B) PVA/QT/Bet2 (C) PVA/QT/Bet3 (D) PVA/QT (E) PVA/Bet puro - Com ampliação 3000x



Fonte: Dados da pesquisa

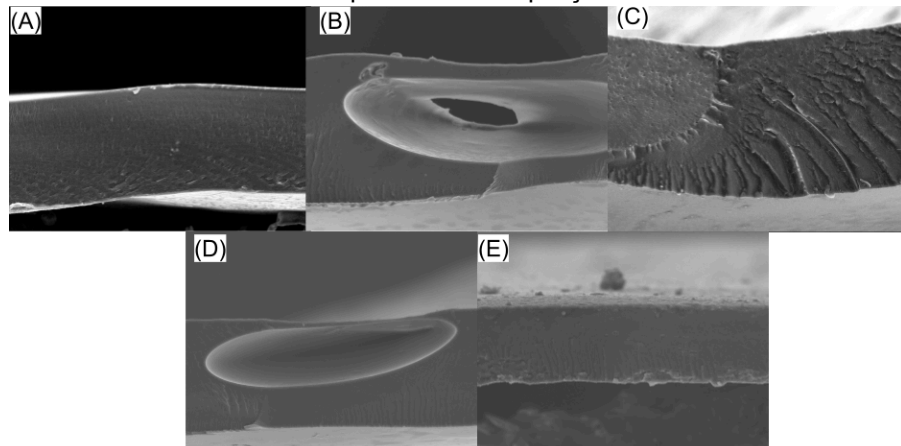
A avaliação da morfologia da superfície interna dos filmes (Figura 13), também realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), revelou variações estruturais importantes entre as diferentes formulações.

O filme PVA/QT/Bet1 (Figura 13A) apresentou uma superfície interna homogênea e lisa. O filme PVA/QT/Bet2 (Figura 13B) exibiu uma estrutura interna com uma cavidade distinta, caracterizada por uma região periférica mais clara e um centro mais escuro. No filme PVA/QT/Bet3 (Figura 13C) observaram-se fissuras distribuídas ao longo da superfície interna, o que pode estar relacionado a tensões internas durante o processo de secagem ou à interferência dos aditivos, como as

betalaínas. O filme PVA/QT (Figura 13D) também apresentou uma cavidade interna, porém sem contraste de tonalidade significativo. Por fim, o filme PVA/Bet (Figura 13E) revelou uma superfície interna predominantemente lisa e contínua. Além disso, nota-se que a densidade de imperfeições varia conforme a presença e a concentração dos aditivos incorporados para a formação dos filmes.

Essas variações morfológicas internas, assim como as externas, estão possivelmente associadas às diferenças na composição das blendas, na interação entre os polímeros utilizados e na incorporação de compostos bioativos, além das condições de processamento adotadas.

Figura 13 - Imagens MEV de filmes poliméricos preparados pela solução de casting. Morfologias da parte interna dos filmes. (A) PVA/CH/Bet1 (B) PVA/CH/Bet2 (C) PVA/CH/Bet3 (D) PVA/CH (E) PVA/Bet puro - Com ampliação 500x



Fonte: Dados da pesquisa

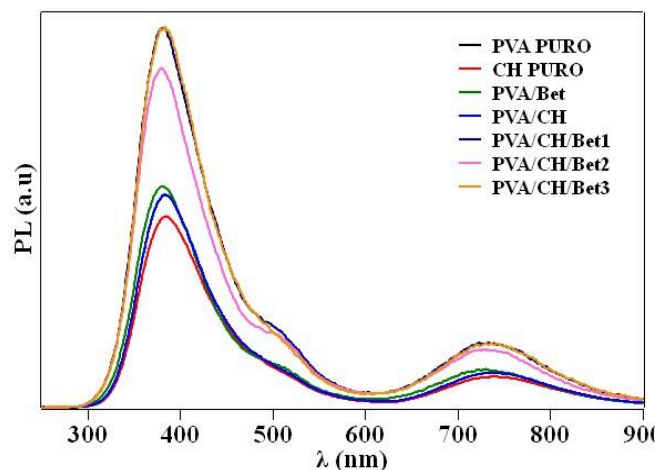
4.6 Espectroscopia De Fotoluminescência (PL)

A fotoluminescência é um fenômeno óptico em que uma substância emite luz após absorver radiação eletromagnética, tipicamente nas faixas ultravioleta ou visível. Após a excitação, parte da energia absorvida é dissipada por processos não radiativos (como relaxações vibracionais), e o restante é reemitido como fótons de menor energia — resultando em comprimentos de onda superiores aos da radiação incidente. Essa diferença entre energia de excitação e emissão é conhecida como *Stokes shift* e é característico de materiais fluorescentes (KUMAR et al., 2022). No presente estudo, as amostras foram excitadas a 240 nm e 450 nm, permitindo avaliar suas propriedades emissivas em diferentes condições espectrais.

Os espectros de fotoluminescência (PL) apresentados na Figura 14, obtidos com excitação em λ_{exc} 240 nm, revelam os seguintes resultados: as soluções de PVA puro, QT puro, PVA/Bet, PVA/FQT e as blendas PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/FQT/Bet3 exibem duas bandas de emissão. A primeira, que se encontra na faixa entre 300 e 571 nm, mostra que a solução de QT puro tem um pico máximo de emissão a 386 nm, enquanto as soluções de PVA/QT e PVA/Bet atingem o máximo em 384 nm. Por outro lado, as blendas PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet3, bem como a solução de PVA puro, exibem um pico de emissão em 383 nm, e a blenda PVA/QT/Bet2 apresentando um pico máximo em 380 nm. Ainda na primeira faixa de emissão as blendas obtiveram um suave ombro entre 489 e 531 nm.

A segunda faixa de emissão, situada entre 620 e 874 nm, mostra que a solução de QT puro tem pico máximo de emissão em 739 nm. Já a solução PVA/QT exibe seu pico máximo em 734 nm, enquanto a blenda PVA/Bet atinge o máximo de 726 nm. No caso dos filmes PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3 e da solução de PVA, todos apresentam uma banda de excitação semelhante, com um pico máximo em 730 nm. Portanto, observa-se uma tendência de aumento da intensidade da banda de emissão das blendas conforme aumenta a proporção de betalaínas incorporadas nos filmes poliméricos.

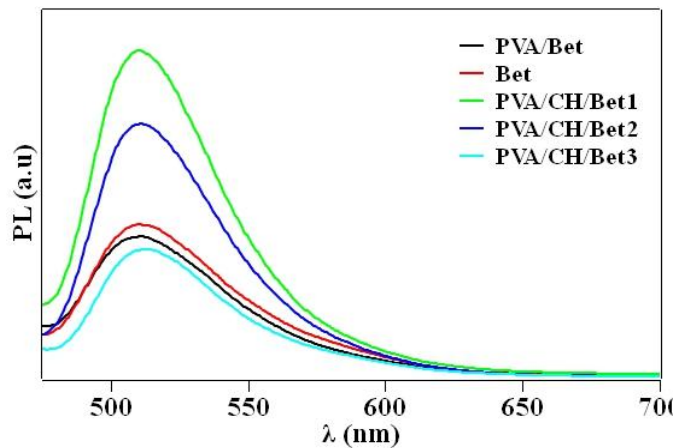
Figura 14 - Espectros de fotoluminescência (PL) do PVA puro, QT puro, PVA/Bet, PVA/QT, PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3 utilizando λ_{exc} 240nm



Fonte: Dados da pesquisa

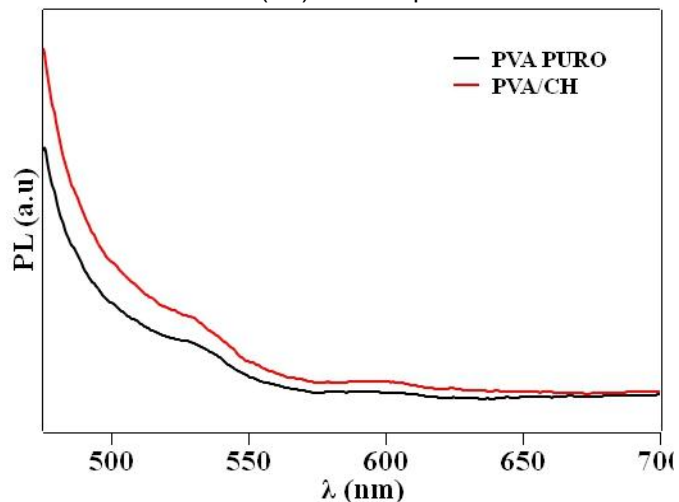
A fotoluminescência dos materiais PVA/Bet, Bet, PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3, PVA puro e PVA/QT quando excitados em λ_{exc} 450nm pode ser analisadas pelas Figura 15 e 16.

Figura 15 - Espectros de fotoluminescência (PL) PVA/Bet, Bet, PVA/CH/Bet1, PVA/CH/Bet2, PVA/CH/Bet3 utilizando λ_{exc} 450nm



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 16 - Espectro de Fotoluminescência (PL) do PVA puro e PVA/CH utilizando λ_{exc} 450nm

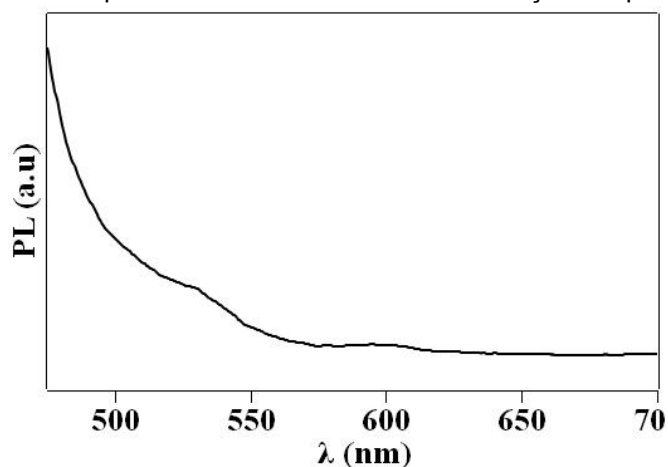


Fonte: Dados da pesquisa

É possível observar que os materiais PVA/Bet, Bet, PVA/QT/Bet1, PVA/QT/Bet2, PVA/QT/Bet3 apresentam uma única banda de emissão na faixa de 480 nm a 580 nm com pico máximo em 511 nm. A diferença desta banda em relação aos materiais analisados está em sua intensidade e vamos focar neste ponto. Pode-se observar que o fato do extrato de betalaínas puro apresentar um banda em 511 nm é coerente com suas propriedades, pois, segundo Moraes et al. (2021), as betalaínas absorvem em torno de 480 nm e emite em comprimentos de onda maiores. A intensidade do pico serve como uma referência para emissão das betalaínas sem a presença dos polímeros. Já intensidade da solução de PVA/Bet,

observa-se uma intensidade ligeiramente menor que a Bet pura, o que pode sugerir que a presença do PVA pode afetar na eficiência quântica de fluorescência das betalaínas, por diversas razões como: diluição, interações de empacotamento ou supressão da emissão. Contudo, apesar do PVA afetar a intensidade da Bet, o padrão de emissão é mantido, fazendo do polímero puro um material polimérico fotoluminescente, uma vez que o PVA puro e a blenda PVA/QT e quitosana pura não emitem luz quando excitados em 450 nm (Figuras 16 e 17).

Figura 17 - Espectro de fotoluminescência da solução de quitosana



Fonte: Dados da pesquisa

A solução do filme PVA/QT/Bet1 tem a maior intensidade de emissão quando comparada com a Bet pura e o PVA/Bet. Isso sugere que a composição da blenda PVA/QT/Bet1 permite uma melhora da eficiência da emissão de luz das betalaínas, possivelmente pela proteção da matriz PVA/QT da degradação da betalaínas ou da supressão ambiental, pela melhor dispersão das betalaínas na matriz que pode reduzir o *auto-queching* (supressão da fluorescências entre as próprias moléculas de betalaínas e, por último, interação das betalaínas com a matriz PVA/QT que podem aumentar a rigidez da estrutura das betalaína provocando uma aumento da intensidade de emissão. Em outras palavras, há um efeito de proteção e/ou rigidez conformacional por parte da matriz que é mais eficaz quando as moléculas de betalaína estão mais dispersas e menos propensas a interagir umas com as outras, evitando a supressão da luz quando a concentração de tais moléculas é maior.

A intensidade da blenda PVA/QT/Bet2 é menor quando comparada a PVA/QT/Bet1. Isso pode ser explicado pelo aumento da concentração de betalaínas

na solução que podem iniciar um processo de supressão da fotoluminescência, uma vez que as moléculas podem estar mais próximas uma das outras.

A intensidade da fotoluminescência da blenda PVA/QT/Bet3 confirma o processo de supressão da fluorescência pela concentração conhecida como *quenching*. Isso porque, em altas concentrações, as moléculas de betalaínas ficam muito próximas umas das outras facilitando as interações entre elas para formação de agregados (sendo menos fluorescentes), transferência de energia ressonante (a energia excitada pode ser transferida de uma molécula de betalaína para outra e, eventualmente, ser dissipada de forma não radiativa (calor) em vez de ser emitida como luz) e colisão entre as moléculas que ocorre em altas concentrações levando à perdas energia por processos não radiativos.

4.7 Atividade Antioxidante

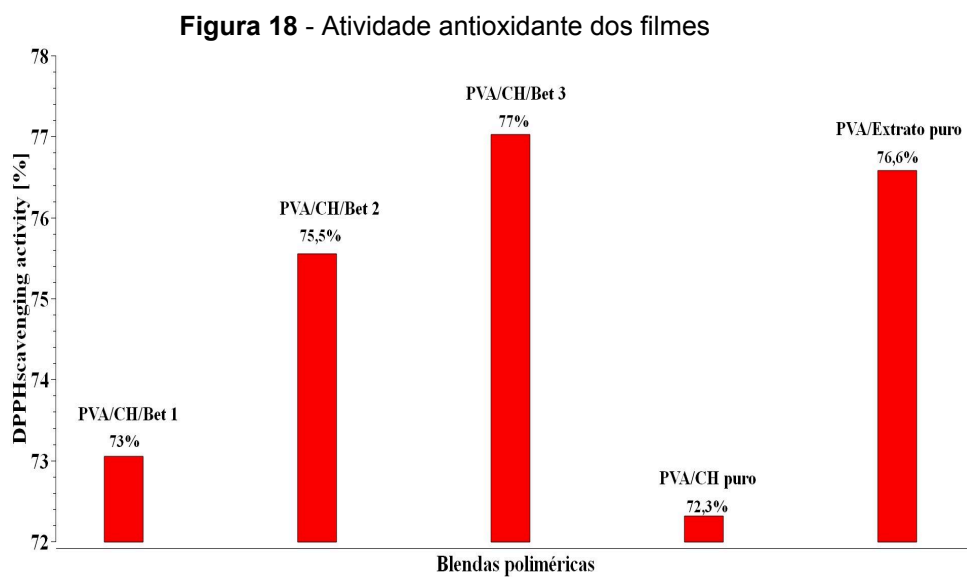
A atividade antioxidante foi determinada por meio do método de inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), sendo expressa como percentual de inibição, o que permite comparar a eficácia antioxidante entre as diferentes formulações de filmes (Figura 18). Esse método é amplamente utilizado para avaliar a capacidade de doadores de hidrogênio em neutralizar radicais livres, especialmente em matrizes alimentares e biomateriais (MOLINA-GÓMEZ et al., 2022; CAI et al., 2021).

Os resultados obtidos demonstram que o filme PVA/CH/Bet1 apresentou uma inibição de 73%, enquanto o PVA/CH/Bet2 alcançou 75,5%, e o PVA/CH/Bet3 obteve o maior valor de inibição, com 77%. Já o filme controle PVA/CH, sem adição de betalaínas, apresentou 72,3% de inibição, o que evidencia que a matriz polimérica base também possui uma atividade antioxidante moderada, atribuída à presença da quitosana, conhecida por seu potencial antioxidante (ZHANG et al., 2023).

O filme PVA/Bet, contendo apenas polivinil álcool e betalaínas, atingiu 76,6% de inibição, valor comparável aos obtidos pelas amostras contendo também quitosana. Esse valor é interessante uma vez que o PVA puro não tem propriedade oxidante, portanto, esta amostra evidencia que a capacidade antioxidante do extrato de beterraba rico em betalaínas. Em outras palavras, esses resultados indicam que a adição de betalaínas, pigmentos naturais com reconhecida atividade antioxidante

(KHALIL et al., 2020), contribui para a elevação da capacidade antioxidante dos filmes. Observa-se uma correlação positiva entre a concentração de betalaínas e o percentual de inibição do DPPH, confirmando seu papel como agente antioxidante eficiente.

Dessa forma, a incorporação de betalaínas à matriz PVA/QT e PVA puro promove um aumento da atividade antioxidante, sendo esta dependente da concentração do extrato adicionado. Comparativamente, o filme PVA/Bet superou ligeiramente a formulação PVA/CH, reforçando que as betalaínas são os principais compostos ativos na neutralização dos radicais livres.



Fonte: Dados da pesquisa

4.8 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada utilizando as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, escolhidas por sua alta prevalência no cotidiano humano. A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa encontrada no intestino de humanos e animais, frequentemente associada à contaminação de alimentos, água e superfícies, podendo causar doenças gastrointestinais e infecções urinárias (Mendes; Ribeiro, 2021; Coelho et al., 2021). Já a *S. aureus*, bactéria gram-positiva comumente encontrada na pele, mucosas nasais e respiratórias, é conhecida por causar infecções cutâneas, feridas, celulites e casos graves de bactérias resistentes a antibióticos, como a MRSA (Taylor; Unakal, 2023; Krishna; Miller, 2011). Essas

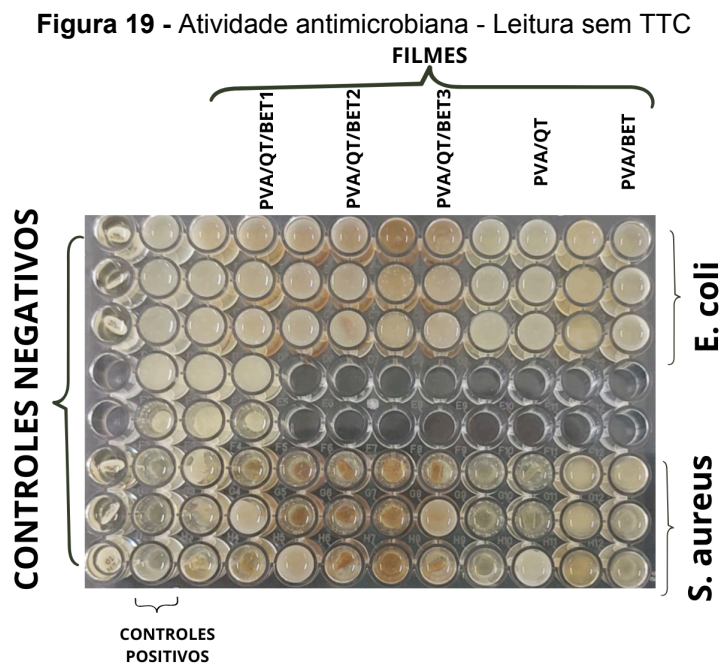
características tornam essas espécies excelentes modelos para testes de barreira antimicrobiana em filmes destinados à segurança sanitária.

Para essa análise foram utilizadas placas ELISA (Figura 19) contendo poços com filmes (Tabela 1), além dos controles positivos (crescimento sem tratamento) e negativos (com antibiótico). Após 19 horas de incubação, observou-se turbidez em poços sem tratamento, indicando o crescimento bacteriano (Figura 18).

Tabela 1 – Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes contra *E. coli* e *S. aureus*

Nº	Amostra	Tipo de controle
G	Antibiótico (<i>E. coli</i>)	Controle negativo
P	Antibiótico (<i>S. aureus</i>)	Controle negativo
+	Papel filtro	Controle positivo
1	PVA/CH/Bet 1	Filme testado
2	PVA/CH/Bet 2	Filme testado
3	PVA/CH/Bet 3	Filme testado
4	PVA/CH	Filme testado
5	PVA/Bet	Filme testado

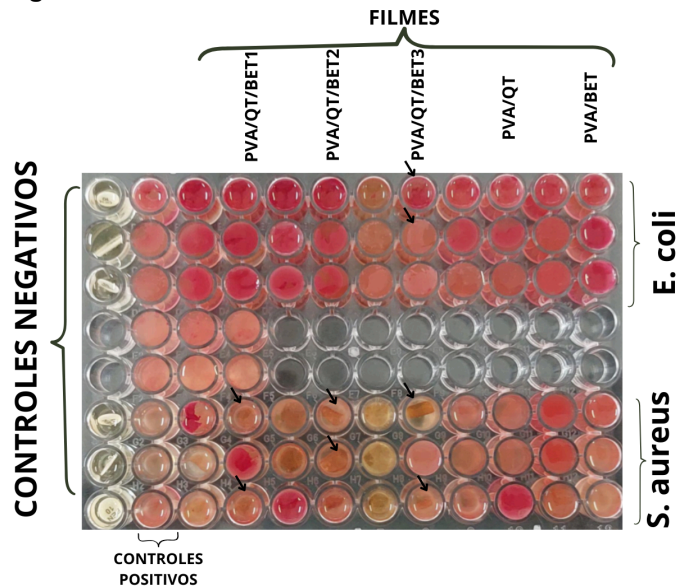
Fonte: Dados da pesquisa



Fonte: Dados da pesquisa

A adição do reagente cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) evidenciou melhor os resultados, gerando coloração vermelha nos poços onde houve metabolismo bacteriano — quanto mais intensa a cor, maior o crescimento. Essa diferenciação de cor pode ser visualizada na Figura 20, onde se observa a variação de tonalidade entre os poços com maior ou menor presença de bactérias.

Figura 20 - Atividade antimicrobiana - Leitura com TTC



Fonte: Dados da pesquisa

Os testes revelaram que, contra *Escherichia coli*, o filme 3 (PVA/CH/Bet 3) apresentou a melhor resposta, com coloração mais fraca em dois dos três poços avaliados, o que indica menor crescimento bacteriano. Já em relação à *Staphylococcus aureus*, os filmes 1, (PVA/CH/Bet 1), 2 (PVA/CH/Bet 2) e 3 (PVA/CH/Bet 3) demonstraram desempenho mais expressivo, com duas das três triplicatas permanecendo incolores após a adição do reagente TTC, sugerindo inibição quase total do crescimento. Esses resultados indicam que os filmes testados apresentaram maior eficácia frente à bactéria *S. aureus*. Com base nessa observação, pode-se levantar a hipótese de que os filmes possuem maior atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, como a *S. aureus*, em comparação às gram-negativas, como a *E. coli*.

No entanto, algumas inconsistências foram observadas durante os ensaios, como a presença isolada de poços com coloração intensa entre outros incolores na

mesma triplicata. Isso pode ter sido causado por falhas de pipetagem ou contaminação cruzada durante o preparo das amostras. Além disso, a elevada concentração bacteriana utilizada pode ter dificultado a visualização da ação inibitória total dos filmes. Assim, sugere-se que estudos futuros empreguem diferentes diluições bacterianas e maior padronização técnica, a fim de confirmar a eficácia dos filmes e reduzir variações nos resultados.

4.9 Teste Com Morangos Mergulhados Em Soluções Poliméricas

O presente experimento teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes soluções poliméricas na preservação de morangos, com foco no controle do amadurecimento, murchamento e proliferação de fungos ao longo do tempo. A proposta baseia-se na aplicação das soluções produzidas à base de polivinilálcool (PVA), quitosana (QT) e extrato da beterraba ricos em betalaínas, substâncias conhecidas por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (KANNER et al., 2001; YEN et al., 2008; GARCÍA et al., 2019).

Os morangos foram imersos, no primeiro dia do experimento, em oito diferentes formulações (cada uma para um morango), conforme apresentado na Tabela 2. As amostras foram mantidas sob condições ambiente (sem refrigeração) e monitoradas durante 60 dias. O objetivo foi observar alterações visuais nos frutos, como escurecimento, murchamento e presença de fungos.

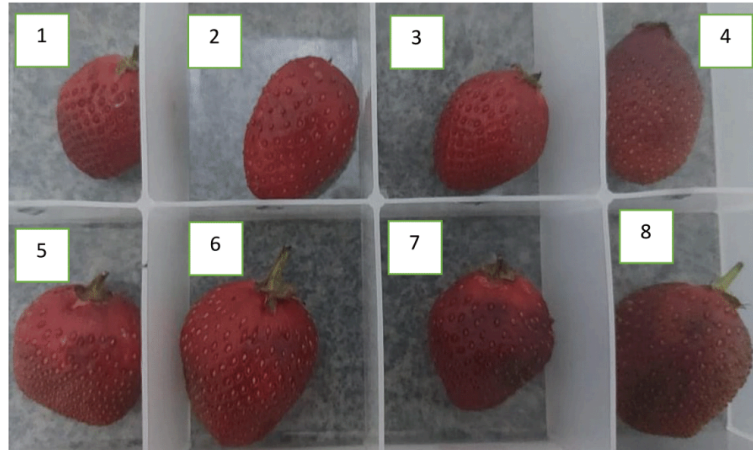
Tabela 2 - Numeração dos filmes correspondentes aos morangos

Nº DO TRATAMENTO	SOLUÇÃO APLICADA	COMPOSIÇÃO
1	Quitosana (QT)	Apenas quitosana
2	PVA	Apenas polivinilálcool
3	PVA/QT	Polivinil álcool + quitosana
4	PVA/Bet	PVA + extrato de betalaínas
5	PVA/QT/Bet1	Proporção igual entre PVA, CH e Bet
6	PVA/QT/Bet2	Proporção entre PVA/CH/Bet 1:1:2
7	PVA/QT/Bet3	Proporção entre PVA/CH/Bet 1:1:3
8	Controle (sem tratamento)	sem tratamento

Fonte:Dados da pesquisa

Até o terceiro dia (Figura 21), os frutos de todos os tratamentos, assim como o controle, mantiveram aparência semelhante, apresentando apenas um início discreto de degradação.

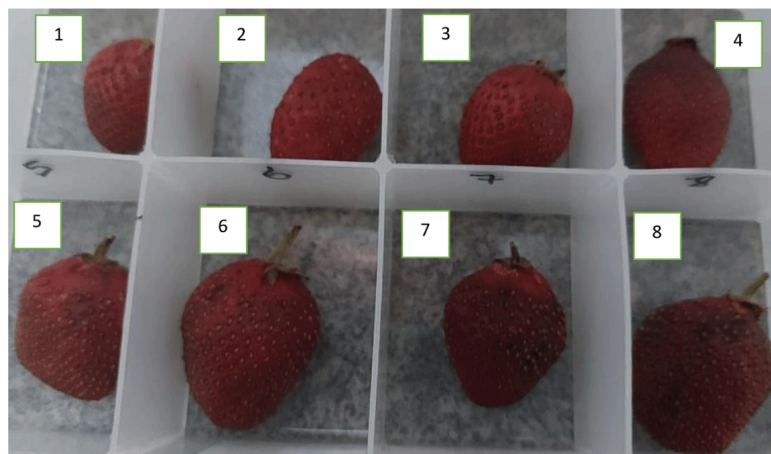
Figura 21- Terceiro dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções



Fonte: Dados da pesquisa

No quinto dia (Figura 22), observou-se amadurecimento mais acelerado nos tratamentos 6 e 7 (PVA/CH/Bet2 e PVA/CH/Bet3), padrão também verificado no controle. Este resultado sugere que a maior concentração de extrato de betalaínas nestes tratamentos pode ter afetado a integridade superficial do filme, contradizendo a expectativa inicial de maior proteção.

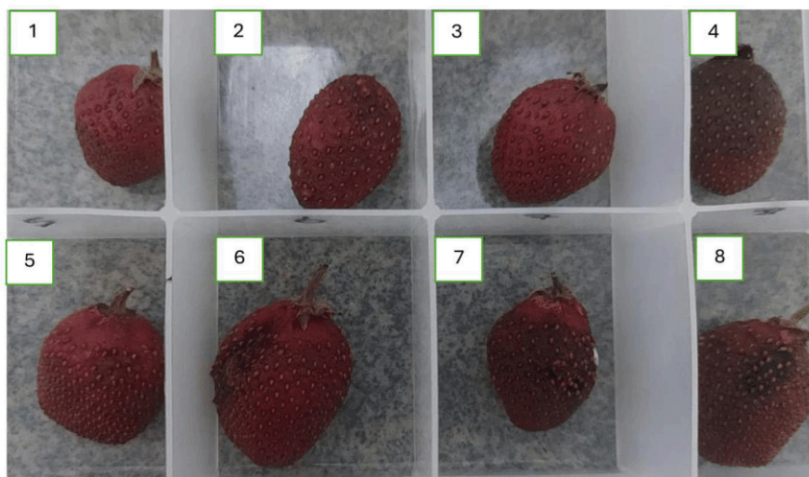
Figura 22 - Quinto dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções



Fonte: Dados da pesquisa

No sétimo dia (Figura 23), foi observada a primeira manifestação de fungos, exclusivamente no tratamento 7 (PVA/CH/Bet3), enquanto o controle e os demais tratamentos permaneceram livres de contaminação. Além disso, o tratamento 6 (PVA/CH/Bet2), apresentou amadurecimento desigual com coloração mais escura em uma das faces do fruto.

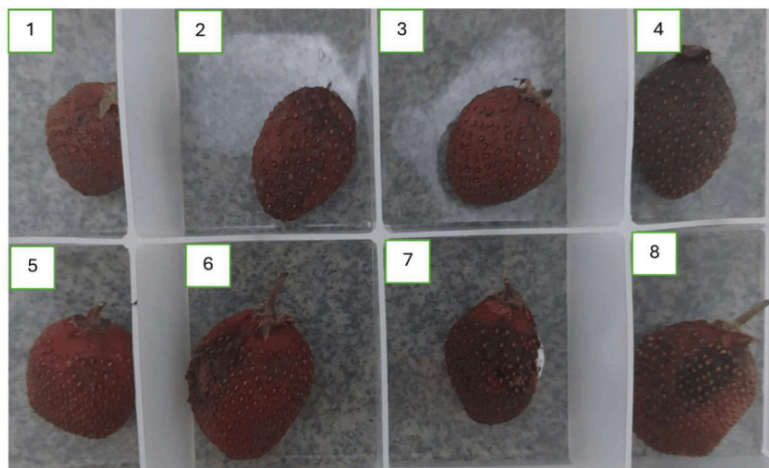
Figura 23 - Sétimo dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções



Fonte: Dados da pesquisa

No oitavo dia (Figura 24), o tratamento 4 (PVA/Bet) exibiu escurecimento acentuado, sendo o primeiro a apresentar sinais visuais avançados de degradação, enquanto o controle ainda mostrava sinais de degradação menos severos e permanecia sem fungos.

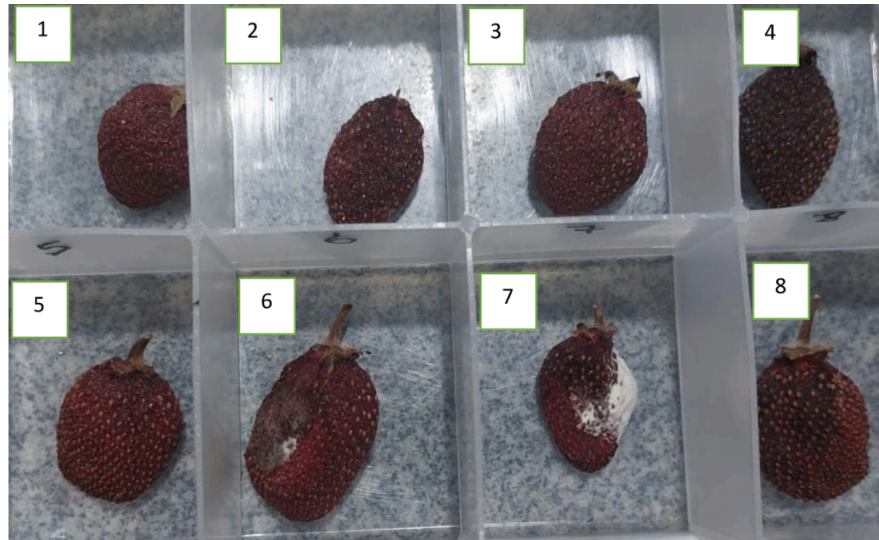
Figura 24 - Oitavo dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções



Fonte: Dados da pesquisa

No décimo primeiro dia (Figura 25), notou-se a presença de fungos no tratamento 6 (PVA/QT/Bet 2), marcando uma segunda falha de proteção em relação ao controle, que continuava sem contaminação fúngica.

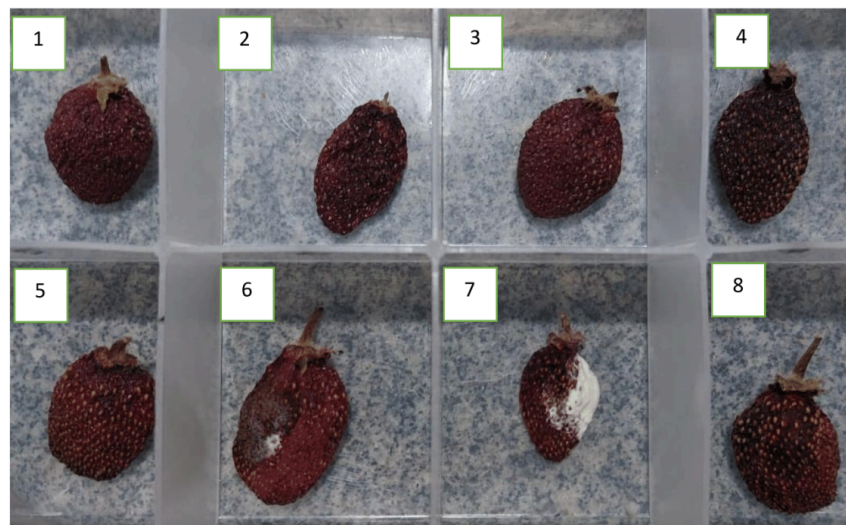
Figura 25 - Décimo primeiro dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções



Fonte: Dados da pesquisa

A partir do décimo quarto dia (Figura 26), todos os frutos, inclusive o controle, começaram a murchar. Entretanto, o tratamento 7 (PVA/QT/Bet3) destacou-se negativamente apresentou maior área visivelmente colonizada por fungos

Figura 26 - Décimo quarto dia dos morangos mergulhados em diferentes soluções

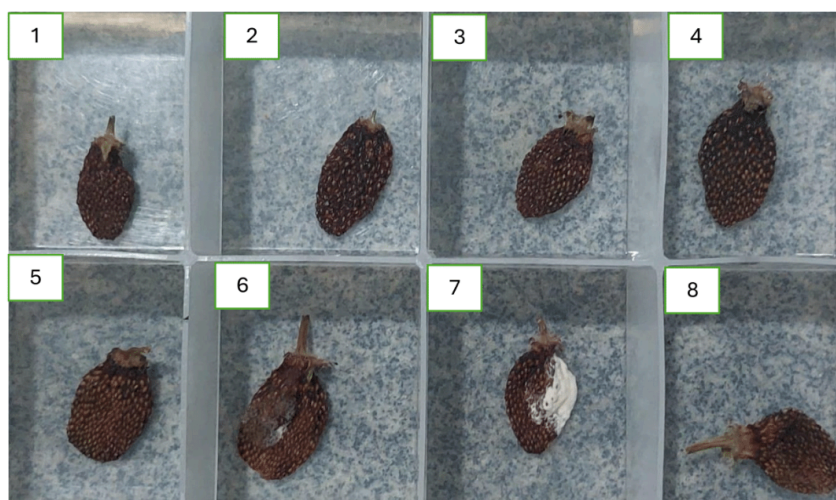


Fonte: Dados da pesquisa

Após 60 dias (Figura 27), todos os morangos estavam desidratados. Contudo, os tratamentos 6 (PVA/CH/Bet 2) e 7 (PVA/CH/Bet 3) apresentaram, apesar do avanço inicial de fungo nos primeiros dias, uma limitação desse crescimento, que não ultrapassou a metade do fruto. Esse resultado sugere que a combinação dessas proporções de PVA/CH/Bet pode não ser ideal para oferecer algum grau de proteção microbiológica prolongada.

Já os demais tratamentos, inclusive o controle, não apresentaram qualquer sinal visível de contaminação por fungos ao longo do período de armazenamento, indicando uma proteção ainda mais eficaz contra o desenvolvimento microbiano.

Figura 27 - morangos mergulhados em diferentes soluções após 60 dias



Fonte: Dados da pesquisa

Um dado relevante observado foi a ausência de ataques por insetos (moscas, mosquitos, formigas) durante todo o experimento, o que pode indicar que os biofilmes apresentam efeito repelente, como relatado em estudos com quitosana e extratos vegetais (DUTTA et al., 2009).

Dessa forma, os resultados indicam que, embora as formulações com maior concentração de extrato (tratamentos 6 (PVA/CH/Bet2) e 7 (PVA/CH/Bet3)) apresentem sinais precoces de amadurecimento e surgimento de fungos. O tratamento 4 (PVA/Bet) mostrou-se o menos eficaz, apresentando escurecimento precoce.

Os dados sugerem que a quitosana, em combinação com betalaínas, pode retardar o crescimento de microrganismos, atuando como uma barreira ativa e antimicrobiana. No entanto, novas análises com quantificação microbiológica, perfil

antioxidante e ensaios físico-químicos são necessárias para confirmar e aprofundar a eficácia dessas formulações na conservação pós-colheita de frutas.

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a incorporação de extrato de beterraba contendo betalaínas às matrizes poliméricas de PVA e quitosana resultou em filmes com propriedades físico-químicas e funcionais aprimoradas. A interação sinérgica entre os componentes das blends foi confirmada por análises espectroscópicas (FTIR), ópticas (UV-Vis), estruturais (MEV) e fotoluminescentes, evidenciando boa compatibilidade entre os polímeros e os compostos bioativos.

Dentre as formulações testadas, o filme com maior proporção de extrato (PVA/CH/Bet3) se destacou pela homogeneidade estrutural e presença mais definida de bandas características das betalaínas. Observou-se que a adição do extrato influenciou positivamente as propriedades antioxidantes dos filmes, aumentando a capacidade de neutralização de radicais livres. O desempenho antimicrobiano também foi satisfatório, principalmente contra *Staphylococcus aureus*, indicando maior eficácia frente a bactérias gram-positivas.

Apesar dos resultados promissores, o estudo apresentou limitações como inconsistências em algumas triplicatas e uso de altas concentrações bacterianas, o que pode ter influenciado os dados obtidos. Dessa forma, os filmes à base de PVA, quitosana e betalaínas se mostram promissores para o desenvolvimento de embalagens ativas, contribuindo para a sustentabilidade, segurança alimentar e valorização de compostos naturais.

REFERÊNCIAS

- AKANBI, T. O.; ARYEE, A. N. A. **Fourier transform infrared spectroscopy for the study of bioactive compounds in beetroot (*Beta vulgaris* L.)**. Journal of Food Science and Technology, v. 57, n. 1, p. 1–9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04058-9>.
- ALMEIDA, P. F.; SILVA, D. M.; PEREIRA, J. S. **Utilização de extratos naturais para o desenvolvimento de embalagens ativas**. Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos, v. 32, n. 4, p. 67-80, 2019.
- ALVES, T. F. R. et al. **Applications of natural, semi-synthetic, and synthetic polymers in cosmetic formulations**. Cosmetics, v. 7, n. 4, p. 75, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/cosmetics7040075>.
- APAK, R. et al. **Antioxidant activity/capacity measurement. I. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays**. Journal of Food Composition and Analysis, v. 64, p. 121–131, 2016. DOI: 10.1016/j.jfca.2016.01.008.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. LWT – Food Science and Technology, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- BUI, D. C. et al. **Recent advances in biopolymer-based active food packaging: Applications and future trends**. Food Bioscience, v. 40, p. 100864, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100864>.
- CAI, Y. et al. **Development of antioxidant edible films from natural polymers and plant extracts: A review**. Food Hydrocolloids, v. 115, 2021, 106595. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106595>.
- CALVA-ESTRADA, M.; GARCÍA-ALONSO, J.; MENDOZA, E. **Betalainas e suas propriedades antioxidantes para embalagens ativas**. Food Science and Technology International, v. 28, n. 2, p. 98-110, 2022.
- CHEN, X.; LI, L.; LIU, X. **Propriedades mecânicas e de barreira de blendas de PVA/quitosana com adição de extratos naturais**. Polymer Engineering and Science, v. 59, n. 7, p. 1409-1418, 2019.
- COELHO, M. F. B.; et al. **Riscos de doenças transmitidas por alimentos: importância das práticas de higiene em estabelecimentos**. Revista de Higiene Alimentar, v. 25, n. 2, p. 45–56, 2021.
- CUI, H.; HUANG, X.; YU, L. **Estudo de blendas de PVA e quitosana para aplicações em embalagens biodegradáveis**. Journal of Applied Polymer Science, v. 134, n. 35, p. 4532-4539, 2017.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

DIAS, M. **Quitosana: Propriedades e Aplicações**. [S. l.]: [s. n.], 2003. (Caso não haja dados completos de publicação, "S. l." para "sine loco" e "s. n." para "sine nomine" são utilizados).

DUTTA, P. K. et al. **Chitin and chitosan for versatile applications**. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, v. 49, n. 2, p. 141–196, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/15583720902908262>.

EL KNIDRI, H. et al. **Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan: A review**. *Polymer International*, v. 67, n. 1, p. 7–17, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/pi.5464>.

GARAVAND, F. et al. **Development of bioactive films based on chitosan and carboxymethyl cellulose enriched with beetroot extract**. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 205, p. 679–688, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.036>.

GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. **Edible starch films and coatings characterization: scanning electron microscopy, water vapor transmission and gas permeabilities**. *Sciences des Aliments*, v. 20, n. 4, p. 409–426, 2019.

GHANI, M. A. A. et al. **Active food packaging: A review on recent trends**. *Food Control*, v. 144, p. 109383, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109383>.

GONÇALVES, L. C. A. et al. **Betalainas: características químicas e aplicabilidade como corantes naturais em alimentos**. *Revista Brasileira de Corantes Naturais*, v. 3, n. 1, p. 1–10, 2015.

GONZÁLEZ, R.; ALDABA, J.; NOGALES, L. **Estudos sobre embalagens ativas de quitosana com betalaínas**. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 53, n. 1, p. 11-19, 2018.

JAHROMI, M.; GHADERI, J. **Recent advances in biopolymer-based food packaging: Biodegradable materials and applications**. *Carbohydrate Polymers*, v. 277, p. 118875, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118875>.

JIA, Y.; MA, X.; LIU, M. **Aplicação de blendas PVA/quitosana no desenvolvimento de filmes biodegradáveis**. *Carbohydrate Polymers*, v. 156, p. 318-324, 2017.

JODAR, K. S. P. **Desenvolvimento e caracterização de hidrogel de PVA (álcool polivinílico) e dextrana com sulfadiazina de prata para aplicação tópica**. 2014. 57 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Sorocaba, São Paulo, 2014.

JUVENCIO, M. L. **Propriedades e Processamento de Polímeros Biodegradáveis**. 2. ed. São Paulo: Editora Técnica, 2017.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. **Betalains—a new class of dietary cationized antioxidants**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 11, p. 5178–5185, 2001. DOI: 10.1021/jf010456f.

KHALIL, H. A. et al. **Betalains: Natural dyes with antioxidant properties and their potential applications in active food packaging**. *Journal of Food Science and Technology*, v. 57, n. 7, p. 2365–2376, 2020.

KRISHNA, S.; MILLER, L. S. **Host–pathogen interactions between the skin and Staphylococcus aureus**. *Current Opinion in Microbiology*, v. 15, n. 1, p. 28–35, dez. 2011. DOI: 10.1016/j.mib.2011.11.003.

KUMAR, P.; SINGH, R.; VERMA, S. **Photoluminescence and Stokes Shift Analysis in Polymer-Based Fluorescent Materials**. *Journal of Luminescence Materials*, v. 11, n. 3, p. 223–240, 2022

LOPES, L. R. et al. **Functionalization of Chitosan for Application in Biodegradable Films**. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 137, n. 31, 48421, 2020. <https://doi.org/10.1002/app.48421>.

LOPES, N. A. et al. **Aplicações de embalagens ativas e inteligentes na conservação de alimentos**. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 2, p. 8330–8346, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n2-091>.

LOPES, W. A. FASCINO, M. **Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho**. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

MENDES, N. P.; RIBEIRO, A. P. **Presença de Escherichia coli em alimentos de origem animal: revisão sistemática**. *Biotemas*, v. 34, n. 1, p. 123–135, 2021.

MISHRA, R. K. et al. **FTIR and Raman studies of PVA based composites**. *Journal of Molecular Structure*, v. 1205, p. 127679, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127679>.

MOLINA-GÓMEZ, K. et al. **Chitosan-based films incorporated with plant extracts: Functional properties and applications in food packaging**. *Polymers*, v. 14, n. 4, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14040765>.

MORAIS, H. et al. **Stabilization of betalains: A review**. *Food Chemistry*, v. 336, p. 127703, 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127703.

MUPPALLA, R.; GURBACH, A.; RAMASWAMY, D. **Estabilidade térmica e biodegradabilidade de PVA**. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 132, n. 5, p. 4531-4537, 2014.

PEREIRA, J. S.; ALMEIDA, P. F.; SILVA, D. M. **Betalainas como indicadores em embalagens ativas de quitosana e PVA**. *Journal of Food Science and Technology*, v. 57, n. 5, p. 345-357, 2020.

QIN, Y.; LIU, Y.; ZHANG, X.; LIU, J. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105410–105420, 2020.

RAY, S. S.; BOSE, N. R. Biodegradable Polymers. In: THARAKAN, A. S.; O'CONNOR, K. E. (Ed.). **Handbook of Polymers for Food Packaging**. CRC Press, 2015. Cap. 3.

RIBEIRO-SANTOS, R. et al. **Trends in use of natural antioxidants in active food packaging: A review**. Trends in Food Science & Technology, v. 67, p. 144–153, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.004>.

RODRIGUES, E. T. et al. **Embalagens ativas e inteligentes: tendências e aplicações na indústria de alimentos**. Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2017.

SHUKLA, A.; CHONG, S. Y. **Intelligent and active packaging for perishable food: Recent innovations and future challenges**. Food Packaging and Shelf Life, v. 34, p. 100984, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100984>.

SILVA, A. S. **Propriedades das betalainas e suas aplicações na indústria alimentícia e em embalagens**. Revista Brasileira de Química, v. 59, n. 1, p. 12-21, 2021.

SILVA, S. S. et al. **Chitosan/PVA blends: recent advances and future trends**. Carbohydrate Polymers, v. 252, p. 117152, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117152>.

TAYLOR, T. A.; UNAKAL, C. G. **Staphylococcus aureus Infection**. In: **StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025**. Atualização em 17 jul. 2023.

THAKUR, S.; KARAK, N. **Green reduction of graphene oxide by aqueous phytoextracts**. Carbon, v. 167, p. 148–156, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2020.05.088>.

VALENCIA et al. **COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SEMILLAS DE QUINUA PERUANA (Chenopodium quinoa W.)**. Sociedad Química del Perú, mar. 2017.

VIÉGAS et al. **Dissertação de Mestrado: Engenharia de Materiais**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, [S. l.], 2016. Disponível em: [link].

VOLP, A. C.; RENHE, I. R.; STRINGHETA, P. **Pigmentos Naturais Bioativos**. Alimentos e Nutrição, Araraquara, 2009.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. **Antioxidant properties of chitosan from crab shells**. Carbohydrate Polymers, v. 74, n. 4, p. 840–844, 2008. DOI: [10.1016/j.carbpol.2008.04.035](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.035).

ZHANG, M. et al. **Chitosan: A promising biopolymer for various industrial applications**. International Journal of Biological Macromolecules, v. 86, p. 97-106, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.036>.

ZHANG, X. et al. **Chitosan-based functional films and coatings for food packaging applications: A review**. Carbohydrate Polymers, v. 300, 120408, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120408>.

ZHANG, Y.; LIU, T.; WANG, X. **Blendas poliméricas e suas aplicações em materiais biodegradáveis**. Polymers for Advanced Technologies, v. 28, n. 3, p. 1069-1081, 2017.