

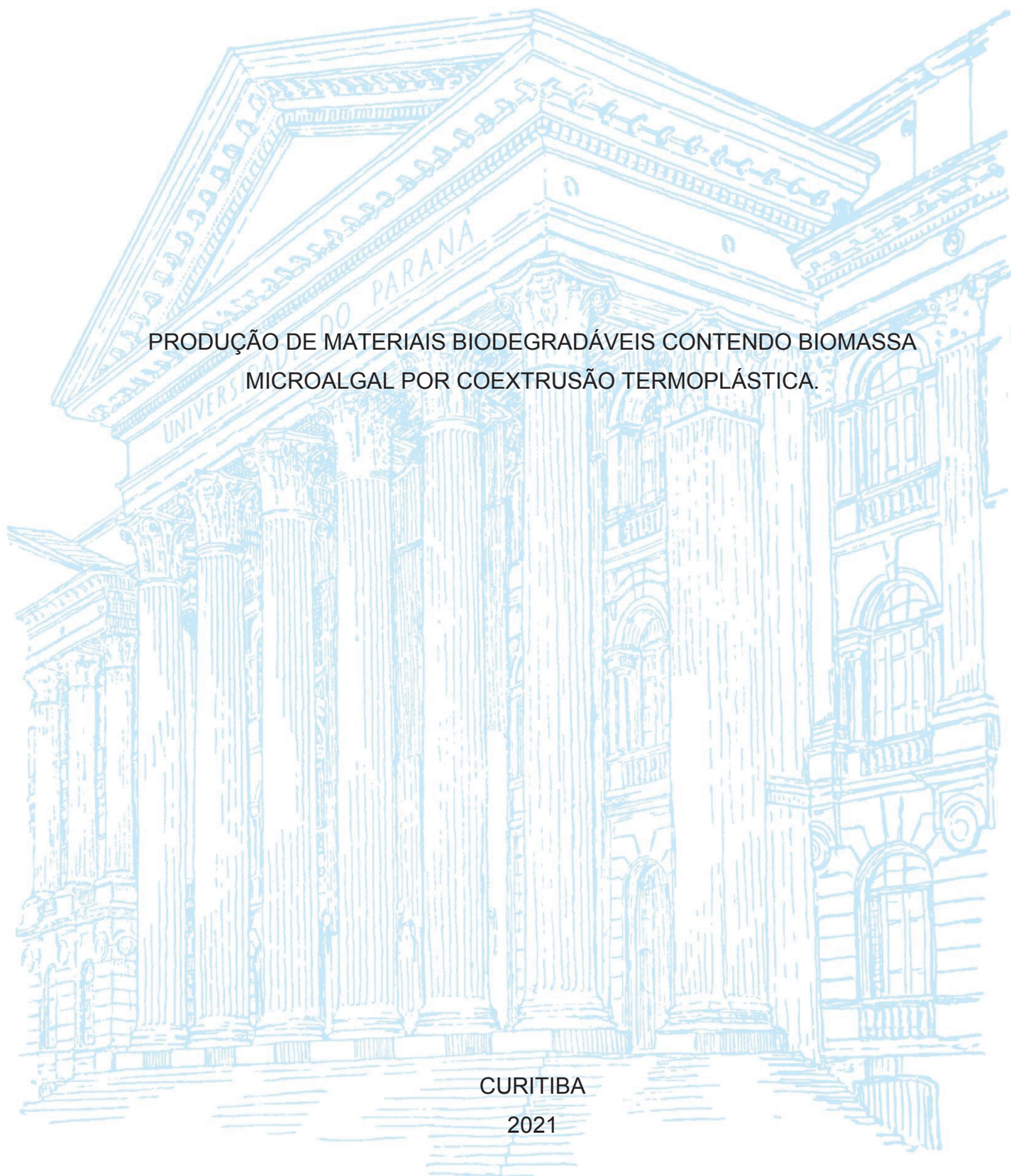
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUIS ALBERTO GALLO GARCÍA

PRODUÇÃO DE MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS CONTENDO BIOMASSA
MICROALGAL POR COEXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA.

CURITIBA

2021



LUIS ALBERTO GALLO GARCÍA

PRODUÇÃO DE MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS CONTENDO BIOMASSA
MICROALGAL POR COEXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Michele Rigon Spier
Coorientador: Prof. Dr Fabio Yamashita

CURITIBA

2021

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

G172p Gallo García, Luis Alberto
Produção de materiais biodegradáveis contendo biomassa microalgal por coextrusão termoplástica [recurso eletrônico] / Luis Alberto Gallo García – Curitiba, 2021.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Michele Rigon Spier
Coorientador: Prof. Dr. Fabio Yamashita

1. Antioxidantes. 2. Permeabilidade. 3. Amido termoplástico (TPS).
I. Universidade Federal do Paraná. II. Spier, Michele Rigon. III. Yamashita, Fabio. IV. Título.

CDD: 664.09

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS - 40001016019P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **LUIS ALBERTO GALLO GARCÍA** intitulada: **Produção de materiais biodegradáveis contendo biomassa microalgal por coextrusão termoplástica**, sob orientação da Profa. Dra. MICHELE RIGON SPIER, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Setembro de 2020.

Assinatura Eletrônica

25/09/2020 11:58:41.0

MICHELE RIGON SPIER

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

30/09/2020 06:38:25.0

SUZANA MALI DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

Assinatura Eletrônica

29/09/2020 15:27:45.0

ANDRE BELLIN MARIANO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Francisco Heráclito dos Santos, 100 - Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-980 - Tel: (41) 3361-3232 - E-mail: posalim@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 53780

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prrpg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 53780

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus, minha família, especialmente meus pais Yunis e Anibal por todo o apoio; meus irmãos Anibal e Rina, tios e primos.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a Michele Rigon Spier e meu coorientador Professor Dr. Fabio Yamashita, por todos os ensinamentos, apoio, luta, compreensão do idioma e ajuda nesta etapa, fico sem palavras, agradecido sempre.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação do PPGEAL da UFPR, que ministraram as disciplinas realizadas neste curso.

À pós-doutoranda Daniele Carpiné do Laboratório de Bioativos, por toda a ajuda, conhecimento e assessoria.

Ao Professor Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuke e a Debora Gonçalves Bortolini pela ajuda e disposição prestada relacionadas as nas análises de compostos fenólicos e de atividade antioxidante.

À Professora Marcia Beux do Departamento de Nutrição da UFPR, pela ajuda e disposição nas análises da atividade antimicrobiana.

Ao laboratório do Professor Yamashita, do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina; a Bruno e Adriana, por toda a ajuda no desenvolvimento dos filmes e análises das propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água.

À Central Analítica do PPGEAL pela ajuda nas análises DSC, em especial à técnica Andrea Bonassoli.

À técnica Grazielli do laboratório LaMIV / TD-NMR do Depto. de Química pela ajuda nas análises de FTIR.

Ao técnico Wanderlei do Amaral do Lab de Tecnologia de Alimentos (PPGEAL/UFPR) pela ajuda prestada nas análises colorimétricas e atividade de água dos filmes.

Ao técnico Ângelo Oliveira do Departamento de Química da UFPR pela ajuda na realização das Análises Termogravimétricas.

À Central Analítica do Departamento de Farmácia pela ajuda prestada nas análises de opacidade.

A meus colegas do laboratório LENGEBIO, Luana, Bianca, Daniel, Pablo e Gabriela, pela ajuda e disposição em todo momento.

A meus colegas e amigos de outros laboratórios, que sempre me ajudarem direta ou indiretamente quando precisei.

Meus amigos de convivência, Pablo, Bruno e Henrique, por toda a ajuda, motivação, força, ensinamentos do idioma e torcida que sempre manifestavam.

Aos meus colegas da Colômbia do laboratório IDAA, em especial ao Prof. Diofanor Acevedo, Profa. Piedad Montero e o Prof. Raul Martelo, e meus amigos do laboratório, Diego, Katherine, João, Kevin, Chepe, Edinson.

Ao Dr. Luis Pérez por toda a ajuda, motivação, força e amizade; também ao Dr. Walter por sua ajuda e parceria.

Ao pessoal que conheci em Pirassununga, obrigado Pedro Luiz, Miagui, Thiago pela convivência, ensinamentos do idioma e parceria.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica, ao Laboratório de Carboidratos do Setor de Ciências Biológicas, e aos técnicos pelos serviços prestados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL), pela oportunidade na formação.

Agradeço também ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida.

Agradeço ao Brasil.

RESUMO

O desenvolvimento de embalagens com propriedades bioativas e de barreira é uma área em crescimento para preservar alimentos específicos. A microalga *C. pyrenoidosa* é uma matéria-prima promissora com potencial para a produção de materiais poliméricos. O objetivo desta pesquisa foi desenvolver materiais biodegradáveis à base de amido termoplástico de milho/poli (adipato *co*-tereftalato de butileno) (PBAT) com adição de biomassa de *Chlorella pyrenoidosa* por coextrusão sopro em balão. Foram avaliadas duas metodologias para romper as paredes celulares da microalga: i) banho ultrassônico e ii) sonicador ultrassônico de ponteira; avaliando diferentes potências e tempos de ultrassom, com o propósito de escolher o binômio adequado desses dois parâmetros e de dois métodos utilizados de ultrassom. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e óptica foram utilizadas para avaliar o efeito das metodologias de rompimento celular. Foram analisadas as propriedades antioxidantes, físico-químicas, de barreira ao vapor de água, térmicas, mecânicas, morfológicas e solubilidade. Comparando a potência empregada pelas duas técnicas de ultrassom a 400 W e 30 min de operação, observou-se que os melhores resultados de avaliação do rompimento de parede celular da microalga foram obtidos com banho ultrassônico (74,65%), frente a um 68,21% no sonicador de ponteira. Mas, a melhor condição para o rompimento das células microalgais foi observado utilizando a sonda ultrassônica, apresentando uma eficiência de 77,88%, empregando uma potência de 450 W e 30 min de operação. Foi possível obter filmes com melhores propriedades mecânicas e de barreira de vapor de água com a adição de células intactas, em comparação com os filmes feitos com a adição de células quebradas. Os extratos etanólicos dos filmes apresentaram atividade de eliminação do radical DPPH e uma capacidade antioxidante pequena frente ao FRAP. Foram identificados os eventos térmicos, temperaturas de degradação, temperaturas de transição vítrea e de fusão dos filmes. Observações de MEV mostraram que os filmes com adição de biomassa assistida com ultrassom apresentaram superfícies irregulares e grosas, com maior formação de aglomerados. Os filmes apresentaram espectros semelhantes na faixa de números de onda de 1000 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} , no qual não foram observadas novas bandas após a adição de células de biomassa de microalgas, ou seja, a interação da matriz polimérica com a biomassa microalgal foram através de interações fracas pois não foram observadas bandas que caracterizem ligações covalentes. O filme apresentou uma aplicação potencial como embalagem activa de alimentos, devido ao seu sistema de proteção à luz ultravioleta conferido pela bio-pigmentação natural da microalga.

Palavras-chave: Coextrusão, TPS, isotermas de sorção, permeabilidade, atividade antioxidante, análises térmicas.

ABSTRACT

The development of packaging with bioactive and barrier properties is a growing area to preserve specific foods. The microalgae *Chlorella pyrenoidosa* is a promising raw material with potential for the production of polymeric materials. The objective of this research was to develop biodegradable materials based on corn/poly thermoplastic starch poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), with the addition of *Chlorella pyrenoidosa* biomass by coextrusion blown into a balloon. Two methodologies were evaluated to break the microalgae cell walls: i) ultrasonic bath and ii) ultrasonic tip sonicator; evaluating different powers and ultrasound times, with the purpose of choosing the appropriate binomial of these two parameters and two methods used of ultrasound. Scanning Electronic Microscopy (SEM) and optics were used to evaluate the effect of cell disruption methodologies. The antioxidant, physical-chemical, water vapor barrier, thermal, mechanical, morphological and solubility properties were analyzed. Comparing the power employed by the two ultrasound techniques at 400 W and 30 min of operation, it was observed that the best results of the evaluation of the microalgae cell wall rupture were obtained with ultrasonic bath (74.65%), compared to 68.21% in the tip sonicator. But, the best condition for microalgae cell wall rupture was observed using the ultrasonic probe, presenting an efficiency of 77.88%, employing a power of 450 W and 30 min of operation. It was possible to obtain films with better mechanical properties and water vapor barrier with the addition of intact cells, compared to the films made with the addition of broken cells. The ethanolic extracts of the films showed an elimination activity of DPPH radical and a small antioxidant capacity against FRAP. Thermal events, degradation temperatures, glass transition temperatures and film fusion temperatures were identified. SEM observations showed that films with the addition of ultrasound-assisted biomass had irregular and coarse surfaces, with greater formation of clusters. The films showed similar spectra in the wave number range of 1000 cm^{-1} to 3500 cm^{-1} , in which no new bands were observed after the addition of microalgal biomass cells, that is, the interaction of the polymeric matrix with the microalgal biomass were through weak interactions because bands characterizing covalent bonds were not observed. The film presented a potential application as active food packaging, due to its ultraviolet light protection system conferred by the natural bio-pigmentation of microalgae.

Keywords: Coextrusion, TPS, sorption isotherms, permeability, antioxidant activity, thermal analysis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DE BIOPLÁSTICOS.....	6
FIGURA 2. ESTRUTURA QUÍMICA DO PBAT	10
FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS COMPONENTES DA EXTRUSORA.....	17
FIGURA 4. PROCESSO DE SOPRO DE FILME.	18
FIGURA 5. METODOLOGIAS USADAS NA OTIMIZAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL.....	25
FIGURA 6. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	27
FIGURA 7. EXTRUSORA MONORROSCA PILOTO	28
FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA EXTRUSORA DE TRÊS CAMADAS	29
FIGURA 9. TEXTURÔMETRO BROOKFIELD	31
FIGURA 10. MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)	32
FIGURA 11. CALORÍMETRO DIFERENCIAL DE VARREDURA.....	35
FIGURA 12 - MICROGRAFIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE CÉLULAS DE <i>C. PYRENOIDOSA</i> ANTES E DEPOIS DA RUPTURA CELULAR EM BANHO ULTRA-SÔNICO (AMPLIAÇÃO × 1500). C: MICROALGAS NATIVAS; B1, B2, B3: RUPTURA CELULAR COM BANHO ULTRASSÔNICO A 10, 20, 30	39
FIGURA 13 - MICROGRAFIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE CÉLULAS DE <i>C. PYRENOIDOSA</i> ANTES E APÓS O ROMPIMENTO CELULAR EM SONICADOR ULTRASSÔNICO DE PONTEIRA (AMPLIAÇÃO × 1500).	40
FIGURA 14. FILME CP2.5	46
FIGURA 15 - MICROGRAFIAS DE FILMES EM 2D E 3D. C: CONTROLE; CP (2.5 E 5.0) CÉLULAS INTATAS; CPUS (2.5 E 5.0) CÉLULAS ASSISTIDAS POR ULTRASSOM. AMPLIAÇÃO (1500X).....	49
FIGURA 16 - TEMPERATURA DE FUSÃO DOS FILMES.....	52
FIGURA 17 - ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA DO FILME CONTROLE.	54
FIGURA 18 - ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA DO FILME CP5.0.	54
FIGURA 19 - ESPECTROS FTIR-DRIFT DOS FILMES	55

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DESENVOLVIMENTO DE BIOPLÁSTICOS POR VÁRIAS TÉCNICAS	15
TABELA 2 - PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES POR EXTRUSÃO	19
TABELA 3 - ROMPIMENTO CELULAR MEDIANTE BANHO E SONICADOR ULTRASSÔNICO	26
TABELA 4 - FORMULAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO, PBAT, GLICEROL E <i>CHLORELLA PYRENOIDOSA</i> (CP)	28
TABELA 5 - CARACTERIZAÇÃO DA MICROALGA <i>C. PYRENOIDOSA</i>	38
TABELA 6 - ESPESSURA, SOLUBILIDADE, OPACIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E UMIDADE DOS FILMES	42
TABELA 7 - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FILMES PELO MÉTODO ABTS, DPPH E FRAP	44
TABELA 8 - PROPRIEDADES MECÂNICAS E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DOS FILMES	45
TABELA 9 - EVENTOS TÉRMICOS PRODUZIDOS NOS FILMES	50
TABELA 10 - TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA (T_g), TEMPERATURA DE FUSÃO (T_m), ENTALPIA DE FUSÃO (ΔH_m) E CRISTALINIDADE DOS FILMES (X)	51
TABELA 11 - PARÂMETROS DO MODELO DE GAB PARA AS ISOTERMAS DE SORÇÃO DE FILMES DE AMIDO/PBAT INCORPORADOS COM BIOMASSA MICROALGAL	53

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

- ABTS^{•+} = *2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico)*
- ANOVA = Análise de variância simples
- AOAC = *Association of Official Analytical Chemistry*
- ASTM = *American Society for Testing and Materials*
- DPPH[•] = *2,2-difenil-1-picrilhidrazina*
- DSC = Calorimetria diferencial de varredura
- Eq. = Equação
- ER = Elongação na ruptura
- ET = Equivalente Trolox
- FRAP = *Ferric reducing ability of plasma*
- FTIR = Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
- GAB = Guggenheim-Anderson-Boer
- MEV = Microscopia eletrônica de varredura
- PBAT *Poly(butylene adipate-co-terephthalate)*
- PVA = Permeabilidade ao vapor de água
- PVC = poli(cloreto de vinila)
- R² = Coeficiente de determinação
- SA = Solubilidade em água
- T_g = Temperatura de transição vítrea
- T_m = Temperatura de fusão
- TEAC = Capacidade antioxidante equivalente Trolox
- TPTZ = *2,4,6-tripyridyl-s-triazine*
- TR = Tensão na ruptura
- U = Umidade
- UE = Umidade de equilíbrio
- UR = Umidade relativa
- UV = Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	3
2.1	OBJETIVO GERAL	3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3.	REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1	BIOPLÁSTICOS	4
3.1.1	Polímeros de fonte fóssil	4
3.1.2	Polímeros de base biológica	5
3.1.2.1	Polímeros biodegradáveis	5
3.1.2.1.1	Agropolímeros ou polímeros extraídos a partir de biomassa	7
3.1.2.1.2	Polímeros produzidos por síntese clássica de monómeros obtidos por bioprocessos	7
3.1.2.1.3	Polímeros obtidos directamente através de processos de fermentação por microrganismos	7
3.1.2.2	Polímeros biodegradáveis de fonte petroquímica	8
3.1.2.2	Polímeros não biodegradáveis	9
3.1.3	Poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT)	9
3.1.4	Amido	10
3.2	BIODEGRADABILIDADE E COMPOSTABILIDADE	12
3.2.2	Biodegradação por perda de massa em solo simulado (ASTM G 160 – 03).	12
3.2.3	Método de Teste Padrão para Determinação da Biodegradação Aeróbica de Materiais Plásticos em Condições Controladas de Compostagem (ASTM D5338-98 (2003).	13
3.2.4	Método de Teste Padrão para Determinação da Biodegradação Aeróbica de Materiais Plásticos Sob Condições Controladas de Compostagem, Incorporando Temperaturas Termofílicas (ASTM D5338 – 15).	14
3.2.5	Extrusão	16
3.2.6	Extrusão-sopro em balão para produção de filmes flexíveis	17
3.2.7	Propriedades mecânicas dos filmes	18
3.2.8	Análises térmica	20
3.2.9	Microalgas	21

3.2.9.1	Pesquisas de polímeros biodegradáveis com adição de biomassa	
microalgal		22
3.1.3	Análise bibliométrica _____	24
3.1.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A REVISÃO DA LITERATURA	
		24
4.	MATERIAL E MÉTODOS _____	25
4.1	MATERIAL _____	25
4.1.1	Caracterização da microalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i> _____	25
4.1.1.1	Avaliação do rompimento da parede celular da microalga por	
ultrassom		26
4.1.1.2	Análise da estrutura da microalga _____	26
4.1.1.3	Determinação do rompimento celular por quantificação celular	
		26
4.1.2	Preparação de filmes biodegradáveis _____	27
4.1.3	Análises de filmes termoplásticos _____	30
4.1.3.1	Capacidade de barreira UV _____	30
4.1.3.2	Permeabilidade ao vapor de água _____	30
4.1.3.3	Solubilidade em água _____	31
4.1.3.4	Propriedades mecânicas _____	31
4.1.3.5	Análise de imagem dos filmes por microscopia eletrônica de	
varredura (MEV)		32
4.1.3.6	Obtenção dos extratos etanólicos _____	32
4.1.3.7	Quantificação de fenólicos totais _____	33
4.1.3.8	Atividade antioxidante ABTS _____	33
4.1.3.9	Atividade antioxidante DPPH _____	34
4.1.3.10	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) _____	34
4.1.3.11	Análises Termogravimétricas (TGA) _____	35
4.1.3.12	Caracterização de grupos funcionais dos filmes por meio da	
técnica DRIFT		36
4.1.3.13	Isotermas de sorção de umidade _____	36
4.1.3.14	Análise estatística _____	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO _____	38
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA MICROALGA _____	38
5.2	Eficiência do rompimento celular _____	38

5.3	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES _____	41
5.3.1	Solubilidade, espessura, opacidade, atividade de água e umidade. 41	
5.3.2	Atividade antioxidante _____	43
5.3.3	Propriedades mecânicas dos filmes _____	45
5.3.4	Morfologia dos filmes _____	48
5.3.5	PROPRIEDADES TÉRMICAS _____	50
5.3.5.1	Análise termogravimétrica _____	50
5.3.5.2	Calorimetria diferencial de varredura _____	51
5.3.6	Isotermas de sorção _____	53
5.3.7	Caracterização dos grupos funcionais dos filmes _____	55
6.	CONCLUSÕES _____	57
	REFERÊNCIAS _____	58

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o aumento da produção de plásticos à base de petróleo resultou numa grande quantidade de resíduos, causando um impacto ambiental significativo (JIAN et al., 2020). De acordo com o último relatório da *Plastics Europe* (2019), a produção mundial anual de plásticos em 2018 atingiu 359 milhões de toneladas, mais 3,1% do que a produção de 2017.

A indústria de embalagens utiliza quantidades significativas de plásticos para aplicações em alimentos, agricultura / horticultura ou dispositivos eletrônicos, onde a embalagem representa o maior campo de aplicações de bioplásticos, estimado em 1,6 milhões de toneladas do mercado total de bioplásticos em 2016 (FABRA et al., 2018). Atualmente, os bioplásticos representam cerca de um por cento das mais de 359 milhões de toneladas de plástico produzidas anualmente. De acordo com os últimos dados de mercado relatados pela *European Bioplastics* (2019) em cooperação com o instituto de pesquisa *nova-Institute*, a capacidade de produção global de bioplásticos deverá aumentar de cerca de 2,11 milhões de toneladas em 2019 para aproximadamente 2,43 milhões de toneladas em 2024. Para resolver este problema, tem havido um grande esforço na produção de materiais que não sejam danosos ao meio ambiente. Dentre os materiais ecológicos / biológicos estão os compostos orgânicos tais como os polímeros naturais.

Existem várias classes de bioplásticos, entre elas, o amido termoplástico (TPS) que é considerado um dos polímeros renováveis mais promissores para substituir os plásticos à base de petróleo (Aung, Shein, Aye & Nwe, 2018; Tian, Yan, Rajulu, Xiang & Luo, 2017), e a sua mistura com poliéster biodegradável é uma estratégia conhecida para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira dos materiais de embalagem à base de amido (GARCIA et al., 2018a). Assim, foram estudadas misturas com poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) (GARCIA et al., 2014; THUNWALL et al., 2008), ácido poliláctico (PLA) (SHIRAI et al., 2016) e álcool polivinílico (PVOH) (SHI et al., 2008), entre outros. Ao misturar uma proteína e um polissacarídeo em soluções, uma solução homogênea é provavelmente formada, devido à boa solubilidade de ambos os componentes em água. No entanto, é bem conhecido que amido em solução aquosa podem demonstrar uma variedade de diferentes interações entre os componentes, tais como proteína-proteína, proteína-

polissacarídeo, polissacarídeo-polissacarídeo e biopolímero-solvente (água) (ABDULMOLA et al., 1996). PODSHIVALOV et al., 2017).

Dadas as políticas governamentais para reduzir a utilização de plásticos não biodegradáveis, espera-se que a procura de PBAT aumente constantemente. Por exemplo, em 2019, o mercado de PBAT representava a capacidade global de produção de 13,4% do mercado global de bioplásticos, sendo o segundo mais demandado depois do PLA, representando 13,9% (European Bioplastics, 2019). O PBAT apresenta custo mais elevado, em comparação com os plásticos convencionais. Para torná-lo economicamente mais competitivo, uma alternativa possível é produzir misturas com amido plastificado (OLIVATO et al., 2011). Ademais, misturá-lo com biomassa microbiana, pode substituir fontes alternativas de biopolímeros que não concorram com os alimentos como foi sugerido pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). Tendo em conta isso, a biomassa de microalgas poderia servir como fonte de biopolímeros que poderiam substituir parcialmente outros biopolímeros obtidos naturalmente a partir da biomassa (FABRA et al., 2018).

O emprego de microalgas também pode servir como agente de reforço de matrizes biodegradáveis e pode trazer diversos benefícios como a diminuição da permeabilidade ao vapor de água, oxigênio (BALTI et al., 2017) e à luz UV; além de agregar aos filmes biodegradáveis propriedades antioxidantes e antimicrobianas, devido à riqueza em compostos bioativos e por ser considerada uma fonte proteica sustentável para o futuro (BATISTA et al., 2017). Desenvolvimento de materiais biodegradáveis utilizando matérias primas de fonte renovável tem gerado interesse na área de embalagens de alimentos, pois poderia reduzir os impactos ambientais (FRIESEN et al., 2015; COLAK et al., 2015). A maioria dos materiais atualmente utilizados em alimentos não biodegradáveis são polietileno, polipropileno, cloreto de polivinilo e tereftalato de polietileno. Por conseguinte, é importante utilizar materiais ecológicos ao invés dos plásticos convencionais para aplicações em que os plásticos são utilizados por períodos curtos e depois descartados (TAVARES et al., 2018).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes biodegradáveis a partir de amido termoplástico de milho/poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) por meio de extrusão-sopro em balão, com concentrações otimizadas de biomassa microbiana. Foram determinadas propriedades antioxidantes, físico-químicas, morfológicas, térmicas, mecânicas e de barreira dos filmes desenvolvidos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver materiais biodegradáveis a base de amido termoplástico de milho/poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) com adição de biomassa microbiana de *Chlorella pyrenoidosa* utilizando a técnica de coextrusão-sopro em balão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente a biomassa da *Chlorella pyrenoidosa*;
- Analisar o efeito do pré-tratamento com ultrassom no rompimento celular da microalga *Chlorella pyrenoidosa*;
- Avaliar a hidrofiliabilidade dos filmes pela solubilidade em água;
- Determinar a atividade antioxidante dos filmes biodegradáveis;
- Determinar as propriedades mecânicas dos filmes;
- Estudar o efeito da adição de células desintegradas (rompidas) da *Chlorella pyrenoidosa* nas propriedades de barreira dos filmes biodegradáveis;
- Analisar a morfologia dos filmes;
- Caracterizar as propriedades térmicas dos filmes;
- Caracterizar os grupos funcionais dos filmes

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BIOPLÁSTICOS

Bioplásticos é um termo genérico que descreve tanto os plásticos de base biológica, nomeadamente os que são feitos de materiais biogénicos, como os plásticos (incluindo os petroquímicos) que são biodegradáveis; na verdade, nem todos os plásticos de base biológica são biodegradáveis (KAWASHIMA et al., 2019). Por outro lado, alguns plásticos biodegradáveis podem ser de origem petroquímica. Portanto, um bioplástico é o plástico que é de base biológica, biodegradável ou ambos. (FOLINO et al., 2020). Atualmente, os bioplásticos representam cerca de um por cento das mais de 359 milhões de toneladas de plástico produzidas anualmente. Mas, com o aumento da demanda e o surgimento de biopolímeros, aplicações e produtos mais sofisticados, o mercado de bioplásticos está crescendo e se diversificando continuamente (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2019).

3.1.1 Polímeros de fonte fóssil

Os bioplásticos descartáveis incluem plásticos de commodities, como polietileno (PE), propileno (PP), cloreto de polivinila (PVC) e tereftalato de polietileno (PET), consistem em uma gama específica ou ampla de polímeros orgânicos sintéticos ou semi-sintéticos de alta massa molecular, geralmente derivados de produtos petroquímicos (DWIVEDI et al., 2019). Um exemplo digno de nota é o “*Plantbottle*”, um material lançado em 2009 pela empresa Coca-Cola, no qual o ingrediente à base de combustível fóssil usado para fazer um ingrediente fundamental no plástico PET foi substituído por materiais renováveis de plantas (30% baseado em planta) (BHAGWAT et al., 2020). Esses materiais plásticos poliméricos têm sido amplamente utilizados e são considerados uma das maiores inovações do milênio. Características de leve, flexível, reutilizável, e de baixo custo fizeram com que sua produção aumentasse quase 10% ao ano desde 1950, o que representa um aumento de ~1,3 milhões de toneladas para > 245 MT nos últimos anos, em um cenário global (DWIVEDI et al., 2019).

3.1.2 Polímeros de base biológica

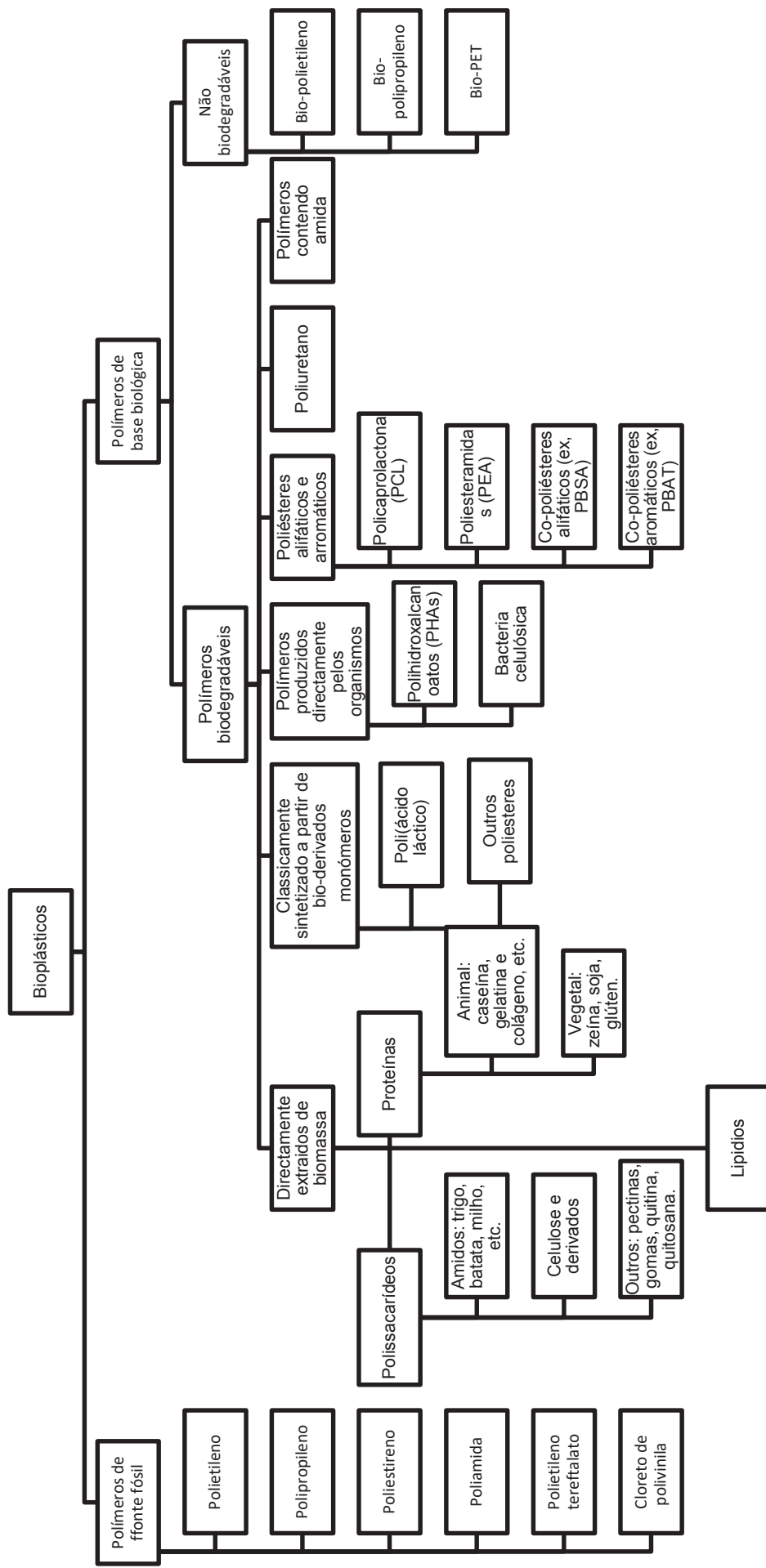
3.1.2.1 Polímeros biodegradáveis

A definição mais comum de um polímero biodegradável é "a capacidade de um material ser susceptível a decomposição em dióxido de carbono, água, metano, compostos inorgânicos, ou biomassa" (AVÉROUS, 2004; YIN e YANG, 2020), pela ação enzimática dos microrganismos no ambiente natural. Em ambientes ricos em oxigênio, ocorre a biodegradação aeróbica e os principais produtos do processo de degradação são a água e o CO₂. Em ambientes onde há falta de oxigênio, é seguido um processo de biodegradação anaeróbica e o principal produto de degradação gasosa é o metano juntamente com o CO₂ (SIEGENTHALER et al., 2010). Podem ser classificados em diferentes tipos, levando-se em consideração as fontes de síntese de seus componentes. Podem ser obtidos diretamente da biomassa (polissacarídeos, lipídeos e proteínas), biopolímeros sintéticos (poli ácido láctico - PLA), ou petroquímicos (policaprolactona - PCL), (poli (butileno succinato-co-adipato) - PBSA), ou a partir de bioprodutos de fermentação microbiana (polihidroxialcanoatos - PHAs, polihidroxibutiratos - PHBs) (FIGURA 1). (ZHONG et al., 2020).

Os polímeros biodegradáveis podem ser definidos como aqueles que sofrem uma alteração significativa na estrutura química sob condições ambientais específicas. Estas alterações resultam numa perda de propriedades físicas e mecânicas, ou aparência do polímero medidas por métodos padrão (MÜLLER et al., 2012), indicando um material totalmente compostável, e atende os critérios de biodegradação, desintegração e qualidade do composto, descritos nestas normas, o que confirma que é um polímero biodegradável conforme a ASTM D 6400, ASTM D5988 e a ASTM D533.

Os biopolímeros são polímeros sintetizados por organismos vivos como amido, celulose, quitosana e proteínas de origem vegetal e animal; e os bioplásticos são os plásticos criados utilizando polímeros biodegradáveis. Os polímeros biodegradáveis podem ser feitos com base em recursos renováveis ou não renováveis. Dois critérios que definem a classificação de biopolímeros ou bioplásticos são: a fonte das matérias primas e a biodegradabilidade do polímero (NAIR et al., 2017).

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DE BIOLÁSTICOS.



FONTE: Adaptado, Avérous, (2004); Müller et al., (2012); Rydz et al., (2018); Bhagwat et al., (2020), modificado pelos autores (2020)

3.1.2.1.1 Agropolímeros ou polímeros extraídos a partir de biomassa

Os agropolímeros são polímeros produzidos a partir de biomassa, os quais são: polissacarídeos, proteínas e lipídeos. Entre os polissacarídeos encontra-se o amido, derivados de celulose e lignina, pectinas, gomas, quitosana etc. As proteínas podem ser classificadas de acordo com a origem, vegetal ou animal. As características de esses polímeros são interessantes para modificação, com o propósito de obter materiais com características adequadas para diversos tipos de aplicação (MÜLLER et al., 2012; RYDZ et al., 2018).

3.1.2.1.2 Polímeros produzidos por síntese clássica de monómeros obtidos por bioprocessos

PLA é o poliéster alifático termoplástico mais extensamente pesquisado. O bloco de construção básico (monômero) do PLA é o ácido láctico, que pode ser produzido por fermentação bacteriana de milho ou amido de batata, de fontes renováveis. Existem vários tipos distintos de PLA devido à composição quiral do ácido láctico: o ácido poli-L-láctico (PLLA) é o resultado da polimerização do ácido L-láctico, ácido poli-D-láctico (PDLA) e poli-D, Ácido L-láctico (PDLLA) (GETME e PATEL, 2020). Este poliéster tem atraído atenção porque é disponível e com custo competitivo, e têm sido amplamente empregados como polímero biodegradável devido a sua rigidez, transparência, processabilidade e biocompatibilidade (RASAL et al., 2010).

3.1.2.1.3 Polímeros obtidos directamente através de processos de fermentação por microrganismos

Entre esses polímeros encontrasse os polihidroxialcanoatos (PHAs), que são polímeros sintetizados por diversas bactérias Gram positivas e Gram negativas, que são armazenados em corpos de inclusão intracelular como reserva de energia (SHIRIVASTAV et al., 2010; VEGA-CASTRO et al., 2016).

Nessa classificação também encontrassem o polihidroxibutirato, que é um membro da família de polihidroxialcanoato (PHA). É um dos bioplásticos de fácil

produção que podem ser produzidos a partir de substratos econômicos ricos em carbonos, como os hidrolisados de lignocelulose (JUNG et al., 2020).

Também encontrasse a celulose bacteriana (BC), que é um biopolímero que constitui cadeias lineares de resíduos de glicose covalentemente ligados entre o carbono 1 e 4 (β 1–4), denominados microfibrilas, com características específicas como polaridade unidirecional e espessura variável (FERNANDES et al., 2020). É produzida por algumas espécies limitadas de bactérias pertencentes ao gênero: *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium* e *Salmonella*; e é encontrada como uma membrana gelatinosa na interface líquido-ar do meio de cultura, tendo uma estrutura molecular semelhante à celulose vegetal, mas processa uma estrutura de rede ultrafina de nanofibras (AHMED et al., 2020). Apresenta boas propriedades químicas e físicas únicas, incluindo boa capacidade de retenção de água, alta cristalinidade, excelente resistência à tração e moldabilidade durante a fermentação, que são mais adequadas para as aplicações de adsorção (CHEN et al., 2020).

3.1.2.2 Polímeros biodegradáveis de fonte petroquímica

Estes polímeros têm uma característica com relação ao esqueleto hidrolisáveis que faz que tenha propriedades interessantes e aplicações potenciais. Entre esses polímeros encontrassem a policaprolactona, poliésteramidas, copoliésteres alifáticos e aromáticos. O custo de produção é a principal barreira para a ampla utilização de esses polímeros (LUCKACHAM e PILLAI, 2011).

Muitos polímeros biodegradáveis foram sintetizados ou são formados na natureza durante os ciclos de crescimento de todos os organismos. Alguns microrganismos e enzimas capazes de degradá-los foram identificados (AVÉROUS, 2007). Hoshi et al. (2019) identificaram vários isolados fúngicos em bioplásticos como (ácido polilático) PLA, PHB (polihidroxibutirato) e PCL (policaprolactona), mediante sequenciamento do gene rRNA. Foram identificados como *Thermomyces lanuginosus* os que foram enterrados em compostagem a 50 °C; para os discos poliméricos em temperaturas mais baixas os isolados foram as cepas de *Aspergillus fumigatus*. Em discos de PCL e PHB foram isoladas linhagens de *Fusarium sp.* no composto e no solo. Além disso, uma cepa foi identificada como *Neocosmosporasp* na superfície do PCL a 25 °C.

Também, demonstrou-se que a degradação de vários plásticos biodegradáveis como PCL, PHB e PLA é mediada por esterases extracelulares microbianas, incluindo lipases e cutinases, causando a hidrólise das ligações éster e despolimerização progressiva (Ishii et al., 2008; Nakamura et al., 2001; Numata et al., 2007; Shat et al., 2008; Tokiwa et al., 2009; Hoshi et al., 2019).

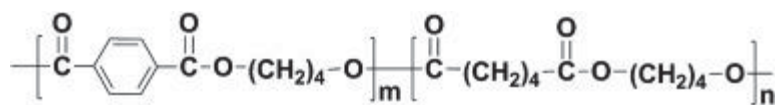
3.1.2.2 Polímeros não biodegradáveis

Plásticos de base biológica e não biodegradáveis em conjunto, incluindo também as soluções *drop-in* de PE (polietileno) e PET de base biológica (tereftalato de polietileno), bem como PA (poliamidas) de base biológica, atualmente compensam mais de 44 % (quase 1 milhão de toneladas) das capacidades globais de produção de bioplásticos. Prevê-se que a produção de PE de base biológica continue a crescer, já que novas capacidades estão planejadas para entrar em operação na Europa nos próximos anos. As intenções de aumentar a capacidade de produção de PET de base biológica, entretanto, não foram quase realizadas na taxa prevista nos anos anteriores, mas na verdade diminuíram. Em vez disso, o foco mudou para o desenvolvimento de PEF (furanoato de polietileno), um novo polímero que deve entrar no mercado em 2023 (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2019).

3.1.3 Poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT)

O PBAT é um poliéster sintético biodegradável e compostável, onde parte do monômero é de fonte renovável e a outra parte de fonte petroquímica (FIGURA 2). É um polímero comercializado sob nome comercial de Ecoflex® (BASF, Alemanha) desde 1998, derivado pela policondensação de tereftalato dimetílico, ácido adípico e 1,4 butanodiol, usando terras raras (Nd, Y, La, Dy) (Zhu et al., 2007). PBAT é adequado para a extrusão de filmes flexíveis na forma pura ou de blendas com outros polímeros biodegradáveis como o amido, possuindo propriedades mecânicas e de barreira semelhantes ao polietileno de baixa densidade (AL-ITRY et al., 2015; GARCÍA et al., 2014).

FIGURA 2. ESTRUTURA QUÍMICA DO PBAT



FONTE: Wang et al., (2015).

3.1.4 Amido

O amido é uma molécula polimérica natural produzida durante a fotossíntese como um alimento de reserva. Devido à sua completa biodegradabilidade, baixo custo e renovabilidade, o amido vem recebendo atenção crescente desde 1970 (LI et al., 2009). O amido é amplamente distribuído na forma de pequenos grânulos como o principal carboidrato de reserva em caules, raízes, grãos e frutos de todas as formas de plantas com folhas verdes. As propriedades físico-químicas e funcionais podem variar de acordo com suas fontes botânicas (TABASUM et al., 2019). É um polissacarídeo de cereais (milho, trigo ou arroz), legumes (ervilha) e tubérculos (batata ou mandioca) (LIU, 2005). Os grânulos de amido são compostos de macromoléculas de amilose e amilopectina, ambos polímeros de glicose. A principal diferença estrutural entre essas macromoléculas é que a amilopectina é uma molécula altamente ramificada com alto peso molecular (1×10^8 g/mol), enquanto a amilose é principalmente uma molécula linear com peso molecular médio de 1×10^6 g/mol. A proporção de amilos : amilopectina depende da fonte de amido e varia de 15:85 a 35:65, exceto no amido ceroso e no amido de milho com alto teor de amilose, cujo teor de amilose é de cerca de 5% e 50-80%, respectivamente (BULEON et al., 1998; ROMERO-BASTIDA et al., 2015).

O amido é usado para obter filmes devido à sua alta disponibilidade e grande capacidade de formar uma matriz polimérica inodora, incolor e transparente (VÁSCONEZ et al., 2009). O amido com alto teor de amilose é um material formador de filme muito útil, pois possui fortes propriedades de gelificação e estrutura polimérica linear helicoidal (JULIANO, 1985).

Filmes feitos com amidos de milho com alto teor de amilose mostram excelentes propriedades de barreira ao oxigênio, menor solubilidade do vapor de água, menor temperatura de retrogradação e propriedades mecânicas mais estáveis com alta umidade relativa (UR) do que aquelas produzidas com amido normal

(STADING et al., 2001). Por outro lado, o aumento do teor de amilose aumenta as características mecânicas e de barreira do nanocompósito formado. Dada a sua geometria molecular linear, a mobilidade da amilose é superior à mobilidade da amilopectina (ROMERO-BASTIDA et al., 2015).

O amido tem sido amplamente utilizado como componente das misturas plásticas poliméricas na forma de amido termoplástico (TPS). O TPS é obtido a partir da quebra dos grânulos quando submetidos a um tratamento mecânico / térmico na presença de um plastificante, resultando em uma matriz homogênea e amorfa (ZULLO E IANNACE, 2009).

3.1.5. Poliuretanos

Os poliuretanos (PU) são compostos por unidades orgânicas unidas por ligações de uretano. Os uretanos são produzidos pela reação entre um isocianato ($R-N=C=O$) e um álcool ($R'-OH$). Quando o álcool é um diol ou macrodiol, e a funcionalidade isocianato vem de diisocianatos ou poliisocianatos, polímeros de PU podem ser sintetizados (XIE et al., 2019). São os materiais poliméricos mais versáteis e únicos que fazem parte da vida cotidiana. São utilizados em edifícios, construções, fabricação de móveis, transporte, embalagem, eletrodomésticos, têxteis e vestuário, eletrônicos, calçados e também remédios (implantes a dispositivos médicos). Suas propriedades físicas e químicas são em grande parte tornadas adequadas para atender às exigências das tecnologias modernas, tais como pinturas, adesivos, fibras e espumas (BALAJI et al., 2017; YIN e YANG, 2020).

3.1.6 Amidas de poliéster

As amidas de poliéster (PEAs) são polímeros sintéticos biodegradáveis com uma combinação de grupos éster ($-COO-$) e amida ($-NHCO-$). O grupo éster hidrolisável confere o caráter degradável, enquanto as ligações amida devido a suas fortes interações de ligação de hidrogênio intermolecular proporcionam as interações mecânicas e resistência térmica ao polímero. Vários PEAs são desenvolvidos a partir de diferentes monômeros incluindo α -aminoácidos, α -hidroxi ácidos, depsipectídeos cíclicos, diácidos graxos, dióis, α , ω -amino álcoois, cloretos de diacilo e carboidratos (BALAJI et al., 2017). As PEAs também são produzidos a partir de óleo de linhaça,

óleo de sementes de nahar, óleo de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth, e óleo de *Pongamia Glabra*. Uma ampla gama de PEAs pode ser produzida variando o éster/amida relação, relação alifática e aromática, hidrofiliçidade, estereoquímica, grau de funcionalização, arquiteturas moleculares (por exemplo, cadeias lineares ou hiperbranqueadas), e distribuição de monômeros (por exemplo, encomendados, em bloco ou aleatórios) (YIN et al., 2016).

3.2 BIODEGRADABILIDADE E COMPOSTABILIDADE

De acordo com a norma ASTM D-5488-94d, biodegradável é a capacidade de um material ser susceptível a decomposição em dióxido de carbono, água, metano, compostos inorgânicos ou biomassa. O mecanismo predominante da degradação é a ação enzimática dos microrganismos presente no ambiente natural. Podem ser medidos por ensaios normalizados, durante um tempo específico, em função das condições de eliminação disponíveis (AVÉROUS, 2004).

Existem diferentes meios (líquido, inerte ou meio sólido de compostagem) para analisar a biodegradabilidade. Compostabilidade é a biodegradabilidade do material utilizando médio de compostagem. Biodegradação é a degradação de um material orgânico causado por um processo biológico, principalmente a ação enzimática dos microrganismos (STEINBUCHER, 2003). Isto conduz a uma alteração significativa na estrutura química do material. Os produtos finais são dióxido de carbono, nova biomassa e água (na presença de oxigênio: aeróbia) ou metano (oxigênio ausente: anaeróbia), tal como definido na norma europeia EN 13432:2000. Infelizmente, dependendo da norma utilizada (ASTM, EN), diferentes condições de compostagem (umidade, temperatura) devem ser realizadas para determinar o nível de compostabilidade (STEINBUCHER, 2003; AVÉROUS, 2004). Então, é difícil comparar os resultados por meio de diferentes condições padrão. Também é necessário considerar a quantidade de mineralização e a natureza do resíduo deixado após a biodegradação (AVELLA et al., 2001).

3.2.2 Biodegradação por perda de massa em solo simulado (ASTM G 160 – 03).

Este procedimento é aplicado em ensaios de materiais sólidos que não sejam maiores do que aproximadamente 2 cm (3/4 in.) de espessura e 100 cm² (20 in.²) de

área, ou em materiais formadores de filme, tais como revestimentos que podem ser ensaiados sob a forma de películas, pelo menos 50 por 50 mm (2 por 2 in.) de tamanho. Diversas propriedades podem ser afetadas pelo ataque microbiano, dependendo das características do material. Recomenda-se que esta prática seja combinada com exposições ambientais adequadas (por exemplo, dispositivos de simulação da exposição à luz solar - fotoperíodo). As condições da técnica estão descritas a seguir:

Solo: o solo deve ser composto por partes iguais de solo superficial fértil (solo com um elevado teor de argila não deve ser usado), esterco de cavalo bem fragmentado, e areia grossa (0,125mm).

Mistura: a composição do solo de 3:1 deve ser preparada misturando e peneirando através da tela de malha 1/4-in (0,635 cm).

Envelhecimento: a mistura é envelhecida por três meses à temperatura de 28 ± 2 °C. Após três meses, um controle de viabilidade é realizada utilizando uma amostra de tecido de algodão (400 a 475 g/m²), é enterrado no solo e devem ter uma perda de resistência à tração de, pelo menos, 50% após cinco dias.

pH: o solo deve ter um pH entre 6,5 e 7,5, verificado periodicamente e mantido através da adição de calcário (CaCO₃ 1M) para aumentar o pH ou enxofre 0,1M para baixar o pH. O pH do solo pode ser obtido pela dispersão de 1 parte de massa do solo em 20 partes de água e é medido com papel indicador, pHmetro, ou por titulação.

Umidade: o solo deve ser mantido entre 20 e 30% de umidade, em função da massa seca do solo. (A porcentagem de umidade é calculada pesando aproximadamente 50 g de uma porção representativa e levando a porção a massa constante, colocando o solo no forno a uma temperatura constante de 101 a 106 °C).

3.2.3 Método de Teste Padrão para Determinação da Biodegradação Aeróbica de Materiais Plásticos em Condições Controladas de Compostagem (ASTM D5338-98 (2003)).

Este método de teste determina o grau e a taxa de biodegradação aeróbica de materiais plásticos na exposição a um ambiente de compostagem controlada em condições de laboratório. Este método de teste foi projetado para produzir resultados reproduzíveis e repetíveis em condições controladas que se assemelham às condições de compostagem. As substâncias de teste são expostas a um inóculo

derivado de composto de resíduos sólidos municipais (exemplo, pedaços de vidro, pedra ou madeira). A compostagem aeróbica ocorre em um ambiente onde temperatura, aeração e umidade são monitoradas e controladas.

Este método foi projetado para produzir uma porcentagem de conversão de carbono da amostra em dióxido de carbono, também para ser aplicável a todos os materiais plásticos que não são inibidores dos microrganismos presentes nas pilhas de compostagem aeróbica. Este método de teste é análogo à ISO 14852.

3.2.4 Método de Teste Padrão para Determinação da Biodegradação Aeróbica de Materiais Plásticos Sob Condições Controladas de Compostagem, Incorporando Temperaturas Termofílicas (ASTM D5338 – 15).

A biodegradação de um plástico dentro de uma unidade de compostagem pode afetar a decomposição de outros materiais envolvidos pelo plástico e a qualidade e aparência resultantes do material compostado. Este método determina o grau ou taxa de biodegradação aeróbica de materiais plásticos na exposição de um ambiente de compostagem controlado em condições de laboratório, a temperaturas termofílicas (50 °C, 55 °C). Este método foi feito para produzir uma porcentagem de conversão de carbono da amostra em dióxido de carbono onde a taxa de biodegradação também é monitorada.

Deve-se selecionar o material plástico para a determinação de biodegradabilidade aeróbica controlada em conjunto com o inóculo da compostagem municipal dos resíduos sólidos (exemplo, pedaços de vidro, pedra ou madeira). Expor os materiais de estudo a um processo de compostagem aeróbica controlada em conjunto com o inóculo. A medição do dióxido de carbono evolui em função do tempo. A porcentagem de biodegradabilidade é obtida pela determinação da porcentagem de carbono na substância testada que é convertida em CO₂ durante a duração do teste. A desintegração do material de teste é determinada visualmente no final do teste e a perda de massa do material pode ser determinada.

Na TABELA 1, são observados diferentes estudos e resultados mais relevantes e significativos, com base na elaboração de filmes biodegradáveis à base de amido / poliéster, por diferentes técnicas.

TABELA 1 - DESENVOLVIMENTO DE BIOLÁSTICOS POR VÁRIAS TÉCNICAS

Materiais-técnica	Aspectos relevantes	Referência
Amido/PBAT-extrusão	O ácido cítrico teve o maior efeito na diminuição da permeabilidade do vapor de água do filme. Adicionando o catalisador (formulação CA / SHP) a resistência à tração do material compatibilizado foi aumentada em 39% (de 3,75 para 5,21 MPa), evidenciando seu efeito na ação do ácido cítrico. Os filmes com ácido cítrico e hipofosfito de sódio apresentaram estruturas mais homogêneas.	García et al., (2014)
Amido de arroz e proteínas de peixe - casting	As proteínas dos peixes foram responsáveis por formar filmes com melhores propriedades mecânicas, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água.	Romani et al., (2017)
Amido de mandioca/PBAT- extrusão	Filmes que continham ácido itacônico (AI) demonstraram melhores propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água em comparação com os filmes controle. Quando foi adicionado hipofosfito de sódio à formulação, foi observada uma melhora na resistência à tração e uma diminuição no alongamento, em comparação com filmes contendo apenas AI.	Garcia et al., (2018b).
PLA/TPS-calandragem-extrusão	A análise morfológica revelou que o ácido cítrico (AC) aumentou a interação entre polímeros e, consequentemente, a adesão interfacial melhorou as propriedades mecânicas e de barreira.	Shirai et al., (2018)
Farinha de banana / policaprolactona (PCL)-extrusão reativa	Os filmes que tinham octanoato de zircônio como catalisador mostraram atividade antimicrobiana contra os microrganismos patogênicos Gram positivos e Gram negativos estudados (<i>E. coli</i> O157: H7 e <i>S. aureus</i>). Isso mostra que filmes ativos com propriedades melhoradas podem ser obtidos em condições de extrusão reativa.	Gutiérrez e Alvarez (2017).
Hemicelulose/CNC-casting	A resistência à água e a barreira do vapor de água dos filmes foram melhoradas com nanocristais de celulose (CNC) e ácido cítrico (AC)	Pereira et al., (2017)
Nanopartículas de dióxido de titânio / PLA - Extrusão	Os resultados indicaram que os filmes de Ecovio® F2224 praticamente não absorveu a radiação ultravioleta.	Mohr et al., (2019)
Embalagens ativas de alimentos à base de proteínas e óleos essenciais (Alecrim, canela, manjericão).	Foram obtidos filmes de proteína de soro de leite com óleos essenciais misturados em diferentes níveis. Filmes com 5% de mistura de óleos essenciais apresentaram a maior capacidade antimicrobiana.	Ribeiro-Santos et al., et al., (2017).
Bioplásticos à base de glúten de trigo processados por extrusão	Observou-se que os bioplásticos feitos com glicol e goma xantana favoreceram um maior grau de reticulação e compatibilidade dos sistemas que incorporaram esses componentes. De fato, o cisalhamento facilitou a interação entre os grupos reativos dos aditivos e os das cadeias proteicas.	Jiménez-Rosado et al., (2019).
Óleo essencial de orégano e aplicação na preservação de filetes de peixes - Extrusão	Observou-se que as propriedades mecânicas, térmicas e de barreira à água dos filmes apresentaram características adequadas para aplicação em embalagens de alimentos, e o óleo essencial não afetou as propriedades essenciais do PBAT	Cardoso et al., (2017)

FONTE: o autor (2020).

3.2.5 Extrusão

A extrusão é um processo bem conhecido, desenvolvido para produzir produtos poliméricos de forma e densidade uniformes. Sua aplicação industrial remonta à década de 1930 (AGBISIT, 2007). É uma das tecnologias de processamento mais amplamente aplicadas nas indústrias de plásticos, borracha e alimentos e, é usada para preparar mais da metade de todos os produtos plásticos, incluindo sacos, filmes, tubos, fibras e espumas. Literalmente, a “extrusão” (da palavra latina *extrudere*) significa a ação de empurrar para fora. Em engenharia, descreve uma operação de forçar um material a sair de um espaço estreito (BERK, 2018).

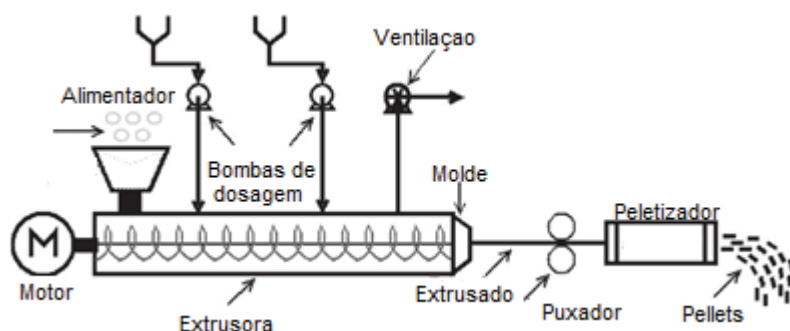
Os biopolímeros também podem ser processados por extrusão. Porém, o processamento de biopolímeros envolve uma interação complexa de vários fenômenos físicos, químicos e termodinâmicos (BOUVIER e CAMPANELLA, 2014). As propriedades do produto final são influenciadas por uma série de fatores, como as condições de transformação, componentes da formulação, interação entre polímeros, aditivos e plastificantes (JARRAY et al., 2016) e dependem, em grande medida, das propriedades inerentes ao biopolímero utilizado (ASHTER, 2016).

A extrusora é o equipamento mais importante na indústria de processamento de polímeros. O material é extrudado quando é empurrado através de uma abertura. A parte do equipamento que contém a abertura através da qual o material é forçado é referida como a matriz da extrusora. Conforme o material passa através do molde, o material adquire a forma da abertura do molde. Esta forma geralmente muda até certo ponto à medida que o material sai da matriz (GILFILLAN et al., 2016).

A extrusão é um processo que promove a mistura rápida, contínua, além da fusão, gelatinização do amido (se houver na composição) e reações químicas em um único processo. Em misturas contendo amido, é importante conseguir a fusão da sua estrutura cristalina e a subsequente homogeneização do material fundido. Durante a extrusão, o rompimento parcial e separação das cadeias de amido é promovida pela combinação de alta temperatura e cisalhamento (SILVA et al., 2013). É uma das técnicas mais utilizadas para o processamento de polímeros à base de amido. Ele permite um manuseio mais fácil na presença de pequenas quantidades de solventes, possui uma ampla gama de condições de processamento e garante uma mistura adequada que minimiza a separação de fases (GILFILLAN et al., 2016).

Durante o processamento, o(s) polímero(s) e outros componentes da mistura são transportados através do tambor aquecido, sendo transformados numa fusão homogênea. O material plastificado é transportado através de um molde. Assim, um sistema de extrusão mantém uma tensão constante sobre o extrudado, que é posteriormente peletizado ou transformado diretamente em filmes (FIGURA 3) (MULLER et al., 2012).

FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS COMPONENTES DA EXTRUSORA.

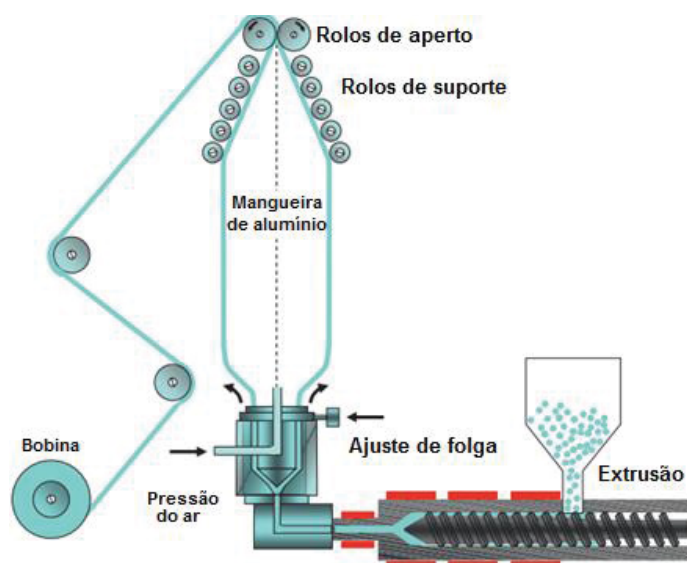


FONTE: Adaptado, Muller et al., (2012).

3.2.6 Extrusão-sopro em balão para produção de filmes flexíveis

Na FIGURA 4 observa-se uma linha de extrusão-sopro em balão para produção de filmes flexíveis. Na saída da extrusora é colocada um cabeçote tubular concêntrico por onde o material extrudado sai na forma de um tubo de filme. O ar é soprado tanto no interior do tubo para que haja expansão do filme quando na superfície externa para que haja um resfriamento do filme. O filme resfriado é compactado e bobinado com a ajuda dos rolos de suporte (WAGNER e JOHN, 2010). A espessura do filme pode-se alterar ajustando o espaço da cabeça de sopro, e a largura do filme pode ser variada controlando o tamanho da bolha de ar (pressão do ar) e a orientação biaxial pela velocidade dos rolos (BRUDER, 2019).

FIGURA 4. PROCESSO DE SOPRO DE FILME.



FONTE: Adaptado, Bruder (2019).

3.2.7 Propriedades mecânicas dos filmes

A determinação das propriedades mecânicas dos materiais é fundamental para o desenvolvimento de embalagens em geral. Estas propriedades, tais como módulo de elasticidade, resistência à tração e alongamento na ruptura, são determinadas a partir de ensaios de tração.

Na TABELA 2 estão apresentadas propriedades mecânicas de materiais biodegradáveis referenciados na literatura, produzidos por extrusão utilizando diferentes composições e misturas de amido/PBAT.

Lendvai et al. (2017) desenvolveram filmes termoplásticos misturados com PBAT e reforçados com silicatos. Os autores demonstraram que a resistência dos filmes foi obtida com um mínimo de 50% de conteúdo de PBAT, enquanto o módulo de tensão diminuiu quando o TPS foi misturado com uma proporção crescente de PBAT. Com o aumento do PBAT, o alongamento na ruptura aumentou. A incorporação de partículas de bentonita (BT) na matriz do TPS atuou como reforço, e resultou no aumento de sua resistência de 11,5 MPa a 20 MPa e o módulo de 655 MPa a 1460 MPa sem afetar significativamente o alongamento na ruptura.

TABELA 2 - PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES POR EXTRUSÃO

Material	Módulo de Young (MPa)	Elongação (%)	Resistência à tração (MPa)	Referência
Filmes de amido/PBAT	50 a 275	17,5 a 85	4 a 14	Brandelero et al. (2010)
Filmes de amido/PBAT	-	35 a 325	3,6 a 6,3	Brandelero et al. (2011).
Filmes de amido/PBAT	23,5 a 38,0	204,75 a 462,17	2,55 a 5,21	Gracia et al. (2014)
Blendas de amido/PBAT	5 a 95	7 a 380	2 a 12,3	Fourati et al. (2018)
Nanocompósitos de amido / PBAT	70 a 135	80 a 600	1,5 a 7,5	Zhai et al. (2010)
Amido/PBAT	29,95 a 74,87	-	5,93	Olivato et al. (2013)
Filmes de amido/PBAT	28 a 85	277 a 540	4,6 a 13,4	Pan et al. (2016)
Filmes de amido/PBAT		175 a 325	4,90 a 6,20	Santos et al. (2014)
Amido /PBAT	33 a 81	488 a 891	6 a 9	Garcia et al. (2018b)
Amido / PBAT	24 a 38	205 a 462	3 a 5	García et al. (2014)
TPS / PBAT / Reforço com silicatos	46 a 1632	2 a 879	4 a 20	Lendvai et al. (2017)

FONTE: o autor (2020).

De acordo com Brandelero et al. (2012) com a adição de óleo de soja (SO) e Tween 80 como surfactante em filmes de TPS / PBAT, resultaram em boa elasticidade devido ao maior teor de amilopectina no amido de mandioca. Filmes formulados com óleo de soja apresentaram um aumento no alongamento de pelo menos sete vezes em comparação com filmes de amido, sugerindo que o SO atuou como plastificante, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e melhorando a processabilidade por extrusão.

Filmes biodegradáveis de PBAT / Óleo Essencial de Orégano (OEO) foram produzidos por Cardoso et al. (2017). Os autores relataram que a presença e formação de picos de bandas relacionadas a compostos funcionais do OEO demonstra sua resistência a altas temperaturas. Uma vez presentes nos materiais finais, estes últimos exibem uma função ativa. A análise térmica permitiu estabelecer uma relação entre as temperaturas de decomposição e os principais compostos antimicrobianos do OEO, ou seja, o carvacrol, o que garante que a extrusão por fusão quente não degrada este composto, uma vez que tanto OEO como os filmes apresentaram temperaturas de degradação superiores a 170 °C e 200 °C, respectivamente.

Filmes de nanocompósitos de amido com extrato de alecrim foram obtidos por extrusão seguida de termo-compressão. Os filmes apresentaram alta atividade antioxidante sem necessidade de encapsular os compostos ativos. A atividade dos

polifenóis foi conservada durante o processo de extrusão devido à estabilidade térmica do extrato de alecrim (ESTEVEZ-ARECO et al., 2019).

Azevedo et al. (2019) produziram filmes de amido termoplástico / proteínas do soro do leite / óleo de alecrim. A adição de óleo de alecrim reduziu as propriedades de tração dos nanocompósitos, tornando-se mais frágeis. Também, o óleo essencial apresentou atividade antioxidante nas concentrações estudadas (4 a 8 g/100 g).

De Campos et al., (2019) obtiveram filmes de TPS/PBAT por extrusão e sopro adicionados com curcumina; esses filmes confeririam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia Coli*. Ao final do teste, os filmes foram removidos das placas e nenhum crescimento bacteriano foi identificado sob elas. Resultados globais indicaram um desempenho antibacteriano dos filmes contendo curcumina.

3.2.8 Análises térmica

No mercado de plásticos, os termoplásticos de alta temperatura são a área mais especializada e de crescimento significativo. As principais áreas nas quais os termoplásticos de alta temperatura são aplicados são o mercado médico e as indústrias automotiva, aeroespacial e eletrônica. Alta temperatura de transição vítrea (T_g) ou alta temperatura de fusão (T_m) e alta temperatura de decomposição são as propriedades térmicas mais cruciais dos termoplásticos de alta temperatura (PETRIE, 2017; CAI et al., 2017). Experimentalmente, a T_g de um determinado material pode ser medida e decidida por vários instrumentos, como DMA – análise mecânica dinâmica, DSC – calorimetria de varredura diferencial e TMA – análise termomecânica (ZHANG e XU, 2020).

A temperatura de transição vítrea, T_g , de materiais poliméricos é um parâmetro complexo que depende de fatores intrínsecos e extrínsecos. A morfologia, cristalinidade, tacticidade, peso molecular e densidade são alguns exemplos de fatores intrínsecos, enquanto os métodos de síntese e caracterização são exemplos de extrínsecos (ZHANG e XU, 2020). Esses fatores determinam a temperatura de transição da fase amorfa entre os estados vítreo e borracha, que desempenha um papel crítico na caracterização e aplicação do polímero (MEYER, 1973). A temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de fusão (T_m) são fatores importantes que devessem ter em conta no estudo de polímeros, porque fornecem

informações sobre o nível de associação entre as cadeias de polímeros. Quando as ligações intermoleculares nas cadeias de polímeros são mais fortes, maiores serão os valores de T_g e T_m ; são parâmetros importantes que definem os limites de temperatura superior e inferior para numerosas aplicações, especialmente para polímeros semicristalinos (ROBERTSON, 1993).

3.2.9 Microalgas

As microalgas são os microorganismos mais abundantes em ambientes aquáticos, incluindo cerca de 72.500 espécies consistentemente catalogadas, que representam 70% de todas as espécies de algas conhecidas globalmente (GUIRY, 2019; QUEIROZ et al., 2020). As microalgas são microorganismos fotossintéticos com alta taxa de crescimento, que podem converter energia solar em energia química através da fixação do dióxido de carbono. Esta terminologia inclui uma variedade de organismos procarióticos e eucarióticos, autotróficos e muitos capazes de se desenvolver heterotroficamente (QUEIROZ et al., 2013; SANTOS et al., 2017; QUEIROZ et al., 2020).

As macroalgas, ou algas marinhas, têm sido usadas como alimento por humanos por milhares de anos. As algas marinhas são cultivadas comercialmente nas águas costeiras em mais de 30 países para alimentos e polissacarídeos (por exemplo, ágar, carragenas, alginatos) (CHISTI, 2018; CHISTI, 2020).

Embora as microalgas sejam usadas comercialmente para produzir aditivos alimentares (por exemplo, pigmentos e corantes; e nutracêuticos (por exemplo, β -caroteno, ou provitamina A) (CHISTI, 2018; CHISTI, 2020), elas não são comumente usadas diretamente como alimentos em nenhuma medida significativa. A microalga verde *Chlorella* é adicionada a alguns alimentos, mas não pode ser usada como alimento a granel humano devido a sua má digestibilidade (Wikfors e Ohno, 2001). Muitos produtos cosméticos à base de extratos de algas e microalgas têm sido comercializados. *C. pyrenoidosa* é uma alga verde usada como suplemento nutricional humano e animal e para a extração de compostos de alto valor como ácidos graxos, pigmentos, carotenóides e xantofilas (Spolaore et al., 2006; HONGYANG et al., 2011), mas também para tratamento de águas residuais e produção de biocombustíveis (PEREZ-GARCIA et al., 2011).

Hoje, as instalações comerciais para a produção de microalgas estão espalhadas pelo mundo. Taiwan, Japão, EUA, China, Brasil, Espanha, Israel, Alemanha e Mianmar são os principais produtores de biomassa microalgal e produtos derivados. A produção anual de biomassa seca de microalgas é de cerca de 19.000 toneladas, gerando cerca de US \$ 5,7 bilhões (RAMÍREZ-MÉRIDA et al., 2017; JACOB-LOPES et al., 2019). *Chlorella pyrenoidosa* é uma espécie de alga verde de água doce amplamente utilizada como suplemento alimentar (GARCIA et al. 2012; WANG e ZHANG 2012). Especificamente a *Chlorella pyrenoidosa* desidratada os países antes mencionados produzem mais de 2500 toneladas (BISHOP e ZUBECK 2012) porque não é apenas considerada uma boa fonte de nutrientes, mas também um alimento funcional devido aos seus efeitos positivos para a saúde (WAGHMARE et al., 2016).

3.2.9.1 Pesquisas de polímeros biodegradáveis com adição de biomassa microalgal

Continuando com as pesquisas que adicionam biomassa de microalgas e macroalgas diretamente à mistura de polímeros, Zeller et al. (2013) estudaram o potencial de microalgas com alto teor de proteína para desenvolver bioplásticos e misturas termoplásticas. Os autores reportaram que a biomassa microalgal com polietileno apresentou diferentes graus de compatibilidade. A *Chlorella vulgaris* exibiu propriedades bioplásticas mais altas, mas devido a um menor grau de compatibilidade com o polietileno, não funcionou tão bem quanto à *Spirulina platensis*. Em misturas, a *Spirulina* teve um desempenho muito melhor de mistura e, portanto, é mais desejável em aplicações comerciais.

Yan et al. (2016) desenvolveram filmes compostos por microalgas / celulose (1:4 m/m), preparados com líquidos iônicos. Os resultados mostraram boa compatibilidade com a celulose, devido às fortes ligações de hidrogênio entre celulose e microalgas. Em geral, os filmes apresentaram boas propriedades térmicas e mecânicas, biodegradabilidade e biocompatibilidade, considerando possíveis candidatos a materiais biodegradáveis ou aplicações médicas.

Os resultados apresentados por Barghini et al. (2010) mostraram que com a adição de 30% de fibra de algas apresentou compatibilidade razoável quando foi misturada com policaprolactona (PCL) e polihidroxibutirato PHB. Além disso, a adição

de biomassa microalgal com umidade de 12% mostrou bom potencial para uso como recheio em polímeros, quando misturados em uma concentração apropriada. A caracterização térmica indicou que as misturas poderiam ser processadas a altas temperaturas sem problemas apreciáveis.

Por outro lado, Fabra et al. (2018) adicionaram diferentes espécies de microalgas (*Nannochloropsis gaditana*, *Scenedesmus* e *Spirulina*) na elaboração de um filme biodegradável, em concentrações de 20% em relação à massa de amido de milho. Os autores relataram que a biomassa de *Nannochloropsis* em forma íntegra foi a microalga mais representativa para gerar materiais de embalagem de alimentos, pois pode substituir parte da matriz de amido. As propriedades de barreira só foram melhoradas com a adição de *Spirulina* e *Scenedesmus*.

Martínez-Sanz et al., (2018) analisaram os efeitos estruturais no processo de gelatinização do amido com adição de biomassa microalgal íntegra em concentrações de 4 g/L. Os autores afirmaram que as espécies incorporadas com *Nannochloropsis* e *Scenedesmus* induziram mudanças estruturais no amido durante a gelatinização, que depende da estrutura da parede celular da microalga. A incorporação de microalgas com paredes celulares permeáveis e/ou fracas no amido pode ser interessante para gerar produtos mais cristalinos e termodinamicamente mais estáveis através da formação de complexos lipídicos amiloides.

3.1.3 Análise bibliométrica

A extrusão de polímeros é uma tecnologia bem estabelecida. A coextrusão tem sido utilizada para combinar dois ou mais polímeros numa única estrutura com várias camadas. No entanto, a coextrusão parece ser a melhor opção uma vez que oferece as vantagens de ser um processo de uma etapa, contínuo e versátil (AVÉROUS, 2009). No entanto, até o momento, não foram encontradas publicações relacionadas à coextrusão de amido termoplástico/PBAT com adição de biomassa de microalgas em sua forma nativa ou quebradas por ultrassons. Tendo em conta isso, foi importante a coextrusão desses materiais e ser usados com o propósito de substituir ou complementar os polímeros não biodegradáveis usados convencionalmente.

Tabela 1-1 Representação das publicações de ocorrências das palavras-chave envolvidas na pesquisa realizada na base de dados Scopus

Palavras- chave	Ocorrência	Base de dados
Extrusion x thermoplastic starch	484	
Coextrusion x thermoplastic starch	4	
Coextrusion x thermoplastic starch x PBAT	0	Scopus
Coextrusion x thermoplastic starch x microalgae	0	

Fonte: <https://www.scopus.com>

3.1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A REVISÃO DA LITERATURA

Atualmente, a produção de plásticos por extrusão foi estudada com a adição de biomassa de diferentes espécies, obtendo produtos de higiene pessoal, recipientes, filmes, sacos, aparelhos elétricos e peças para automóveis. Filmes com propriedades antioxidantes e antimicrobianas também foi feito. Ainda não foi reportada a adição de células rompidas de biomassa de microalgas, mediante a técnica de ultrassom, na mistura de polímeros para produzir bioplásticos por extrusão-sopro. Este estudo pode ser interessante, devido à liberação de componentes intracelulares da microalga, compostos por macromoléculas biológicas tais como lipídios, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos na mistura da fusão polimérica.

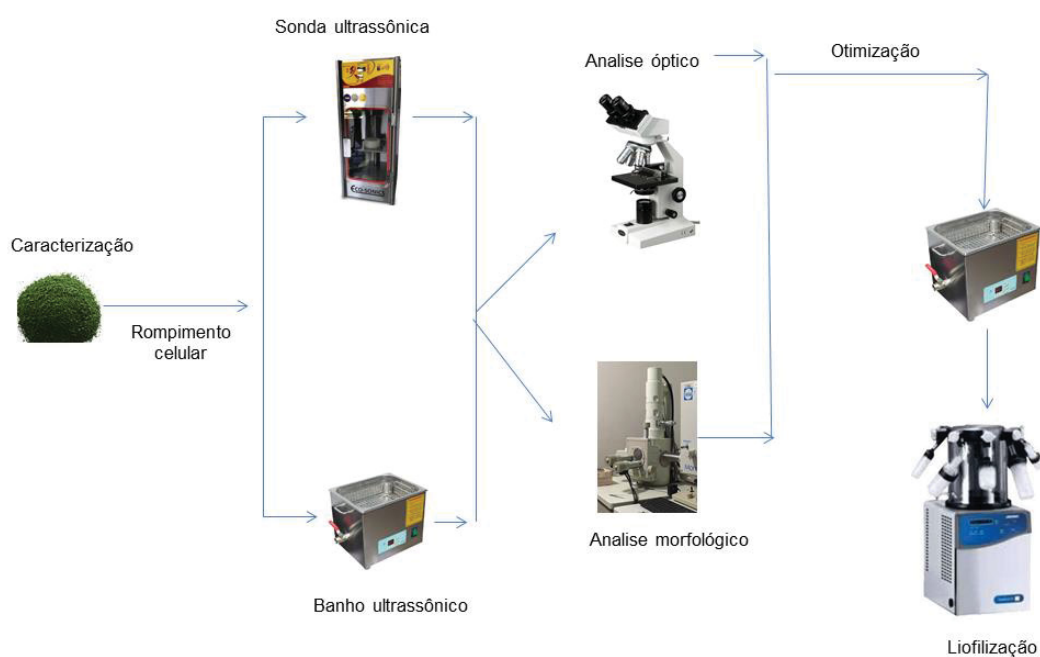
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os filmes foram produzidos com amido de milho nativo (Indemil, Brasil) (12% umidade), poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) sob o nome comercial Ecoflex® F Blend 1200 (BASF, Alemanha), glicerol como plastificante (Chloroquimica, Brasil) e biomassa microalgal de *Chlorella pyrenoidosa* (Xa Bc-Biotech, China).

A seguir na FIGURA 5, estão resumidas as metodologias usadas na otimização da biomassa de microalgas. A descrição de cada uma se apresentará mais adiante.

FIGURA 5. METODOLOGIAS USADAS NA OTIMIZAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL



FONTE: o autor (2020).

4.1.1 Caracterização da microalga *Chlorella pyrenoidosa*

A caracterização físico-química das microalgas foi realizada de acordo com a AOAC (1990). O conteúdo lipídico pelo método de Bligh e Dyer (método 920.39), o conteúdo de proteína bruta por Kjeldahl (método 984.13), a umidade (método 945.39), as cinzas (método 923.03) e os hidratos de carbono por diferença.

4.1.1.1 Avaliação do rompimento da parede celular da microalga por ultrassom

Duas metodologias para o rompimento da parede celular da microalga foram utilizadas: i) banho ultrassônico (Ultronique, Q 3.0/25-A, Brasil) e ii) sonicador ultrassônico de ponteira (Ultronique, QR500, Brasil), utilizando diversas combinações de potência e tempo (TABELA 3). A morfologia da microalga foi observada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e a eficiência na quebra celular foi observada por Microscopia Óptica (MO).

TABELA 3 - ROMPIMENTO CELULAR MEDIANTE BANHO E SONICADOR ULTRASSÔNICO

Banho ultrassônico		
Potência (W)	Tempo (min)	Frequência (kHz)
400	10	30
	20	
	30	
Sonicador ultrassônico		
350	10	
	20	
	30	
400	10	60
	20	
	30	
450	10	
	20	
	30	

FONTES: O autor (2020).

4.1.1.2 Análise da estrutura da microalga

As amostras de biomassa microbianas uma vez liofilizadas foram fixados em fitas de cobre e revestidos com uma fina camada de ouro utilizando um metalizador Denton Vacuum Desk V. As micrografias MEV foram gravadas com um microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM 6360-LV, EUA) no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná (CME-UFPR, Curitiba, PR, Brasil).

4.1.1.3 Determinação do rompimento celular por quantificação celular

Usou-se a metodologia proposta por Zanetti et al. (2019). Um microscópio óptico (Bel Photonics, BIO2B-AC-LED-B, Itália) foi usado para observar a quebra parcial ou total das células da microalga, aplicando a objetiva de 40x de ampliação, utilizando o método de contagem de concentração celular com uso da câmara de

Neubauer para realizar a contagem de células. Considerando que o volume amostral sob cada quadrículo apresenta um volume de 4×10^{-6} mL. A amostra foi diluída previamente (20 vezes) em água destilada. Transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL da amostra diluída homogeneizada para a câmara de Neubauer coberta com uma lamínula, com auxílio de uma pipeta de Pasteur. Cinco quadrículos da diagonal foram contados e também as células que estiveram nas bordas esquerdas e nas bordas superiores. Foram contabilizadas as células intactas (não danificadas). A eficiência (%) foi determinada de acordo a Equação 1.

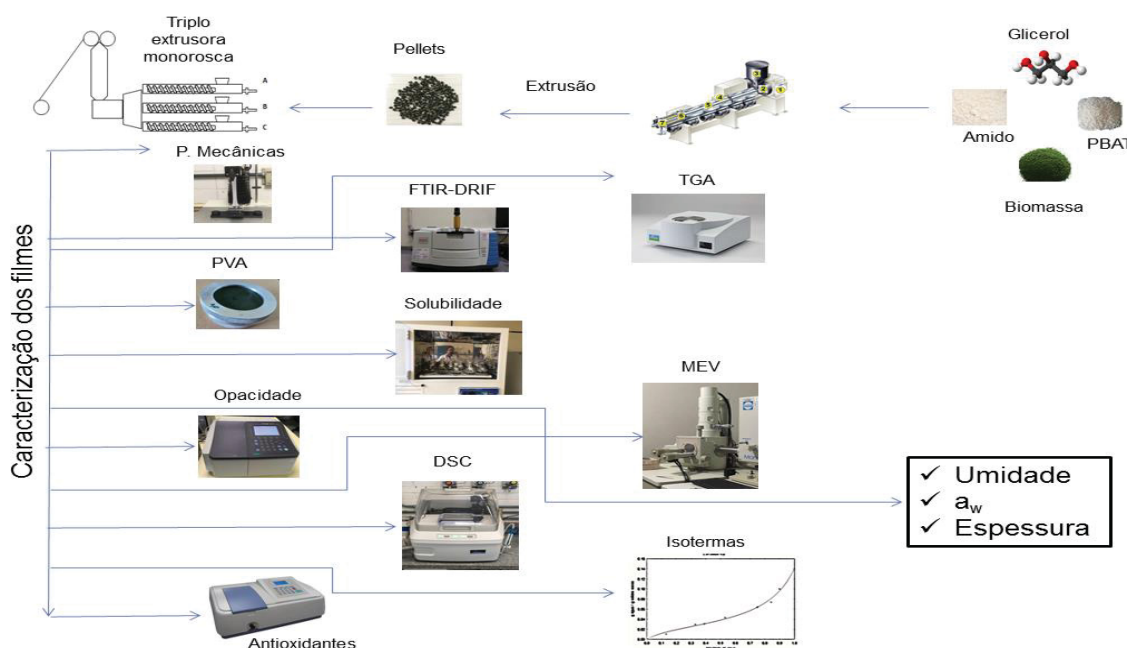
$$E = \frac{C_0 - C}{c} \times 100 \quad (1)$$

onde C_0 e C são as contagens de células intactas (células/mL) da amostra antes e depois da ruptura, respectivamente.

4.1.2 Preparação de filmes biodegradáveis

Na FIGURA 6, estão apresentadas a produção dos filmes e sua respectiva caracterização. A descrição de cada uma das etapas se apresentará mais adiante.

FIGURA 6. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES



FONTE: o autor (2020).

Os filmes foram produzidos no Laboratório de Tecnologia em Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O melhor método de rompimento celular foi usado para romper as células da microalga e utilizada na produção nos filmes biodegradáveis. Foram produzidos filmes sem biomassa microalgal (controle), dois filmes com adição de biomassa microalgal assistida com ultrassom (US) e dois filmes com adição de biomassa microalgal sem tratamento de ultrassom (TABELA 4). Todos os filmes foram produzidos por extrusão-sopro em balão.

TABELA 4 - FORMULAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO, PBAT, GLICEROL E *CHLORELLA PYRENOIDOSA* (CP)

Amostra	Amido (g/100 g mistura)	PBAT (g/100 g mistura)	Glicerol (g/100 g mistura)	CP (g/100 g mistura)
Controle	50,0	30,0	20,0	0,0
CP-US-2.5	47,5	30,0	20,0	2,5
CP-US-5.0	45,0	30,0	20,0	5,0
CP-2.5	47,5	30,0	20,	2,5
CP-5.0	45,0	30,0	20,0	5,0

FONTE: O autor (2020).

Os componentes da formulação dos filmes (amido, glicerol, PBAT e biomassa de *Chlorella pyrenoidosa*), em total 3 kg por cada teste foram misturados manualmente em bandejas de plástico e extrudados em uma extrusora monorroscas piloto (BGM, modelo EL-25, Brasil) com diâmetro de rosca D=25 mm e razão comprimento/diâmetro L/D=28 para produção de pellets. Foi utilizado um perfil de temperatura de 90-120-120-130 °C para as quatro zonas de aquecimento, velocidade de rosca de 40 RPM e uma matriz com seis furos de 2 mm de diâmetro (FIGURA 7).

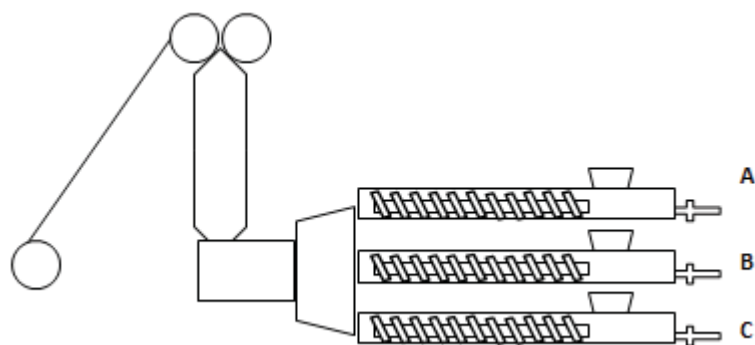
FIGURA 7. EXTRUSORA MONORROSCA PILOTO



FONTE: o autor (2020).

Posteriormente 3 kg de pellets produzidos de cada formulação foram extrudados num sistema de extrusão constituído por três extrusora monorroscas (FIGURA 8) (modelo AX 16:26, AX Plásticos, Brasil) para produzir 5 m de cada filme a uma velocidade de 60 RPM. O perfil de temperatura foi de 110 °C, 110 °C, 120 °C para as três zonas de aquecimento.

FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA EXTRUSORA DE TRÊS CAMADAS



FONTE: O autor (2020).

4.1.3 Análises de filmes termoplásticos

4.1.3.1 Capacidade de barreira UV

Usou-se o método espectrofotométrico UV-VIS (Shimadzu, UV-1800, Japão), de acordo com Zhang et al. (2020). Os filmes foram cortados em retângulos (30×10 mm) e colocados no interior de uma célula espectrofotométrica de quartzo.

A opacidade foi calculada da seguinte forma:

$$Opacidade = \frac{A_{600}}{d}$$

onde A_{600} é a absorvância em 600 nm e d é a espessura do filme (mm).

4.1.3.2 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada pelo método gravimétrico, de acordo com o método da *American Society of Testing and Material* (ASTM E96–00, 2000) com algumas modificações. Os filmes foram fixados em cápsulas de permeabilidade parcial contendo solução salina saturada de cloreto de magnésio, que estabelece um microambiente com umidade relativa de equilíbrio (URE) de $33 \pm 2\%$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. O sistema foi mantido no interior de um dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio ($75,3 \pm 2\%$ URE), criando um gradiente de URE para a passagem do vapor de água para o interior da cápsula.

Foram realizadas pesagens em intervalo de 24 h, até taxa constante de ganho de massa. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada utilizando a Equação 2.

$$PVA = \frac{\frac{m}{t} \times \frac{1}{A} \times e}{p_s \times \left(\frac{UR_1 - UR_2}{100} \right)} \quad (2)$$

Onde: A - área de permeação do corpo de prova (m^2); e - espessura do filme (m); p_s - pressão de saturação do vapor na temperatura de teste (Pa); UR_1 - umidade

relativa no interior do dessecador (%); UR₂ - umidade relativa no interior da cápsula (%).

4.1.3.3 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes foi determinada de acordo com De Oliveira et al. (2016). Discos de 20 mm de diâmetro foram preparados em triplicata. Inicialmente, as amostras foram colocadas na estufa a 105 °C durante 24 h em cadinhos de vidro. Estes foram pesados (m_1 , g) e colocados individualmente em béquer de vidro com 200 mL de água destilada, mantendo-os em banho a 25 °C com agitação a 150 rpm por 24 h. As amostras foram retiradas da água e secas em forno a 105 °C durante 24 h. Os discos foram pesados (m_2 , g) e a solubilidade em água para cada formulação foi calculada pela Equação (3).

$$\text{Solubilidade}(\%) = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} \times 100 \quad (3)$$

4.1.3.4 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram determinadas utilizando um texturômetro Brookfield CT3 (AMETEK Brookfield, EUA) (FIGURA 9), de acordo com o método ASTM-D882-02 (2002). As amostras foram cortadas (60 mm x 25 mm) e condicionadas antes a uma umidade relativa de $53 \pm 2\%$, em solução de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 h.

FIGURA 9. TEXTURÔMETRO BROOKFIELD



FONTE: O autor (2020).

A velocidade da cruzeta foi ajustada a $0,83 \text{ mms}^{-1}$ (50 kg de célula de carga) e a distância inicial entre as garras será de 30 mm. Foram determinados os parâmetros: resistência máxima à tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de Young (MPa) com 10 repetições (FABRA et al., 2018).

4.1.3.5 Análise de imagem dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os filmes foram mantidos em dessecadores com CaCl_2 durante 7 dias antes de ser fraturados em nitrogênio líquido. As amostras foram fixadas em tiras com fita metálica de cobre de dois lados e revestidas com uma fina camada de ouro utilizando um metalizador Denton Vacuum Desk V. As condições de análise foram tensão de aceleração de 20 kV e distância de trabalho de 7 mm no modo de elétrons retroespalhados. Micrografias MEV da superfície e de fratura dos filmes foram gravadas com um microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM 6360-LV, EUA) (FIGURA 10), no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná (CME-UFPR, Curitiba, PR, Brasil).

FIGURA 10. MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)



FONTE: O autor (2020).

4.1.3.6 Obtenção dos extratos etanólicos

A preparação dos extratos da biomassa foi feita de acordo com Zanetti et al. (2019). Para a obtenção do extrato da biomassa utilizou-se 1 g de biomassa seca e 10 mL de etanol anidro (Qhemis, Brasil) e para a obtenção do extrato do filme foi usada a metodologia de Byun et al. (2010). Foram adicionados 0,1 g de filme em 2 mL de etanol. As amostras foram submetidas no banho ultrassônico (36 kHz, modelo L200, Scuster, Brasil) durante 30 min. Depois, foi centrifugado o extrato (3900 x g por 10 min) e recolhido em microtubos do tipo Eppendorf de 2mL.

4.1.3.7 Quantificação de fenólicos totais

A quantificação de fenólicos totais dos filmes foi realizada conforme a metodologia de Singleton e Rossi (1965). Uma solução de carbonato de sódio foi preparada á 15% (m/v), uma solução “mãe” de ácido gálico monoidratado e ácido gálico como padrão para a curva de calibração. A absorbância de cada solução padrão foi medida no comprimento de onda de 765 nm. Para a determinação dos compostos fenólicos em filmes/biomassa, as dissoluções foram preparadas com H₂O, extrato da biomassa/filmes, reagente Folin-Ciocalteu e Na₂CO₃, foram agitadas e mantidas ao abrigo da luz por 30 minutos. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra (mg EAG·g bs⁻¹).

4.1.3.8 Atividade antioxidante ABTS

A capacidade antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) dos filmes foram determinadas pelo método espectrofotométrico descrito por Re et al. (1999), com Trolox (ido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromano-2-carboxico) como um antioxidante convencional. ABTS^{•+} (2,20-azinobis (etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácido 3-ácido). Foi preparada uma solução “mãe” de Trolox na concentração de 2000 µmol/L e uma solução radical de ABTS. Para esta última foi necessário preparar uma solução ABTS em água a 7mM/L e reagida com uma solução de persulfato de potássio a 2,45 mM/L. Foi misturada a solução estoque ABTS e mantida sob o abrigo da luz por 16 h. Após 16 h, foi diluída a mistura da solução radical ABTS, utilizando a solução radical ABTS e água destilada, até obter uma absorbância de 0,7 em 734 nm. O resultado para o TEAC foi obtido comparando a percentagem correspondente de redução da absorbância com a concentração de resposta do Trolox, expressando o resultado

como a massa do extrato, produzindo a mesma percentagem de redução da absorbância que a solução Trolox 1 mM. Todas as análises foram efetuadas em triplicata (BONILLA E SOBRAL, 2017).

4.1.3.9 Atividade antioxidante DPPH

O método DPPH* usado conforme Brand-Williams et al. (1995), que baseia-se na captura de DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) por antioxidantes. Uma solução mãe de Trolox foi preparada na concentração de 2000 μM . Depois, foi preparado o reagente DPPH em álcool etílico, e medida a absorbância da solução a 517 nm, que foi próxima a 2,20. A curva padrão foi preparada a partir da solução “mãe” de Trolox, variando concentrações de 0 a 700 $\mu\text{mol/L}$. Para a determinação da atividade antioxidante (DPPH) dos extratos, a partir das soluções preparadas, foi misturado álcool etílico, radical DPPH e soluções do extrato de filmes, depois foram agitadas e mantidas em ambiente escuro durante 30 min. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox por 100 g de amostra (BONILLA E SOBRAL, 2017).

4.1.3.10 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As propriedades térmicas dos filmes foram determinadas num calorímetro de diferencial de varredura (DSC-8500; Perkin Elmer, EUA) (FIGURA 11). As amostras foram colocadas em uma panelinha de alumínio de 50 μL , e uma panelinha vazia foi utilizada como referência. As amostras foram aquecidas de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e um caudal de 20 mL min^{-1} de nitrogênio líquido. A temperatura de transição vítrea (T_g) foi calculada, tendo em conta o ponto médio da tangente no ponto de inflexão em relação às linhas de base vítrea e gomosa.

FIGURA 11. CALORÍMETRO DIFERENCIAL DE VARREDURA



FONTE: O autor (2020).

Para o cálculo da temperatura de fusão (T_m) foi definido como o ponto em que ocorre o pico endotérmico. Para o cálculo da entalpia de fusão (ΔH_m), foi determinada a área sobre o pico endotérmico (Pérez-Córdoba et al., 2018). O grau de cristalinidade (χ) foi calculado a partir da seguinte equação 4:

$$X = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_{m100}} \times 100 \quad (4)$$

onde ΔH_m é a entalpia de fusão da amostra, e ΔH_{m100} é a entalpia de fusão PBAT na forma cristalina a 100%, que corresponde a um valor de 114 J/g (Chivrac, Kadlecová, Pollet & Avérous, 2006). Os diagramas foram padronizados utilizando o software Pyris Manager.

4.1.3.11 Análises Termogravimétricas (TGA)

A estabilidade térmica e a degradação dos filmes foram analisadas por análise termogravimétrica (TGA) (modelo 4000; Perkin Elmer, EUA). 1g de cada amostra foi pesada e analisada de 25 °C a 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min (CARPINÉ et al, 2015).

4.1.3.12 Caracterização de grupos funcionais dos filmes por meio da técnica DRIFT

Os filmes foram analisados utilizando-se a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). As análises foram realizadas empregando-se um equipamento Vertex 70 (Bruker, EUA), com acessório de refletância difusa (DRIFT), equipado com um cristal de carbono, a 25 ± 2 °C. Os filmes foram acondicionados em um suporte e comprimidos a uma pressão elevada e controlada. As análises foram realizadas na faixa espectral de $600\text{--}4000$ cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} .

4.1.3.13 Isotermas de sorção de umidade

As isotermas de sorção de umidade dos filmes foram determinadas em diferentes umidades relativas (11,8%, 32,8%, 43,2%, 52,9%, 64,5 e 90%) a 25 °C. Amostras de 25 mm x 25 mm foram condicionadas durante 30 dias em CaCl_2 e posteriormente foram colocadas em recipientes contendo soluções salinas saturadas para obter a URE desejada. Os filmes foram pesados até atingir as condições de equilíbrio. A umidade em base seca foi determinada pelo método padrão da AOAC em estufa a 105 °C até massa constante. Todos os testes foram conduzidos em triplicata. Utilizou-se o modelo de GAB (Guggenheim, Anderson e de Boer), dado pela Equação 4, para representar os dados experimentais, onde C é a constante de Guggenheim, k é o calor de sorção das multicamadas, m_0 (monocamada dada em g água/g sólidos) são os parâmetros do modelo, a_w é atividade de água (URE/100) e X_w é a umidade de equilíbrio. O programa Statistica 6.0 foi utilizado para realizar a modelagem.

$$X_w = \frac{C \cdot k \cdot m_0 \cdot a_w}{[(1 - k a_w)(1 - k a_w + C k a_w)]} \quad (4)$$

4.1.3.14 Análise estatística

Os filmes foram produzidos mediante um planejamento inteiramente casualizado em triplicata. Foram feitas análises de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$) para a comparação das médias. Para

a análise estatística dos resultados foi utilizado o programa *Statgraphics Centurion* 16.103.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MICROALGA

Na TABELA 5 observa-se a caracterização química, em base seca, da microalga *C. pyrenoidosa*. Esta espécie microalgal é rica em proteínas (51,58% b.s.), lipídios (23,58% b.s.) e carboidratos (14,48% b.s.). Essa composição é apoiada por Uggetti et al. (2014) que apontou que as algas são compostas principalmente de carboidratos (8–30%), lipídios (5–60%) e proteínas (40–60%). Autores como Singhal et al. (2013), reportaram valores quantificados da mesma espécie de proteína (53%), carboidratos (28%) e lipídeos (2,8); sendo diferentes estes últimos possivelmente pelas condições do cultivo da microalga.

TABELA 5 - CARACTERIZAÇÃO DA MICROALGA *C. PYRENOIDOSA*

Proteína (% b.s.)	Carboidrato (% b.s.)	Lipídio (% b.s.)	Umidade (% b.s.)	Cinzas (% b.s.)
51,58±2,33	15,01±1,3	23,58±1,1	5,27±0,04	4,56±0,12

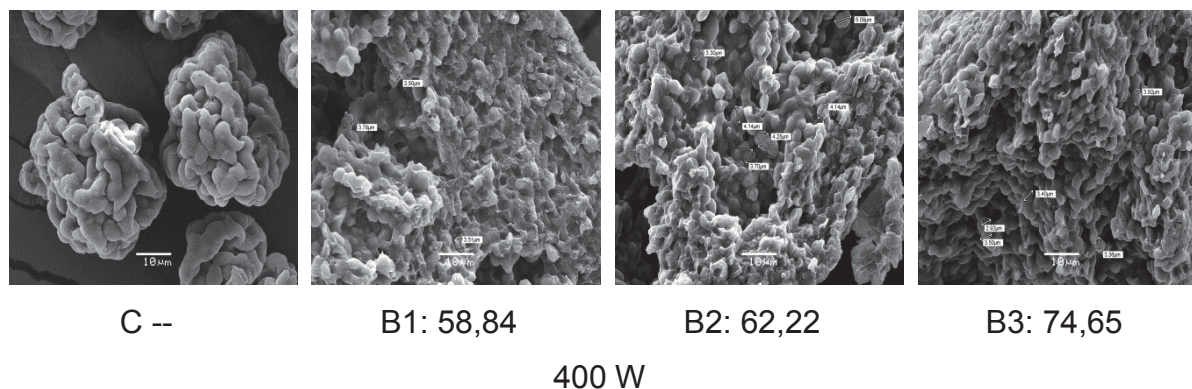
Fonte: O autor (2020)

5.2 Eficiência do rompimento celular

A FIGURA 12 mostra os resultados da eficiência (%) do rompimento celular da microalga no banho ultrassônico de 400 W. Nos testes aplicando um aumento de potência e tempo de operação, as células desintegradas e os detritos celulares (debris celulares) tendem a unir-se porque durante a ruptura celular, as células são expostas à desidratação e a união é mais fácil devido à presença de fluidos celulares, pelo que as células são modificadas. Quando o ultrassom é aplicado em líquido, existem dois mecanismos principais pelos quais as células ou outras estruturas podem ser alteradas: cavitação e fluxo acústico. A cavitação é caracterizada pelo colapso violento de bolhas em um campo de pressão alternado. A cavitação das bolhas na suspensão aquosa de algas produz aumentos severos, localizados e de curta duração de temperatura e pressão, bem como efeitos de microextração e ondas de choque que rompem as células das algas. A cavitação é a produção de microbolhas em decorrência do ultrassom aplicado (SUSLICK e FLANNIGAN, 2008; GERDE et al., 2012). À medida que as microbolhas continuam a se expandir e contrair, elas

eventualmente se tornam instáveis e implodem violentamente, enviando ondas de choque que rompem os materiais circundantes, como as células (MONTALBO-LOMBOY et al., 2010; GERDE et al., 2012).

FIGURA 12 - MICROGRAFIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE CÉLULAS DE *C. PYRENOIDOSA* ANTES E DEPOIS DA RUPTURA CELULAR EM BANHO ULTRASSÔNICO (AMPLIAÇÃO $\times 1500$). C: MICROALGAS NATIVAS; B1, B2, B3: RUPTURA CELULAR COM BANHO ULTRASSÔNICO A 10, 20, 30



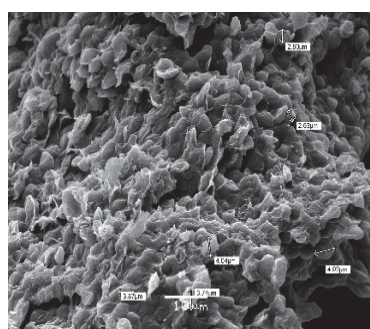
FONTE: O autor (2020).

A FIGURA 13 mostra os resultados da eficiência (%) da ruptura das células da microalga no sonicador de ponta ultrassônica a 350 W, 400 W e 450 W e diferentes tempos de ruptura de células. P1, P4, P7: 10min; P2, P5, P8: 20min; P3, P6, P9: 30min. A mesma tendência de eficiência de rompimento celular foi observada com a aplicação da sonda ultrassônica em comparação com o banho ultrassônico.

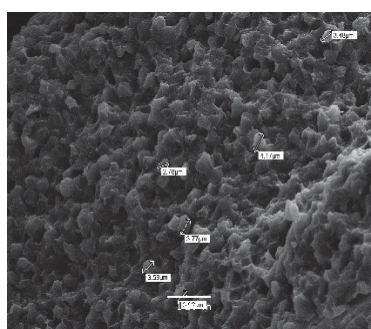
À medida que o tempo de ultrassom aumentava, também aumentava a eficácia do rompimento celular da microalga (43,60%) (FIGURA 13) e, analisando os métodos de rompimento celular, a eficiência da quebra foi maior para potências mais altas (FIGURA 13). A combinação de maior potência e maior tempo de ultrassom (450 W, 30 min) utilizando o sonicador de ponta mostrou melhor eficiência de ruptura celular (77,88%). Zanette et al. (2019) reportaram que a sonicação apresentou maior eficiência de rompimento celular para as três espécies estudadas quando comparada às esferas de vidro. Para *D. tertiolecta*, todas as células foram interrompidas após de 5 min de operação de sonicação. Para *C. minutissima* e *N. oculata*, foram necessários 10 e 15 min para obter 84,2 e 76,8% de interrupção, respectivamente. Resultados similares foram obtidos por McMillan et al. (2013) ao comparar diferentes métodos de disrupção celular para *N. oculata*, com eficiência de 67,7% observada com o uso de

ultrassom. Os efeitos de aumento do aporte de energia, cavitação e *streaming*, são os contribuintes predominantes para a interrupção da célula para aumentar a extração de materiais intracelulares. O mecanismo básico para a ruptura celular assistida por ultrassom envolve a formação de microbolhas no meio líquido, e essas bolhas então colapsam violentamente para criar microturbulência e choque de pressão, durante o qual as células microalgas podem ser mecanicamente perturbadas, e conseqüentemente, os componentes intra-moleculares são rapidamente liberados (HU e BASSI, 2020).

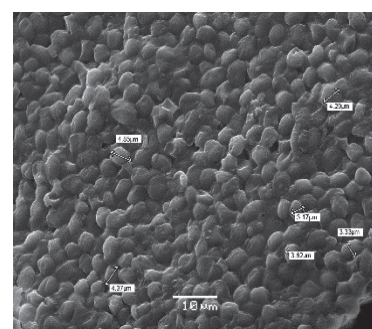
FIGURA 13 - MICROGRAFIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE CÉLULAS DE *C. PYRENOIDOSA* ANTES E APÓS O ROMPIMENTO CELULAR EM SONICADOR ULTRASSÔNICO DE PONTEIRA (AMPLIAÇÃO $\times 1500$).



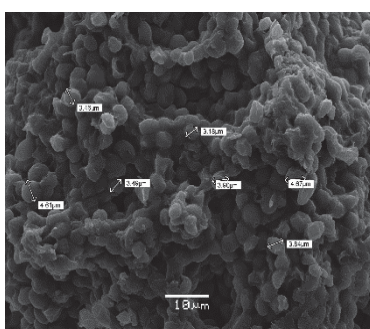
P1: 31,40



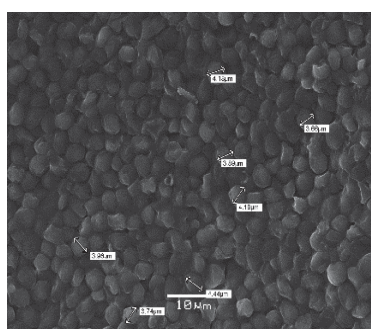
P2: 51,75
350 W



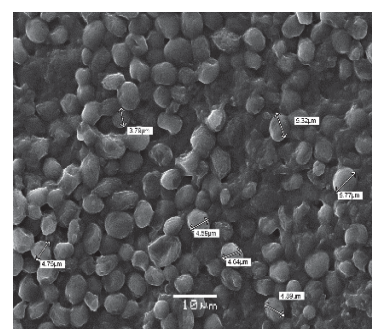
P3: 62,35



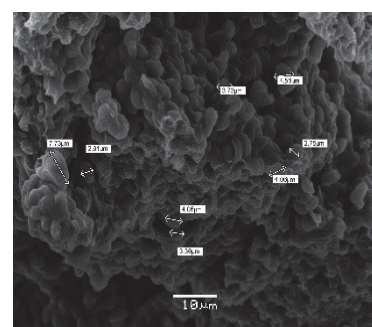
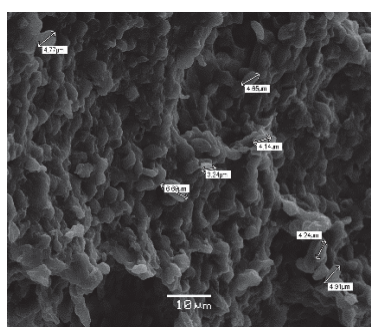
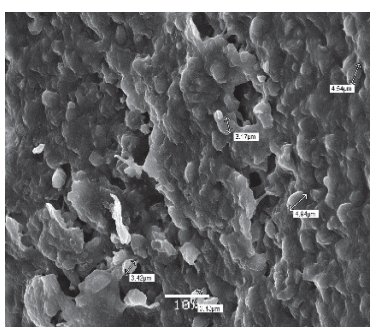
P4: 38,04



P5: 52,85
400 W



P6: 68,21



P7: 43,60

P8: 56,22

P9: 77,88

450 W

FONTE: O autor (2020).

No entanto, comparando as potências assistidas pelas duas técnicas de ultrassom com 400 W e tempos de 10, 20 e 30 min, pode-se observar que os melhores resultados da eficiência da quebra celular foram obtidos com a utilização do banho ultrassônico. Isto se deve ao fato de que durante a aplicação das ondas ultrassônicas este método resulta numa melhor distribuição do efeito ultrassônico em todo o tanque. Isto pode ser observado comparando as micrografias na sua forma nativa (Controle) e, as que se encontram identificadas com a aplicação do banho ultrassônico (B1, B2 e B3).

Tendo em conta a viabilização de operação econômica para aumento de escala do equipamento, a sonda ultrassônica pode apresentar desvantagens em comparação com o bano ultrassônico; uma dessas é a possível contaminação da amostra com metais que se desprendem da sonda. Embora as sondas ultrassônicas modernas sejam feitas de titânio de alta pureza, a contaminação por metais tais como Cr ou Al foi relatado. Conseqüentemente, alguns compostos voláteis de interesse podem ser degradados devido ao aumento da temperatura (SANTOS et al., 2009). Pelo tanto, a aplicação do rompimento celular com o banho ultrassônico pode ser viabilizado com melhor eficiência devido a que não aumenta as temperaturas de operação, consegue melhores resultados na eficiência da quebra celular (comparando as duas técnicas nas mesmas condições de potencia e tempo), ademais de obtenerse com um menor custo de operação.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

5.3.1 Solubilidade, espessura, opacidade, atividade de água e umidade.

Os filmes de amido-PBAT com e sem adição de biomassa microalgal produzidos por coextrusão termoplástica apresentaram, em termos gerais, boa manuseabilidade, flexibilidade e homogeneidade, com superfície lisa para os filmes CP2.5 e CP5.0 e rugosa para os filmes CPUS2.5 e CPUS5.0. Onde estes ultimos não

apresentaram boa processabilidade, com presença de aglomerados ou manchas verdes em toda a superfície.

Na TABELA 6 estão as propriedades físicas como a espessura, solubilidade e opacidade dos filmes biodegradáveis. De forma geral, a espessura dos filmes foi aumentando em relação ao conteúdo da biomassa microbiana presente na formulação; filmes produzidos com biomassa intacta apresentaram espessuras menores que os produzidos com adição de biomassa assistida com ultrassom. A adição de biomassa está diretamente correlacionada com o aumento da espessura dos filmes ($p < 0,05$) e o filme controle não apresentou diferença com a formulação CP2.5, mas apresentaram diferença com os demais tratamentos.

Os filmes biodegradáveis tinham baixa solubilidade após 24 h submersos em água, permanecendo praticamente intactos. As baixas solubilidades são desejáveis porque mantêm a integridade do material quando em contato com produtos com elevado teor de umidade. Os filmes produzidos com biomassa de microalgas apresentaram menor solubilidade do que o filme controle ($p < 0,05$), e os filmes CPUS foram os menos solúveis em água, provavelmente devido à maior liberação de lipídios e outros polissacáridos e fibras de celulose das células, devido à melhor eficiência do rompimento de ultrassom das células de microalgas, tal como discutido anteriormente.

TABELA 6 - ESPESSURA, SOLUBILIDADE, OPACIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E UMIDADE DOS FILMES

Amostras	Espessura (μm)	Solubilidade (%)	Opacidade (%)	a_w	Umidade (%)
C	138,33 \pm 0,03 ^a	6,26 \pm 0,48 ^d	1,08 \pm 0,02 ^a	0,593 \pm 0,00 ^a	21,70 \pm 0,78 ^a
CP-2.5	139,87 \pm 0,02 ^a	5,21 \pm 0,59 ^{bc}	1,27 \pm 0,05 ^b	0,606 \pm 0,01 ^b	23,97 \pm 0,53 ^b
CP-5.0	190,12 \pm 0,01 ^b	4,80 \pm 1,51 ^{bc}	1,77 \pm 0,04 ^d	0,606 \pm 0,01 ^b	23,74 \pm 0,90 ^b
CPUS-2.5	240 \pm 0,04 ^c	3,10 \pm 0,88 ^a	1,49 \pm 0,08 ^c	0,613 \pm 0,00 ^{bc}	24,06 \pm 0,82 ^b
CPUS 5.0	280 \pm 0,09 ^d	4,55 \pm 0,71 ^{ab}	2,17 \pm 0,12 ^e	0,617 \pm 0,01 ^c	23,88 \pm 0,57 ^b

Letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

FONTE: O autor (2020).

A opacidade de um filme é um parâmetro que indica a quantidade de luz que passa por ele e alimentos fotossensíveis precisam ser protegidos com embalagens de alta opacidade (CHAVES DA SILVA et al., 2017). Todos os filmes apresentaram diferenças significativas entre eles ($p < 0,05$). Os filmes produzidos com células intactas de *C. pyrenoidosa* foram menos opacos que os produzidos com biomassa assistida com ultrassom, provavelmente porque as células, ao ser quebradas, liberem mais

pigmentos e se misturaram mais facilmente com o amido e o PBAT. Ademais, este parâmetro foi aumentando com o incremento da biomassa pois as células da microalga são de cor verde. A opacidade dos filmes foi afetada pelo tamanho das partículas distribuídas de forma aglomerada na matriz do amido/PBAT. Na matriz do filme, as partículas grandes bloquearam o caminho da luz e a opacidade do filme aumentou; resultados parecidos foram descritos por Kampeerappun et al. (2007) em filmes compostos de amido de mandioca/montmorilonita.

Chavoshizadeh et al. (2020) obtiveram resultados similares em filmes de glúten de trigo-clorofila-polipirrol, pois tanto a clorofila (verde) quanto o polipirrol (preto) aumentaram a opacidade e reduziu a transparência dos filmes. Nesse sentido, a incorporação de biomassa de microalgas pode aumentar a proteção de componentes alimentares sensíveis à luz da exposição à radiação (FABRA et al., 2017).

A atividade da água (a_w) dos filmes apresentaram diferenças significativas com relação ao controle ($p < 0,05$) e as formulações CP2.5 e CP5.0 apresentaram as menores a_w . Filmes feitos com biomassa nativa e com menor adição de biomassa assistida com ultrassom não tiveram diferenças entre si, mas o filme CPUS-5.0 diferiu dos demais. Ou seja, a incorporação da biomassa nativa ou tratada com ultrassom aumentou a a_w dos filmes, possivelmente por apresentar características mais hidrofílicas que o amido de milho. Devido à disponibilidade de água em materiais higroscópicos, como filmes à base de polissacarídeos, a determinação de a_w é o parâmetro mais relevante, complementando assim a determinação do teor de umidade (LEAL et al., 2019; MÜLLER et al., 2008).

A umidade dos filmes também apresentou diferença significativa com o controle ($p < 0,05$), mas os filmes feitos com biomassa microbiana não diferiram entre si e a adição de biomassa aumentou a umidade dos filmes, na média, em 10,2%. Uma maior umidade pode afetar negativamente as propriedades mecânicas dos filmes, como pode ser observado na redução da resistência à tração na TABELA 8. A incorporação de diferentes materiais pode aumentar a umidade dos filmes de amido/PBAT, devido à aglomeração das partículas e incompatibilidade com a matriz polimérica. Este fato foi reportado por Pinheiro et al. (2017) em nanocompósitos à base de PBAT, que apresentaram aglomeração de nanocristais de celulose nas observações visuais, o que comprometeu o desempenho das materiais.

5.3.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos da biomassa e filmes foram avaliados pelos métodos ABTS⁺, DPPH e FRAP (TABELA 7). A biomassa microbiana em sua composição nativa e tratada com ultrassom apresentou atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP, e uma fonte importante de compostos fenólicos, sendo similar ao encontrado por Batista et al. (2017) na biomassa de *Tetraselmis suecica* (9,2 mg GAE/g), *Phaeodactylum tricornutum* (8,4 mg GAE/g) e *Chlorella vulgaris* (6,4 mg GAE/g), possivelmente pela presença de flavonoides, fenilpropanoides, taninos, ligninas, ácidos fenólicos e seus derivados, sintetizados como metabólitos secundários. Esteves-Areco et al. (2019) reportaram uma quantidade máxima de polifenóis liberados de 4,10 a 16,04 (mg GAE/g) em nanocompósitos de amido obtidos por extrusão/termocompressão com adição de extrato de alecrim de (2,5 a 10,0%). Da mesma forma, Bonilla e Sobral (2017) também incorporaram 1% de extrato de alecrim em filmes de gelatina de pele de porco (GEL) e caseinato de sódio obtidos por *casting*, apresentando uma atividade antioxidante de 3,51 a 4,31 $\mu\text{mol TE/g}$. Marcos et al. (2014) apresentaram valores da capacidade de sequestro do radical DPPH em poliéster com adição de α -tocoferol e extrato de folha de azeitona de 448,49 e 100,20 ($\mu\text{mol TE/g}$), respectivamente.

O extrato etanólico dos filmes não apresentou atividade de sequestro do radical ABTS⁺, pois durante o processo de extrusão-sopro. Possivelmente houve degradação térmica de compostos fenólicos provenientes das algas ou sua concentração baixa não detectada pelo método testado. O extrato etanólico dos filmes com maior concentração de biomassa microalgal apresentou atividade de eliminação de DPPH. As propriedades antioxidantes dos filmes de amido/PBAT contendo biomassa microalgal podem estar relacionadas à presença de compostos bioativos como os ácidos fenólicos (BALTI et al., 2017). Ademais, os polissacarídeos da *Chlorella pyrenoidosa* têm atividade antioxidante devido ao poder redutor e da atividade de sequestro do radical hidroxila, radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e radicais ânion superóxido (CHEN et al., 2016).

TABELA 7 - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FILMES PELO MÉTODO ABTS, DPPH E FRAP.

Amostra	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)	Fenóis totais (mg GAE/g)
C	ND	8,62 \pm 0,09	ND	ND
CP 2,5	ND	8,60 \pm 0,06	ND	ND

CP 5,0	ND	8,65±0,19	1,81	ND
CPUS 2,5	ND	8,50±0,05	ND	ND
CPUS 5,0	ND	9,32±0,03	0,40±0,05	ND
Biomassa nativa	30,93±0,71	9,48±0,15	10,04±2,62	7,20±0,46
Biomassa tratada com ultrassom	30,92±1,08	9,58±0,12	7,32±0,57	6,73±1,05

ND - não detectada

FONTE: O autor (2020).

A capacidade antioxidante no extrato etanólico dos filmes também foi determinada pela capacidade de redução do ferro avaliada pelo FRAP. Os filmes feitos com maior teor de biomassa microalgal apresentaram uma capacidade pequena para reduzir o ferro, mas a maior atividade foi observada no filme com adição de 5% de biomassa intacta, pois o potencial antioxidante de filmes biodegradáveis é geralmente proporcional à quantidade de compostos antioxidantes (GÓMEZ-ESTACA et al., 2009).

5.3.3 Propriedades mecânicas dos filmes

A resistência à tração (RT) do filme controle foi superior a dos filmes que tinham biomassa microbiana, mas a RT variou num intervalo estreito, de 4,15 a 4,96 MPa (TABELA 8).

TABELA 8 - PROPRIEDADES MECÂNICAS E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DOS FILMES.

Amostra	RT (MPa)	AR (%)	MY (MPa)	PVA ($\times 10^{-11}$ g/m.s.Pa)
C	4,96±0,15 ^a	97,38±12,55 ^a	36,55±2,97 ^a	4,53±0,00 ^b
CP-2.5	4,54±0,85 ^{bc}	76,09±13,15 ^{bc}	34,74±7,13 ^b	5,42±0,00 ^{ab}
CP-5.0	4,37±0,24 ^c	88,43±20,24 ^{ab}	34,67±1,37 ^b	5,19±0,00 ^{ab}
CPUS-2.5	4,68±0,29 ^b	70,14±19,12 ^{cd}	36,27±1,54 ^a	5,87±0,00 ^{ab}
CPUS-5.0	4,15±0,69 ^d	59,22±19,74 ^d	34,35±3,40 ^b	6,35±0,00 ^a

a, b, c Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

FONTE: O autor (2020).

A RT dos filmes CP2.5 e CPUS2.5 não apresentaram uma diferença significativa entre eles, o que significa que as células da microalga intactas ou quebradas não afetaram este parâmetro. Além disso, os filmes com menor conteúdo de células intactas ou quebradas apresentaram uma RT maior do que os filmes feitos com maior conteúdo de biomassa (FIGURA 14). Tendo em conta que as proteínas da microalga comportassem como um amorfo desorganizado, e os hidrofílicos proteicos

estão na superfície das proteínas, podem produzir barreiras frágeis e baixa resistência ao movimento de umidade, podendo enfraquecer sua rede tridimensional e afetar negativamente as propriedades mecânicas dos filmes, devido à interação dos aminoácidos polares como Arg, Asp, Gly, His, Gln, lisina, Cys, Trp e Asn que são fontes de nitrogênio disponíveis para *C. pyrenoidosa* (ZHANG et al., 2015). A RT dos filmes foram semelhantes aos reportados por Brandelero et al. (2010), 5 a 6 MPa para os filmes contendo 50% m/m de TPS de mandioca e 50% m/m de PBAT, e Garcia et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes para os filmes de amido/PBAT.

FIGURA 14. FILME CP2.5



FONTE: O autor (2020).

O alongamento na ruptura do filme controle foi mais elevado do que aqueles que tinham na composição biomassa de microalgas, e os filmes contendo 5% de células tratadas com ultrassons apresentaram o alongamento mais baixo. Os filmes contendo microalgas tiveram um alongamento mais baixo devido à presença de uma fase rica em lipídios, prejudicando a compatibilidade das fases, diminuindo o volume livre e a mobilidade molecular da mistura de amido/microalgas. Portanto, a biomassa de microalgas atuou como antiplastificante, aumentando a flexibilidade e a hidrofiliabilidade dos filmes. Este resultado indica que podem estar ocorrendo interações mais fortes da ponte de hidrogênio entre o amido e o extrato de microalgas, o que induz uma diminuição na motilidade molecular e na capacidade de ligação à água (CARISSIMI et al., 2018). Dahle (1971) descreveu que a modificação da proteína por

desnaturação térmica também resultou na perda das propriedades de ligação do amido das proteínas, e um aumento na viscosidade do sistema amiláceo-proteína.

Acredita que a interação entre proteínas e amido é através de uma atração entre o colóide proteico com carga positiva e o colóide proteico com carga negativa. O significado destes componentes menores da proteína granular do amido reside em sua provável capacidade de influenciar o inchaço do amido, a retrogradação e a integridade granular. Uma maneira de estudar as interações amido de milho com a proteína da microalga seria tratar a interação como uma adsorção de proteínas em uma fase sólida (o grânulo de amido). É evidente que a adsorção depende não apenas do tipo de proteína, mas também sobre o amido. Levando em conta as diferenças em áreas específicas entre os vários tipos de amido, a quantidade de proteína adsorvida no amido de milho é menor (APPELQVIST e DEBET, 1997).

Efeito semelhante foi relatado por Tran et al. (2018) para biocompósitos de PVA misturados com lipídios extraídos da biomassa de microalgas (LEA) de *Nannochloropsis salina*. Os autores relataram que a adição de LEA diminuiu gradualmente a resistência à tração de 17,8 para 8,6 MPa e o alongamento na ruptura de 81 para 20% quando a carga de LEA aumentou de 5 para 10 %, respectivamente. Fabra et al. (2017) também relataram valores mais baixos da resistência à tração em filmes de amido/microalgas (*Nannochloropsis gaditana* sp.) em comparação com filmes de amido puro, mudando de 35,7 MPa para 24,0 MPa, mas observaram um aumento no alongamento da ruptura quase cinco vezes superior com a presença de microalgas em comparação com o controle, que foi de 0,33%, resultando em filmes menos rígidos e mecanicamente resistentes.

O módulo de elasticidade dos filmes foi baixo e variou de 34,35 a 36,55 MPa (TABELA 8); o filme controle e CPUS2.5 não apresentaram diferenças significativas, e os demais filmes não apresentaram diferenças entre si. Os filmes tinham uma rigidez semelhante, característica dos filmes plásticos, e a biomassa das microalgas não afetou esta propriedade.

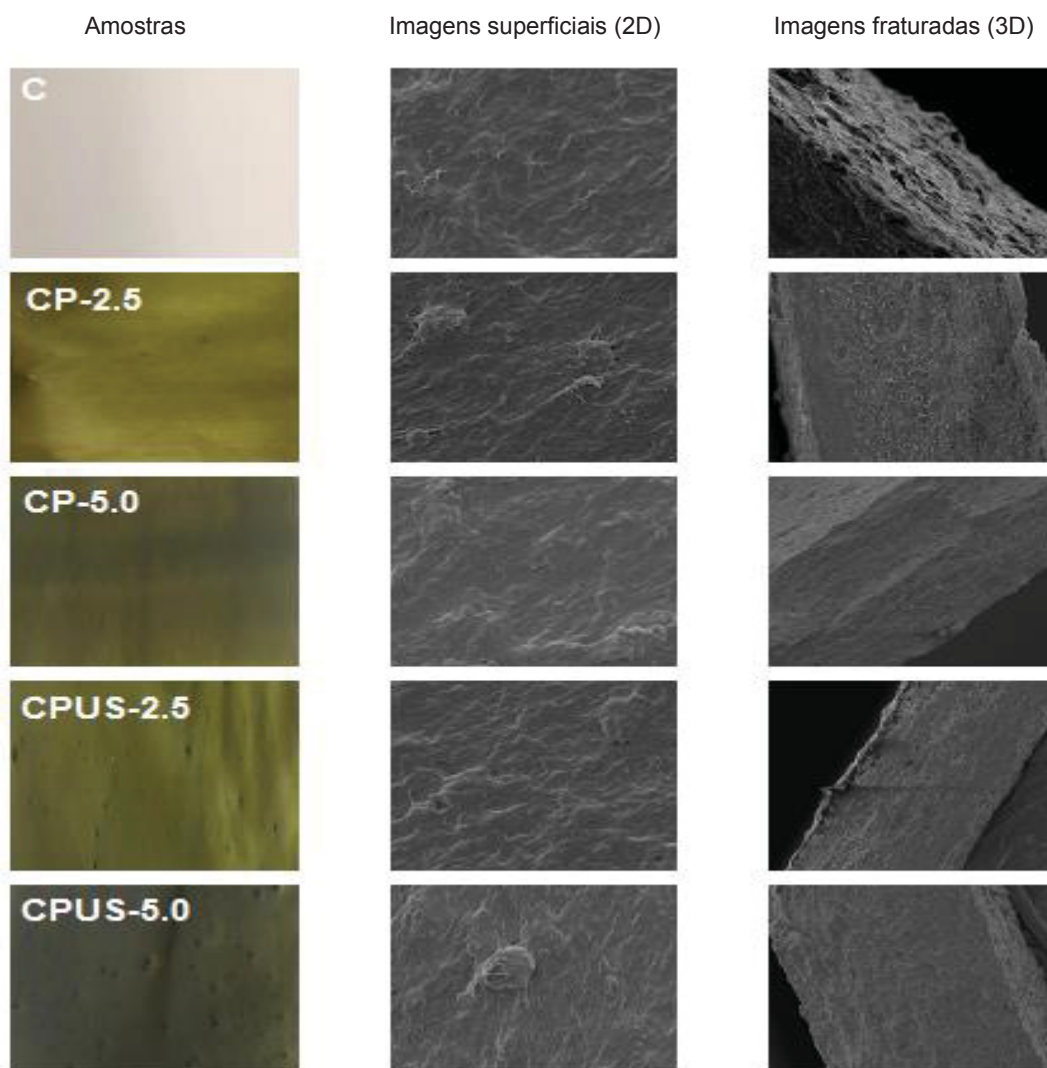
Dependendo da composição da formulação, a interação entre a matriz polimérica de amido/PBAT e as células de microalgas por ligações de hidrogênio e covalentes ou interações intermoleculares fracas têm uma influência significativa na adesão entre estes materiais e, portanto, nas propriedades dos compósitos (TRAN, et al., 2018).

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi relativamente elevada e variou de 4,53 a 6,35 $\times 10^{-11}$ g/m.s.Pa (TABELA 6). Estes valores são altos em comparação a permeabilidade de filmes de polietileno de baixa densidade (7,3-9,7 $\times 10^{-13}$ g/m.s.Pa) e semelhantes a de filmes de acetato de celulose (0,5-1,6 $\times 10^{-11}$ g/m.s.Pa) (GENNADIOS et al., 1994), devido à sua característica hidrofílica do amido e a biomassa microbiana, como discutido anteriormente. Estes resultados estão próximos da PVA de nanocompósitos de amido/PBAT produzidos por Zhai et al. (2020), que apresentaram valores de 5,22 e 6,67 ($\times 10^{-11}$ g/m.s.Pa) com uma adição de 50% e 60% de PBAT na formulação com amido, respectivamente. Resultados parecidos a este estudo foram relatados por Fabra et al. (2018), onde todos os biocompósitos que incorporaram microalgas tinham uma PVA significativamente maior, particularmente com a incorporação de *Scenedesmus*, aumentando de 1,58 para 3,45 $\times 10^{-10}$ g/m.s.Pa.

5.3.4 Morfologia dos filmes

As micrografias da superfície (2D) e a seção transversal fraturada com nitrogênio (3D) dos filmes são apresentados na FIGURA 15. O filme controle mostrou um aspecto homogêneo e suave, semelhante aos filmes feitos com a adição de biomassa de microalgas sem tratamento com ultrassom (CP), e os filmes CPUS mostraram um aspecto mais irregular e grosso, possivelmente porque a interação entre as cadeias de polímeros foi prejudicada pelos componentes das microalgas (FABRA et al., 2018). A interação amido/PBAT/microalgas em filmes feitos com células intactas apresentaram uma morfologia mais compacta e uniforme, provavelmente devido à melhor compatibilidade entre estes polímeros. Por outro lado, existem polissacarídeos funcionais, lipídios e fibras dentro da célula da microalga (Andrade et al., 2014) e quando libertados podem prejudicar a interação entre os componentes na matriz polimérica após a extrusão.

FIGURA 15 - MICROGRAFIAS DE FILMES EM 2D E 3D. C: CONTROLE; CP (2.5 E 5.0) CÉLULAS INTATAS; CPUS (2.5 E 5.0) CÉLULAS ASSISTIDAS POR ULTRASSOM. AMPLIAÇÃO (1500X).



FONTE: O autor (2020).

Também foram observadas pequenas manchas verdes esféricas ou aglomerados distribuídos uniformemente nos filmes CPUS, além da rugosidade aparente na seção transversal, indicando que algumas microalgas permaneceram intactas após a extrusão. Estes detalhes foram também relatados por Fabra et al. (2018) em filmes de amido/microalgas. No caso da microalga *Nannochloropsis*, foram observadas pequenas manchas esféricas brancas (2,6-2,7 μm) distribuídas uniformemente ao longo da seção transversal, como aconteceu neste estudo.

As imagens da seção transversal (fragmentação criogênica 3D) do filme controle mostraram uma morfologia irregular, rugosa e uma estrutura deformada. As películas com microalgas mostraram superfícies de fratura relativamente planas e lisas com fissuras visíveis, o que indicava a característica tipicamente quebradiça dos

materiais à base de amido, bem como a baixa aderência da matriz com as microalgas (ZHAI et al., 2020). Os mesmos resultados foram obtidos por Moustafa et al. (2017) com a condição de 20% de micropartículas de café moídas (CG) na matriz PBAT, exibindo uma superfície rugosa com grandes vazios, indicando uma fraca ligação interfacial entre as partículas CG e a matriz.

5.3.5 PROPRIEDADES TÉRMICAS

5.3.5.1 Análise termogravimétrica

As análises termogravimétricas dos filmes produzidos a partir de TPS/PBAT/ biomassa microbiana apresentaram quatro eventos térmicos (TABELA 9).

TABELA 9 - EVENTOS TÉRMICOS PRODUZIDOS NOS FILMES.

Formulações	Evento 1		Evento 2			Evento 3			Evento 4			Residuo
	Pico (°C)	P (%)	Início (°C)	Pico (°C)	P (%)	Início (°C)	Pico (°C)	P (%)	Início (°C)	Pico (°C)	P (%)	Res (%)
Controle	69,61	2,33	114,69	192,92	17,90	264,92	302,94	34,00	342,98	391,09	32,13	13,64
CP 2,5	67,92	2,23	108,47	186,86	18,71	261,05	300,08	34,80	338,10	389,91	26,36	17,90
CP 5,0	92,99	3,23	117,89	194,77	18,48	257,86	293,53	31,52	334,4	385,88	29,61	17,16
CPUS 2,5	84,24	2,62	112,51	183,5	19,80	264,25	298,57	34,91	338,77	388,40	28,64	14,03
CPUS 5,0	84,58	5,61	118,73	184,17	16,55	264,08	298,06	34,26	334,06	388,74	27,81	15,77

FONTE: O autor (2020).

O primeiro evento ocorreu em temperaturas inferiores ao ponto de ebulição da água e os filmes com maior teor de biomassa apresentaram as maiores perdas de massa. A perda de massa na faixa de 50 °C a 100 °C pode ser atribuída à evaporação de água dos filmes (MORAES et al., 2017; GARCIA et al., 2014).

O segundo evento térmico, cujo pico variou em torno de 184 a 195 °C pode estar relacionado com a degradação do glicerol, pois de acordo com Moraes et al. (2017), a perda de glicerol em folhas biodegradáveis de amido/acetato de celulose plastificado/PBAT ocorreu a 180 °C. Além disso, as porcentagens de perda de massa foram em torno de 18% e a proporção de glicerol nas formulações dos filmes foi de 20%.

O terceiro evento térmico ocorreu na faixa de 294 a 303 °C (TABELA 9), o que corresponde à fase rica em amido (GARCIA et al., 2014; AL-ITRY et al., 2012). Conforme De Campos et al. (2019) e Liu et al. (2013), a degradação térmica do amido

ocorre em uma faixa de 160 °C a 380 °C, dependendo da origem botânica e da razão amilose/amilopectina.

O quarto estágio de degradação dos filmes ocorreu com picos na faixa de 386 a 391 °C e está relacionado com a degradação térmica das moléculas de PBAT (CARDOSO et al., 2017). Além disso, as porcentagens de perda de massa foram em torno de 29% e a proporção de PBAT nas formulações dos filmes foi de 30%.

A degradação térmica da microalga provavelmente ocorreu na faixa de 250 a 450 °C, associado à degradação de carboidratos, proteínas e lipídios, pois de acordo com Figueira et al. (2015) a degradação dos componentes da microalga *Chlorella vulgaris* ocorreu nesta faixa de temperatura.

Esta faixa de temperatura extensa é devido à composição variada da microalga em termos de macromoléculas, sendo, portanto, difícil definir a temperatura de degradação de cada componente. Além disso, a proporção da massa de microalga na composição dos filmes foi de no máximo 5%.

5.3.5.2 Calorimetria diferencial de varredura

A incorporação de biomassa microbiana não afetou a T_g dos filmes, que variou em torno de -32,7 °C (TABELA 10). Bastarracha et al. (2010) relataram valores de T_g em filmes PBAT com niacina de -36,3 a -36,6 °C. Arruda et al. (2015) também reportaram valores da T_g para uma mistura PBAT/PLA 40:60 de -35,1 °C. Spiridon et al. (2020) relataram que a T_g do Ecoflex® puro foi de -28,23 °C na segunda corrida, e que aumentou para -26,81 °C com a incorporação de 60% de amido, indicando uma interação moderada entre Ecoflex® e a superfície do amido.

TABELA 10 - TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA (T_g), TEMPERATURA DE FUSÃO (T_m), ENTALPIA DE FUSÃO (ΔH_m) E CRISTALINIDADE DOS FILMES (X).

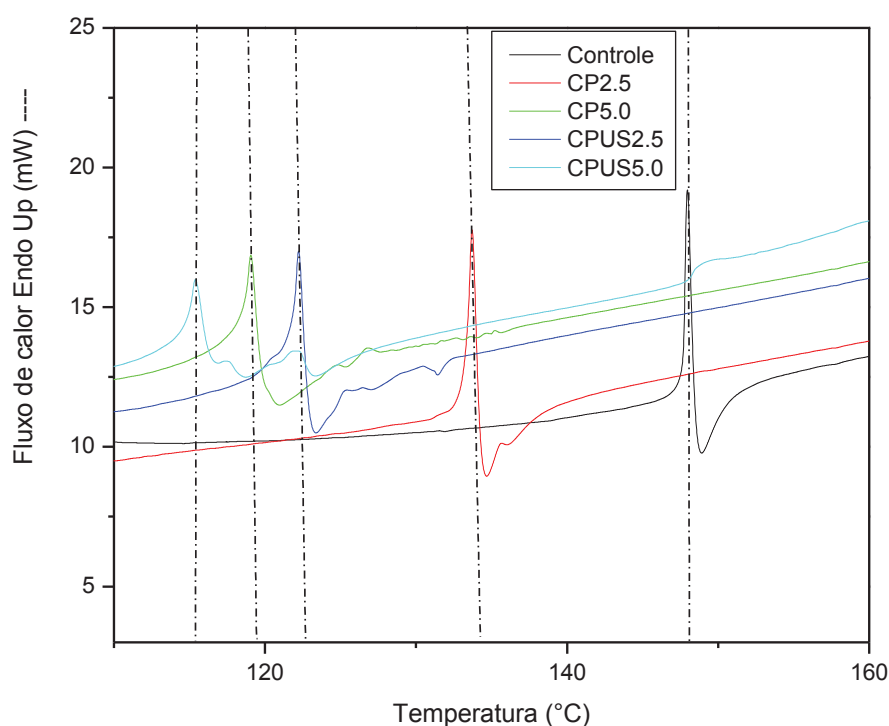
Amostras	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	X (%)
Controle	-32,26	147,70	10,552	9,26
CP-2.5	-33,29	133,44	9,458	8,29
CP-5.0	-33,35	118,80	4,234	3,71
CPUS-2.5	-32,07	121,95	3,904	3,42
CPUS-5.0	-32,58	115,12	2,111	1,85

FONTE: O autor (2020).

O filme controle apresentou um pico de fusão em 147,70 °C (TABELA 10) e o filme CP2.5 teve dois picos de fusão a 133,70 °C e 135,92 °C e o filme CPUS2.5

apresentou o pico de fusão a 123,12 °C e 131,21 °C (FIGURA 17). Os filmes CP5.0 e CPUS5.0 tiveram três picos de fusão a 122,15 °C; 125,13 °C; 127,33 °C e 115,28 °C; 118,46 °C; 123,11 °C, respectivamente (FIGURA 16). A transição perto de 110 °C deve-se à fusão da fase cristalina do amido (LIU et al., 2020), e perto de 125 °C deve-se à fusão da fase cristalina do PBAT. A molécula PBAT tem um segmento rígido de tereftalato de butileno (BT) e um segmento flexível de adipato de butileno (BA) e a temperatura de transição refere-se à fusão de cristais de tereftalato de butileno (DA SILVA et al., 2017; DE CAMPOS et al., 2019).

FIGURA 16 - TEMPERATURA DE FUSÃO DOS FILMES



FONTE: O autor (2020).

Temperaturas de fusão de filmes de PBAT/TPS e PBAT/PLA foram reportados por Gonzalez et al. (2016) e Al-Ltry et al. (2015) na faixa de 143,0°C e 123,0°C, respectivamente, similares aos encontrados neste estudo.

A adição de biomassa microbiana diminuiu o pico endotérmico de fusão dos filmes, provavelmente pela liberação dos lipídios à mistura polimérica. Hernández-López et al. (2019) também relataram que a adição de óleo essencial de pinho em filmes de PLA/PBAT apresentaram uma diminuição na T_m e a faixa da temperatura de

fusão foi ampliada de 150,5 para 146,4 °C com 10% de adição de óleo de pinho na formulação.

Resultados similares foram reportados por Garalde et al. (2019) para filmes de TPS/PBAT, conforme o conteúdo de TPS aumentava, os picos endotérmicos dos segmentos de BA e BT diminuía gradualmente enquanto o pico de fusão do TPS se acentuava. Além disso, o aumento da razão TPS/PBAT levou à diminuição das temperaturas de fusão do TPS.

A entalpia de fusão (ΔH_m) e a cristalinidade (χ) dos filmes diminuía com a adição de biomassa tratada por ultrassom (TABELA 10). De acordo com Walstra (2003) moléculas "estranhas" em um sistema diminui o espaço disponível para o crescimento de cristais, reduzindo assim a sua cristalinidade como foi observado também por Bastarrachea et al. (2010). Desta forma, a biomassa tratada por ultrassom afetou de forma mais acentuadamente a cristalinidade devido ao maior rompimento das células, que liberaram mais biomoléculas de natureza intracelular (proteínas, carboidratos, cloroplasto) à matriz polimérica.

5.3.6 Isotermas de sorção

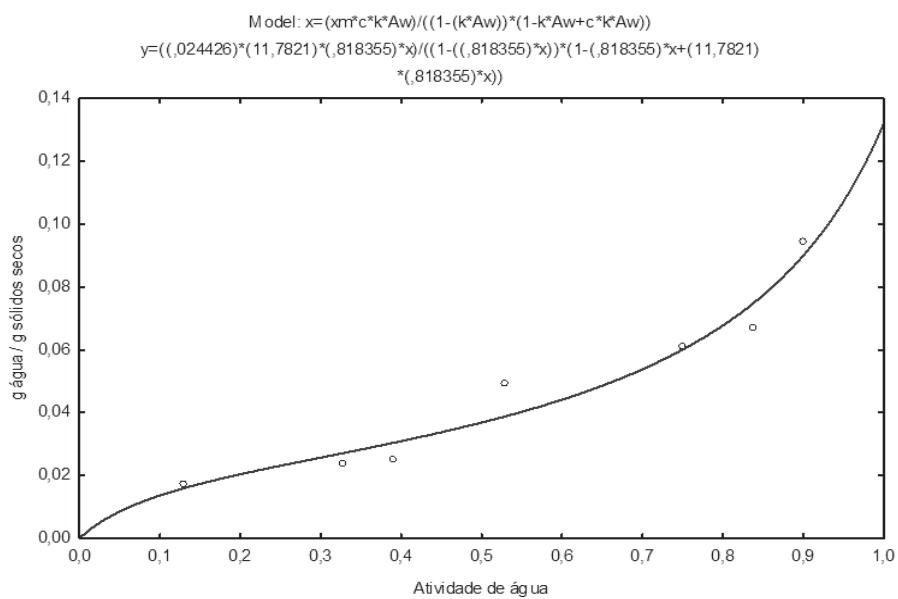
As isotermas de sorção de água a 28 °C dos filmes controle e CP5.0 foram modeladas utilizando o modelo de GAB e os parâmetros da equação estão na TABELA 11. O modelo de GAB ajustou-se bem aos dados experimentais ($R^2 \geq 0,97$) (FIGURAS 17 e 18) e os filmes apresentaram comportamentos semelhantes, com coeficientes parecidos, com exceção do parâmetro C.

TABELA 11 - PARÂMETROS DO MODELO DE GAB PARA AS ISOTERMAS DE SORÇÃO DE FILMES DE AMIDO/PBAT INCORPORADOS COM BIOMASSA MICROALGAL.

Formulação	Parâmetros do modelo de GAB, Temperatura 28°C.			
	C	k	m_0 (g água/100 g filme seco)	R^2
Controle	11,78	0,818	0,024	0,973
CP5.0	7,31	0,813	0,027	0,992

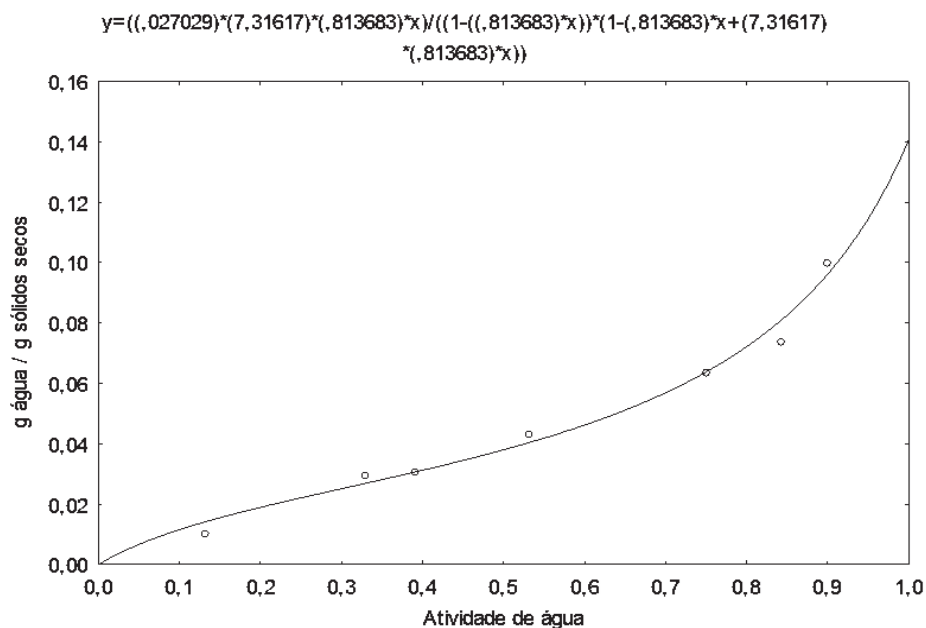
FONTE: O autor (2020).

FIGURA 17 - ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA DO FILME CONTROLE.



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 18 - ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA DO FILME CP5.0.



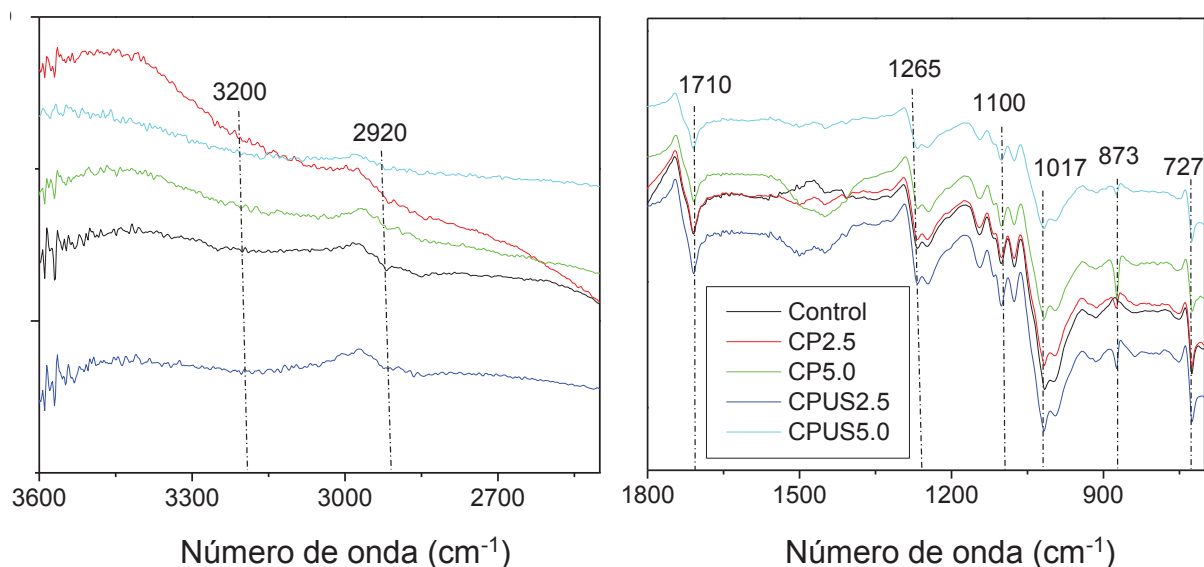
FONTE: O autor (2020).

As isotermas de ambos filmes apresentam uma forma sigmoideal (Tipo II, segundo Brunauer et al., 1940) e a biomassa de algas não afetou de forma expressiva a característica de sorção dos filmes, que de acordo com a isotermas, são altamente higroscópicos.

5.3.7 Caracterização dos grupos funcionais dos filmes

Os espectros de FTIR dos filmes na faixa de números de onda de 1000 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} estão na FIGURA 19. Os filmes apresentaram espectros semelhantes, no qual não foram observadas novas bandas após a adição de células de biomassa de microalgas, ou seja, a interação da matriz polimérica com a biomassa microalgal foram através de interações fracas pois não foram observadas bandas que caracterizem ligações covalentes. Picos em 1017 cm^{-1} podem ser atribuídos à vibração de estiramento C-O nas ligações C-O-C, que está principalmente presente numa ligação glicosídica (ZHAI et al., 2020; GARCIA et al., 2014; OLIVATO et al., 2012). Na região de 1160 a 930 cm^{-1} podem existir bandas de alongamento C-O característico de éter, que estão presentes em polímero e amido (NOBREGA et al., 2012). Os picos em 1100 cm^{-1} podem ser analisados como picos indicativos na identificação do grupo C-O-C no grupo do anel de anidroglicose (MELO et al., 2011).

FIGURA 19 - ESPECTROS FTIR-DRIFT DOS FILMES



FONTE: O autor (2020).

Também se pode observar que o PBAT mostrou um pico típico na faixa de 1710 cm^{-1} referindo-se a um trecho C=O (MOHANTY e NAYAK, 2009; OLIVATO et al, 2012; NARAYAN et al., 2009), uma banda de estiramento trans na ligação -CH₂ a 1448 cm^{-1} e uma banda de estiramento simétrica do éster C-O na banda a 1265 cm^{-1} (NARAYAN et al., 2009; CAI et al., 2012; LI et al., 2018), enquanto a banda perto de 2920 cm^{-1} corresponde à estiramento C-H (SANTOS et al., 2014). A banda de

absorção na faixa de comprimento de onda 3200-3400 cm^{-1} ocorre normalmente devido à presença de grupos hidroxil (-OH), que pode ser atribuída à existência de interações de ligação H entre os componentes do filme durante o processo de produção (NARAYAN et al., 2009; MOHANTY e NAYAK, 2009; SANTOS et al., 2014); mais neste estudo, não houve um pico característico desses grupos funcionais nesta faixa. Os picos a 873 cm^{-1} e 727 cm^{-1} representam vibrações de flexão fora do plano do anel de fenileno (TAVARES et al., 2018).

6. CONCLUSÕES

A caracterização físico-química da microalga mostrou ter uma composição alta de proteínas e lipídios.

O processo de rompimento celular da microalga *Chlorella pyrenoidosa*, mediante banho ultrassônico foi otimizado, viabilizando a produção de filmes biodegradáveis por extrusão termoplástica com adição da biomassa microalgal.

A biomassa microalgal favoreceu a solubilidade dos filmes, reduzindo este parâmetro com a presença de biomassa tratada com ultrassom.

Os filmes apresentaram atividade antioxidante nos extratos etanolicos frente a radical DPPH e FRAP nos com maior conteúdo de biomassa microalgal.

Foi possível obter filmes com melhores propriedades mecânicas e de barreira de vapor de água com a adição de células intactas, em comparação com os filmes feitos com a adição de células quebradas.

Observações de MEV mostraram que os filmes com adição de biomassa assistida com ultrassom apresentaram superfícies irregulares e grossas, com maior formação de aglomerados.

Foram identificados os eventos térmicos, temperaturas de degradação, temperaturas de transição vítrea e de fusão dos filmes.

Os grupos funcionais dos filmes foram identificados pela técnica DRIFT.

Foi possível produzir filmes por coextrusão termoplástica com a adição de biomassa de *Chlorella pyrenoidosa*. O filme apresentou uma aplicação potencial como embalagem activa de alimentos, devido ao seu sistema de proteção à luz ultravioleta conferido pela bio-pigmentação natural da microalga.

O processo de ultrassom aplicado à ruptura de células de microalgas não é recomendado porque não apresentou vantagens nas propriedades desejáveis dos filmes, quando comparado com o processo sem ultrassom; e porque é uma operação unitária que aumenta os custos do processo.

REFERÊNCIAS

- ABDULMOLA, N. A., HEMBER, M. W. N., RICHARDSON, R. K., MORRIS, E. R. Application of polymer blending laws to starch-gelatin composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 31, n. (1-2), p. 53-63, 1996.
- ABRAL, H., DALIMUNTHE, M. H., HARTONO, J.; EFENDI, R. P.; ASROFI, M.; SUGIARTI, E.; KIM, H. J. Characterization of tapioca starch biopolymer composites reinforced with micro scale water hyacinth fibers. **Starch-Stärke**, v. 70, n. 7-8, p. 1700287, 2018.
- ADILAH, Z. A. M.; JAMILAH, B.; HANANI, Z. A. N. Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 207–218, 2018.
- AGBISIT, R.N.M. Relationship between material properties and microstructure—mechanical attributes of extruded biopolymeric foams (Doctoral dissertation), Kansas State University, 2007.
- AHMED, J., GULTEKINOGLU, M., EDIRISINGHE, M. Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications. *Biotechnology Advances*, 107549, (2020).
- AL-ITRY, R.; LAMNAWAR, K.; MAAZOUZ, A.; BILLON, N.; COMBEAUD, C. Effect of the simultaneous biaxial stretching on the structural and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends at rubbery state. **European Polymer Journal**, v. 68, p. 288-301, 2015.
- ARFAT, Y. A.; AHMED, J.; EJAZ, M.; MULLAH, M. Polylactide/graphene oxide nanosheets/clove essential oil composite films for potential food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.107, p. 194–203, 2018.
- American Society for Testing and Materials (ASTM) E96/E96M-16. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Disponível em: <https://www.astm.org/Standards/E96>. Acesso em: 20 de fevrero de 2019.
- AUNG, S. P.; SHEIN, H. H.; AYE, K. N.; NWE, N. Environment-Friendly Biopolymers for Food Packaging: Starch, Protein, and Poly-lactic Acid (PLA). In Shakeel, A. (Ed.) **Bio-based Materials for Food Packaging**: Springer, Singapore, 2018, p. 173-195, ISBN 978-981-13-1908-2.
- AIJUN, L; JINXIANG, X. 2009. Process for preparing biodegradable plastic film. Patent No. CN101508791A. <https://patents.google.com/patent/CN101508791A/en>
- American Society for Testing and Materials (ASTM). In Annual Book of ASTM Standards; ASTM: **Philadelphia**, PA, 2002.

AL-ITRY, R., LAMNAWAR, K., MAAZOUZ, A., BILLON, N., COMBEAUD, C. Effect of the simultaneous biaxial stretching on the structural and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends at rubbery state. **European Polymer Journal**, v. 68, p. 288-301, 2015.

APPELQVIST, I. A., DEBET, M. R. Starch-biopolymer interactions—a review. **Food Reviews International**, v. 13, n. 2, p. 163-224, 1997.

ARRUDA, L. C.; MAGATON, M.; BRETAS, R. E. S.; UEKI, M. M. Influence of chain extender on mechanical, thermal and morphological properties of blown films of PLA/PBAT blends. **Polymer Testing**, v. 43, p. 27-37, 2015.

ASHTER, S. A. Extrusion of Biopolymers. In Ebnesajjad, S (ed.). **Introduction to Bioplastics Engineering**, Elsevier, p. 211–225. ISBN 978-0-323-39396-6, 2016.

AVELLA, M.; BONADIES, E.; MARTUSCELLI, E. European current standardization for plastic packaging recoverable through composting and biodegradation. **Polym. Test**, v. 20, p. 517 –521, 2001.

AVÉROUS, L. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. **Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews**, v. 44, no. 3, p. 231–274, 2004.

AVÉROUS, L. Multilayer Coextrusion of Starch/Biopolyester. **Biodegradable Polymer Blends and Composites from Renewable Resources**, p. 435-464, 2008.

AZEVEDO, J. B.; CARVALHO, L.H.; CANEDO, E. L.; BARBOSA, J. D.; SILVA, M.W.S. Avaliação da Biodegradação em Compósitos com Fibras Naturais através de Perda de Massa e Produção de CO₂. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 4, p. 1115-1129, 2016.

BALAKRISHNAN, P.; SREEKALA, M. S.; GEETHAMMA, V. G.; KALARIKKAL, N.; KOKOL, V.; VOLOVA, T.; THOMAS, S. Physicochemical, mechanical, barrier and antibacterial properties of starch nanocomposites crosslinked with pre-oxidised sucrose. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 398-408, 2019.

BALAGUER, M. P.; GÓMEZ-ESTACA, J.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Functional properties of bioplastics made from wheat gliadins modified with cinnamaldehyde. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6689-6695, 2011.

BALAJI, A. B., PAKALAPATI, H., KHALID, M., WALVEKAR, R., SIDDIQUI, H. Natural and synthetic biocompatible and biodegradable polymers. Biodegradable and biocompatible polymer composites: processing, properties and applications. Woodhead Publishing series in composites science and engineering. Duxford: Woodhead Publishing, p. 3-32, 2017.

BALTI, R., MANSOUR, M. B., SAYARI, N., YACOUBI, L., RABAOU, L., BRODU, N., MASSÉ, A. Development and characterization of bioactive edible films from spider

crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with *Spirulina* extract. **International journal of biological macromolecules**, v. 105, p. 1464-1472, 2017.

BARGHINI, A.; IVANOVA, V. I.; IMAM, S. H.; CHIELLINI, E. Poly-(ϵ -caprolactone)(PCL) and poly (hydroxy-butyrate)(PHB) blends containing seaweed fibers: Morphology and thermal-mechanical properties. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 48, n. 23, p. 5282-5288, 2010.

BASTARRACHEA, L., DHAWAN, S., SABLANI, S. S., MAH, J. H., KANG, D. H., ZHANG, J., et al. Biodegradable Poly (butylene adipate-co-terephthalate) Films Incorporated with Nisin: Characterization and Effectiveness against *Listeria innocua*. **Journal of food science**, v. 75(4), p. E215-E224, 2010.

BATISTA, A. P., NICCOLAI, A., FRADINHO, P., FRAGOSO, S., BURSIC, I., RODOLFI, L., RAYMUNDO, A. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. **Algal Research**, v. 26, p. 161-171, 2017.

BHAGWAT, G., GRAY, K., WILSON, S. P., MUNIYASAMY, S., VINCENT, S. G. T., BUSH, R., PALANISAMI, T. Benchmarking bioplastics: A natural step towards a sustainable future. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 3055–3075, 2020.

BELYAMANI, I.; PROCHAZKA, F.; ASSEZAT, G. Production and characterization of sodium caseinate edible films made by blown-film extrusion. **Journal of food engineering**, v. 121, p. 39-47, 2014.

BELCHER, S. L. Blow Molding. In Kutz, M. (Ed.). **Applied Plastics Engineering Handbook**, William Andrew, p. 265–289, ISBN 9780323390415, 2017.

BERK, Z. Extrusion. In BERK, Z (Ed.). **Food Process Engineering and Technology**, Academic Press, p. 373–394, ISBN 978-0-12-812018-7, 2018.

BISHOP, W. M., AND H. M. ZUBECK. "Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplements." **J Nutr Food Sci**, v. 2, n. 5, p. 1-6, 2012.

BONILLA, J.; SOBRAL, P. J. D. A Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts of guarana, boldo, rosemary and cinnamon. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, e2016024, 2017.

BONILLA, J., SOBRAL, P. J. Antioxidant and physicochemical properties of blended films based on gelatin-sodium caseinate activated with natural extracts. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134(7), p. 44467, 2017.

BRANDELERO, R. P. H.; GROSSMANN, M. V.; YAMASHITA, F. Films of starch and poly (butylene adipate co-terephthalate) added of soybean oil (SO) and Tween 80. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 4, p. 1452-1460, 2012.

BRANDELERO, R. P. H., YAMASHITA, F., GROSSMANN, M. V. E. The effect of surfactant Tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical

properties of cassava starch and poly (butylene adipate-co-terephthalate)(PBAT) blend films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1102-1109, 2010.

BRANDELERO, R. P. H., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F. Effect of the method of production of the blends on mechanical and structural properties of biodegradable starch films produced by blown extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1344-1350, 2011.

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.

BRUDER, U. Extrusion. User's Guide to Plastic, 177–203. doi:10.3139/9781569907351.020, 2019.

BRUNAUER, S.; DEMING, L.S.; DEMING, W.E.;TELLER, E. On a theory of the van der waals adsorption of gases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 62, p. 1723-1732, 1940.

BYUN, Y., KIM, Y. T., WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with atocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, v. 100(2), p. 239–244, 2010.

BULÉON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V., BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International journal of biological macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85-112, 1998.

BURROS, B. C.; YOUNG, L. A.; CARROAD, P. A. Kinetics of Corn Meal Gelatinization at High Temperature and Low Moisture. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 5, p. 1372–1376, 1987.

CAI, Y., LV, J., FENG, J. Spectral characterization of four kinds of biodegradable plastics: poly (lactic acid), poly (butylenes adipate-co-terephthalate), poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and poly (Butylenes succinate) with FTIR and Raman spectroscopy. **J. Polym. Environ**, v. 21 (1), p. 108–114, 2013.

CAI, Y., LU, J., JING, G., YANG, W., HAN, B. High-Glass-Transition-Temperature Hydrocarbon Polymers Produced through Cationic Cyclization of Diene Polymers with Various Microstructures. **Macromolecules**, v. 50, n. 19, p. 7498-7508, 2017.

CARBIOS. Masterbatch composition comprising a high concentration of biological entities. CA2987705A1. 2016. <https://patents.google.com/patent/CA2987705A1>

CARPINÉ, D.; DAGOSTIN, J. L. A.; BERTAN, L. C.; MAFRA, M. R. Development and characterization of soy protein isolate emulsion-based edible films with added coconut oil for olive oil packaging: barrier, mechanical, and thermal properties. **Food and bioprocess technology**, v. 8, n. 8, p. 1811-1823, 2015.

CARDOSO, L. G.; SANTOS, J. C. P.; CAMILLOTO, G. P.; MIRANDA, A. L.; DRUZIAN, J. I.; GUIMARÃES, A. G. Development of active films poly (butylene adipate co-

terephthalate)–PBAT incorporated with oregano essential oil and application in fish fillet preservation. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 388-397, 2017.

CARISSIMI, M., FLÔRES, S. H., RECH, R. Effect of microalgae addition on active biodegradable starch film. **Algal research**, v. 32, p. 201-209, 2018.

CARPINÉ, D. Desenvolvimento e caracterização de filme emulsionado biodegradável produzido a partir de proteína isolada de soja, óleo de coco e surfactantes naturais. Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2015.

CHEN, Y. X., LIU, X. Y., XIAO, Z., HUANG, Y. F., LIU, B. Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. **International journal of biological macromolecules**, v. 91, p. 505-509, 2016.

COLAK, B. Y.; PEYNICHOV, P.; GALLAND, S.; OULAHAL, N.; ASSEZAT, G.; PROCHAZKA, F.; DEGRAEVE, P. Active biodegradable sodium caseinate films manufactured by blown-film extrusion: Effect of thermo-mechanical processing parameters and formulation on lysozyme stability. **Industrial Crops and Products**, v. 72, p. 142-151, 2015.

CHEN, X., CUI, J., XU, X., SUN, B., ZHANG, L., DONG, W., SUN, D. Bacterial cellulose/attapulgitite magnetic composites as an efficient adsorbent for heavy metal ions and dye treatment. **Carbohydrate polymers**, v. 229, 115512, 2020.

CHISTI, Y. Society and microalgae: understanding the past and present. In: Levine, I.A., Fleurence, J. (Eds.), *Microalgae in Health and Disease Prevention*. Academic Press, London, pp. 11–21, 2018.

CHISTI, Y. Microalgae biotechnology: A brief introduction. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*, p. 3-23, Academic Press, 2020.

DA SILVA, N. M. C., CORREIA, P. R. C., DRUZIAN, J. I., FAKHOURI, F. M., FIALHO, R. L. L., & DE ALBUQUERQUE, E. C. M. C. PBAT/TPS composite films reinforced with starch nanoparticles produced by ultrasound. **International Journal of Polymer Science**, v. 4308261, p. 1-10, 2017.

DE ARAÚJO, G. K. P.; DE SOUZA, S. J.; DA SILVA, M. V.; YAMASHITA, F.; GONÇALVES, O. H.; LEIMANN, F. V.; SHIRAI, M. A. Physical, antimicrobial and antioxidant properties of starch-based film containing ethanolic propolis extract. **International journal of food science & technology**, v. 50, n. 9, p. 2080-2087, 2015.

DE OLIVEIRA PIZZOLI, A. P.; MARCHIORE, N. G.; DE SOUZA, S. J.; DE FREITAS SANTOS, P. D.; GONÇALVES, O. H.; YAMASHITA, F.; LEIMANN, F. V. Antimicrobial PLA/TPS/gelatin sheets with enzymatically crosslinked surface containing silver nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 8, p. 43039, 2016.

DE CAMPOS, S. S., DE OLIVEIRA, A., MOREIRA, T. F. M., DA SILVA, T. B. V., DA SILVA, M. V., PINTO, J. A., YAMASHITA, F. TPCS/PBAT blown extruded films added

with curcumin as a technological approach for active packaging materials. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 100424, 2019.

DWIVEDI, P., MISHRA, P. K., MONDAL, M. K., SRIVASTAVA, N. Non-biodegradable polymeric waste pyrolysis for energy recovery, **Heliyon**, v. 5, n. 8, e02198, 2019.

EMAM-DJOMEH, Z.; MOGHADDAM, A.; YASINI ARDAKANI, S. A. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of pomegranate peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef. **Packaging Technology and Science**, v. 28, n. 10, p. 869–881, 2015.

ESTEVEZ-ARECO, S., GUZ, L., FAMÁ, L., CANDAL, R., GOYANES, S. Bioactive starch nanocomposite films with antioxidant activity and enhanced mechanical properties obtained by extrusion followed by thermo-compression. **Food Hydrocolloids**, v. 96, p. 518-528, 2019.

EUROPEAN BIOPLASTICS, (2019). Bioplastics market data. Access date, 10 Jul 2020, Ahttps://www.european-bioplastics.org/market/

FABRA, M. J.; MARTÍNEZ-SANZ, M.; GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; GAVARA, R.;

FABRA, M. J.; MARTÍNEZ-SANZ, M.; GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; COLL-MARQUÉS, J. M.; MARTÍNEZ, J. C.; LÓPEZ-RUBIO, A. Development and characterization of hybrid corn starch-microalgae films: Effect of ultrasound pre-treatment on structural, barrier and mechanical performance. **Algal research**, v. 28, p. 80-87, 2017.

FAHRNGRUBER, B.; SIAKKOU, E.; WIMMER, R.; KOZICH, M.; MUNDIGLER, N. Malic acid: A novel processing aid for thermoplastic starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate) compounding and blown film extrusion. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 48, p. 45539, 2017.

FANTA, G.F. Properties and applications of graft and block copolymers of starch, In Ceresa, R.J. (Ed.). "Block and graft copolymerization", Wiley-Inter Science, NY/London, England, 1973, p.29.

FIDELIS, J. C. F.; MONTEIRO, A. R. G.; SCAPIM, M. R. S.; MONTEIRO, C. C. F.; MORAIS, D. R.; CLAUS, T.; YAMASHITA, F. Development of an active biodegradable film containing tocopherol and avocado peel extract. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, n. 4, p. 468-475, 2015.

FONSECA, L. M., GONÇALVES, J. R., EL HALAL, S. L. M., PINTO, V. Z., DIAS, A. R. G., JACQUES, A. C., DA ROSA ZAVAREZE, E. Oxidation of potato starch with different sodium hypochlorite concentrations and its effect on biodegradable films. **LWT-Food Science and Technology**, 60(2), 714-720, 2015.

FOLINO, A., KARAGEORGIU, A., CALABRÒ, P. S., KOMILIS, D. Biodegradation of Wasted Bioplastics in Natural and Industrial Environments: A Review. **Sustainability**, v. 12, n. 15, 6030, 2020.

FOURATI, Y., TARRÉS, Q., MUTJÉ, P., BOUFI, S. PBAT/thermoplastic starch blends: Effect of compatibilizers on the rheological, mechanical and morphological properties. **Carbohydrate polymers**, v. 199, p. 51-57, 2018.

FRIESEN, K.; CHANG, C.; NICKERSON, M. Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. **Food chemistry**, v. 172, p. 18-23, 2015.

GENNADIOS, A., BRANDENBURG, A. H., PARK, J. W., WELLER, C. L., TESTIN, R. F. Water vapor permeability of wheat gluten and soy protein isolate films. **Industrial Crops and Products**, 2(3), 189-195, 1994.

GONZÁLEZ, P., MOURA, E., FAMÁ, L., DRUZIAN, J. I., GOYANES, S. Influence of incorporation of starch nanoparticles in PBAT/TPS composite films. **Polymer International**, v. 65(8), p. 938-945, 2016.

HARPER, J. M.; CLARK, J. P. Food extrusion. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 155-215, 1979.

HERNIOU-JULIEN, C.; MENDIETA, J. R.; GUTIÉRREZ, T. J. Characterization of biodegradable/non-compostable films made from cellulose acetate/corn starch blends processed under reactive extrusion conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 67-79, 2018.

HU, Y., BASSI, A. Extraction of biomolecules from microalgae. *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*, p. 283-308, 2020.

HONGYANG, S., YALEI, Z., CHUNMIN, Z., XUEFEI, Z., JINPENG, L. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p. 9884-9890, 2011.

JACOB-LOPES, E., MARONEZE, M. M., DEPRÁ, M. C., SARTORI, R. B., DIAS, R. R., ZEPKA, L. Q. Bioactive food compounds from microalgae: an innovative framework on industrial biorefineries. **Current Opinion in Food Science**, 25, p. 1-7, 2019.

JARRAY, A., GERBAUD, V., HEMATI, M. Polymer-plasticizer compatibility during coating formulation: A multi-scale investigation. **Progress in Organic Coatings**, v. 101, p. 195-206, 2016.

JUNG, H. R., CHOI, T. R., HAN, Y. H., PARK, Y. L., PARK, J. Y., SONG, H. S., NAMGUNG, S. Production of blue-colored polyhydroxybutyrate (PHB) by one-pot production and coextraction of indigo and PHB from recombinant *Escherichia coli*. **Dyes and Pigments**, v. 173, 107889, 2020.

KALAMBUR, S.; RIZVI, S. S. An overview of starch-based plastic blends from reactive extrusion. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, v. 22, n. 1, p. 39-58, 2006.

KASEEM, M.; HAMAD, K.; DERI, F. Thermoplastic starch blends: A review of recent works. **Polymer Science Series A**, v. 54, n. 2, p. 165-176, 2012.

KATIYAR, R.; GURJAR, B. R.; BISWAS, S.; PRUTHI, V.; KUMAR, N.; KUMAR, P. Microalgae: an emerging source of energy based bio-products and a solution for environmental issues. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, p. 1083-1093, 2017.

KAWASHIMA, NOBUYUKI, TADASHI YAGI, AND KOUYA KOJIMA. "How Do Bioplastics and Fossil-Based Plastics Play in a Circular Economy?." *Macromolecular Materials and Engineering*, v. 304, n. 9, 1900383, 2019.

KUMAR, M.; PANJAGARI, N. R.; KANADE, P. P.; SINGH, A. K.; BADOLA, R.; GANGULY, S.; ALAM, T. Sodium caseinate-starch-modified montmorillonite based biodegradable film: Laboratory food extruder assisted exfoliation and characterization. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 17-27, 2018.

LENDVAI, L.; APOSTOLOV, A.; KARGER-KOCSIS, J. Characterization of layered silicate-reinforced blends of thermoplastic starch (TPS) and poly (butylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate polymers**, v. 173, p. 566-572, 2017.

LI, X., TAN, D., XIE, L., SUN, H., SUN, S., ZHONG, G., REN, P. Effect of surface property of halloysite on the crystallization behavior of PBAT. **Applied Clay Science**, v. 157, p. 218-226, 2018.

LI, L.; JIANG, H.; CAMPBELL, M.; BLANCO, M.; JANE, J. L. Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. **Carbohydrate polymers**, v. 74, n. 3, p. 396-404, 2008.

LIU, X., WANG, Y., YU, L., TONG, Z., CHEN, L., LIU, H., et al. Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions. **Starch-Stärke**, v. 65(1-2), p. 48-60, 2013.

LÓPEZ-RUBIO, A. Structural and physicochemical characterization of thermoplastic corn starch films containing microalgae. **Carbohydrate polymers**, v. 186, p. 184-191, 2018.

MEYER, J. "Glass transition temperature as a guide to selection of polymers suitable for PTC materials." **Polymer Engineering & Science**, v.13, n. 6, p. 462-468, 1973.

NISAR, T.; WANG, Z. C.; YANG, X.; TIAN, Y.; IQBAL, M.; GUO, Y. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **International journal of biological macromolecules**, v. 106, p. 670-680, 2018.

GARALDE, R. A., THIPMANEE, R., JARIYASAKOOLROJ, P., SANE, A. The effects of blend ratio and storage time on thermoplastic starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate) films. **Heliyon**, v. 5(3), p. e01251, 2019.

GARCIA, P. S.; GROSSMANN, M. V. E.; SHIRAI, M. A.; LAZARETTI, M. M.; YAMASHITA, F.; MULLER, C. M. O.; MALI, S. Improving action of citric acid as

compatibiliser in starch/polyester blown films. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 305-312, 2014.

GARCÍA, N. L.; RIBBA, L.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M. I.; GOYANES, S. Physico-mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 294, n. 3, p. 169-177, 2009.

GARCIA, P. S.; TURBIANI, F. R. B.; BARON, A. M.; BRIZOLA, G. L.; TAVARES, M. A.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Sericin as compatibilizer in starch/polyester blown films. **Polímeros**, v. 28, n. 5, p. 389-394, 2018a.

GARCIA, P. S.; BARON, A. M.; YAMASHITA, F.; MALI, S.; EIRAS, D.; GROSSMANN, M. V. E. Compatibilization of starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate) blown films using itaconic acid and sodium hypophosphite. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 33, p. 46629, 2018b.

GASPAR, M.; BENKŐ, Z.; DOGOSSY, G.; RECZEY, K.; CZIGANY, T. Reducing water absorption in compostable starch-based plastics. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, n. 3, p. 563-569, 2005.

GERDE, J. A., MONTALBO-LOMBOY, M., YAO, L., GREWELL, D., WANG, T. Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. **Bioresource technology**, v. 125, p. 175-181, 2012.

GÓMEZ-ESTACA, J.; BRAVO, L.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; ALEMÁN, A.; MONTERO, P. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. **Food Chemistry**, v. 112, n. 1, p. 18-25, 2009.

GILFILLAN, W. N.; MOGHADDAM, L.; BARTLEY, J.; DOHERTY, W. O. Thermal extrusion of starch film with alcohol. **Journal of Food Engineering**, v. 170, p. 92-99, 2016.

GUTIÉRREZ, T. J.; ALVAREZ, V. A. Eco-friendly films prepared from plantain flour/PCL blends under reactive extrusion conditions using zirconium octanoate as a catalyst. **Carbohydrate polymers**, v. 178, p. 260-269, 2017.

HAFSA, J.; ALI SMACH, M.; KHEDHER, M. R. B.; CHARFEDDINE, B.; LIMEM, K.; MAJDOUB, H.; ROUATBI, S. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 68, p. 356-364, 2016.

HERNANDEZ, R. J.; SELKE, S. E. M.; CULTER, J. D. Major plastics in packaging. In Selke, S.; Culter, J.D (ed.). **Plastics packaging: roperties, Processing, Applications, & Regulations**. Elsevier, p. 89–134, 2000, ISBN 978-3-446-40790-9.

HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M., CORREA-PACHECO, Z. N., BAUTISTA-BAÑOS, S., ZAVALETA-AVEJAR, L., BENÍTEZ-JIMÉNEZ, J. J., SABINO-GUTIÉRREZ, M. A., et al. Bio-based composite fibers from pine essential oil and PLA/PBAT polymer blend.

Morphological, physicochemical, thermal and mechanical characterization. **Materials Chemistry and Physics**, v. 234, p. 345-353, 2019.

HERNIOU-JULIEN, C.; MENDIETA, J. R.; GUTIÉRREZ, T. J. Characterization of biodegradable/non-compostable films made from cellulose acetate/corn starch blends processed under reactive extrusion conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 67-79, 2018.

KALAMBUR, S. AND S.S. RIZVI. 2006. An overview of starch-based plastic blends from reactive extrusion. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, v. 22, n. 1, p. 39-58, 2006.

LAROTONDA, F. D. S.; MATSUI, K. N.; SOBRAL, P. J. A.; LAURINDO, J. B. Hygroscopicity and water vapor permeability of Kraft paper impregnated with starch acetate. **Journal of Food Engineering**, v. 71, p. 394-402, 2005.

LENDVAI, L.; APOSTOLOV, A.; KARGER-KOCSIS, J. Characterization of layered silicate-reinforced blends of thermoplastic starch (TPS) and poly (butylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate polymers**, v. 173, p. 566-572, 2017.

LIU, H., F. XIE, L. YU, L. CHEN AND L. LI. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in polymer science**, v. 34, n. 12, p. 1348-1368, 2009.

LIU, Z. Edible films and coatings from starches. In *Innovations in food packaging* (pp. 318-337). Academic Press, 2005.

LÓPEZ, O. V.; ZARITZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V.; GARCÍA, M. A. Acetylated and native corn starch blend films produced by blown extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 286-297, 2013.

MARCOS, B., SÁRRAGA, C., CASTELLARI, M., KAPPEN, F., SCHENNINK, G., ARNAU, J. Development of biodegradable films with antioxidant properties based on polyesters containing α -tocopherol and olive leaf extract for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 1(2), p. 140-150, 2014.

MARTÍNEZ-SANZ, M.; FABRA, M. J.; GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; LÓPEZ-RUBIO, A. Structural effects of microalgae additives on the starch gelatinisation process. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 257-269, 2018.

MEDINA JARAMILLO, C.; GONZALEZ SELIGRA, P.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch-Stärke**, v. 67, n. 9-10, p. 780-789, 2015.

MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; WERNER, J. O.; BRANDELLI, A. A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 561-570, 2017.

MBEY, J. A.; HOPPE, S.; THOMAS, F. Cassava starch–kaolinite composite film. Effect of clay content and clay modification on film properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 88, n. 1, p. 213-222, 2012.

MELO, C. D., GARCIA, P. S., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F., DALL'ANTÔNIA, L. H., MALI, S. Properties of extruded xanthan-starch-clay nanocomposite films. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54(6), p. 1223-1333, 2011.

MCMILLAN, J. R., WATSON, I. A., ALI, M., JAAFAR, W. "Evaluation and comparison of algal cell disruption methods: microwave, waterbath, blender, ultrasonic and laser treatment." **Applied energy**, v. 103, p. 128-134, 2013.

MOHANTY, S., NAYAK, S. K. Starch based biodegradable PBAT nanocomposites: Effect of starch modification on mechanical, thermal, morphological and biodegradability behavior. **International Journal of Plastics Technology**, v. 13(2), p. 163-185, 2009.

MONTALBO-LOMBOY, M., JOHNSON, L., KHANAL, S. K., VAN LEEUWEN, J. H., GREWELL, D. Sonication of sugary-2 corn: a potential pretreatment to enhance sugar release. **Bioresource technology**, v. 101, n. 1, p. 351-358, 2010.

MOUNT III, E. M. Extrusion Processes. In *Applied Plastics Engineering Handbook* (pp. 217-264). **William Andrew Publishing**, 2017.

MURÚA-PAGOLA, B.; BERISTAIN-GUEVARA, C.I.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. **J. Food Eng.** v. 91, n. 3, p. 380–386, 2009.

NIANQING, Z.; QING, WANG.; HAIYAN, CH. Polypropylene composite containing microalgae and preparing method thereof. **Patent No. CN104725727A**. 2015.

NOBREGA, M. M., OLIVATO, J. B., MÜLLER, C. M., YAMASHITA, F. Biodegradable starch-based films containing saturated fatty acids: thermal, infrared and Raman spectroscopic characterization. **Polímeros**, v. 22(5), p. 467-474, 2012.

LUCKACHAN, G. E., Pillai, C. K. S. Biodegradable polymers-a review on recent trends and emerging perspectives. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, no. 3, p. 637-676, 2011.

OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; EIRAS, D.; PESSAN, L. A. Citric acid and maleic anhydride as compatibilizers in starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate) blends by one-step reactive extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 4, p. 2614-2618, 2012.

OLIVATO, J. B., NOBREGA, M. M., MÜLLER, C. M. O., SHIRAI, M. A., YAMASHITA, F., GROSSMANN, M. V. E. Mixture design applied for the study of the tartaric acid effect on starch/polyester films. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 2, p. 1705-1710, 2013.

OLIVATO, J. B.; MÜLLER, C. M. O.; CARVALHO, G. M.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Physical and structural characterisation of starch/polyester

blends with tartaric acid. **Materials Science and Engineering: C**, v. 39, p. 35-39, 2014.

PAN, H., JU, D., ZHAO, Y., WANG, Z., YANG, H., ZHANG, H., DONG, L. Mechanical properties, hydrophobic properties and thermal stability of the biodegradable poly (butylene adipate-co-terephthalate)/maleated thermoplastic starch blown films. *Fibers and Polymers*, v. 17, n. 10, p. 1540-1549, 2016.

PEREIRA, P. H.; WALDRON, K. W.; WILSON, D. R.; CUNHA, A. P.; DE BRITO, E. S.; RODRIGUES, T. H.; AZEREDO, H. M. Wheat straw hemicelluloses added with cellulose nanocrystals and citric acid. Effect on film physical properties. **Carbohydrate polymers**, v. 164, p. 317-324, 2017.

PÉREZ-CÓRDOBA, L. J., NORTON, I. T., BATCHELOR, H. K., GKATZIONIS, K., SPYROPOULOS, F., SOBRAL, P. J. (2018). Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. **Food hydrocolloids**, 79, 544-559.

PEREZ, S., BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch-Stärke**, v. 62, no. 8, p. 389-420, 2010.

PEREZ-GARCIA, O., ESCALANTE, F. M., DE-BASHAN, L. E., BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water research**, v. 45, n. 1, p. 11-36, 2011.

PETRIE, E. M. Extreme high temperature thermoplastics: gateway to the future or the same old trail? *Pop. Plast. Packag*, v. 57, n. 10, p. 30-43, 2012.

PODSHIVALOV, A., ZAKHAROVA, M., GLAZACHEVA, E., USPENSKAYA, M. Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1162-1172, 2017.

QUEIROZ, M. I., VIEIRA, J. G., MARONEZE, M. M. Morphophysiological, structural, and metabolic aspects of microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (pp. 25-48). Academic Press, 2020.

RAMÍREZ-MÉRIDA, L. G. R., ZEPKA, L. Q., JACOB-LOPES, E. Current production of microalgae at industrial scale. **Recent advances in renewable energy**, p. 242-260, 2017.

RASAL, R. M., JANORKAR, A. V., HIRT, D. E. Poly (lactic acid) modifications. **Progress in polymer science**, v. 35, no. 3, p. 338-356, 2010.

RAQUEZ, J. M.; NARAYAN, R.; DUBOIS, P. Recent advances in reactive extrusion processing of biodegradable polymer-based compositions. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 293, n. 6, p. 447-470, 2008.

REIS, M. O., OLIVATO, J. B., ZANELA, J., YAMASHITA, F., GROSSMANN, M. V. E. Influence of microcrystalline cellulose in thermoplastic starch/polyester blown films. **Polímeros**, v. 27, n. 2, p. 129-135, 2017.

RIBEIRO-SANTOS, R., SANCHES-SILVA, A., MOTTA, J. F. G., ANDRADE, M., DE ARAÚJO NEVES, I., TEÓFILO, R. F., DE MELO, N. R. Combined use of essential oils applied to protein base active food packaging: Study in vitro and in a food simulant. **European Polymer Journal**, v. 93, p. 75-86, 2017.

ROBERTSON, G. L. Permeability of thermoplastic polymers. **Food Packaging: Principles and Practice**, v. 73, p. 110, 1993.

RODRÍGUEZ, R. A., FRANCO GARCÍA, M. L., PUIGGALÍ BELLALTA, J. Biodegradable poly (éster amide) s: synthesis and applications, 2011.

ROMANI, V. P., PRENTICE-HERNÁNDEZ, C., & MARTINS, V. G. Active and sustainable materials from rice starch, fish protein and oregano essential oil for food packaging. **Industrial crops and Products**, v. 97, p. 268-274, 2017.

ROMERO-BASTIDA, C. A., BELLO-PEREZ, L. A., VELAZQUEZ, G., ALVAREZ-RAMIREZ, J. Effect of the addition order and amylose content on mechanical, barrier and structural properties of films made with starch and montmorillonite. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 195-201, 2015.

ROTTA, J., OZÓRIO, R. Á., KEHRWALD, A. M., DE OLIVEIRA BARRA, G. M., AMBONI, R. D. D. M. C., BARRETO, P. L. M. Parameters of color, transparency, water solubility, wettability and surface free energy of chitosan/hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, no. 2, p. 619-623, 2009.

ROUILLY, A.; RIGAL, L. Agro-materials: a bibliographic review. **J. Macromol. Sci.-Part C. Polym. Rev**, v. C42, n. 4, p. 441– 479, 2002.

RYDZ, J., MUSIOŁ, M., ZAWIDLAK-WĘGRZYŃSKA, B., SIKORSKA, W. Present and future of biodegradable polymers for food packaging applications. **In Biopolymers for Food Design, Academic Press**, p. 431-467, 2018.

SANTOS, R. A., MULLER, C. M., GROSSMANN, M. V., MALI, S., YAMASHITA, F. Starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate)/montmorillonite films produced by blow extrusion. **Química Nova**, v. 37(6), p. 937-942, 2014.

SANYANG, M. L.; ILYAS, R. A.; SAPUAN, S. M.; JUMAIDIN, R. Sugar palm starch-based composites for packaging applications. **In Bionanocomposites for packaging applications Springer**, Cham, p. 125-147, 2018.

SANCHEZ-GARCIA, M. D.; HILLIOU, L.; LAGARON, J. M. Nanobiocomposites of carrageenan, zein, and mica of interest in food packaging and coating applications. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6884-6894, 2010.

SANTOS, H. M., LODEIRO, C., CAPELO-MARTÍNEZ, J. L. The power of ultrasound. In *Ultrasound in chemistry: analytical applications* (pp. 1-16). **Wiley-VCH Verlag Gmbh & Co. KGaA**, Weinheim, 2009.

SHI, R.; BI, J.; ZHANG, Z.; ZHU, A.; CHEN, D.; ZHOU, X.; TIAN, W. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. **Carbohydrate polymers**, v. 74, n. 4, p. 763-770, 2008.

SHRIVASTAV, A., MISHRA, S. K., SHETHIA, B., PANCHA, I., JAIN, D., MISHRA, S. Isolation of promising bacterial strains from soil and marine environment for polyhydroxyalkanoates (PHAs) production utilizing *Jatropha* biodiesel byproduct. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 47, no. 2, p. 283-287, 2010.

SHIRAI, M. A.; OLIVATO, J. B.; DEMIATE, I. M.; MÜLLER, C. M. O.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Poly(lactic acid)/thermoplastic starch sheets: effect of adipate esters on the morphological, mechanical and barrier properties. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 26, 1, p. 66-73, 2016.

SHIRAI, M. A.; ZANELA, J.; KUNITA, M. H.; PEREIRA, G. M.; RUBIRA, A. F.; MÜLLER, C. M. O.; YAMASHITA, F. Influence of Carboxylic Acids on Poly (lactic acid)/Thermoplastic Starch Biodegradable Sheets Produced by Calendaring–Extrusion. **Advances in Polymer Technology**, v. 37, n. 2, p. 332-338, 2018.

SILVA, I. F.; YAMASHITA, F.; MÜLLER, C. M.; MALI, S.; OLIVATO, J. B.; BILCK, A. P.; GROSSMANN, M. V. How reactive extrusion with adipic acid improves the mechanical and barrier properties of starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate) films. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 8, p. 1762-1769, 2013.

SILVA DE CAMPOS, S. S., DE OLIVEIRA, A., MOREIRA, T. F. M., DA SILVA, T. B. V., DA SILVA, M. V., PINTO, J. A., et al. TPCS/PBAT blown extruded films added with curcumin as a technological approach for active packaging materials. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 100424, 2019.

SIEGENTHALER, K. O., KÜNKEL, A., SKUPIN, G., YAMAMOTO, M. Ecoflex® and Ecovio®: biodegradable, performance-enabling plastics. In **Synthetic biodegradable polymers** (pp. 91-136). Springer, Berlin, Heidelberg, 2011.

SINGHAL, R. K., BASU, H., PIMPLE, M. V., MANISHA, V., BASAN, M. K. T., REDDY, A. V. R. Spectroscopic determination of U (VI) species sorbed by the *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) fresh water algae. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 298, n. 1, p. 587-592, 2013.

SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson Seedless grape juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 7, p. 1565-1571, 1990.

SPIRIDON, I., ANGHEL, N. C., DARIE-NITA, R. N., IWAŃCZUK, A., URSU, R. G., & SPIRIDON, I. A. New composites based on starch/Ecoflex®/biomass wastes:

Mechanical, thermal, morphological and antimicrobial properties. **International journal of biological macromolecules**, v. 156, p. 1435-1444, 2020.

SPOLAORE, PAULINE, JOANNIS-CASSANA, C.; DURAN, E.; ISAMBERTA, A. "Commercial applications of microalgae." **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

STEINBUCHER, A. Biopolymers, General Aspects and Special Applications; WileyVCH: Weinheim, Germany, Vol. 10, 516. 2003

SUSLICK, K. S., FLANNIGAN, D. J. Inside a collapsing bubble: sonoluminescence and the conditions during cavitation. **Annu. Rev. Phys. Chem.**, v. 59, p. 659-683, 2008.

TAVARES, L. B., ITO, N. M., SALVADORI, M. C., DOS SANTOS, D. J., ROSA, D. S. PBAT/kraft lignin blend in flexible laminated food packaging: Peeling resistance and thermal degradability. **Polymer Testing**, v. 67, p. 169-176, 2018.

TABASUM, S., YOUNAS, M., ZAEEM, M. A., MAJEED, I., MAJEED, M., NOREEN, A., ZIA, K. M. A review on blending of corn starch with natural and synthetic polymers, and inorganic nanoparticles with mathematical modeling. **International journal of biological macromolecules**, v. 122, p. 969-996, 2019.

TIAN, H.; YAN, J.; RAJULU, A. V.; XIANG, A.; LUO, X. Fabrication and properties of polyvinyl alcohol/starch blend films: effect of composition and humidity. **International journal of biological macromolecules**, v. 96, p. 518-523, 2017.

THUNWALL, M., KUTHANOVA, V., BOLDIZAR, A., Y RIGDAHL, M. Film blowing of thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 4, p. 583-590, 2008.

UGGETTI, E., SIALVE, B., TRABLY, E., STEYER, J. P. INTEGRATING microalgae production with anaerobic digestion: a biorefinery approach. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 8, n. 4, p. 516-529, 2014.

UZUNLU, S.; NIRANJAN, K. Laboratory antimicrobial activity of cinnamaldehyde and pomegranate-based polycaprolactone films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 39, p. 45347, 2017.

VAN DUIN, M.; MACHADO, A. V.; COVAS, J. A look inside the extruder: Evolution of chemistry, morphology and rheology along the extruder axis during reactive processing and blending. **In Macromolecular Symposia**, v. 170, n. 1, p. 29-40, 2001.

VALLE, G.D.; COLONNA, P.; TAYEB, J. Use of a twin-screw extruder as a chemical reactor for starch cationization. **Starch-Stärke**, v. 43, n. 8, p. 300-307, 1991.

VÁSCONEZ, M. B., FLORES, S. K., CAMPOS, C. A., ALVARADO, J., GERSCHENSON, L. N. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. **Food Research International**, v. 42, n. 7, p. 762-769, 2009.

VEGA-CASTRO, O., CONTRERAS-CALDERON, J., LEÓN, E., SEGURA, A., ARIAS, M., PÉREZ, L., SOBRAL, P. J. Characterization of a polyhydroxyalkanoate obtained from pineapple peel waste using *Ralstonia eutropha*. **Journal of biotechnology**, v. 231, p. 232-238, 2016.

WANG, L. F.; RHIM, J. W. Grapefruit seed extract incorporated antimicrobial LDPE and PLA films: Effect of type of polymer matrix. **LWT-Food Science and Technology**, v. 74, p. 338–345. (2016).

WAGNER, JR., JOHN, R. Multilayer Flexible Packaging: Technology and Applications for the Food, Personal Care, and Over-the-Counter Pharmaceutical Industries. Oxford: Elsevier Inc, 2010.

WANG, H.; WEI, D.; ZHENG, A.; XIAO, H. Soil burial biodegradation of antimicrobial biodegradable PBAT films. **Polymer degradation and stability**, v. 116, p. 14-22, 2015.

WEI, D.; WANG, H.; ZIAEE, Z.; CHIBANTE, F.; ZHEG, A.; XIAO, H. Non-leaching antimicrobial biodegradable PBAT films through a facile and novel approach. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 986-991, 2016.

WENG, Y. X.; WANG, L.; ZHANG, M.; WANG, X. L.; WANG, Y. Z. Biodegradation behavior of P (3HB, 4HB)/PLA blends in real soil environments. **Polymer Testing**, v. 32, n. 1, p. 60-70, 2013.

WIKFORS, G. H., OHNO, M. Impact of algal research in aquaculture. **Journal of phycology**, v. 37, n. 6, p. 968-974, 2001.

WING, R. E. Corn fiber citrate: preparation and ion-exchange properties. **Industrial crops and products**, v. 5, n. 4, p. 301-305, 1996.

WORANUCH, S.; YOKSAN, R.; AKASHI, M. Ferulic acid-coupled chitosan: Thermal stability and utilization as an antioxidant for biodegradable active packaging film. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 744-751, 2015.

WU, J., CHEN, S., GE, S., MIAO, J., LI, J., & ZHANG, Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 42-51, 2013.

WYCHEN, S. VAN.; LAURENS, L. M. L. Determination of total solids and ash in algal biomass. Golden: National Renewable Energy Laboratory, 2015. Disponível em: <https://www.nrel.gov/docs/fy16osti/60956.pdf>. Acesso em: jun 2019.

XIE, F., ZHANG, T., BRYANT, P., KURUSINGAL, V., COLWELL, J. M., LAYCOCK, B. Degradation and stabilization of polyurethane elastomers. **Progress in Polymer Science**, v. 90, p. 211-268, 2019.

YAN, C.; WANG, R.; WAN, J.; ZHANG, Q.; XUE, S.; WU, X.; CONG, W. Cellulose/microalgae composite films prepared in ionic liquids. **Algal research**, v. 20, p. 135-141, 2016.

YIN, G. Z.; YANG, X. M. Biodegradable polymers: a cure for the planet, but a long way to go. **Journal of Polymer Research**, 27(2), 38, 2020.

YIN, G., ZHAO, D., ZHANG, L., REN, Y., JI, S., TANG, H., LI, Q. HIGHLY porous 3D PLLA materials composed of nanosheets, fibrous nanosheets, or nanofibrous networks: Preparation and the potential application in oil–water separation. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p. 1-11, 2016.

YU-FANG, CH.; LOVEDEEP, K.; JASPREET, SINGH. Starch in Food (Second Edition), Edited by: Malin Sjöö and Lars Nilsson. Chapter 7 Chemical Modification of Starch. **Structure, Function and Applications Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition**. p. 283-321, 2017.

ZHANG, Y., XU, X. Machine learning glass transition temperature of polymers. **Heliyon**, 6(10), e05055, 2020.

ZELLER, M. A.; HUNT, R.; JONES, A.; SHARMA, S. Bioplastics and their thermoplastic blends from Spirulina and Chlorella microalgae. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 130, n. 5, p. 3263-3275, 2013.

ZHANG, J. F.; SUN, X. Mechanical properties of poly (lactic acid)/starch composites compatibilized by maleic anhydride. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 4, p. 1446-1451, 2004.

ZHANG, W., ZHANG, Z., YAN, S. Effects of various amino acids as organic nitrogen sources on the growth and biochemical composition of Chlorella pyrenoidosa. **Bioresource technology**, v. 197, p. 458-464, 2015.

ZHAI, X., WANG, W., ZHANG, H., DAI, Y., DONG, H., HOU, H. Effects of high starch content on the physicochemical properties of starch/PBAT nanocomposite films prepared by extrusion blowing. **Carbohydrate Polymers**, v. 239, p. 116231, 2020.

ZANETTE, C. M.; MARIANO, A. B.; YUKAWA, Y. S.; MENDES, I.; SPIER, M. R. Microalgae mixotrophic cultivation for β -galactosidase production. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 3, p. 1597–1606, 2019.

ZHU, K., ZHU, W. P., GU, Y. B., SHEN, Z. Q., CHEN, W., ZHU, G. X. Synthesis and Characterization of Poly (butylene adipate-co-terephthalate) Catalyzed by Rare Earth Stearates. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 25, no. 10, p. 1581-1583, 2007.

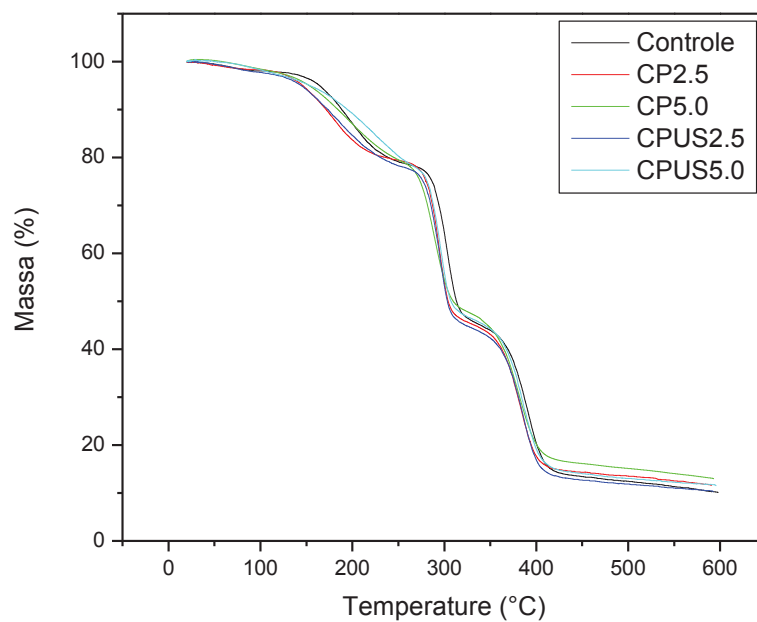
ZHONG, Y.; GODWIN, P.; JIN, Y.; XIAO, H. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, no. 1, pp. 27-35, 2020.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: Correlation among process, elongational

properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 376-383, 2009.

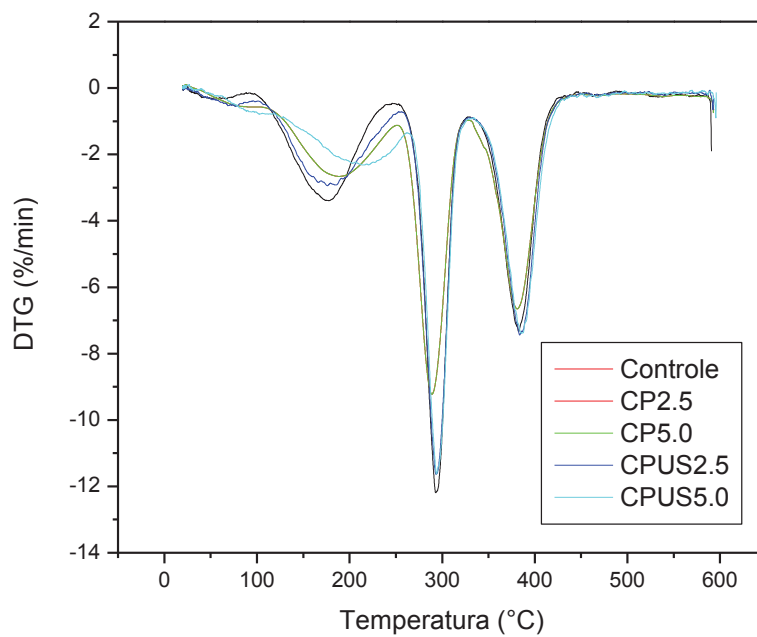
ANEXOS

FIGURA - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DOS FILMES



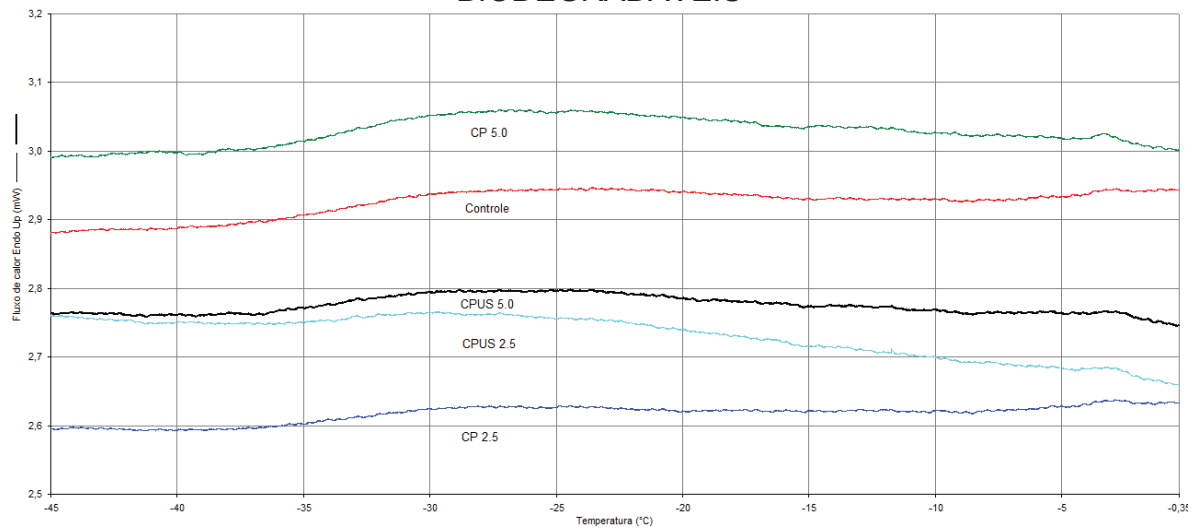
FONTE: O autor (2020).

FIGURA- DERIVADA TERMOGRAVIMÉTRICA DOS FILMES



FONTE: O autor (2020).

FIGURA - TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS



FONTE: O autor (2020).