



KAROLINE FERREIRA E SILVA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES
MULTIFUNCIONAIS DE ISOLADO PROTEICO DE SORO DE
LEITE COM LIGNINA KRAFT PARA EMBALAGENS.**

**LAVRAS - MG
2021**

KAROLINE FERREIRA E SILVA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES MULTIFUNCIONAIS DE
ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE COM LIGNINA KRAFT PARA
EMBALAGENS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Bioprodutos e Bioprocessos para obtenção do título de Mestre.

Prof.(a). Dra. Marali Vilela Dias

Orientadora/UFLA

Prof. Dr. Fábio Akira Mori

Coorientador/UFLA

**LAVRAS - MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Karoline Ferreira e.

Síntese e caracterização de filmes multifuncionais de isolado proteico com lignina kraft para embalagens. / Karoline Ferreira e Silva. - 2021.

72 p.

Orientador(a): Marali Vilela Dias.

Coorientador(a): Fabio Akira Mori.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Filmes biopoliméricos. 2. Embalagens para alimentos. 3. Lignina Kraft. I. Dias, Marali Vilela. II. Mori, Fabio Akira. III. Título.

KAROLINE FERREIRA E SILVA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES MULTIFUNCIONAIS DE
ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE COM LIGNINA KRAFT PARA
EMBALAGENS.**

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MULTIFUNCTIONAL WHEY
PROTEIN ISOLATE FILMS WITH LIGNIN KRAFT FOR PACKAGING**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Bioprodutos e Bioprocessos para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 10 de Agosto de 2021.

Dr. Allan Robledo Fialho e Moraes- UFV

Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho - UFLA

Prof. (a). Dr (a). Marali Vilela Dias

Orientador (a)

**LAVRAS - MG
2021**

A minha família, em especial meus pais Edimar e Lêda, irmão André e Pedro, e todos que me apoiaram e incentivaram.

Dedico

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por me conceder sabedoria, saúde e resiliência para realização deste trabalho.

A minha orientadora Marali Vilela Dias, pela amizade, incentivo, paciência e confiança constantes, orientando-me e ensinando-me com muita competência e dedicação como seguir na trajetória dessa pesquisa. Ao meu co-orientador Fabio Akira pela disponibilidade e conhecimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

Agradeço ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pela parceria tão importante para realização dessa pesquisa.

Ao Laboratório de Ultraestrutura e Microscopia Eletrônica da UFLA, em especial a Aline pela disponibilidade e auxílio nas análises de microscopia.

Ao Departamento de Química da UFLA, em especial a Lidiany, pela disponibilidade e auxílio nas análises térmicas e infravermelho.

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, em especial Ana Alice, pela disponibilidade de realizar as análises mecânica e colorimetria.

A Prof. Maria Irene Yoshida da UFMG, pelo auxílio nas análises térmicas. E a todos os professores e funcionários dos laboratórios da UFLA, que contribuíram para realização dessa dissertação.

Aos meus pais, irmãos e meu namorado pelo incentivo, confiança e amor, que foram muito importantes nesse trajeto. Aos amigos e colegas de Laboratório de Embalagens da UFLA e de outros departamentos, pela ajuda e auxílio nas análises. Cada um com seu jeitinho especial me ajudaram a chegar até aqui.

Aos membros da banca examinadora: Prof. Marali Vilela Dias, Prof. Allan Robledo Fialho e Moraes, Prof. Elisangela Elena Nunes Carvalho pela disponibilidade.

A todos o meu sincero agradecimento, Muito Obrigada!!

RESUMO GERAL

Pesquisas voltadas para produção de filmes multifuncionais e biodegradáveis, tem ganhado interesse e visibilidade. Nessa linha, a lignina kraft (LK) se mostra um aditivo promissor para agregar funcionalidades e aumentar o desempenho térmico, mecânico e hidrofóbico de biopolímeros. Atualmente, tem se utilizado metodologias de nanopartículas, modificação química e uso de compatibilizantes para melhorar a homogeneidade da lignina na matriz hidrofílica. Porém, tais abordagens apresentam baixo rendimento e demandam por elevado consumo de energia e reagentes. Uma alternativa mais econômica e simplificada é a mistura através da miscibilidade mútua dos componentes. Dito isto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes multifuncionais de Isolado Proteico de Soro de Leite (IPS) com adição de diferentes concentrações (2, 4, 6 e 8%) de LK dissolvida em solução alcalina. Na sequência, os filmes formados por casting, foram caracterizadas quanto a suas propriedades morfológicas (Microscopia Eletrônica de Varredura), químicas (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier), hidrofóbicas (Solubilidade, Permeabilidade ao Vapor d'água (PVA) e Ângulo de contato), térmicas (Termogravimetria, Calorimetria Exploratória Diferencial e Selabilidade), mecânicas (Resistência a Tração, Alongamento a Ruptura e Módulo de Young) e funcionalidades antioxidante e bloqueador UV. Adição de LK solubilizada produziu filmes homogêneos, sem a formação de aglomerados e com maior hidrofobicidade, quando comparada ao filme controle. Nos tratamentos com 4% de lignina (LP4), LK atuou como reforço ao produzir filmes mais resistentes, mas também quebradiços, o que impediu sua termoselagem. Já nas amostras com 8% (LP8) foi obtido uma maior atividade antioxidante (34,69%) e bloqueou em 100% a radiação UVA e UVB, além de aumentar a estabilidade térmica, elevando a Tg dos filmes. Em conclusão, a solubilização da lignina antes de ser adicionada na solução de IPS, se mostrou uma metodologia eficiente para produção de filmes multifuncionais, com potencial aplicação para embalagens de alimentos com alto teor de lipídios.

Palavra chave: Filmes Biopoliméricos, IPS, Lignina, Antioxidante, Bloqueador UV.

GENERAL ABSTRACT

Research aimed at producing multifunctional and biodegradable films has gained interest and visibility. In this line, kraft lignin (KL) is a promising additive to add functionalities and increase biopolymers' thermal, mechanical, and hydrophobic performance. Currently, many studies used nanoparticle, chemical modification, and compatibilizer methodologies to improve lignin homogeneity in the hydrophilic matrix. However, such approaches present low performance and demand high energy consumption and reagents. Thus, a more economical and simplified alternative is mixing through the mutual miscibility of the components. Therefore, the objective of the present study was to develop and characterize multifunctional films of Whey Protein Isolate (WPI) with the addition of different concentrations (2, 4, 6, and 8%) of KL dissolved in an alkaline solution. Then, the films formed by casting were characterized by their morphological properties (Scanning Electron Microscopy), chemical (Fourier Transform Infrared Spectroscopy), hydrophobic (Solubility, Water Vapor Permeability (PVA) and Contact Angle), Thermal (Thermogravimetry, Differential Exploratory Calorimetry, and Sealability), Mechanical (Tensile Strength, Elongation to Rupture and Young Module) and Antioxidant and UV-Block functionalities. The addition of solubilized KL produced homogeneous films without agglomerates and with higher hydrophobicity when compared to the control film. In the treatments with 4% lignin (LP4), KL acted as reinforcement by producing films more resistant, but also brittle, which prevented the films' heat-sealing. The samples with 8% (LP8) obtained a higher antioxidant activity (34.69%) and 100% UVA/UVB block, increasing the thermal stability and the T_g of the films. In conclusion, the solubilization of lignin before being added in the IPS solution proved to be an efficient methodology for producing multifunctional films, with potential application for food packaging with high lipid content.

Keywords: Biopolymeric Films, WPI, Lignin, Antioxidant, UV-Block.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de publicação sobre embalagens biodegradáveis nos últimos 10 anos no Scopus	13
Figura 2 - Esquema representativo dos polímeros biodegradáveis disponíveis	15
Figura 3 - Representação da estrutura da lignina com os principais grupamentos funcionais e monômeros presentes na molécula da lignina	18
Figura 4 - Representação esquemática da parede celular da planta destacando os principais constituintes na parte superior. Na parte inferior é destacado os diferentes tipos de lignina obtida em diferentes processos de extração e purificação	19
Figura 5 - Representação do mecanismo de reação plausível entre a lignina e o radical DPPH	22
Figura 6 - Cromóforos presentes na estrutura da lignina e seus espectros de absorção na região UV	23
Figura 7 - Modelo de rede formado pela interação lignina/proteína	26
Figura 8 - Sistema de selagem a quente com barras aquecidas	28
Figura 9 - Tipos de falhas observadas em superfícies seladas termicamente	29
 Artigo	
Figura 1 – Micrografias de superfície da face-a (1), face-s (2) e fratura (3) dos tratamentos com apenas IPS (A) e com lignina LP2 (B), LP4 (C), LP6 (D) e LP8 (E) de lignina kraft, todas com magnitude de 500x	40
Figura 2 - Espectros de FTIR do filme controle (LP0), e com lignina	42
Figura 3 – Figura resumo com representação das superfícies (face-a e face-s) dos filmes sem e com lignina	43
Figura 4 – Capacidade de bloquear a radiação UV dos diferentes tratamentos	48
Figura 5 – A: Curva de decomposição térmica em função da temperatura (TGA); B: Derivada de primeira ordem da TGA (DTG)	50
Figura 6 – Termogramas da análise de DSC	52
Figura 7 - Exemplo de formação de bolhas (150 °C / 5 s) nas Amostras LP0 (A) e LP4 (B); Exemplo de enrijecimento do corpo de prova e trinca na região de termossoldagem (150 °C / 5 s) nas amostra LP0 (C) e LP4 (D)	54

LISTA DE TABELAS

Artigo

Tabela 1 - Valores de solubilidade, PVA, molhabilidade e ângulo de contato das amostras sem e com lignina, do lado em contato com a superfície de vidro (face-s) e do lado em contato com o ar (face-a)	43
Tabela 2 – Valores de espessura, atividade antioxidante (DPPH), resistência a tração (RT), alongamento a ruptura (AR) e módulo de Young (MY)	46
Tabela 3 – Valores obtidos na análise de cor e transparência dos filmes sem e com lignina	47
Tabela 4 – Comportamento térmico do filme controle e dos filmes com lignina	51

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1. Embalagens de alimentos e o meio ambiente	15
2.2. Polímeros biodegradáveis	17
2.2.1 Isolado Proteico de Soro de Leite	18
2.3. Lignina	20
2.3.1 Processo Kraft	22
2.4. Mistura de polímeros e lignina	23
2.4.1 Propriedades e aplicações multifuncionais da lignina	24
2.5. Propriedade de selagem de biopolímeros	30
SEGUNDA PARTE – ARTIGO	34
ARTIGO – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FUNCIONAIS DE ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE COM ADIÇÃO DE LIGNINA KRAFT COMO BIOATIVO E SUA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS	35
1. INTRODUÇÃO	35
2. MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1. Materiais	37
2.2. Preparação dos filmes	37
2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	37
2.4. Espectroscopia com transformada de fourier (FTIR)	38
2.5. Ângulo de contato da água e molhabilidade	38
2.6. Solubilidade em água	38
2.7. Permeabilidade ao vapor de água	39
2.8. Análise térmica	39
2.9. Propriedades mecânicas e espessura	40
2.10. Análise de cor, transparência e bloqueador UV	40
2.12. Atividade antioxidante	41
2.14. Análise estatística	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.1. Microscopia eletrônica de varredura	43
3.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de furier (FTIR)	44
3.3. Ângulo de contato e molhabilidade	45
3.4. Solubilidade e permeabilidade ao vapor d'água	47

3.5. Atividade antioxidante	48
3.6. Propriedades óticas	49
3.7. Bloqueador UV	50
3.8. Análise térmica	51
3.9. Propriedades mecânicas	54
3.10. Selabilidade térmica	55
4. CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO GERAL

O setor de embalagens é o principal consumidor de plásticos não-biodegradáveis no mundo, e devido ao seu curto tempo de vida útil, baixa velocidade de degradação e descarte inadequado, esses polímeros acabam acumulando no meio ambiente, gerando diversos impasses ambientais (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017; SCALENGHE, 2018). Portanto, uma alternativa para os plásticos não-biodegradáveis é o consumo de produtos mais ecológicos e sustentáveis, e que no fim de seu ciclo de vida ainda permitam a compostagem local como uma forma de reciclagem do material (KETESEN; JANSSEN; HAMM, 2020; ZHONG et al., 2020).

O Isolado Proteico de Soro de Leite (IPS), obtido principalmente como co-produto da indústria de queijos, além de produzir filmes translúcidos, também apresenta excelente barreira a gases (GALUS; KADZIŃSKA, 2019; SCHMID et al., 2015a). No entanto, devido ao seu caráter hidrofílico o IPS não fornece adequada barreira a vapor d'água, como também apresenta desempenho mecânico limitado (HUNTRAKUL; HARNKARNSUJARIT, 2020a). Para superar essas limitações, uma das estratégias mais atraentes é a mistura de aditivos, como os naturais oriundos de sub-produtos da agroindústria, que se mostram os mais interessantes. Isso se deve ao fato de que, além de gerar alternativas de reaproveitamento, eles podem manter a biodegradabilidade da matriz e muitas vezes são menos dispendiosos que os aditivos sintéticos (ASGHER et al., 2020; MUNTEANU; VASILE, 2020; NAIR et al., 2014).

Diante do exposto anteriormente, a lignina kraft (LK) obtida do processamento da celulose ganha destaque, visto que sua presença em diversas matrizes biopoliméricas aumentou a resistência mecânica (DIAS et al., 2016) e hidrofobicidade (GOMIDE et al., 2020), como também adicionou funcionalidade antioxidante (YANG et al., 2020a) e bloqueou a passagem de radiação UV (SADEGHIFAR; RAGAUSKAS, 2020). Contudo, a hidrofobicidade da lignina dificulta sua dispersão em matrizes hidrofílicas como o IPS, podendo resultar em aglomerados que prejudicam o desempenho mecânico e de barreira dos filmes (MUNTEANU; VASILE, 2020; PARIT et al., 2018). Atualmente, alternativas como modificação química (HE et al., 2019), nanopartículas (DUVAL; LAWOKO, 2014) e adição de compatibilizante (CHEN et al., 2006) já foram comprovadas, porém, tais processos são dispendiosos ou necessitam de elevado consumo de reagentes e energia (AGARWAL; RANA; PARK, 2018).

Logo, uma alternativa mais econômica e simplificada, é a mistura dos componentes por miscibilidade mútua, onde a solubilização da lignina em meio alcalino enfraquece as interações

hidrofóbicas da molécula e beneficia sua dispersão na matriz (MELRO et al., 2020; YANG; CHING; CHUAH, 2019). Aadil et al. (2016) produziu filmes homogêneos e conseqüentemente mais fortes e com menor permeabilidade ao vapor d'água, com diferentes razões de gelatina e lignina extraída de acácia (100:0 à 60:40), entretanto esta metodologia de solubilização da lignina ainda não foi explorada para filmes de IPS.

Em vista disso, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver filmes multifuncionais de IPS com LK utilizando a metodologia de solubilização alcalina e caracterizar os filmes quanto as suas propriedades morfológicas, químicas, hidrofóbicas, mecânicas, óticas, térmicas e selabilidade, como também funcionalidade antioxidante e bloqueador UV.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1. Embalagens de alimentos e o meio ambiente

Desde a descoberta dos polímeros no início do século XX, já foram produzidos bilhões de toneladas de plásticos em todo o mundo. O rápido crescimento na produção de plásticos supera a maioria dos outros materiais fabricados pelo homem, por serem leves, baratos, duráveis, moldáveis e resistentes a degradação natural (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017; SCALENGHE, 2018). E com a mudança global no modelo de mercado de substituição dos materiais reutilizáveis por descartáveis, o setor de embalagens teve seu crescimento acelerado, chegando a representar o principal consumidor de plásticos no mundo (39.9%) (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017; PLASTIC EUROPE, 2019). É inegável que a introdução dos plásticos sintéticos na sociedade contemporânea trouxe diversas vantagens, porém ao se tornar um desperdício, seus acúmulos e descartes incorretos afetam adversamente os ecossistemas (SCALENGHE, 2018).

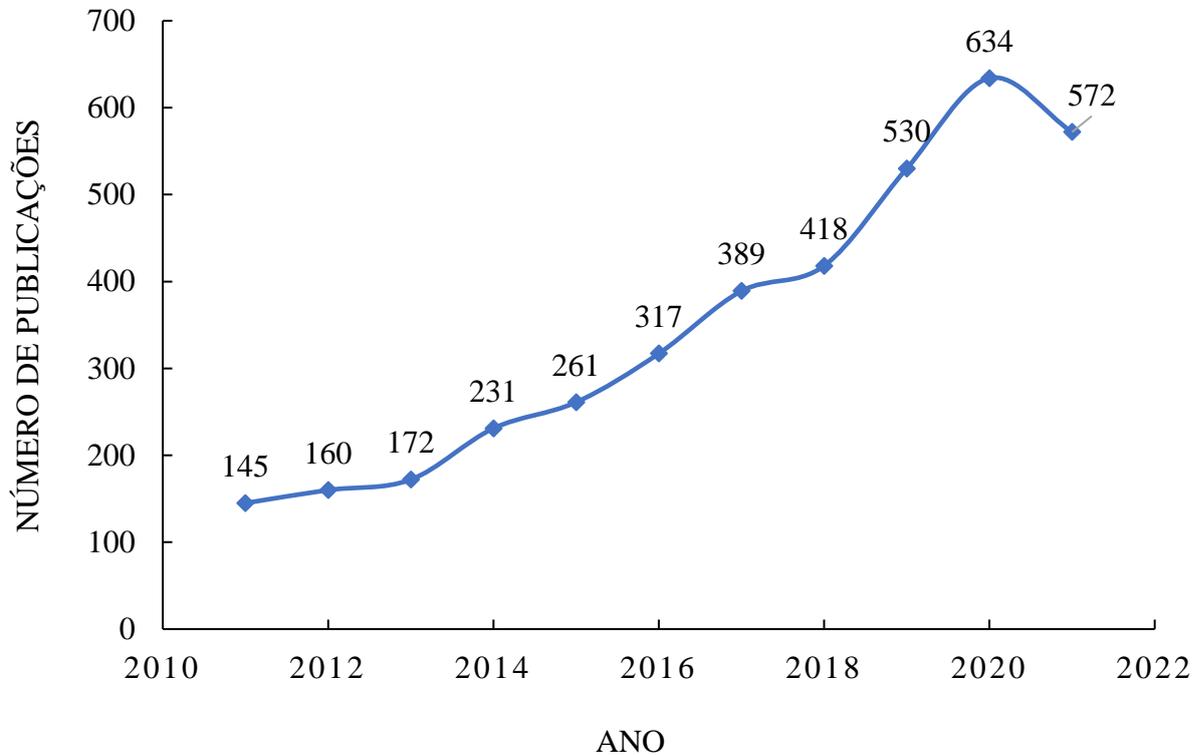
O acúmulo desses polímeros deve-se principalmente o curto ciclo de vida das embalagens, que deixam de ser úteis no mesmo ano em que foram produzidos (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). Geralmente, estes materiais são descartados com suas características funcionais praticamente intactas, o que poderia favorecer sua reciclagem e reutilização (LEBRETON; ANDRADY, 2019). Entretanto, as taxas de reprocessamento e reciclagem ainda são baixas, com cerca de 25,8% em todo território nacional. Essa taxa se deve principalmente a fatores como elevado custo de coleta, falta de infraestrutura, baixa demanda, como também a possibilidade de contaminação e mistura entre polímeros durante o processamento (CECON et al., 2021; GEYER; JAMBECK; LAW, 2017; LEBRETON; ANDRADY, 2019).

Não obstante, somada à baixa reciclagem e com a crescente demanda por material virgem, a produção de resíduos vem aumentando a uma taxa anual de 4,2% desde 2010, com projeção de se manter até 2024, elevando consideravelmente o volume de resíduos descartados (ALL4PACK, 2016). Logo uma alternativa a esse cenário é o consumo de produtos mais ecológicos e sustentáveis, que no fim de seu ciclo de vida, uma embalagem biodegradável permite a compostagem local como uma forma de reciclagem do material (KETESEN; JANSSEN; HAMM, 2020; ZHONG et al., 2020).

Dito isto, com a mudança das necessidades do mercado e evolução da consciência ambiental e de sustentabilidade, pesquisas com interesse na aplicação dos polímeros biodegradáveis para embalagens, tem ganhado cada vez mais destaque nos últimos anos (HAIDER et al., 2019). Ao buscar pelo termo “embalagens biodegradáveis” no *Scopus* (19 de

Julho de 2021), identifica quase 4000 publicações nos últimos 10 anos, com uma média de 50 publicações por ano (Figura 1).

Figura 1 - Número de publicação sobre embalagens biodegradáveis nos últimos 10 anos no Scopus.



Fonte: Elaborado pelo autor(a).

Entre os mais citados estão artigos sobre aplicação de bionanocompósitos para embalagens de alimentos (RHIM; PARK; HA, 2013) e técnica de melhoria de propriedades físicas e mecânicas (FARAH; ANDERSON; LANGER, 2016). Regularmente, é observado um padrão de avaliação das propriedades mecânicas, térmicas, barreira a vapor d'água e biodegradabilidade, como também adição de funcionalidade antimicrobiana/antioxidante e bloqueador de radiação UV dos filmes.

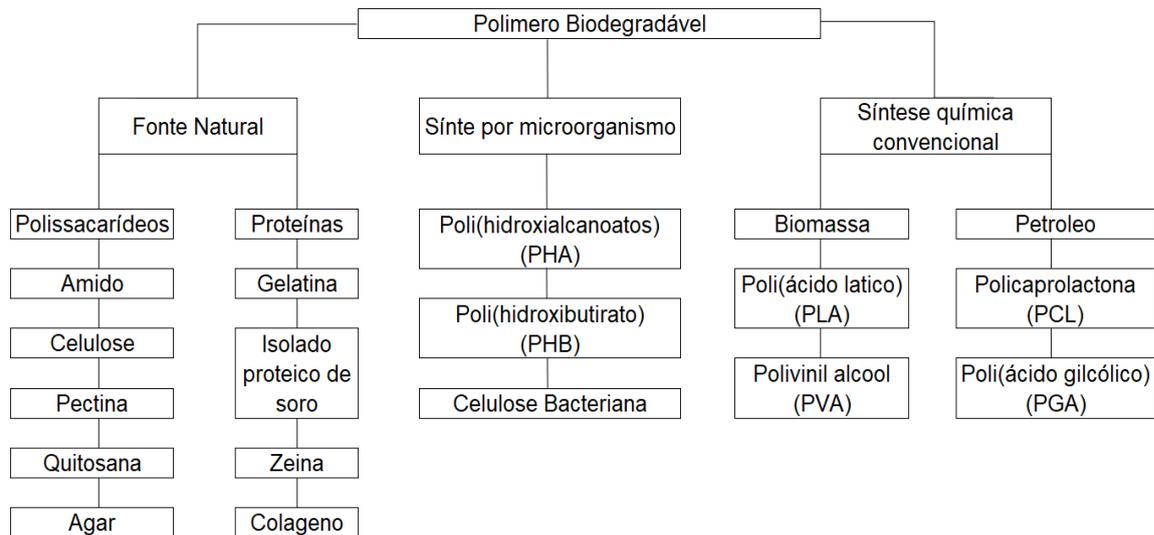
A investigação de tais propriedades é recorrente, pois ao aumentar o desempenho e a estabilidade dos filmes biodegradáveis, conseqüentemente aumenta suas aplicações no mercado de embalagens (STOICA et al., 2020). Sendo assim, é possível obter uma maior competitividade econômica, quando comparados aos polímeros não-biodegradáveis, e ainda cumprir as funções básicas de uma embalagem como: proteger, armazenar, transportar, vender e garantir a qualidade do produto em seu interior até seu consumo (HURLEY et al., 2013).

2.2. Polímeros biodegradáveis

Os biopolímeros têm sido comumente citados na literatura como possíveis concorrentes dos materiais plásticos não-biodegradáveis, principalmente aqueles empregados para embalagens descartáveis e de curto prazo (STOICA et al., 2020; YADAV et al., 2018). O interesse crescente nesses materiais, está principalmente na sua capacidade de degradar em condições adequadas e um intervalo de tempo razoável, sem causar problemas de acúmulo no meio ambiente (SCALENGHE, 2018). Logo, nos últimos anos, academia e indústria tem focado seus esforços em desenvolver materiais que atendam as propriedades necessárias a uma embalagem e ainda mantenha sua biodegradabilidade (KETELSEN; JANSSEN; HAMM, 2020; PEELMAN et al., 2013).

Segundo a ASTM D-5338-15 (ASTM STANDARD D5338, 2011), os polímeros biodegradáveis são definidos como um polímero capaz de ser metabolizado por microorganismos, produzindo CO₂, CH₄, H₂O, biomassa e outros compostos naturais (LUYT; MALIK, 2019). Essa biodegradação dependerá de variáveis como composição do material a ser degradado, tempo, temperatura, pressão, umidade relativa e oxigênio, em que o sistema é submetido (ZUBAIR; ULLAH, 2020). Vale ressaltar, que outros processos como fotodegradação, oxidação e hidrólise também podem ter impacto na estrutura e nas cadeias dos polímeros antes ou durante a biodegradação (ZHONG et al., 2020).

Os polímeros biodegradáveis podem ser classificados em três grandes grupos, baseado na fonte de matéria-prima ou processo de fabricação, como mostra na Figura 1. Os biopolímeros sintetizados podem ser obtidos por fonte fóssil (policaprolactona - PCL), biomassa (poliácido láctico (PLA)) ou microorganismo (hidroxialcanoatos (PHA)). Enquanto as fontes naturais agregam os polissacarídeos (amido e celulose) e proteínas (gelatina e isolado proteico de soro) (ZHONG et al., 2020; ZUBAIR; ULLAH, 2020).

Figura 2 - Esquema representativo dos polímeros biodegradáveis disponíveis.

Fonte: Adaptado pelo autor(a).

Entre todos os biopolímeros disponíveis, esforços estão sendo focados em proteínas animal e vegetal, devido a sua relativa abundância, boas propriedades de formação de filme, biodegradabilidade e valor nutricional (ZUBAIR; ULLAH, 2020). Além disso, em baixa umidade relativa, os filmes a base de proteínas exibem maior propriedade de barreira a gases e aromas, quando comparados com os derivados de lipídios e polissacarídeos (CALVA-ESTRADA; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ; LUGO-CERVANTES, 2019). A permeabilidade ao oxigênio dos filmes a base de proteína de soja, por exemplo, chegam a ser 260, 500, 540 e 670 vezes menor do que filmes de metilcelulose de baixa densidade, polietileno, amido e pectina, respectivamente (CHEN et al., 2019).

2.2.1. Isolado Proteico de Soro de Leite

O soro de leite é um co-produto obtido do processo de fabricação de queijo, constituído principalmente por α -lactalbuminas (20%), β -lactoglobulinas (57%) e albumina de soro bovino (BSA) (7%) (CALVA-ESTRADA; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ; LUGO-CERVANTES, 2019). Segundo relatório da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, no Brasil em 2018, mais de 8,3 milhões de litros de leite foram destinados à produção de queijo (EMBRAPA, 2019). Nesse processo, para cada kg de queijo produzido, são gerados 9 kg de soro de leite líquido, o que mostra uma geração de no mínimo 7,5 milhões de litros de soro só em território nacional (DE CASTRO et al., 2017; YADAV et al., 2015). Desse volume, o soro do leite que não é reprocessado, é simplesmente tratado e descartado, ocasionando em uma demanda de tempo,

energia e dinheiro, que poderiam ser revertidos em fonte de renda para empresa (AHMAD et al., 2019).

Dito isto, na literatura diversos estudos relatam a boa capacidade de formação de filmes à base de proteínas do soro de leite (CALVA-ESTRADA; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ; LUGO-CERVANTES, 2019; RAMOS et al., 2013; ZUBAIR; ULLAH, 2020). Essa formação de filmes ocorre por transformações físicas e químicas da molécula, que no caso das proteínas, é induzido pela desnaturação térmica da solução (ZUBAIR; ULLAH, 2020). Esse fornecimento de calor modifica irreversivelmente a estrutura tridimensional da proteína e expõe grupamentos funcionais internos (S-H) e hidrofóbicos da molécula (CHEN et al., 2019).

Por conseguinte, durante a evaporação lenta do solvente, novas interações (interações eletrostáticas, forças de van der Waals, ligações de hidrogênio, ligações covalentes e dissulfeto) ocorrem entre as cadeias poliméricas formando uma matriz coesa do filme (CALVA-ESTRADA; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ; LUGO-CERVANTES, 2019; JOOYANDEH, 2011; WAGH et al., 2014). As características do filme formado, dependerão de variáveis como: pH, temperatura e tempo de aquecimento, como também concentração de proteína e plastificantes.

Os filmes de proteínas podem ser formados em pH 1-3 e 7-12, ou seja, condições ácidas ou alcalinas distantes do ponto isoelétrico da solução. No ponto isoelétrico das proteínas do leite (~5,5), não é possível formar filme, devido à mínima repulsão intermolecular destas, causando a coagulação das proteínas ao invés de dispersar (MAURI; AÑÓN, 2006). Segundo Anker et al. (2000) e Nicolai et al. (2011), valores de pH mais alcalino (pH>8,0), favorece a formação de filmes mais densos, flexíveis e com melhores propriedades de barreira a gases, devido ao aprimoramento da gelificação das proteínas e maior repulsão eletrostática, a qual favorece reações de troca de ligações dissulfeto e tiol.

Com relação à concentração de sólidos, contando que essa seja mantida constante, bons filmes podem ser formados em concentrações menores ou próximas de 5% IPS/solução. Enquanto, a temperatura e tempo de aquecimento para desnaturação térmica das proteínas, são otimizadas próximas de 80°-90°C e 30 min, respectivamente (CHEN et al., 2019). Contudo, a densidade das forças de coesão das proteínas tendem a ser fortes, o que leva a formação de filmes frágeis e quebradiços. Logo, a adição de plastificantes (glicerol ou sorbitol) se faz necessária, pois atuam na diminuição das forças intermoleculares da matriz e aumenta a mobilidade da cadeia, favorecendo maior extensibilidade dos filmes (WIHODO; MORARU, 2013).

Atualmente, há um grande número de publicações relatando as propriedades mecânicas,

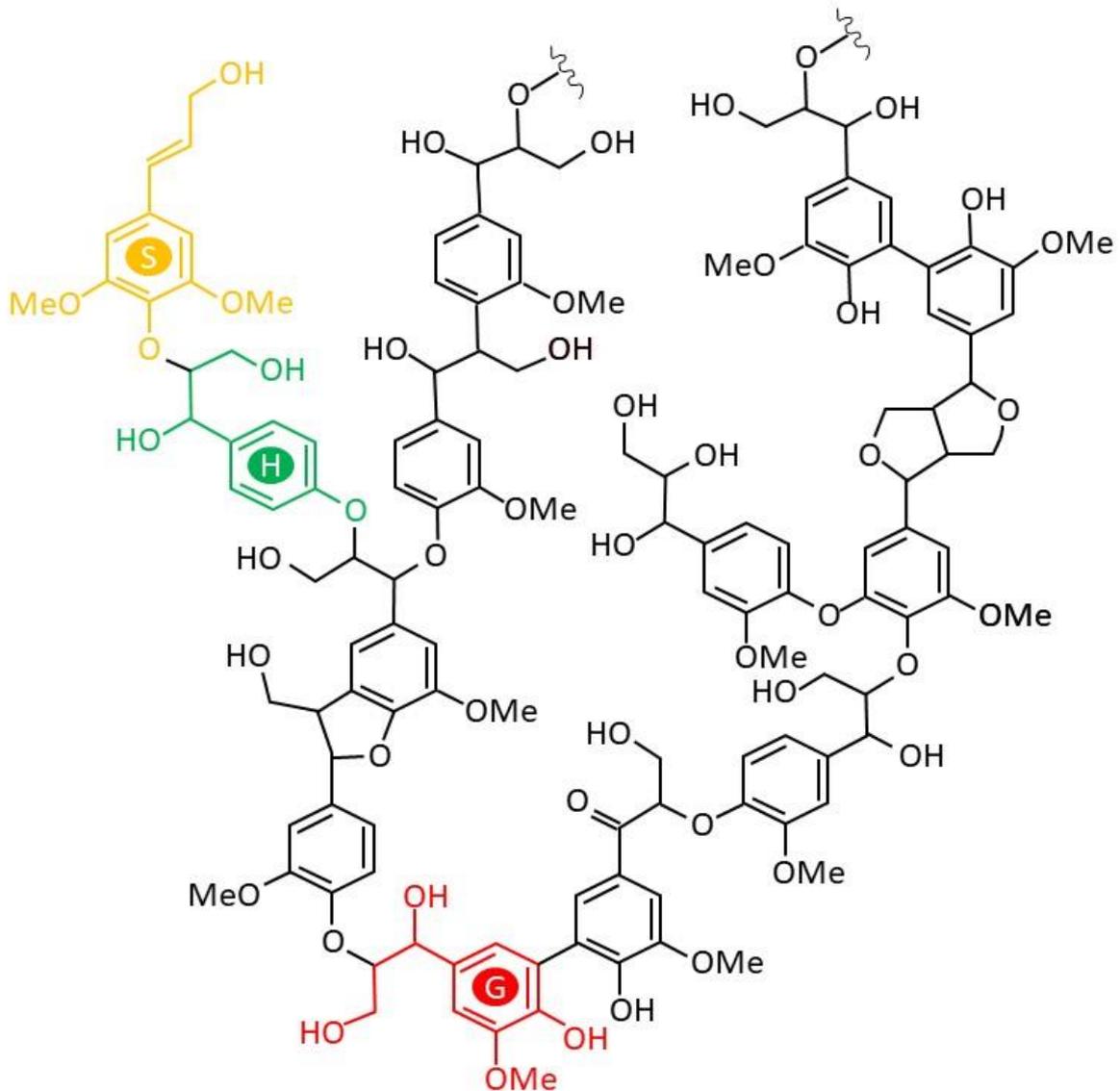
térmicas e de barreira desses filmes. Nesses estudos evidencia-se a boa propriedade de barreira a gases (GALUS; KADZIŃSKA, 2019; SCHMID et al., 2015a), porém devido ao caráter hidrofílico dos filmes, não há adequada barreira ao vapor d'água (HUNTRAKUL; HARNKARNSUJARIT, 2020a). Outras desvantagens, é o baixo desempenho mecânico e térmico, que limitam a expansão de aplicações na indústria de embalagens (MUTHURAJ; MISRA; MOHANTY, 2018; ZHANG et al., 2016).

Logo, para superar essas limitações, uma das estratégias mais atraentes é a mistura de componentes, como a incorporação de aditivos (naturais ou sintéticos), para formação de blendas ou compósitos biopoliméricos (ZUBAIR; ULLAH, 2019). Recentemente, a incorporação de aditivos naturais oriundos de subprodutos da agroindústria ganha maior visibilidade, principalmente pelo fato de gerar alternativas de reaproveitamento, ter alta disponibilidade, manter a biodegradabilidade da matriz e muitas vezes ainda são menos dispendiosos que os aditivos sintéticos (ASGHER et al., 2020; MUNTEANU; VASILE, 2020; NAIR et al., 2014). Dito isto, a lignina tem se mostrado um aditivo natural promissor na melhoria do desempenho de filmes biodegradáveis e adição de funcionalidades, os quais serão discutidos nos tópicos a seguir.

2.3. Lignina

A lignina é o segundo biopolímeros mais abundante na natureza e esta presente no sistema estrutural da parede celular das plantas (CHAUHAN, 2020). Classificada como uma macromolécula amorfa, é constituída principalmente por unidades aromáticas de álcool paracumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico, que compreendem a resíduos de p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e seringil (S) (Figura 3). A lignina de madeira macia (obtida principalmente de gimnospermas) é geralmente composta por mais de 95% de unidade G (SEN; PATIL; ARGYROPOULOS, 2015a). Contudo, sua composição e propriedades podem variar entre diferentes tipos de vegetais, como também nos diferentes tecidos da mesma planta, elevando assim o grau de complexidade no mapeamento de sua estrutura (PONNUSAMY et al., 2019).

Figura 3 - Representação da estrutura da lignina com os principais grupamentos funcionais e monômeros presentes na molécula da lignina.



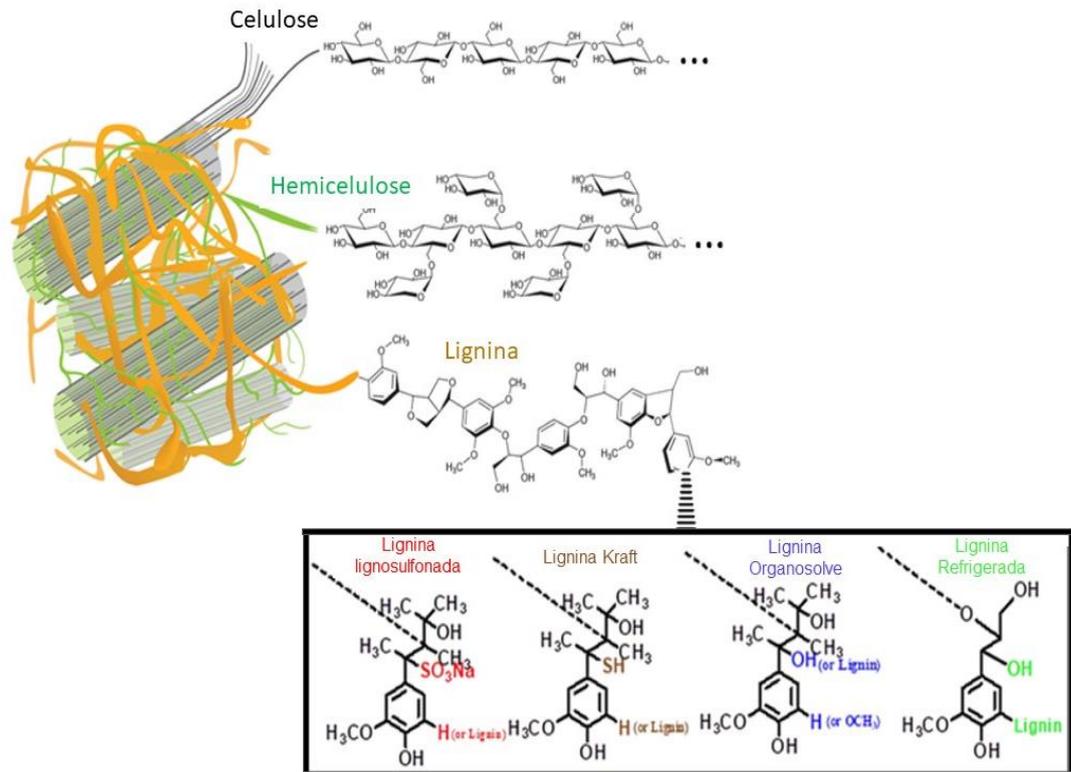
Fonte: Adaptado pelo autor.

A lignina não está prontamente disponível na natureza, sendo necessário processos de extração para sua obtenção, os quais resultam na lignina técnica. As técnicas de deslignificação atuais geram ligninas dos tipos lignossulfonato, refrigerante, organossolve e kraft. As principais diferenças estruturais entre elas estão na presença de grupamento hidroxil, carboxil e sulfonatos, representados na figura 4 (MELRO et al., 2018a).

Na lignina lignossulfonada e kraft, há incorporação de enxofre na molécula durante o processo de polpação, o que pode vir a ser uma desvantagem dependendo de sua aplicação (AGARWAL; RANA; PARK, 2018). Já a lignina refrigerada e organossolve, são livres desse

composto, porém são produzidas em menor escala e seus processos são empregados principalmente para outros materiais que não sejam madeira (DUVAL; LAWOKO, 2014).

Figura 4 - Representação esquemática da parede celular da planta destacando os principais constituintes na parte superior. Na parte inferior é destacado os diferentes tipos de lignina obtida em diferentes processos de extração e purificação.



Fonte: Melro et al., 2018.

Dentre esses processos, a polpação kraft representa cerca de 90% da lignina disponível no mundo, devido à sua versatilidade para processar praticamente qualquer tipo de matéria-prima lignocelulósica, como também permite a recuperação e reutilização de seus produtos químicos de forma barata e rápida (KOMURA, 2015; SANTOS et al., 2014).

2.3.1. Processo Kraft

No processo Kraft, durante o cozimento do cavaco da madeira, são combinados de dois agentes químicos, hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na_2S), permitindo a liberação das fibras, e obtenção da lignina dissolvida (DOHERTY, 2011; KOMURA, 2015). Nesse processo a lignina é removida das fibras celulósicas através de uma série de reações de despolimerização alcalina e sulfonação, o que acarreta modificação de sua estrutura por

condensação ou fragmentação química, além de afetar o comportamento de dissolução da lignina (MELRO et al., 2018a; NASEEM et al., 2016).

Devido ao processo de polpação, estrutura química da KL muda drasticamente em relação à nativa, onde a quebra das ligações beta-arila gera maiores quantidades de hidroxilas fenólicas, enquanto as ligações C-C condensadas aumentam (HAN et al., 2018). Ao final do processo de polpação da madeira, é gerado o “licor negro” de natureza alcalina, onde 15-18% são sólidos dissolvidos, compostos majoritariamente de lignina, carboidratos, extrativos e reagentes residuais (KOMURA, 2015). Dito isto, é válido ressaltar que essa composição varia em função do tipo de madeira processada.

Para isolar a lignina, é utilizado o método de precipitação ácida seguida de filtração. Nesse método são adicionados ácidos (sulfúrico (H_2SO_4) ou clorídrico (HCl)), de modo a diminuir o pH do meio e conseqüente precipitação da molécula de lignina. Em seguida a amostra é filtrada e secada (KOMURA, 2015). De acordo com SANTOS (2014), o tipo de ácido empregado influencia nos compostos gerados durante o processo, onde lignina precipitada com ácido sulfúrico forma sais de Na_2SO_4 , enquanto com ácido clorídrico é formado NaCl.

2.4. Mistura de polímeros e lignina

A lignina já foi adicionada em vários polímeros, seja biodegradável ou não. Porém, a definição do material resultante ainda não é muito clara na literatura, onde alguns autores se referem como blendas, compósito ou aditivo (KUN, 2017). Logo, primeiramente, será feito um esclarecimento das definições a serem interpretadas nesse trabalho, para então discutir a formação dos filmes com a lignina.

As interações entre dois ou mais componentes, desempenham um papel crucial na determinação das propriedades da mistura entre polímero/polímero ou polímero/macromoléculas. Para os compósitos, normalmente as cargas são adicionadas a matriz como segundo componente, onde sua energia superficial irá influenciar diretamente na adesão e espessura da interface polímero/carga (KUN; PUKÁNSZKY, 2017b; SEN; PATIL; ARGYROPOULOS, 2015a). Para as blendas, essas são obtidas pela mistura dos componentes, criando um material com propriedades aprimoradas, quando comparado aos componentes puros (KUN; PUKÁNSZKY, 2017b).

Já no caso dos aditivos, esses podem agregar exercem uma função extremamente importante porque podem agregar qualidades e características diferenciadas a uma mesma

categoria de material, diversificando seu campo de aplicação e agregando valor ao produto. Nessa linha, diferentes propriedades da lignina têm sido relatadas na literatura, como ações antimicrobiana (DRAHANSKY et al., 2016; SIPPONEN et al., 2019) e antioxidante (THAKUR et al., 2019; ZADEH; O'KEEFE; KIM, 2018a), bloqueador UV (RAGAUSKAS et al., 2014; XING et al., 2017), elevada hidrofobicidade (MUTHURAJ et al., 2019) e agente de reforço nas mais diversas matrizes poliméricas (DIAS et al., 2016).

Entre as diferentes técnicas para obtenção de filmes biopoliméricos, o método de mistura por solução (*casting*) é o mais empregado nos estudos em escala laboratorial. Essa técnica consiste na formação de uma solução filmogênica, que então é espalhada em uma superfície plana e não adesiva. Em seguida, é submetida a um processo de secagem com a evaporação do solvente, permitindo que forças de coesão (entre as moléculas do polímero) e adesão (entre o filme e a superfície) formem uma película na superfície, que é então removida (ZUBAIR; ULLAH, 2020).

Segundo Muthuraj et al. (2018), a miscibilidade dos componentes só será entropicamente favorável, nos casos em que os polímeros envolvidos possuam alguma forma de interação molecular. Dito isto, ao adicionar a lignina kraft em meio alcalino, há um enfraquecimento das interações hidrofóbicas entre as moléculas, o que beneficia sua solubilidade. A capacidade de ser dissolvida em meio básico, leva desprotonação dos grupamentos hidroxifenolados da lignina, e devido a um maior conteúdo de hidroxilas (OH-) estabiliza os coloides de lignina por cargas negativas na superfície da lignina. E segundo Melro et al. (2018b), quando a molécula está no estado desprotonado, favorece a interação entre os componentes.

Nessa linha, as propriedades da lignina, adicionado de sua abundância e baixo custo, a tornam um aditivo promissor para aplicação sustentável, gerando produtos de maior valor agregado nos mais diversos segmentos (CHAUHAN, 2020; KAI et al., 2016; YANG et al., 2016a).

2.4.1. Propriedades e aplicações multifuncionais da lignina

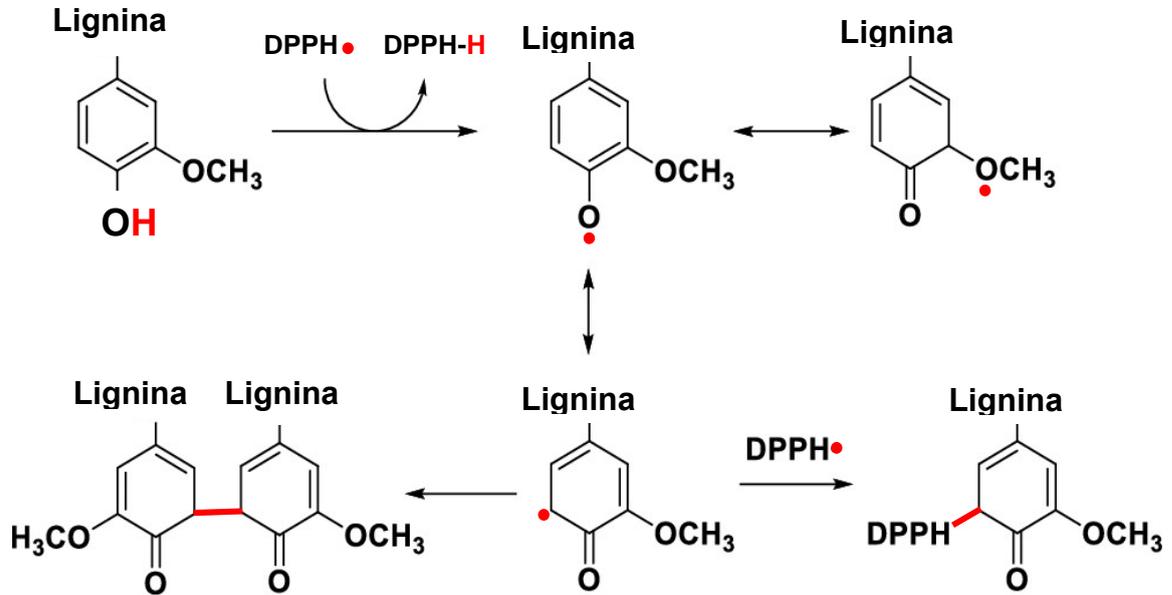
Ao investigar a estrutura da lignina, observam-se grupos hidroxilas alifáticas e fenólicas (Figura 4), que contribuem para sua afinidade com a matriz polimérica polar (COLLINS et al., 2019; KUN; PUKÁNSZKY, 2017a; YANG; CHING; CHUAH, 2019). Quando adicionada a matriz, a lignina pode aumentar a resistência mecânica devido à rigidez relativamente alta da

molécula, atuar como plastificante ao substitui parte das interações do polímero, além de reduzir custos de processo e aumentar a hidrofobicidade dos filmes (MUNTEANU; VASILE, 2020; SUN et al., 2015).

Esses mesmos grupamentos hidroxilas fenólica e alifáticas, também conferem a lignina atividade antioxidante e antimicrobiana significativas (ZADEH; O'KEEFE; KIM, 2018b). Cada vez mais, a incorporação de antioxidantes/antimicrobianos aos filmes da embalagem está se tornando uma tendência, tanto para produção de alimentos mais saudáveis e sem a presença dessas substâncias, como também auxiliar no combate ao estresse oxidativo de filmes empregados como biomateriais (KAI et al., 2016; ZADEH; O'KEEFE; KIM, 2018b). Tais propriedades podem retardar a degradação dos biopolímeros, aumentando seu tempo de vida como embalagem, enquanto ainda não tenha sido descartado (TAVARES et al., 2018).

Os antioxidantes são compostos que combinam e estabilizam os radicais livres gerados pela presença do oxigênio (JAE KIM, 2019). Os efeitos antioxidantes da lignina são considerados derivados da ação de eliminação de suas estruturas fenólicas em radicais livres reativos contendo oxigênio. Para caracterização da atividade antioxidante de compostos fenólicos de ocorrência natural, o método mais usado é usando o 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH●) como um radical livre reativo (DIZHBITE, 2004). Nesse caso, a lignina reage com DPPH pela doação de hidrogênio da molécula fenólico para capturar as moléculas de DPPH. Em seguida, o grupamento metoxila estabiliza o radical fenólico, ou as moléculas livres de DPPH podem ser estabilizadas pela combinação com radical arila para formar um par de elétrons, conforme representado na figura 5.

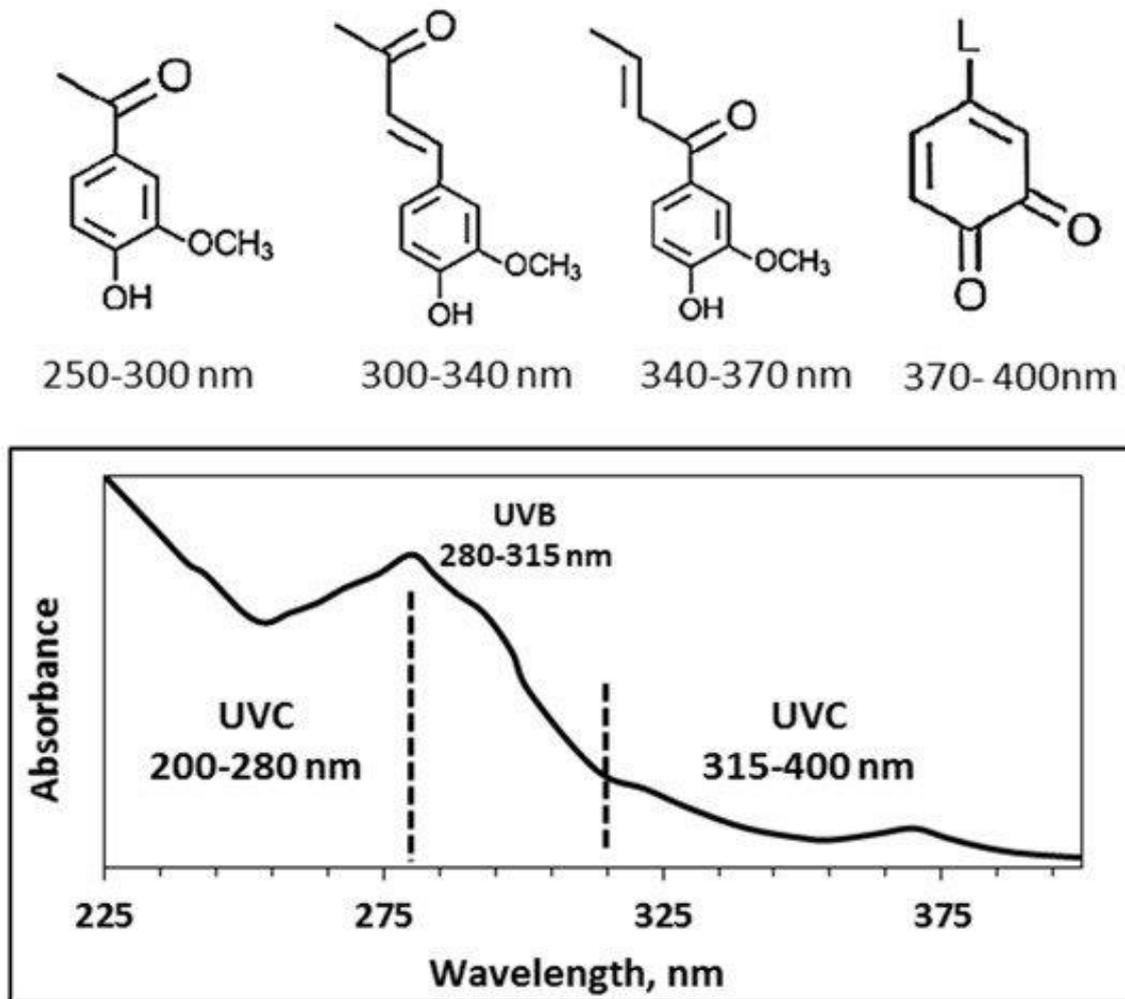
Figura 5 – Representação do mecanismo de reação plausível entre a lignina e o radical DPPH.



Fonte: Adaptado de Kim et al., 2019.

Outra propriedade da lignina muito relacionada, é a capacidade de absorver a radiação UV, onde a presença de grupamentos funcionais cromóforos (quinonas e fenóis) e grupos funcionais insaturados (carbonil, anéis aromáticos e ligações duplas C=C), conseguem absorver a luz visível. Tal característica confere a lignina coloração marrom ao preto, que reduz a transparência do produto final. Um espectro de absorção de luz de lignina na faixa de luz UV e visível, e diferentes grupos de cromóforos com suas absorções de comprimento de onda estão na figura 6 (SADEGHIFAR; RAGAUSKAS, 2020).

Figura 6 – Cromóforos presentes na estrutura da lignina e seus espectros de absorção no UV.



Fonte: Sadeghifar et al., 2020

Apesar de todas as vantagens, o maior desafio atualmente na aplicação da lignina é a incompatibilidade entre a matriz hidrofílica de biopolímeros com a lignina hidrofóbica (PARIT et al., 2018). A adição de lignina em pó, tende a formar aglomerados, que prejudicam o desempenho mecânico dos filmes (MUNTEANU; VASILE, 2020). Shankar et al. (2015), relataram uma melhoria na resistência a tração para filmes de ágar com até 3% de lignina. Acima dessa concentração, foi observada a formação de aglomerações, o que favorece a transferência desigual da tensão na superfície do filme, diminuindo seu desempenho de resistência a tração.

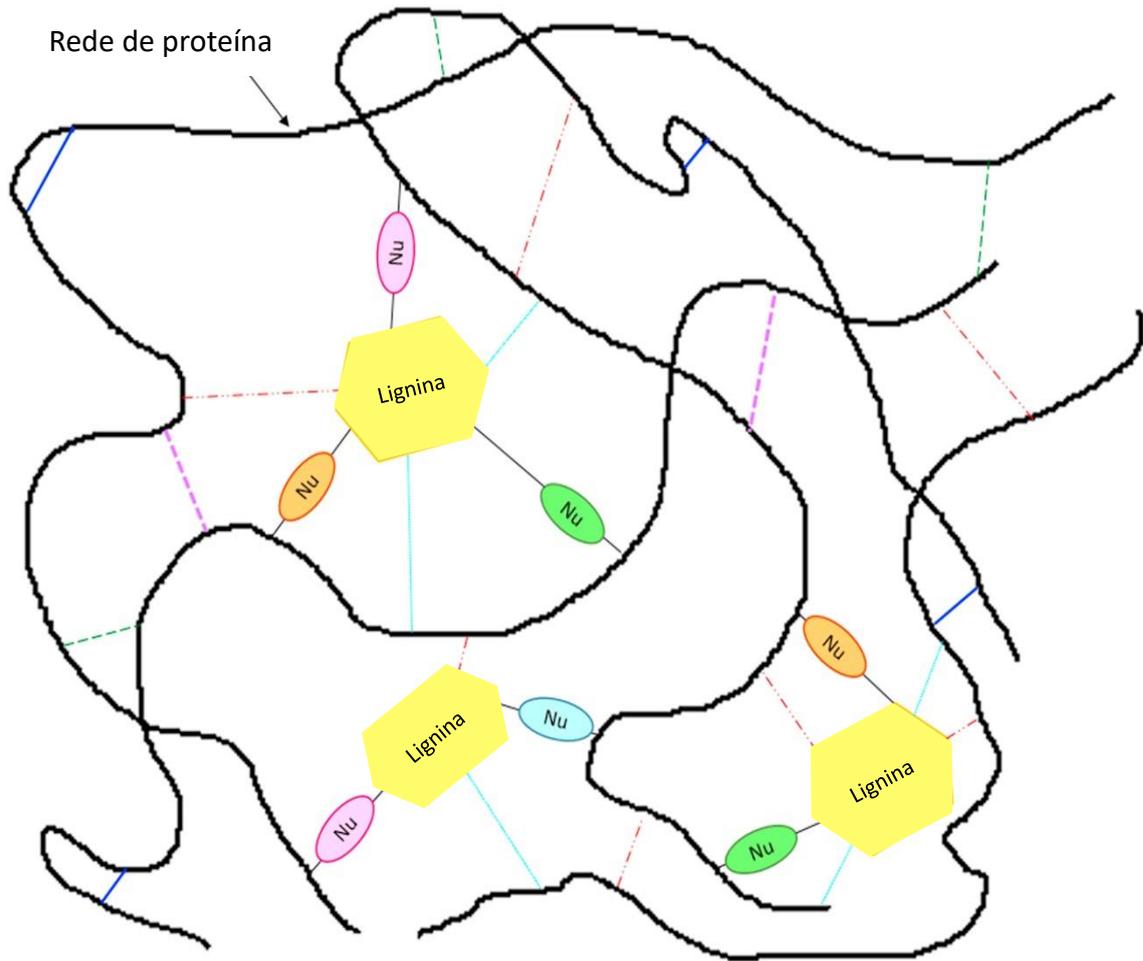
Essa agregação, se deve principalmente a abundância de grupos funcionais presente na lignina, que provoca uma auto-interação forte entre as moléculas (KUN; PUKÁNSZKY, 2017b). Segundo Yang et al. (2019) a lignina tende-se a agregar devido ao empilhamento π - π da ligação de hidrogênio, anéis aromaticos e atrações de Van der Waals entre as cadeias

poliméricas, o que influencia diretamente na determinação da estrutura e propriedades das misturas biopolímero/lignina formadas (YANG; CHING; CHUAH, 2019). Portanto, o aumento da concentração da lignina em pó favorece sua auto-interação e desfavorece sua compatibilidade e dispersão na matriz biopolimérica (MELRO et al., 2018b).

Visando contornar essa limitação, algumas abordagens como modificação química, nanopartículas e adição de compatibilizante já foram comprovadas, porém, em todos esses há um elevado custo com reagente e energia de processo (AGARWAL; RANA; PARK, 2018). Logo, uma alternativa mais econômica e simplificada, é realizar a solubilização prévia da lignina, em solução básica de NaOH 0,1M (MELRO et al., 2020). Tal estratégia para mistura de dois componentes, se mostra coerente para metodologias envolvendo filmes de proteína, visto que essas matrizes formam filmes mais coesos em pHs alcalinos.

Na matriz de proteína, os grupos funcionais da lignina interagem fortemente com os aminoácidos da proteína por interações eletrostáticas ou ligações de hidrogênio (Figura 7). Tais interações geram uma extensa modificação conformacional da proteína, aumentando as propriedades físicas do biocompósito formado (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016; YANG; CHING; CHUAH, 2019).

Figura 7 - Modelo de rede formado pela interação lignina/proteína.



Fonte: Pradyawong et al. (2017).

Dito isto, Aadil et al. (2016), desenvolveu filmes de gelatina com lignina de acácia, por meio do método de fundição em solução. A lignina (1% p/v em NaOH 0,1 M) foi adicionada na solução filmogênica de gelatina em proporções de 10%, 20%, 30% e 40%. Com essa metodologia, foi obtido filmes homogêneos e com superfície lisa, enquanto a incorporação de até 30% de lignina produziu efeito plastificante, aumentando as propriedades mecânicas, térmicas e ópticas dos filmes. Além disso, as interações hidrofóbicas e de hidrogênio entre a lignina e a gelatina, contribuíram para redução da afinidade com a água.

Após a obtenção dos filmes com lignina, sejam compósitos ou blendas, os estudos tem focado na caracterização desses através de suas propriedades mecânicas, interação com a água, estabilidade térmica ou investigação de funcionalidades antioxidantes e bloqueador UV. Porém, uma característica primordial para dizer que um filme pode ser aplicado como embalagem não tem sido investigada, sendo a propriedade de selabilidade desses filmes.

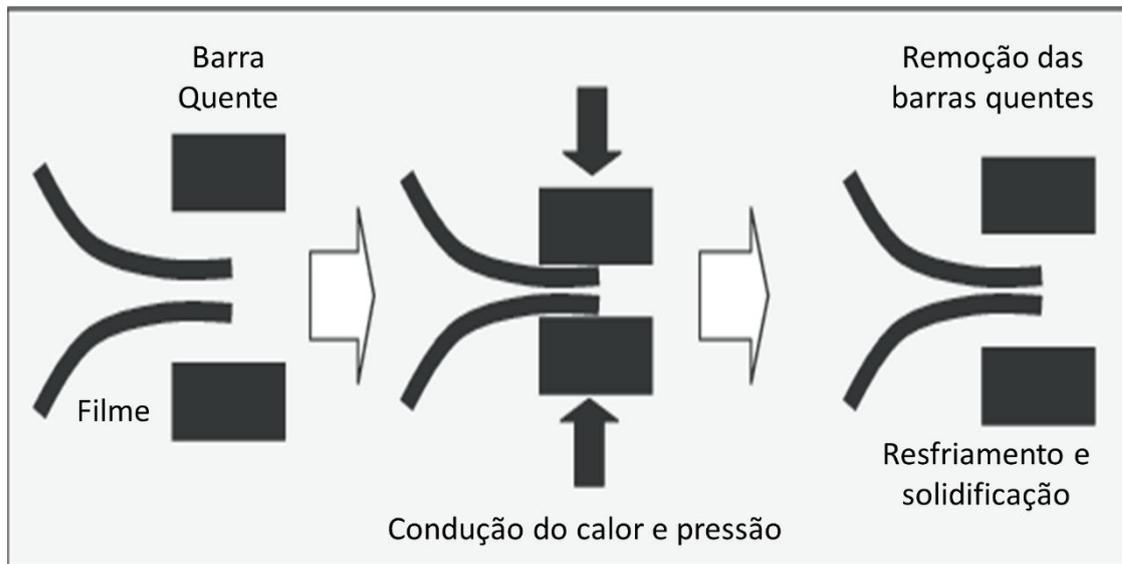
Tal perspectiva, deixa uma lacuna quanto a compreensão das propriedades e mecanismos de selagem desses filmes com lignina kraft, uma propriedade importante a ser avaliada quanto se investiga aplicabilidade de um filme como embalagem. Dito isto, uma discussão sobre as pesquisas existentes e futuro potencial nos estudos de selagem térmica, serão abordadas no tópico a seguir.

2.5. Propriedade de selagem de biopolímeros

Um das funções das embalagens é conter o produto de interesse por tempo suficiente até seu consumo. Logo, para que a aplicação de filmes polímeros em embalagens flexíveis seja bem-sucedida, uma boa selabilidade térmica e força de vedação são características primordiais (CIANNAMEA et al., 2018; DAS; CHOWDHURY, 2016). O selo deve ter resistência suficiente para suportar impactos e não liberar seu conteúdo durante condições normais de manuseio e armazenamento (KIM; USTUNOL, 2001).

Na indústria de embalagem, a selagem a quente é amplamente utilizada para fazer a junção de filmes poliméricos, devido à boa produtividade, escalabilidade e produção de selos com alta resistência mecânica (HASHIMOTO, 2006; MEKA; STEHLING, 1994). Nesse processo duas camadas de filmes são pressionadas entre duas hastas aquecidas, por um determinado tempo, seguido de resfriamento (Figura 8). Durante o aquecimento, a fusão do polímero provocada pelo calor e simultânea interação interfacial por pressão, favorece a difusão de massa do polímero através da camada derretida. Após o resfriamento, uma junção rígida é formada pela recristalização do polímero, processo que irá interferir diretamente na resistência do selo (KIM, 2001; SU, 2009).

Figura 8 - Sistema de selagem a quente com barras aquecidas.



Fonte: Adaptado Miyata et al. (2014).

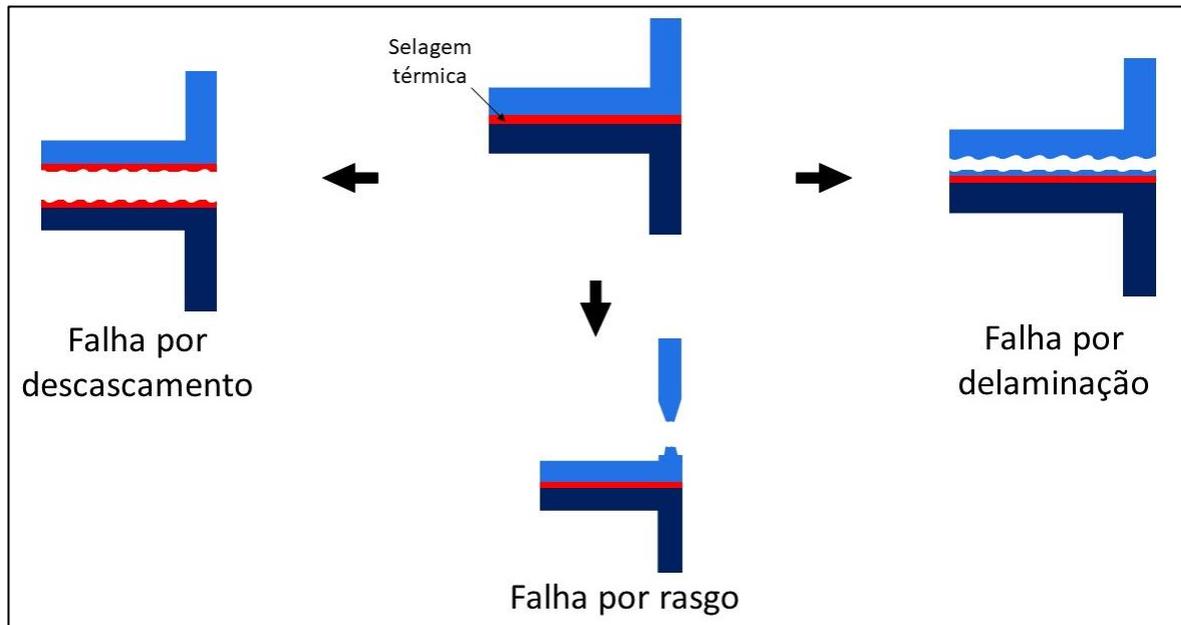
Entre as variáveis de processo relacionadas a selagem térmica, Theller (1989) e Meka (1994), desenvolveram um extensivo estudo sobre propriedades e testes de selagem. Ambos convergem quanto a influência direta das variáveis temperatura, pressão e tempo, na qualidade e resistência dos selos formados.

Segundo Theller (1989) a temperatura e tempo de permanência, influencia mais na resistência do selo do que a pressão. De acordo como Meka (1994), para que o processo de selagem seja escalável comercialmente, o tempo de contato entre as barras aquecidas deve ser pequeno, na ordem de segundos ou menos.

Normalmente a qualidade da selagem a quente é avaliada a partir de propriedades mecânicas, com testes de resistência ao deslocamento, e observação da microestrutura da interface da parte selada (KIM; USTUNOL, 2001). De acordo com *American Society for Testing and Materials* (ASTM F88/F88M-15), a resistência da vedação representa a força máxima necessária por unidade de largura do filme, requerida para separar progressivamente duas superfícies seladas (ASTM, 2015).

Além da resistência do selo, conhecimentos sobre o modo de falha também é importante, pois ajuda na avaliação do desempenho da embalagem e descreve como a superfície vedada irá se separar durante seu manuseio (DAS; CHOWDHURY, 2016). Segundo ASTM F88M (2015) existem diferentes modos de falhas, como delaminação, descascamento e rasgo, representadas na figura 9. A falha do tipo descascamento, ocorrerá sobre o selo, enquanto a delaminação e rasgo, ocorrem no filme próximo à região selada.

Figura 9 - Tipos de falhas observadas em superfícies seladas termicamente.



Fonte: Adaptado ASTM, 2015.

Segundo Yuan et al. (2007), que estudaram a selagem de filmes de polietileno de baixa densidade, foi observado uma relação entre a temperatura de selagem e o tipo de falha. Nas vedações a uma temperatura inferior ao ponto de fusão do material, provocou falhas do tipo descascamento. Enquanto vedações próximas ou acima da temperatura de fusão observou-se a falha do tipo rasgo ou delaminação.

Contudo, apesar de grande parte das informações sobre selagem térmica serem relacionadas a polímeros não-biodegradáveis, ao longo dos anos tem surgido trabalhos que relatam a selagem bem-sucedida de filmes biodegradáveis. Entre as matrizes estudadas tem-se filmes de amido ((DAS; CHOWDHURY, 2016; LIM et al., 2020), poliácido láctico (NILSUWAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2018; PEELMAN et al., 2015), gelatina (CIANNAMEA et al., 2018; LIU et al., 2020), quitosana (PRATEEPCHANACHAI et al., 2016, 2019) e IPS (KIM; USTUNOL, 2001; HERNANDEZ-LZQUIERDO; KROCHTA, 2009; SU *et al.*, 2010; TAI *et al.*, 2014).

Entre os estudos com enfoque no isolado proteico do soro de leite, Kim (2001) foi pioneira ao proporcionar informações sobre propriedades e mecanismos de selagem térmica de filmes de IPS. Em sua pesquisa, foi relatado uma melhor resistência (323 N/mm) para filmes selados a uma temperatura próxima à temperatura de transição vítrea do filme, como também a influência direta da temperatura de selagem e o tempo de retenção na resistência da junta formada. Por meio da espectroscopia de fotoelétrons por raio-X (XPS-ESCA), observou-se um aumento da formação de ligações de hidrogênio (C-O-H) e covalentes (N-C) após a selagem,

informação relacionada como responsável no mecanismo de formação da junta dos filmes.

Entretanto, a resistências desses filmes, ainda permaneceu abaixo da resistência de selagem térmica para polímeros sintéticos (>730 N/m). Logo, de modo a melhorar tal propriedade, Su (2009) e Tai (2014) estudaram blendas de IPS com álcool polivinílico (PVA) e glicerol, obtendo valores de resistência acima de 600 N/m. Segundo Tai (2014) a incorporação de PVA no meio, aumentou a concentração de ligações de hidrogênio, o que favoreceu a melhoria das propriedades mecânicas dos filmes. Enquanto o aumento de glicerol diminuiu a resistência, pois a migração do glicerol para superfície do filme dificultou a interação das macromoléculas na interface da vedação. Nas propriedades investigadas por Su et al. (2009), na área selada foi observado a influência da temperatura de selagem na estrutura cristalina, provocando uma diminuição do grau de cristalinidade após a recristalização.

Outra alternativa é a incorporação de aditivos, onde a presença de lignina em filmes de amido aumentou significativamente a resistência de vedação, necessitando de maior força para abrir os filmes selados (BHAT et al., 2013). Contudo, apesar de os conhecimentos sobre selagem de filmes biopoliméricos estar crescendo, as informações disponíveis sobre a selabilidade térmica de filmes de IPS com adição de lignina, ainda não foi explorada.

SEGUNDA PARTE - ARTIGO

3. ARTIGO - Síntese e caracterização de filmes funcionais de Isolado Proteico de Soro de Leite com adição de lignina kraft como bioativo e sua potencial aplicação em embalagem.

Resumo: A lignina kraft (LK) é um aditivo promissor para produção de filmes multifuncionais para embalagens. Algumas abordagens como nanopartículas, compatibilizantes e modificações químicas, tem sido utilizada para aumentar a dispersão da lignina em biopolímeros. Porém, tais metodologias demandam elevado consumo de reagentes e energia de processo. Uma alternativa econômica e simplificada é a solubilização alcalina da lignina, antes de ser adicionada na solução filmogênica. Dito isto, o objetivo do presente estudo foi produzir filmes multifuncionais de Isolado Proteico de Soro de Leite (IPS) com diferentes concentrações (2-8%) de LK dissolvida em solução alcalina e caracterizar quanto a suas propriedades morfológicas, químicas, hidrofóbicas, mecânicas, óticas, térmicas, selabilidade, como também as funcionalidades antioxidante e bloqueador UV. A solubilização da LK, produziu filmes homogêneos, mais rígidos e hidrofóbicos, quando comparado ao filme controle. Além disso, a lignina conferiu funcionalidades aos filmes, aumentando atividade antioxidante em 33% com relação ao filme controle, e capacidade de absorver a radiação UVA e UVB em quase 100% para filmes com 8% de lignina. Portanto, a solubilização da lignina se mostrou uma metodologia eficiente para produção de filmes multifuncionais a partir de IPS e LK, com potencial aplicação para embalagens de alimentos gordurosos.

Palavra-chave: IPS, Lignina Kraft, Filme translúcido, Embalagem, Bloqueador UV.

1. Introdução

Ao longo dos últimos anos academia e indústria tem se empenhado no desenvolvimento de filmes multifuncionais e também biodegradáveis para embalagens de alimentos, como possíveis concorrentes para os plásticos não-biodegradáveis originados do petróleo (KETELSEN; JANSSEN; HAMM, 2020). Entre os biopolímeros disponíveis, tem-se o isolado proteico de soro de leite (IPS), um co-produto da indústria de queijo, que após a desnaturação térmica forma filmes translúcidos e com baixa permeabilidade a gases, propriedades importantes para o mercado de embalagens de alimentos (ZUBAIR; ULLAH, 2020).

Porém, muitas das potenciais aplicações do IPS requer melhoria nas suas propriedades mecânicas, térmicas e de resistência a umidade (MOHAMMADI et al., 2020). Além disso, a adição de funcionalidades ao filme aumenta sua competitividade no mercado (SCHMID et al.,

2015b). Logo, para superar essas limitações, uma das estratégias mais atraentes é a mistura de aditivos naturais oriundos de sub-produtos da agroindústria, pois além de gerar alternativas de reaproveitamento, muitas vezes são menos dispendiosos que os aditivos sintéticos e ainda mantém a biodegradabilidade da matriz (ASGHER et al., 2020; MUNTEANU; VASILE, 2020; NAIR et al., 2014).

Nessa linha, a lignina kraft (LK) se mostra um bioaditivo promissor, onde suas propriedades antioxidantes, elevada hidrofobicidade e capacidade de bloquear radiação UV, atraem o foco de pesquisas envolvendo sua aplicação nas mais diversas matrizes biopoliméricas como: amido (ZHANG et al., 2020), gelatina (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016), zeína (LEE et al., 2021), proteína de soja (ZUBAIR; ULLAH, 2019) e proteína de leite (GOMIDE et al., 2020). A alta rigidez da molécula torna a lignina um excelente material de reforço para aumentar a resistência mecânica de filmes, enquanto sua hidrofobicidade diminui a permeabilidade ao vapor d'água (ZEVALLOS TORRES et al., 2020). Além disso, a presença de unidades fenólicas confere atividade antioxidante a molécula, enquanto os grupamentos cetonas e outros cromóforos, fazem da lignina um bloqueador natural de radiação UV (PARIT et al., 2018).

Apesar de todas as vantagens, o maior desafio atualmente na aplicação da lignina é sua dispersão na matriz hidrofílica dos biopolímeros (MUNTEANU; VASILE, 2020; PARIT et al., 2018). Grande parte dos estudos com KL tem sido pela adição na forma de pó (micro ou nanopartículas) para formação de compósitos, que em meio hidrofílico e concentrações elevadas (6%) tendem a auto aglomerar, resultando na perda de propriedades do filme (YANG et al., 2019; ZUBAIR; ULLAH, 2020). Uma alternativa a esse problema, é a metodologia de blendas por meio da solubilidade mútua dos componentes, onde a solubilização da LK favorece sua dispersão na solução filmogênica e aumenta a homogeneidade do filme (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016; MELRO et al., 2020; PARIT et al., 2018). Aadil et al. (2016) produziu filmes de gelatina:lignina de acácia em diferentes proporções (100:0 a 60:40), porém a redução na concentração de gelatina na solução influenciou na formação de rede da proteína, levando a perda de resistência dos filmes.

Dito isto, o objetivo deste trabalho foi produzir filmes de IPS com diferentes concentrações de LK, previamente solubilizada em solução alcalina de hidróxido de sódio (NaOH). Em seguida, objetivou-se também caracterizar os filmes quanto as suas propriedades morfológicas (Microscopia Eletrônica de Varredura), químicas (Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier), interação com a água (Solubilidade, ângulo de

contato, molhabilidade e Permeabilidade ao vapor d'água), térmicas (Termogravimetria, Calorimetria Exploratória Diferencial e Selabilidade), mecânicas (Resistência a tração, Módulo de Young e Resistência ao Alongamento) e óticas (Análise de cor e Transparência), como também as funcionalidades de bloquear radiação UV e atividade antioxidante.

2. Materiais e métodos

2.1 Materiais

A lignina utilizada foi obtida de coníferas por precipitação ácida do licor negro do processo kraft, doada por uma empresa de papel e celulose. O isolado proteico de soro de leite com 92.0% em base sólida de proteína obtida pela Hilmar Ingredients. O glicerol foi obtido da Sigma Aldrich.

2.2 Preparação dos filmes

Todos os filmes foram produzidos pelo método de solução em casting, descrito por Gomide et al. (2020) e Aadil et al. (2016), com algumas modificações. Os filmes foram produzidos dissolvendo IPS (5% p/v) e glicerol (40% p/p de IPS) em água destilada a temperatura ambiente por 30 min. Separadamente, diferentes concentrações de lignina (2; 4; 6 e 8% p/p de IPS) foram solubilizada em 20 mL de solução alcalina de NaOH (0,1 mol/L). Na sequência, a solução de lignina foi adicionada na solução filmogênica de IPS e deixado sob agitação magnética por mais 10 minutos. Os filmes produzidos foram identificados como LP0 (filme controle), LP2, LP4, LP6 e LP8, conforme a concentração de lignina. O pH da solução filmogênica foi corrigido para 8.0, com solução de NaOH (1 mol/L). Em seguida a solução foi aquecida em banho maria aproximadamente a 85°C por 30 min. Na sequência, após o resfriamento, a solução (150 mL) foi depositada em placas de vidro (18x32 cm) e secos em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 24 h, até total evaporação do solvente. Os filmes foram feitos em triplicata e ao final foram condicionado em B.O.D a 25 °C e 50% umidade relativa, para realização dos testes, que também foram feitos em triplicata.

2.3 Microscopia Eletronica de Varredura (MEV)

A análise de microscopia eletronica de varredura (MEV) foi realizada em microscópio LEO EVO 40 (Zeiss, Cambridge, Inglaterra) com voltagem de 20kV e ampliação de x500, x750 e x1000 da superfície e sessão-transversal. As amostras foram fixadas em stubs com fita de carbono dupla face e metalizadas com banho de ouro sob vácuo, permitindo um aumento da

condutividade da amostra. As micrografias da sessão transversal foram obtidas após fratura criogenica dos filmes, para evitar qualquer deformação na interface.

2.4 Espectroscopia com transformada de fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada em espectrômetro FTS 3000 Excalibur Digilab (EUA) equipado com detector de ATR, na faixa do espectro de 650-4000 cm^{-1} , 64 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

2.5 Ângulo de contato da água e molhabilidade

O ângulo de contato com a água (AC) e a molhabilidade foram determinados por medidas do ângulo de contato estático com a água, usando equipamento goniômetro (DSA25B, Alemanha) equipado com câmera do vídeo e colocado em uma sala climatizada (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$. Os filmes foram (3 x 10 cm) fixados na lamina de vidro com fita dupla face e com uma microseringa foi aplicado uma gota de água (10 μL) na superfície do filme. Foram analisados o lado em contato com a superfície de vidro (face-s) e a superfície exposta ao ar (face-a). O ângulo de contato foi calculado por meio do registro do ângulo tangente formado entre a gota e a superfície no tempo de 1 segundo. A molhabilidade foi calculada como valor médio das medições do ângulo formado entre 10s e 60 s, onde os primeiros 10 s foram considerados para permitir que a gota atingisse o estado de equilíbrio (ASTM D724-99, 2009; BORREGA et al., 2020).

2.6 Solubilidade em água

Para determinar a solubilidade em água (WS), os filmes foram cortados em quadrados de 9 cm^2 , pesados e então secos em estufa a 105 $^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Em seguida, foram retirados e imersos em bequeres contendo 70 mL de água destilada e deixados sob agitação leve (100 rpm) a $\sim 25^{\circ}$ por 24h. Transcorrido o tempo, o filme foi retirado e seco novamente em estufa a 105 $^{\circ}\text{C}$ por 24h (NÚÑEZ-FLORES et al., 2013). A solubilidade dos filmes foi calculada segundo a equação 1, onde W_0 foi o peso inicial expresso em materia seca e W_f foi o peso do filme residual não dissolvido.

$$WS(\%) = \frac{(W_i - W_f)}{W_i \cdot 100} \quad \text{Eq. 1}$$

2.7 Permeabilidade ao vapor de água

A Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) foi calculada pelo método gravimétrico (GOMIDE et al., 2020). As amostras dos filmes foram cortadas em discos ($d=10\text{mm}$) e fixadas com a face-s direcionada para cima, em capsulas contendo sílica em seu interior. Em seguida, essas capsulas foram colocadas em dissecador contendo solução saturada de NaCl ($75 \pm 3\%$ de umidade relativa) em temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Após a montagem do sistema o peso das capsulas foi acompanhado em intervalos de 24h por 7 dias, de modo a obter o ganho de peso relacionado a transferência de vapor de d'água através do filme (ASTM INTERNATIONAL, 2016).

Os dados de ganho de peso (g) foram graficados em função do tempo (horas), e a partir do coeficiente angular da reta obtida por regressão linear, foi calculado a taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA; $\text{g}/\text{m}^2\cdot\text{h}$), conforme a equação 2, onde m/t é o coeficiente angular da reta (g/h) e A é a área de permeação (m^2).

$$TPVA = \frac{m}{t \cdot A} \quad \text{Eq. 2}$$

Na sequência, foi calculada a permeabilidade ao vapor d'água (PVA; $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$) de acordo com equação 3, onde x é a espessura do filme (mm), S a pressão de saturação da água salina a 25°C (3,16 Kpa), HR_1 a umidade relativa dentro do dissecador (75%) e HR_2 a umidade relativa dentro da capsula (0 %) (GOMIDE et al., 2020).

$$PVA = \frac{PVA \cdot x}{S \cdot (HR_1 - HR_2)} \quad \text{Eq. 3}$$

2.8 Análise térmica

Para avaliação do comportamento térmico dos filmes foi realizado a análise termogravimétrica (TGA) e sua derivada (DTG) em equipamento DTG60H-SHIMADZU (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). Uma amostra dos filmes (aproximadamente 5 mg), foi aquecida da temperatura ambiente até 800°C , sob atmosfera de nitrogênio ($50 \text{ mL}/\text{min}$) e com rampa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. Ao final da análise foi obtido a taxa de perda de massa das amostras e temperatura máxima de degradação (T_{max}) (YANG et al., 2016b).

Enquanto para análise calorimétrica foi realizada a calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando equipamento DSC60A-SHIMADZU (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão),

com sistema registrador (TA-60WS) e controlador de fluxo e atmosfera (FC-60A). Uma amostragem dos filmes (4-6 mg) foi submetida a uma sequência de aquecimento de 25 a 200 °C, resfriamento de 200 a -50°C e um novo aquecimento até 200 °C (ASTM, 1999). A partir das curvas obtidas no segundo aquecimento do DSC, a temperatura de transição vítrea (Tg) foi analisada (AZEVEDO et al., 2015).

Para construção das curvas de selagem os corpos de prova foram termosselados em termosseladora Brugger, modelo HSG-C, operando com dois mordentes aquecidos (perfil liso) com largura de 10 mm. Os parâmetros de solda adotados foram nas temperaturas de 110, 120 e 130 °C, combinadas com pressão de 3,0 e 4,5 (bar) e tempo de permanência na zona de aquecimento de 1,0 e 3,0 segundos. Em uma segunda situação, foi avaliada a temperatura mais elevada de 150, 170 e 200 °C, combinada com pressão de 3,0 bar e tempo de 1,0; 5,0 e 10,0 segundos na zona de aquecimento. A avaliação da selagem das amostras foram realizadas em ambiente climatizado (23 ± 2) °C.

2.9 Propriedades Mecânicas e Espessura

As propriedades mecânicas dos filmes foi avaliada a partir do teste de tração (ASTM D882-18, 2018), realizado em analisador de textura de microsistemas estáveis (Modelo TA-XT2, Inglaterra) com célula de carga de 1kN. As amostras foram cortadas em tiras (100x15 mm) e fixadas no suporte da sonda pelas extremidades. Foi utilizado uma separação inicial das garras de 50 mm e velocidade de deslocamento de 0,8 mm/s. Para cada tratamento foram testados 10 corpos de prova, de modo a aumentar a confiabilidade dos resultados. Com os resultados foi calculado a Resistência máxima a tração (RT, Mpa) pelo ponto máximo do gráfico Tensão x Deformação, a porcentagem de alongamento na ruptura (AR, %) e o Módulo de Young (MY, MPa) por meio da inclinação da região linear do gráfico Tensão x Deformação (MOHAMMADI et al., 2020). A análise de espessura foi feita medindo 10 pontos distintos do filme, utilizando micrômetro digital (precisão 0.001mm; Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil).

2.10 Análise de cor, transparência e bloqueador UV

A análise de cor foi realizada utilizando a escala Hunter Lab obtendo os valores de luminosidade (L*), vermelho ao verde (+a*, -a*), amarelo ao azul (+b*, -b*), ângulo hue (h^0) e índice de saturação (C*) (NÚÑEZ-FLORES et al., 2013). As medidas foram realizadas em

colorímetro CM-700 (Kônica 53 Minolta, Japão), utilizando no fundo um papel de cor branca e fonte de luz D65, ângulo do observador 10° e refletância especular incluída (SCI), (GOMIDE et al., 2020).

Os valores de transparência e propriedade de barreira UV dos filmes, foi determinada, usando espectrofotômetro UV-vis (Bel SPECTRO S-2000, Monza, Italia). Os filmes foram cortados em retângulos (3x1cm) e colocados direto em uma célula de teste, usando o ar como referência. A transparência foi calculada segundo a equação 4, onde T_{600} é a transmitância percentual em 600 nm e x a espessura do filme (mm), segundo a ASTM D1746-03 (ASTM INTERNATIONAL, 2015). Enquanto a capacidade de bloquear a radiação UV foi feito uma varredura no comprimento de onda de 250 a 800 nm, gerando gráficos de comprimento de onda (nm) x transmitância percentual (%) (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016).

$$T_{600} = \frac{(\log \%T)}{x} \quad \text{Eq. 4}$$

2.12 Atividade antioxidante

O método de captura do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) é um método reconhecido para quantificação da atividade antioxidante total de compostos fenólicos de ocorrência natural (DIZHBITE et al., 2004). Os filmes (5g) foram cortados em pequenos pedaços e adicionados em tubos de ensaio com 2 mL de metanol. As amostras foram misturadas em vortex por 3 minutos e deixadas sob repouso à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 3 horas. Em seguida, foi retirada uma alíquota do sobrenadante (500 µL) e misturada com 2 mL de solução metanólica de DPPH (0,06 mM). A mistura foi agitada em vortex por 1 minuto e deixada sob repouso em temperatura ambiente e no escuro por 30 min (BYUN; KIM; WHITESIDE, 2010). O branco foi realizado com solução de metanol e DPPH, sem o extrato do filme.

A atividade antioxidante da lignina foi medida pela capacidade de inibir os radicais livres de DPPH, medindo a diminuição percentual da absorbância no Espectrofotometro de UV-vis á 517 nm, em comparação com a solução controle (Equação 5).

$$\text{Atividade de captura de radicais(\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{controle}}}\right) \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

Onde A_{amostra} é a absorbância da amostra e A_{controle} é a absorbancia do controle.

2.14 Análise estatística

Os resultados de solubilidade, ângulo de contato e PVA, propriedades mecânicas, análise de cor, transparência, barreira UV e atividade antioxidante foram submetidos análise de

variância (ANOVA) para comparação das médias, utilizando o software SISVAR® (FERREIRA, 2014), e o teste de Scott_Knott para comparação pareada com 95% de confiança ($p < 0,05$). As análises de FTIR, MEV, curvas de selagem e análise térmica foi feita análise dos espectros, imagens e gráficos gerados, respectivamente.

3. Resultados e Discussão

3.1. Microscopia eletrônica de varredura

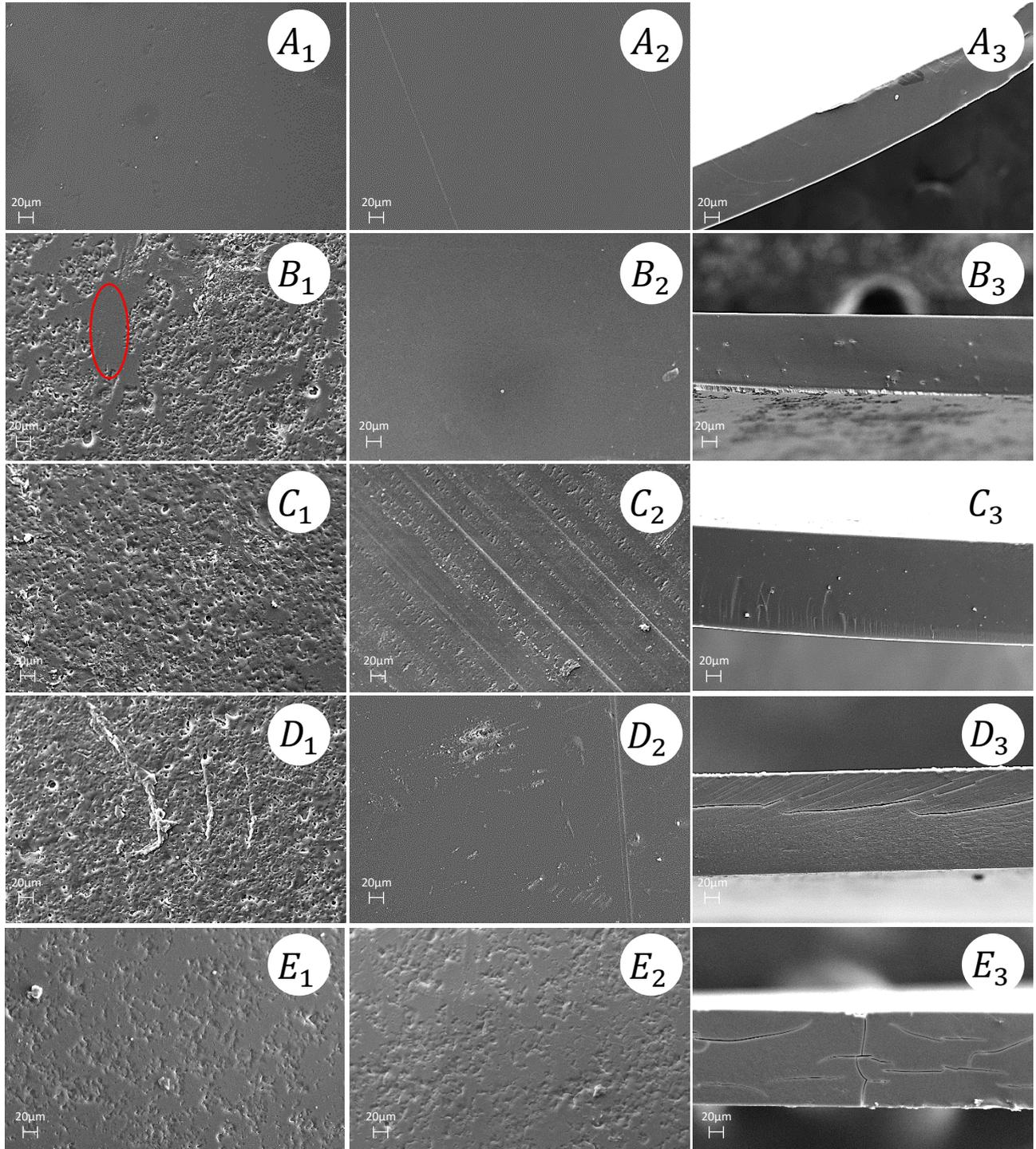
As imagens geradas da superfície e sessão transversal dos filmes de IPS com KL estão representadas na figura 1. Com relação a face-a (contato com o ar) (1), apenas o filme controle (A1) apresentou uma superfície lisa e homogênea. Já os tratamentos com lignina a superfície que teve contato com o ar, apresentaram características rugosa. Na amostra LP2 (Figura 1, imagem B1) ainda é possível observar partes lisas no filme, porém o aumento na concentração de lignina levou ao aumento na rugosidade da superfície. Essa rugosidade observada na face-a pode ser consequência do processo de evaporação do solvente (água), durante a etapa de secagem, onde a presença da lignina interferiu na formação de uma superfície lisa (CIANNAMEA; STEFANI; RUSECKAITE, 2014). O mesmo padrão foi observado por outros estudos com lignina em matrizes de IPS de soja (ZADEH; O'KEEFE; KIM, 2018b) e ágar (SHANKAR; REDDY; RHIM, 2015).

Em contrapartida, na face-s (contato com a superfície de vidro), o tratamento com 2% de lignina (B2) apresentou superfície homogênea similar ao filme controle (A2). Já para os tratamentos com 4% (C2) e 6% (D2) observou-se pequenas ranhuras, possivelmente impressas da superfície, o que é comum do método de casting. Enquanto para a face-s do filme com 8% (E2), a rugosidade observada na face-a se apresentou em ambos os lados da amostra, o que indica que o aumento na concentração de lignina passou a influenciar em toda a morfologia do filme.

Contudo, apesar da rugosidade nas superfícies, ainda é possível observar uma boa distribuição da lignina no meio em todos os tratamentos, sem a formação de aglomerados, como é relatado quando se adiciona micropartículas de LK em pó (GOMIDE et al., 2020). Tais resultados, corrobora positivamente para a metodologia de solubilização da lignina, que permitiu a miscibilidade mútua entre os componentes, resultando em uma matriz homogênea, sem a separação de fases ou partículas observáveis (SEN; PATIL; ARGYROPOULOS, 2015a).

Nas imagens da sessão transversal é possível observar a estrutura interna dos filmes, o que contribui para visualização do comportamento dos componentes. Na Figura 1, todos os filmes apresentaram homogeneidade, sendo que nos tratamentos acima de 4% (C3), é observado a presença de rachaduras, possivelmente provocadas pela fragilidade do filme discutida mais adiante nos ensaios mecânicos.

Figura 1: Micrografias de superfície da face-a (1), face-s (2) e fratura (3) dos tratamentos com apenas IPS (A) e com lignina LP2 (B), LP4 (C), LP6 (D) e LP8 (E) de lignina kraft, todas com magnitude de 500x.



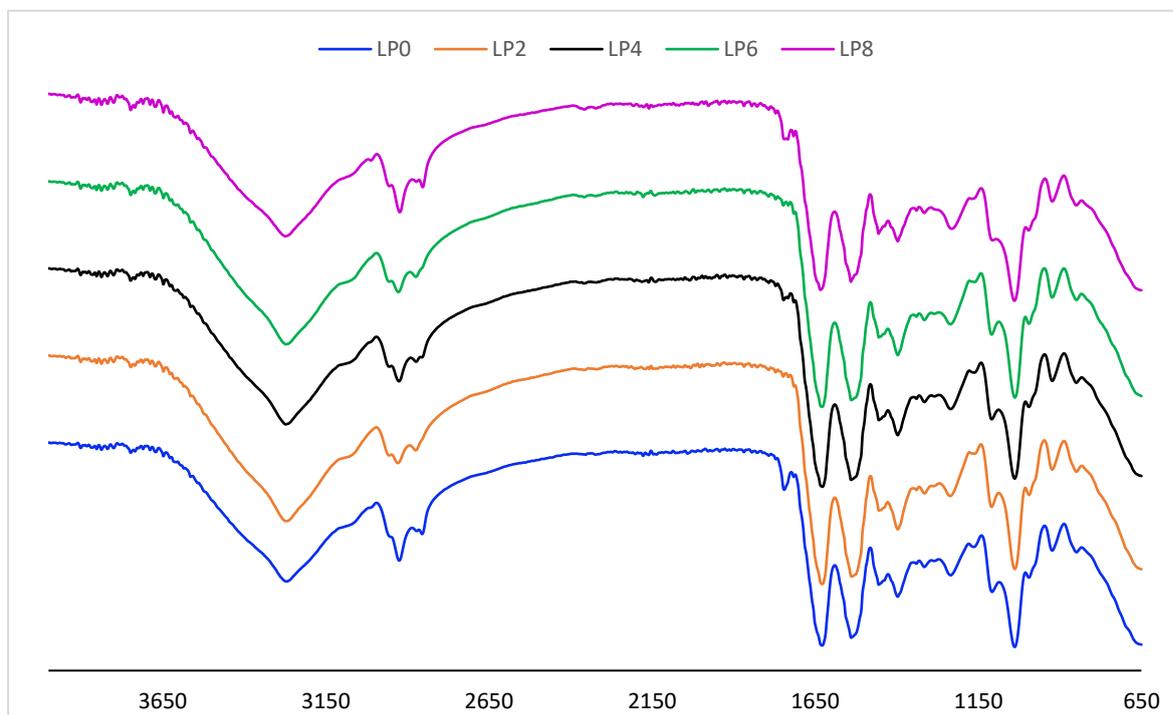
3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Na análise de infravermelho, o grau de interação entre duas substâncias é medido pelas eventuais mudanças na frequência em que aparecem os principais picos de absorção ou mudanças na amplitude da banda (NÚÑEZ-FLORES et al., 2013). Em todos os espectros os

principais picos característicos de filmes a base de proteínas foram observados, como em $3600 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ referente aos grupamentos OH e ao alongamento N-H; em $2930, 2837$ e 1457 cm^{-1} relacionados a vibração CH, CH_2 e CH_3 respectivamente; em $1700 - 1200$ relacionado aos grupamentos amidas, onde em 1631 cm^{-1} é atribuído ao alongamento C=O (amida I), em 1538 cm^{-1} atribuído a curvatura N-H (amida II) e em 1240 cm^{-1} relacionado ao alongamento C-N e vibração N-H (amida III). Já em 1040 cm^{-1} , a vibração está atribuída as interações C-C e C-O da molécula do glicerol (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016; GOMIDE et al., 2020; RAMOS et al., 2013).

Pelos espectros (Figura 2), a adição de lignina não influenciou no deslocamento significativo das bandas e apresentaram as mesmas bandas, quanto comparados ao espectro do filme controle (LP0). Tais resultados podem ser devido a baixa concentração de lignina como bioaditivo, onde as bandas referentes a lignina ficaram sobrepostas as bandas da proteína (KUN; PUKÁNSZKY, 2017a).

Figura 2 – Espectros de FTIR do filme controle (LP0), e com lignina LP2, LP4, LP6 e LP8.



3.3. Ângulo de contato e molhabilidade

Para análise de ângulo de contato e molhabilidade (Tabela 1), os dois lados do filme foram analisados: o lado em contato com a superfície de vidro (face-s) e outro em contato com o ar (face-a). Os valores de ângulo de contato todas as amostras apresentaram ângulos menor

que 90°, característico de uma superfície hidrofílica (PARIT et al., 2018). Contudo para uma mesma amostra, a face-s se mostrou mais hidrofóbica do que a face-a. Tal resultado pode ser devido as irregularidades presentes na superfície em contato com o ar (observadas no MEV), que interferem na observação do impacto hidrofóbico causado pela lignina nos filmes (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016). Outra explicação é que durante o processo de transferência de massa do solvente (água) na região filme/ar (face-a), pode ocorrer uma reorientação preferencial das porções hidrofílicas da proteína para face em contato com ar ou migração do glicerol para superfície, representado na Figura 3 pela cor mais clara. Esse comportamento já foi observado também para filmes de IPS com adição de lipídios e IPS com nanofibras de celulose (NFC), onde uma superfície mais hidrofílica favorece um menor ângulo de contato (KARIMI et al., 2020; GALUS; KADZIŃSKA, 2019; SHANKAR; REDDY; RHIM, 2015; YIN et al., 2007).

Figura 3 – Figura resumo com representação das superfícies (face-a e face-s) dos filmes sem e com lignina

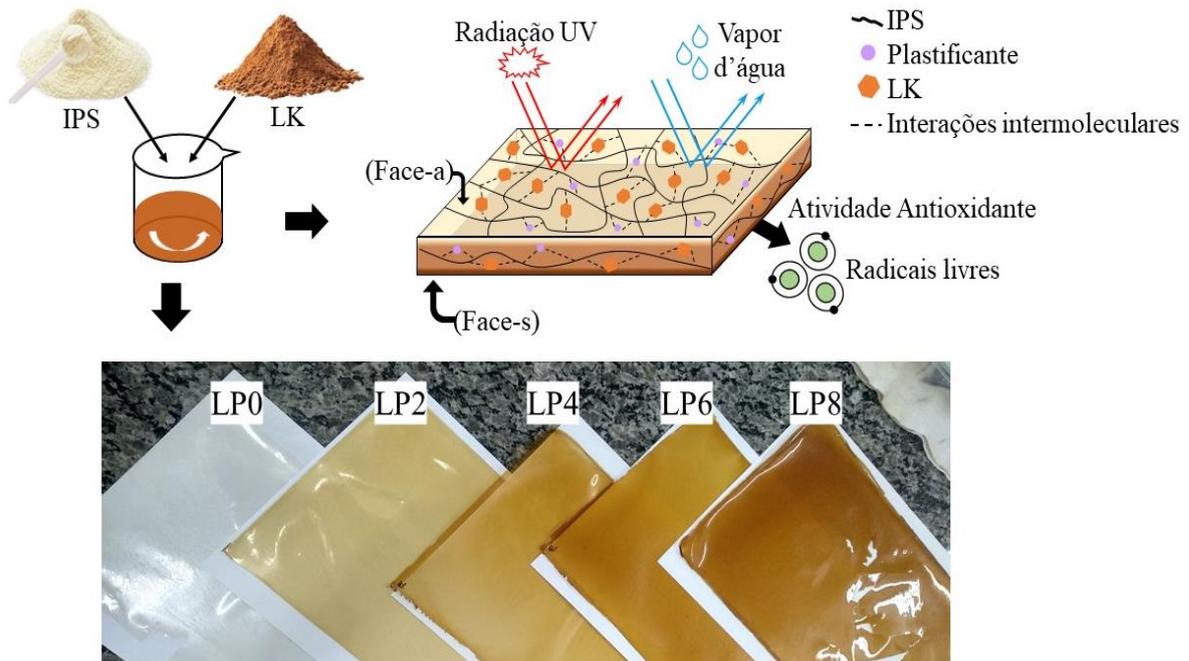


Tabela 1 - Valores de solubilidade, PVA, molhabilidade e ângulo de contato das amostras sem e com lignina, do lado em contato com a superfície de vidro (face-s) e do lado em contato com o ar (face-a).

Amostra	Solubilidade (%)	PVA ($10^{-7} \text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)	Molhabilidade		Ângulo de Contato (°)	
			Face-s	Face-a	Face-a	Face-s

LP0	29,93±0,003 ^a	3,81±0,73 ^a	0,17±0,049 ^a	0,02±0,008 ^a	28,05±0,51 ^a	63,19±0,12 ^a
LP2	31,04±0,004 ^a	4,17±0,60 ^a	0,08±0,005 ^b	0,04±0,015 ^a	34,60±0,40 ^b	64,00±0,19 ^a
LP4	30,12±0,008 ^a	4,13±0,46 ^a	0,05±0,007 ^b	0,06±0,025 ^a	32,04±0,33 ^c	68,88±0,31 ^b
LP6	29,01±0,010 ^a	3,97±0,75 ^a	0,09±0,005 ^b	0,06±0,016 ^a	36,51±0,76 ^b	61,82±0,72 ^a
LP8	29,78±0,007 ^a	3,74±0,30 ^a	0,10±0,012 ^b	0,05±0,053 ^a	36,62±0,16 ^b	49,64±0,65 ^c

Os resultado de molhabilidade representa a variação do ângulo formado entre a gota de água e a superfície ao longo do tempo, que é governada por interações intermoleculares de adesão (líquido-superfície) e coesão (líquido-líquido). Logo, quanto menor a molhabilidade menor será a afinidade da água com a superfície (GALUS; KADZIŃSKA, 2019). Analisando os dados (Tabela 1) observou-se que a adição de lignina diminuiu significativamente os valores da molhabilidade na face-s, quando comparado ao filme controle (LP0), atingindo menor valor na amostra LP4. Nesse caso é observado que a hidrofobicidade da lignina dificultou a adesão da gota de água na superfície e conseqüentemente sua interação com o filme.

3.4. Solubilidade e Permeabilidade ao vapor d'água

Apesar da natureza hidrofóbica da lignina, nos testes de solubilidade e PVA não observou-se diferença significativa nos tratamentos realizados, adicionados ou não de lignina (Tabela 1). A solubilidade em água é um fator importante para determinar a resistência do filme preparado contra a penetração de moléculas de água, onde quanto mais coesa a matriz, maior será a dificuldade de penetração da água (MOHAMMADI et al., 2020). Logo, o fato de todos os filmes produzidos terem mantido sua integridade visual, após imersão de 24 horas em água deionizada, indica que a adição de lignina não prejudicou as interações dissulfeto da matriz mantendo a rede de proteínas estável, como também foi observado no FTIR. Os resultados encontrados foram diferentes para filmes de gelatina com solução de lignina, onde observou-se uma redução da solubilidade diretamente proporcional ao aumento da concentração de lignina (AHMAD et al., 2019).

A análise de PVA é usada para estudar o transporte de umidade através do filme, sendo um fator chave para embalagem proteger os alimentos contra atividade da água (ASGHER et al., 2020). A permeabilidade, essa esta ligada diretamente a estrutura do filme, como também aos mecanismos de adsorção e difusão do vapor d'água pela matriz (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016; SILVA et al., 2018). Nesse caso, a presença de compostos hidrofóbicos, pode

dificultar adesão da água na superfície e também gerar caminhos indiretos e curvilíneos na matriz, dificultando a passagem das moléculas de água (MOHAMMADI et al., 2020). Dito isto, mesmo que a adição de lignina tenha gerado uma rugosidade na superfície do filme (observadas no MEV) ou não tenha interagido quimicamente com a proteína (FTIR), sua hidrofobicidade constatada na face-s compensou a transferência de massa do vapor d'água dificultando a adsorção e dessorção da água no filme, gerando valores de PVA sem diferença estatística (CROUVISIER-URION et al., 2017; NÚÑEZ-FLORES et al., 2013).

3.5. Atividade Antioxidante

As atividades antioxidante dos filmes com e sem lignina estão representado na Tabela 2. No presente estudo, observa-se o aumento na concentração de lignina levou a uma maior atividade antioxidante do filme, o que favorece a metodologia de solubilização da LK, uma vez que filmes com adição da lignina em pó tende a formar aglomerados, que escondem os grupamentos ativos e consequentemente diminui atividade antioxidante, o que não ocorreu no presente estudo (CROUVISIER-URION et al., 2016).

A presença de hidroxilas fenólicas e alifáticas na molécula de lignina, confere aos filmes uma atividade antioxidante significativa e atua como captador de radicais livres (Figura 3), doando hidrogênio e interrompendo as reações de oxidação, (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016; BEGALI et al., 2021; GOMIDE et al., 2020). Logo, a atividade antioxidante da lignina pode gerar funcionalidade de proteção interessante na embalagem, principalmente para produtos com alto teor de lipídios. Nesses produtos, os radicais livres atuam como desencadeadores da oxidação das cadeias lipídicas, prejudicando a preservação desses alimentos e consequentemente limita seu tempo de vida útil (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016).

Tabela 2: Valores de espessura, atividade antioxidante (DPPH), resistência a tração (RT), alongamento a ruptura (AR) e módulo de young (MY).

Amostra	Espessura (mm)	DPPH (%)	RT (MPa)	AR (%)	MY (MPa)
LP0	0,178±0,022 ^a	1,42±0,01 ^a	7,53 ± 0,55 ^a	111,50 ± 5,25 ^a	2,27 ± 0,18 ^a
LP2	0,151±0,022 ^a	23,16±0,05 ^b	5,63 ± 0,38 ^b	104,21 ± 2,70 ^b	2,20 ± 0,52 ^a
LP4	0,181±0,016 ^a	22,53±0,03 ^b	8,27 ± 0,62 ^b	103,78 ± 1,57 ^b	3,51 ± 0,66 ^b
LP6	0,154±0,023 ^a	26,24±0,02 ^b	6,12 ± 0,27 ^c	105,37 ± 2,52 ^b	2,09 ± 0,45 ^a
LP8	0,189±0,016 ^a	34,69±0,03 ^c	4,03 ± 0,82 ^d	103,18 ± 1,58 ^b	1,98 ± 0,45 ^a

3.6. Propriedades óticas

A cor e a transparência de filmes é de extrema importância para a aparência geral da embalagem e aceitação do consumidor (ZADEH; O'KEEFE; KIM, 2018b). Nos filmes de IPS com lignina, observou-se que quanto maior o teor de lignina, menor foram os valores de L^* , o que indica uma coloração mais escura dos filmes devido a cor escura e opaca da lignina. Quanto aos parâmetros de cor, os valores crescentes de a^* indicam filmes mais avermelhados, o que também foi observado para h^0 , com valores abaixo de 90° . Já para o parâmetro b^* , os valores crescentes indicam uma tonalidade amarela, que é uma característica intrínseca do grupamento guacil, presente em maior concentração na lignina de coníferas, usada neste estudo (YANG et al., 2020b; ZHANG; NAEBE, 2021). Os valores de saturação (C^*), aumentaram para até 6% de lignina, tornando a cor mais vivida.

Já para a transparência, a adição de 2% de lignina aumentou significativamente seu valor de 11,71 (LP0) para 12,63 (LP2), o que permitiu uma maior passagem da luz e sugere uma estrutura mais amorfa, característico da molécula de lignina (SEN; PATIL; ARGYROPOULOS, 2015b). Tais resultados também foram observados por GOMIDE et al. (2020) com baixas concentrações de micropartículas de lignina. Considerando que os valores de transparência para filmes de polietileno de baixa densidade são em torno de 15-20, as blends de IPS com KL apresentaram boa transparência, próximo dos valores para polímeros sintéticos (CAZÓN; VÁZQUEZ; VELAZQUEZ, 2018).

Contudo, o aumento na concentração de lignina passou a dificultar a passagem de luz, o que é esperado devido aos valores decrescentes de L^* . Ainda sim, películas de embalagem

mais opacas assumem importancia quando o produto contido tende a ser sensível à luz, levando a sua deterioração e perda de qualidade, como por exemplo produto com elevado teor de gordura (BHAT et al., 2013). Por conseguinte, as medições de transparência e cor (Tabela 3) concordam bem com a aparência visual dos filmes da figura 3, o que indica uma boa distribuição da lignina na matriz de IPS, também relatada no MEV.

Tabela 3 – Valores obtidos na análise de cor e transparência dos filmes sem e com lignina.

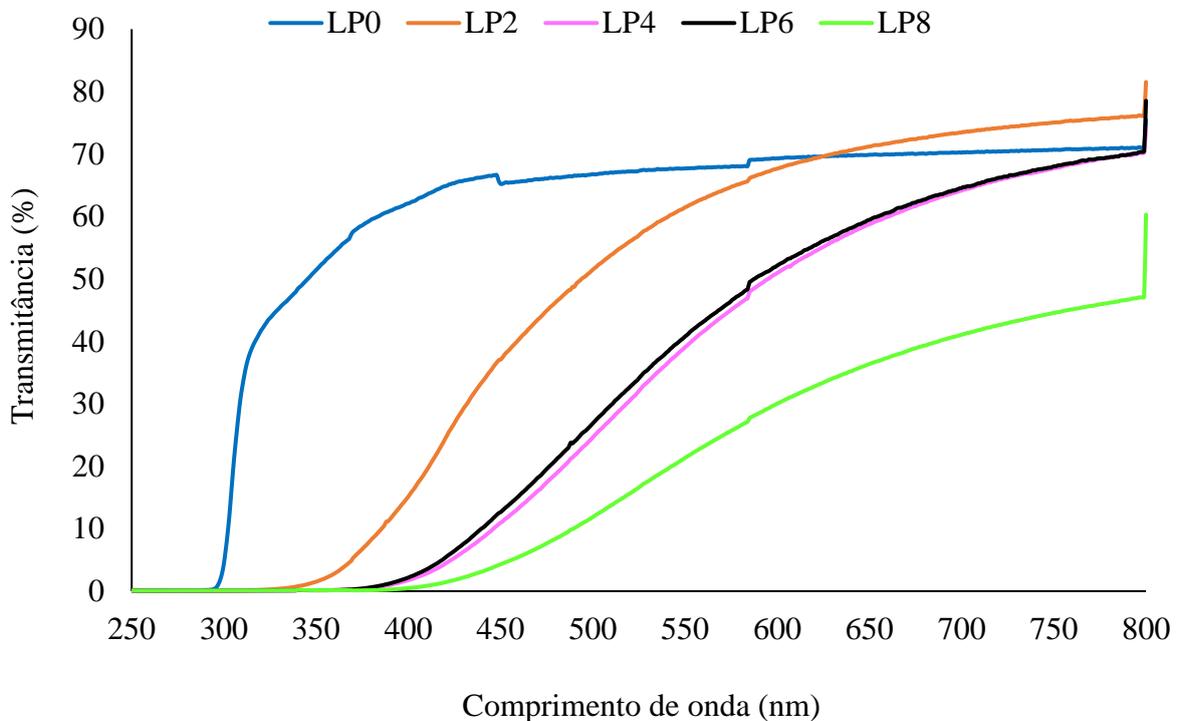
Amostra	L*	a*	b*	C*	h^0	T(%)
LP0	94,67±0,25 ^a	-1,25±0,07 ^a	5,50±0,17 ^a	5,64±0,15 ^a	102,81±1,08 ^a	11,72±0,02 ^a
LP2	76,56±0,72 ^b	5,16±1,10 ^b	45,55±2,71 ^b	45,84±2,81 ^b	83,59±1,00 ^b	12,63±0,02 ^b
LP4	68,54±0,50 ^c	11,04±0,36 ^c	51,29±0,88 ^c	52,46±0,93 ^c	77,85±0,20 ^c	11,82±0,03 ^a
LP6	56,01±2,12 ^d	19,75±1,75 ^d	56,35±3,93 ^d	59,72±4,09 ^d	70,67±1,28 ^d	10,79±0,17 ^c
LP8	51,56±1,86 ^e	21,42±1,0 ^e	46,08±1,8 ^b	50,83±1,70 ^e	65,05±1,37 ^e	8,39±0,15 ^d

3.7. Bloqueador UV

Uma das propriedades óticas da lignina é a capacidade de bloquear a passagem da radiação UV. Logo, os filmes adicionados de lignina apresentaram excelente propriedade de bloquear a passagem de radiação UV, quando comparado ao filme controle (LP0). Na região UV (280 – 300 nm) a lignina bloqueou 100% a passagem da radiação UVB, que é considerada a principal responsável pela indução de oxidação lipídica em alimentos (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016). A propriedade de bloqueador UV da lignina está ligada a natureza cromofora dos grupamentos aromáticos da molécula, que são capazes de absorver parte da radiação incidida (PARIT et al., 2018). Com relação a região do UVA (300 – 400 nm), a passagem da radiação foi reduzida a medida que aumentou a concentração de lignina. Segundo Zhang et al. (2021), os aneis aromáticos com ligação π - π , absorvem principalmente na região de 320 nm, o que sugere que os grupamentos aromáticos na lignina são os principais responsáveis pelo desempenho no bloqueio da radiação UVA.

Já na região do visível (400 – 800 nm), a transmitância diminuiu proporcionalmente com o aumento da concentração lignina, mostrando desempenho bem próximo para amostra LP4 e LP6. Esses resultados demonstram que, mesmo a amostra LP4 foi possível obter um bom desempenho de proteção UV e ainda manter valores de transparência significativamente próxima do filme controle (LP0). Logo a presença da lignina conferiu funcionalidade ao filme de impedir a passagem da radiação UV, o que torna sua aplicação interessante para embalar alimentos sensíveis a oxidação pela radiação UV (MEHTA; KUMAR, 2019).

Figura 4 – Capacidade de bloquear radiação UV dos diferentes tratamentos.

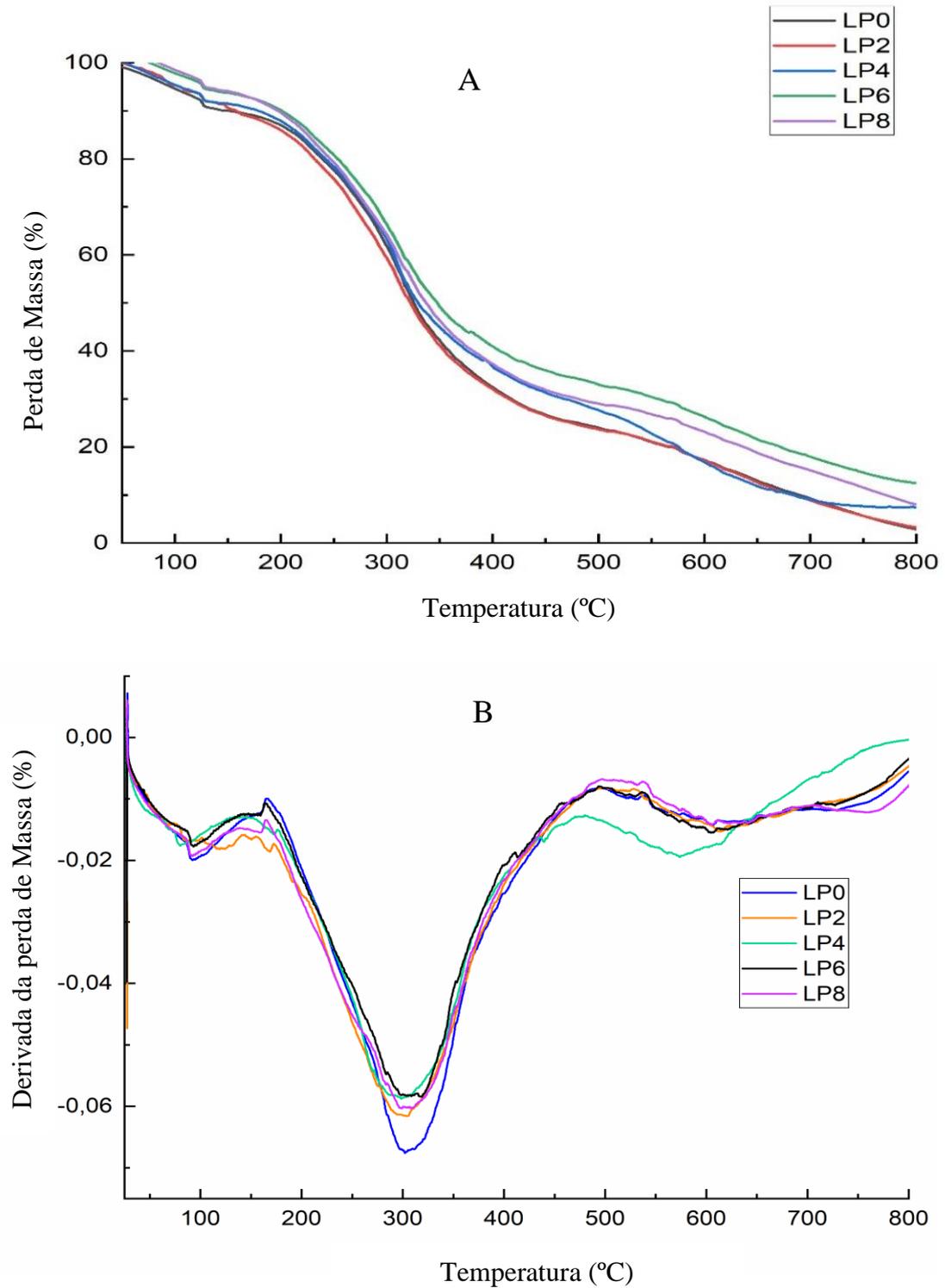


3.8. Análise térmica

A análise termogravimétrica (TGA, Figura 5A) e sua derivada (DTG, Figura 5B) foram feitas para avaliar o comportamento térmico dos filmes (sem e com lignina), que apresentaram três estágios de perda de massa (Tabela 4). No primeiro estágio (25 – 100 °C), está relacionado a evaporação da água livre ou adsorvida, também observado no gráfico de DTG (HUNTRAKUL; HARNKARNSUJARIT, 2020b). No segundo estágio (150 -450 °C) observa-se uma perda de peso acentuada, relacionada ao início da decomposição química dos componentes presentes no filme, como IPS (280 – 330 °C) (RAMOS et al., 2013), glicerol (215

– 292 °C) (HUNTRAKUL; HARNKARNSUJARIT, 2020b) e lignina (250 – 350 °C) (AADIL; BARAPATRE; JHA, 2016).

Figura 5 – A: Curva de decomposição termica em função da temperatura (TGA); B: derivada de primeira ordem da TGA (DTG).



Na temperatura próxima de 165 °C iniciou-se a degradação térmica (T_i) de todos os filmes (com e sem KL), o que indica que, mesmo que a lignina não tenha formado interações químicas efetivas com o IPS, sua presença no meio não reduziu a estabilidade térmica dos filmes. Em contra partida, a presença de lignina no meio elevou a temperatura máxima de degradação (T_{max}) de 302,5 °C (LP0) para 309,7 °C (LP8), confirmando a propriedade da lignina como estabilizante térmico para filmes biopoliméricos. Em conjunto, observou-se também uma diminuição de até 7% na porcentagem de perda de massa para amostra com 6% de lignina (LP6), em comparação ao filme controle (LP0). Apesar disso, a adição de 8% (LP8), já não manteve esse comportamento, indicando a concentração de 6% como sendo ideal para aumentar a estabilidade térmica do material.

Já no terceiro estágio, a partir de ~ 500 °C começa a perda contínua do material, que pode estar relacionada a carbonização lenta da lignina, uma vez que materiais orgânicos sofrem a carbonização lenta e contínua em atmosfera de nitrogênio (inerte) (SUKYAI et al., 2018).

Tabela 4 – Comportamento térmico do filme controle e das blendas de IPS com lignina kraft.

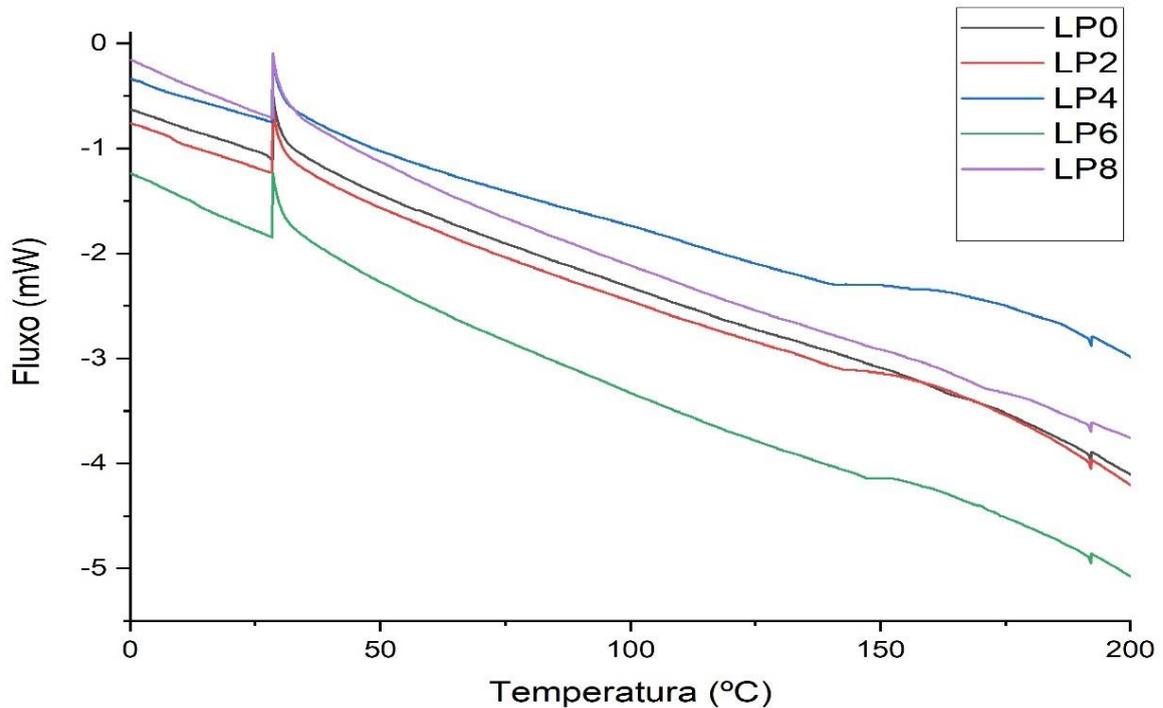
Films	T_i (°C)	T_{max} (°C)	T_f (°C)	%P ($T_i - T_f$)	Res_{800 °C} (%)	T_g (°C)
LP0	164,7	302,5	494,7	65,0	2,9	-
LP2	166,2	300,0	495,7	65,1	2,3	142,4
LP4	166,1	305,3	480,0	61,3	5,5	140,5
LP6	165,6	307,5	493,7	58,0	9,4	148,1
LP8	163,7	309,7	501,0	63,9	4,0	170,0

Legenda: T_i : Temperatura inicial de degradação; T_{max} : Temperatura máxima de degradação; T_f : Temperatura final de degradação; %P ($T_i - T_f$): porcentagem de perda de massa; Res_{800 °C}: Porcentagem residual em 800 °C.

Quanto aos termogramas gerados na análise de DSC (Figura 6), todos os filmes apresentaram um pico de recristalização em aproximadamente 28,5 °C, o que sugere que a eliminação da água no primeiro aquecimento induziu uma reorganização das redes da proteína. Após esse evento, nos filmes com lignina observou-se pontos de inflexão na faixa de 142,4 °C para 2% de lignina até 170 °C com 8% de lignina. Tais resultados sugerem que a lignina apresentou boa compatibilidade com a matriz de proteína, reduzindo a mobilidade das cadeias e conseqüentemente elevou a T_g dos filmes. Esse comportamento também foi observado para filmes de nanofibras de celulose (NFC) com IPS, onde o aumento da T_g foi atribuído a migração

do glicerol para interface NFC/polímero, que reduziu o efeito plastificante do glicerol (KARIMI et al., 2020).

Figura 6 – Curva de decomposição termica em função da temperatura (TGA); B: derivada de primeira ordem da TGA (DTG).



Contudo, a Tg de biopolímeros pode variar consideravelmente devido a diversos fatores, como: concentração de biopolímero, metodologia de síntese dos filmes ou porcentagem de adição de plastificantes e escolha do aditivo. Gomide et al. (2020), encontrou uma Tg de 14,67 °C á 3,72, em filmes de IPS com microparticulas de KL, Karimi et al. (2020) encontrou uma Tg de 36,4 °C á 40,5 °C em filmes de IPS/NFC e Azevedo et al (2015) encontrou uma Tg de 143,46 à 149, 88 °C em filmes de IPS/Argila.

3.9. Propriedades mecânicas

A presença de lignina na matriz de proteína aumentou a resistência a tração (RT) dos filmes, atingindo o máximo com 4% de lignina (Tabela 2). Esse aumento de RT sugere boa compatibilidade entre o IPS e a lignina kraft, necessitando de maior força para realizar o estiramento do filme. Contudo, o aumento na concentração de lignina para 6 e 8% prejudicou a resistência, o que pode ser explicado pelo fato de não ter ocorrido interações químicas entre a matriz e o aditivo (confirmados no FTIR), o aumento na concentração de lignina passou a interferir nas forças de atração das cadeias da proteína, desestabilizando a matriz

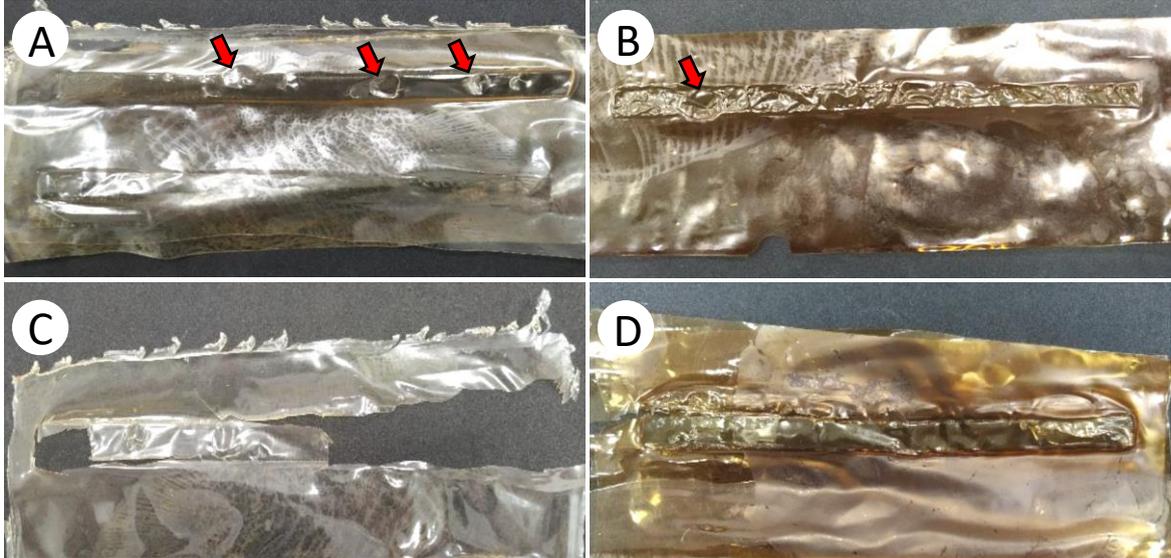
(CROUVISIER-URION et al., 2016; SEN; PATIL; ARGYROPOULOS, 2015a). Esse comportamento também foi encontrada nos filmes de quitosana (CROUVISIER, 2016), gelatina (AADIL, 2016) e IPS (GOMIDE et al., 2020) para maiores concentrações de lignina.

Quanto ao MY, que mede a rigidez do material, a adição de lignina não se mostrou significativa, exceto na amostra LP4. Em geral, quanto maior o MY e RT, mais rígido será o filme, logo tais resultados demonstram que o melhor comportamento da lignina como um componente estrutural rígido nesse estudo foi na concentração de 4% (KORBAG; MOHAMED SALEH, 2016). Nessa linha, maior rigidez do material gera uma menor mobilidade das cadeias poliméricas e conseqüentemente diminuiu a porcentagem de alongamento (AR) dos filmes.

3.10. Selabilidade térmica

Apesar da variação dos três parâmetros de selagem (temperatura, pressão e tempo), não foi observada a ocorrência de terossoldagem para nenhuma das amostras analisadas. Na situação 1, não foi observado a formação de solda, tampouco alterações físicas visuais no material. Enquanto na situação 2, apesar de também não ter sido soldada, já foi observado alterações físicas nos corpos de prova, que apresentaram formação de bolhas ou se tornaram mais rígidos e trincaram (Figura 7).

Figura 7: (A e B) Exemplo de formação de bolhas (150 °C / 5 s): Amostras LP0 (A) e LP4 (B); (C e D) Exemplo de enrijecimento do corpo de prova e trinca na região de termossoldagem (150 °C / 5 s): Amostra LP0 (C) e LP4 (D).



Embora os filmes recém-produzidos apresentassem boas maleabilidade, o aumento da rigidez dos filmes pela adição de lignina diminuiu a mobilidade das moléculas, impedindo a termoselagem dos filmes. Em outros estudos, a presença de lignina em filmes de amido aumentou a resistência dos selos formados, mas estes ainda ficaram abaixo dos valores para polímeros sintético (>730 N/m) (BHAT et al., 2013).

Outro ponto, é que a selagem a quente envolve a fusão das camadas individuais do polímero, enquanto a pressão aplicada leva a interação interfacial das duas superfícies (BULA; KLAPISZEWSKI; JESIONOWSKI, 2019). Nessa linha, o aumento da estabilidade térmica dos filmes de IPS/KL, passou a exigir uma maior energia para atingir o estado de borracha, que pode ter interferido na formação do selo. Contudo, outras abordagens podem ser utilizadas para investigação da selabilidade do material como a selagem por impulso (BULA; KLAPISZEWSKI; JESIONOWSKI, 2019) ou sobreposição em camadas com outros polímeros (NILSUWAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2018).

4. Conclusão

A metodologia de solubilizar a lignina se mostrou eficiente para produzir filmes multifuncionais de IPS com LK. A baixa concentração de lignina permitiu produzir filmes homogêneos, com maior hidrofobicidade, estabilidade térmica e resistência a tração. Porém maior resistência a tração deixou os filmes quebradiços, o que impediu verificar sua selagem a quente. Nesse caso, estudos futuros se fazem necessário para investigar outros métodos para realizar a selagem dos filmes. Para produção de embalagens para alimentos, recomenda-se a concentração de 4% de lignina, por produzir filmes com maior resistência e transparência significativamente semelhante ao filme controle (LP0), como também atuou no bloqueio da passagem de radiação UVA e UVA em quase 100%.

5. Referências

- AADIL, K. R.; BARAPATRE, A.; JHA, H. Synthesis and characterization of Acacia lignin-gelatin film for its possible application in food packaging. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 3, n. 1, 2016.
- AGARWAL, A.; RANA, M.; PARK, J. H. Advancement in technologies for the depolymerization of lignin. **Fuel Processing Technology**, v. 181, n. August, p. 115–132, 2018.
- AHMAD, T. et al. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 88, n. December 2018, p. 361–372, 2019.
- ALL4PACK. Packaging: Market and Challenges in 2016. **International Exhibition : Packaging - Processing - Printing - Handling**, p. 1–16, 2016.
- ANKER, M.; STADING, M.; HERMANSSON, A. M. Relationship between the microstructure and the mechanical and barrier properties of whey protein films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 9, p. 3806–3816, 2000.
- ASGHER, M. et al. Bio-based active food packaging materials: Sustainable alternative to conventional petrochemical-based packaging materials. **Food Research International**, v. 137, n. June, 2020.
- ASTM D724-99. ASTM D724 Standard Test Method for Surface Wettability of Paper (Angle-of-Contact Method). **West Conshohocken, PA**, v. 99, n. Reapproved 2003, p. 1–4, 2009.
- ASTM INTERNATIONAL. D1746-15 Standard test method for transparency of plastic sheeting. **ASTM International**, p. 3–6, 2015.
- ASTM INTERNATIONAL. E96M -16 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of materials. **West Conshohocken, PA**, p. 14p., 2016.
- ASTM STANDARD D5338. Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions , Incorporating Thermophilic Temperature. **ASTM International**, v. 15, n. Reapproved, p. 1–6, 2011.
- AZEVEDO, V. M. et al. Whey protein isolate biodegradable films: Influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 252–258, 2015.
- BEGALI, D. et al. Effect of the incorporation of lignin microparticles on the properties of the thermoplastic starch/pectin blend obtained by extrusion. **International Journal of Biological**

Macromolecules, v. 180, p. 262–271, 1 jun. 2021.

BHAT, R. et al. Producing novel sago starch based food packaging films by incorporating lignin isolated from oil palm black liquor waste. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 4, p. 707–713, 2013.

BORREGA, M. et al. Morphological and wettability properties of thin coating films produced from technical lignins. **Langmuir**, v. 36, n. 33, p. 9675–9684, 25 ago. 2020.

BULA, K.; KLAPISZEWSKI, Ł.; JESIONOWSKI, T. Effect of processing conditions and functional silica/lignin content on the properties of bio-based composite thin sheet films. **Polymer Testing**, v. 77, n. April, 2019.

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

CALVA-ESTRADA, S. J.; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ, M.; LUGO-CERVANTES, E. Protein-Based Films: Advances in the Development of Biomaterials Applicable to Food Packaging. **Food Engineering Reviews**, n. 2019, p. 78–92, 2019.

CAZÓN, P.; VÁZQUEZ, M.; VELAZQUEZ, G. Cellulose-glycerol-polyvinyl alcohol composite films for food packaging: Evaluation of water adsorption, mechanical properties, light-barrier properties and transparency. **Carbohydrate Polymers**, v. 195, p. 432–443, 1 set. 2018.

CECON, V. S. et al. **The challenges in recycling post-consumer polyolefins for food contact applications: A review** *Resources, Conservation and Recycling* Elsevier B.V., , 1 abr. 2021.

CHAUHAN, P. S. Lignin nanoparticles: Eco-friendly and versatile tool for new era. **Bioresource Technology Reports**, v. 9, p. 100374, fev. 2020.

CHEN, H. et al. Application of protein-based films and coatings for food packaging: A review. **Polymers**, v. 11, n. 12, p. 1–32, 2019.

CHEN, P. et al. Effects of nanoscale hydroxypropyl lignin on properties of soy protein plastics. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 101, n. 1, p. 334–341, 2006.

CIANNAMEA, E. M. et al. Barrier properties and mechanical strength of bio-renewable, heat-sealable films based on gelatin, glycerol and soybean oil for sustainable food packaging. **Reactive and Functional Polymers**, v. 125, n. January, p. 29–36, 2018.

CIANNAMEA, E. M.; STEFANI, P. M.; RUSECKAITE, R. A. Physical and mechanical properties of compression molded and solution casting soybean protein concentrate based films. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 193–204, 1 jul. 2014.

COLLINS, M. N. et al. Valorization of lignin in polymer and composite systems for advanced engineering applications – A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 828–849, 2019.

CROUVISIER-URION, K. et al. Biobased Composite Films from Chitosan and Lignin: Antioxidant Activity Related to Structure and Moisture. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 12, p. 6371–6381, 2016.

CROUVISIER-URION, K. et al. Impact of the homogenization process on the structure and antioxidant properties of chitosan-lignin composite films. **Food Chemistry**, v. 236, p. 120–126, 2017.

DAS, M.; CHOWDHURY, T. Heat sealing property of starch based self-supporting edible films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 9, p. 64–68, 2016.

DE CASTRO, R. J. S. et al. Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. **Food Structure**, v. 14, n. May, p. 17–29, 2017.

DIAS, O. A. T. et al. Studies of lignin as reinforcement for plastics composites. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 628, n. 1, p. 72–78, 2016.

DIZHBITE, T. et al. Characterization of the radical scavenging activity of lignins - Natural antioxidants. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 3, p. 309–317, 1 dez. 2004.

DRAHANSKY, M. et al. We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 % . **Intech**, v. i, n. tourism, p. 13, 2016.

DUVAL, A.; LAWOKO, M. A review on lignin-based polymeric, micro- and nano-structured materials. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, p. 78–96, 2014.

EMBRAPA. (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Anuário do Leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. **Anuario Leite**, n. 35 art, p. 104, 2019.

FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug**

Delivery Reviews, v. 107, p. 367–392, 15 dez. 2016.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Gas barrier and wetting properties of whey protein isolate-based emulsion films. **Polymer Engineering and Science**, v. 59, p. E375–E383, 2019.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, n. 7, p. e1700782, 19 jul. 2017.

GOMIDE, R. A. C. et al. Development and Characterization of Lignin Microparticles for Physical and Antioxidant Enhancement of Biodegradable Polymers. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, n. 4, p. 1326–1334, 2020.

HAIDER, T. P. et al. Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 58, n. 1, p. 50–62, 2019.

HAN, T. et al. Evolution of sulfur during fast pyrolysis of sulfonated Kraft lignin. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 133, n. April, p. 162–168, 2018.

HASHIMOTO, Y. Effect of heat-sealing temperature on the failure criteria of oriented polypropylene/cast polypropylene heat seal. **Polymer Engineering and Science**, p. 1–10, 2006.

HE, X. et al. Thermal, antioxidant and swelling behaviour of transparent polyvinyl (alcohol) films in presence of hydrophobic citric acid-modified lignin nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 127, p. 665–676, 2019.

HERNANDEZ-LZQUIERDO, V. M.; KROCHTA, J. M. Thermal transitions and heat-sealing of glycerol-plasticized whey protein films. **Packaging Technology and Science**, v. 22, n. 5, p. 255–260, 2009.

HUNTRAKUL, K.; HARNKARNSUJARIT, N. Effects of plasticizers on water sorption and aging stability of whey protein/carboxy methyl cellulose films. **Journal of Food Engineering**, v. 272, n. October 2019, p. 109809, 2020a.

HUNTRAKUL, K.; HARNKARNSUJARIT, N. Effects of plasticizers on water sorption and aging stability of whey protein/carboxy methyl cellulose films. **Journal of Food Engineering**, v. 272, p. 109809, 1 maio 2020b.

HURLEY, B. R. A. et al. PAPER PRESENTED AT IAPRI WORLD CONFERENCE 2012 Effects of Private and Public Label Packaging on Consumer Purchase Patterns. **Packaging and**

Technology and Science, v. 29, n. January, p. 399–412, 2013.

JOOYANDEH, H. Whey protein films and coatings: A review. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 10, n. 3, p. 293–301, 2011.

KAI, D. et al. Engineering Poly(lactide)-Lignin Nanofibers with Antioxidant Activity for Biomedical Application. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 10, p. 5268–5276, 3 out. 2016.

KARIMI, N. et al. Preparation and characterization of whey protein isolate/polydextrose-based nanocomposite film incorporated with cellulose nanofiber and *L. plantarum*: A new probiotic active packaging system. **LWT**, v. 121, p. 108978, 1 mar. 2020.

KETELSEN, M.; JANSSEN, M.; HAMM, U. Consumers ' response to environmentally-friendly food packaging - A systematic review. **Journal of Cleaner Production**, v. 254, p. 120123, 2020.

KIM, S. J.; USTUNOL, Z. Thermal properties, heat sealability and seal attributes of whey protein isolate/lipid emulsion edible films. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 7, p. 985–990, 2001.

KOMURA, R. K. Investigação dos métodos de separação, uso e aplicação da Lignina proveniente da biomassa lignocelulósica. 2015.

KORBAG, I.; MOHAMED SALEH, S. Studies on mechanical and biodegradability properties of PVA/lignin blend films. **International Journal of Environmental Studies**, v. 73, n. 1, p. 18–24, 2 jan. 2016.

KUN, D.; PUKÁNSZKY, B. Polymer/lignin blends: Interactions, properties, applications. **European Polymer Journal**, v. 93, n. December 2016, p. 618–641, 2017a.

KUN, D.; PUKÁNSZKY, B. Polymer/lignin blends: Interactions, properties, applications. **European Polymer Journal**, v. 93, n. April, p. 618–641, ago. 2017b.

LEBRETON, L.; ANDRADY, A. Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. **Palgrave Communications**, v. 5, n. 1, p. 1–11, 2019.

LEE, J. G. et al. Lignin-Zein Composite: Synthesis, Three-Dimensional Printing, and Microbial Degradation. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 9, n. 4, p. 1781–1789, 1 fev. 2021.

LIM, W. S. et al. Heat-sealing property of cassava starch film plasticized with glycerol and

- sorbitol. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, n. March, p. 100556, dez. 2020.
- LIU, C. et al. Heat sealable soluble soybean polysaccharide/gelatin blend edible films for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 24, n. November 2019, p. 100485, 2020.
- LUYT, A. S.; MALIK, S. S. Can Biodegradable Plastics Solve Plastic Solid Waste Accumulation? In: **Plastics to Energy**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 403–423.
- MAURI, A. N.; AÑÓN, M. C. Effect of solution pH on solubility and some structural properties of soybean protein isolate films. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 7, p. 1064–1072, maio 2006.
- MEHTA, M. J.; KUMAR, A. Ionic Liquid Assisted Gelatin Films: Green, UV Shielding, Antioxidant, and Antibacterial Food Packaging Materials. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 7, n. 9, p. 8631–8636, 6 maio 2019.
- MEKA, P.; STEHLING, F. C. Heat sealing of semicrystalline polymer films. I. Calculation and measurement of interfacial temperatures: Effect of process variables on seal properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 51, n. 1, p. 89–103, 1994.
- MELRO, E. et al. A brief overview on lignin dissolution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, p. 578–584, 2018a.
- MELRO, E. et al. A brief overview on lignin dissolution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, n. June, p. 578–584, 2018b.
- MELRO, E. et al. Dissolution of kraft lignin in alkaline solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 688–695, 2020.
- MOHAMMADI, M. et al. International Journal of Biological Macromolecules Development of novel active packaging films based on whey protein isolate incorporated with chitosan nano fiber and nano-formulated cinnamon oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 11–20, 2020.
- MUNTEANU, S. B.; VASILE, C. Vegetable additives in food packaging polymeric materials. **Polymers**, v. 12, n. 1, 2020.
- MUTHURAJ, R. et al. Biopolymer blends from hardwood lignin and bio-polyamides: Compatibility and miscibility. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 439–450, 2019.

MUTHURAJ, R.; MISRA, M.; MOHANTY, A. K. Biodegradable compatibilized polymer blends for packaging applications: A literature review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 24, p. 45726, 20 jun. 2018.

NAIR, S. S. et al. High shear homogenization of lignin to nanolignin and thermal stability of nanolignin-polyvinyl alcohol blends. **ChemSusChem**, v. 7, n. 12, p. 3513–3520, 2014.

NICOLAI, T.; BRITTEN, M.; SCHMITT, C. β -Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1945–1962, 2011.

NILSUWAN, K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Physical/thermal properties and heat seal ability of bilayer films based on fish gelatin and poly(lactic acid). **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 248–256, 2018.

NÚÑEZ-FLORES, R. et al. Physical and functional characterization of active fish gelatin films incorporated with lignin. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 163–172, 2013.

PARIT, M. et al. Transparent and Homogenous Cellulose Nanocrystal/Lignin UV-Protection Films. **ACS Omega**, v. 3, n. 9, p. 10679–10691, 2018.

PEELMAN, N. et al. Application of bioplastics for food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 32, n. 2, p. 128–141, 2013.

PEELMAN, N. et al. Heat resistance of new biobased polymeric materials, focusing on starch, cellulose, PLA, and PHA. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 48, 2015.

PONNUSAMY, V. K. et al. A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. **Bioresource Technology**, v. 271, n. August 2018, p. 462–472, 2019.

PRATEEPCHANACHAI, S. et al. Improvement of Mechanical and Heat Sealing Properties of Chitosan Films via the Use of Glycerol and Gelatin Blends in Film-Forming Solution. p. 30–35, 2016.

PRATEEPCHANACHAI, S. et al. Improvement of mechanical and heat-sealing properties of edible chitosan films via addition of gelatin and CO₂ treatment of film-forming solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 589–600, 2019.

RAGAUSKAS, A. J. et al. Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery. **Science**, v. 344, n. 6185, 2014.

RAMOS, Ó. L. et al. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 110–122, 2013.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10–11, p. 1629–1652, 2013.

SADEGHIFAR, H.; RAGAUSKAS, A. Lignin as a UV Light blocker-a review. **Polymers**, v. 12, n. 5, p. 1–10, 2020.

SANTOS, P. S. B. DO. et al. Characterisation of Kraft lignin separated by gradient acid precipitation. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 149–154, 2014.

SCALENGHE, R. **Resource or waste? A perspective of plastics degradation in soil with a focus on end-of-life options** Heliyon Elsevier Ltd, , dez. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00941>>

SCHMID, M. et al. Permeation of water vapour , nitrogen , oxygen and carbon dioxide through whey protein isolate based films and coatings — Permselectivity and activation energy. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 21–29, 2015a.

SCHMID, M. et al. Storage time-dependent alteration of molecular interaction–property relationships of whey protein isolate-based films and coatings. **Journal of Materials Science**, v. 50, n. 12, p. 4396–4404, 1 jun. 2015b.

SEN, S.; PATIL, S.; ARGYROPOULOS, D. S. Thermal properties of lignin in copolymers, blends, and composites: a review. **Green Chemistry**, v. 17, n. 11, p. 4862–4887, 2015a.

SEN, S.; PATIL, S.; ARGYROPOULOS, D. S. **Thermal properties of lignin in copolymers, blends, and composites: a review** Green Chemistry Royal Society of Chemistry, , 12 jun. 2015b. Disponível em: <www.rsc.org/greenchem>. Acesso em: 3 maio. 2021

SHANKAR, S.; REDDY, J. P.; RHIM, J. W. Effect of lignin on water vapor barrier, mechanical, and structural properties of agar/lignin composite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 267–273, 2015.

SILVA, K. S. et al. Physicochemical and microstructural properties of whey protein isolate-based films with addition of pectin. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, n. April, p. 122–128, 2018.

SIPPONEN, M. H. et al. Lignin for Nano- and Microscaled Carrier Systems: Applications, Trends, and Challenges. **ChemSusChem**, v. 12, n. 10, p. 2038, 2019.

STOICA, M. et al. The financial impact of replacing plastic packaging by biodegradable biopolymers - A smart solution for the food industry. **Journal of Cleaner Production**, v. 277,

p. 124013, 20 dez. 2020.

SU, J.-F. et al. Heat-sealing properties of soy protein isolate/poly(vinyl alcohol) blend films: Effect of the heat-sealing temperature. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, n. 3, p. 1901–1911, 5 fev. 2010.

SUKYAI, P. et al. Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films. **Food Research International**, v. 107, p. 528–535, 1 maio 2018.

SUN, Y. et al. Biodegradable and renewable poly(lactide)-lignin composites: Synthesis, interface and toughening mechanism. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 7, p. 3699–3709, 2015.

TAI, J. et al. Heat-sealing properties of soy protein isolate/polyvinyl alcohol film made compatible by glycerol. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 11, p. 1–7, 2014.

TAVARES, L. B. et al. PBAT/kraft lignin blend in flexible laminated food packaging: Peeling resistance and thermal degradability. **Polymer Testing**, v. 67, n. November 2017, p. 169–176, 2018.

THAKUR, R. et al. Starch-based films: Major factors affecting their properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1079–1089, 1 jul. 2019.

WAGH, Y. R. et al. Preparation and characterization of milk protein films and their application for packaging of Cheddar cheese. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 3767–3775, 2014.

WIHODO, M.; MORARU, C. I. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 3, p. 292–302, 2013.

XING, Q. et al. Biodegradable and High-Performance Poly(butylene adipate-co-terephthalate)-Lignin UV-Blocking Films. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 11, p. 10342–10351, 2017.

YADAV, A. et al. Biopolymers as packaging material in food and allied industry. ~ **2411** ~ **International Journal of Chemical Studies**, v. 6, n. 2, p. 2411–2418, 2018.

YADAV, J. S. S. et al. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756–774, 1 nov. 2015.

YANG, J.; CHING, Y.; CHUAH, C. Applications of Lignocellulosic Fibers and Lignin in Bioplastics: A Review. **Polymers**, v. 11, n. 5, p. 751, 28 abr. 2019.

YANG, M. et al. On the solution structure of kraft lignin in ethylene glycol and its implication for nanoparticle preparation. **Nanoscale Advances**, v. 1, n. 1, p. 299–304, 2019.

YANG, W. et al. Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 800–811, 2016a.

YANG, W. et al. Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 800–811, 2016b.

YANG, W. et al. Poly(lactic acid)/lignin films with enhanced toughness and anti-oxidation performance for active food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 102–110, fev. 2020a.

YANG, Y. et al. Application of histochemical stains for rapid qualitative analysis of the lignin content in multiple wood species. **BioResources**, v. 15, n. 2, p. 3524–3533, 2020b.

YIN, S. W. et al. Properties of cast films from hemp (*Cannabis sativa* L.) and soy protein isolates. A comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 18, p. 7399–7404, 2007.

ZADEH, E. M.; O'KEEFE, S. F.; KIM, Y.-T. Utilization of Lignin in Biopolymeric Packaging Films. **ACS Omega**, v. 3, n. 7, p. 7388–7398, 31 jul. 2018a.

ZADEH, E. M.; O'KEEFE, S. F.; KIM, Y. T. Utilization of Lignin in Biopolymeric Packaging Films. **ACS Omega**, v. 3, n. 7, p. 7388–7398, 2018b.

ZEEVALLOS TORRES, L. A. et al. Lignin as a potential source of high-added value compounds: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 263, 2020.

ZHANG, C. WEI et al. Thermally stable, enhanced water barrier, high strength starch biocomposite reinforced with lignin containing cellulose nanofibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115626, 15 fev. 2020.

ZHANG, W. et al. Enhanced physicochemical properties of chitosan / whey protein isolate composite film by sodium laurate-modified TiO₂ nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 59–65, 2016.

ZHANG, Y.; NAEBE, M. **Lignin: A Review on Structure, Properties, and Applications as a Light-Colored UV Absorber** *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* American Chemical Society, , 1 fev. 2021. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c06998>>. Acesso em: 21 abr. 2021

ZHONG, Y. et al. Advanced Industrial and Engineering Polymer Research Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 1, p. 27–35, 2020.

ZUBAIR, M.; ULLAH, A. Recent advances in protein derived bionanocomposites for food packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–29, 2019.

ZUBAIR, M.; ULLAH, A. Recent advances in protein derived bionanocomposites for food packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 3, p. 406–434, 2020.