

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

PAMELA THAIS SOUSA MELO

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES NANOESTRUTURADOS À  
BASE DE PECTINA E POLPAS DE FRUTAS COM POTENCIAL USO COMO  
EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

Ilha Solteira

2016

PAMELA THAIS SOUSA MELO

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES NANOESTRUTURADOS À  
BASE DE PECTINA E POLPAS DE FRUTAS COM POTENCIAL USO COMO  
EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia do Câmpus de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais. Área de concentração: Química dos Materiais.

Prof<sup>a</sup>. Dra. Marcia Regina de Moura Aouada.

**Orientadora**

Ilha Solteira

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

M528p      Melo, Pamela Thais Sousa.  
Preparo e caracterização de filmes nanoestruturados à base de pectina e polpas de frutas com potencial uso como embalagens alimentícias / Pamela Thais Sousa Melo. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2016  
69 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2016

Orientador: Marcia Regina de Moura Aouada  
Inclui bibliografia

1. Filmes comestíveis. 2. Nanopartículas de quitosana. 3. Pectina.

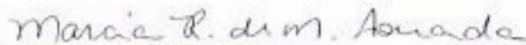
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Preparo e caracterização de filmes nanoestruturados à base de pectina e polpa de frutas com potencial uso como embalagens alimentícias

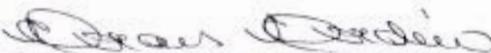
AUTORA: PAMELA THAIS SOUSA MELO

ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

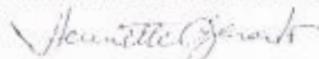
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: QUÍMICA DOS MATERIAIS pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA  
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Profa. Dra. MARIA ANGELA DE M CORDEIRO  
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Pesquisadora HENRIETTE MONTEIRO CORDEIRO DE AZEREDO  
Embrapa Agroindústria Tropical

Ilha Solteira, 14 de outubro de 2016

*Dedico este trabalho à minha irmã, Lorrane  
Mahara Sousa Melo, por sempre me apoiar e  
por me fortalecer nos momentos mais difíceis, pelo  
incentivo e por ser um grande exemplo para mim.*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, Rosico Carlos de Melo, por ser sempre o meu incentivador e por me amar verdadeiramente.

À minha irmã, Lorrane Nahara S. Melo, por ser minha grande companheira e pelo apoio incondicional.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Marcia Regina de Moura Aouada, pela orientação, paciência e dedicação. Sem dúvida alguma, uma fonte de inspiração profissional.

Aos colegas do Departamento de Física e Química, que sempre me ajudaram no decorrer da pesquisa.

Um agradecimento em especial ao Alex Otávio Sanches, que contribuiu significativamente com o meu trabalho, mesmo não fazendo parte do meu grupo de pesquisa. Sem ele, certamente, não seria nada fácil. Um grande exemplo, a todos os estudantes, de dedicação e comprometimento.

A todos os professores do Departamento, especialmente aos professores Fauze A. Aouada, José A. Malmonge, Luiz F. Malmonge, Newton Dias Filho e Walter K. Sakamoto, pela solidariedade ao nosso grupo de pesquisa, permitindo livre acesso aos seus laboratórios.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, pela oportunidade.

À CNPq, pelo auxílio financeiro.

À Embrapa Instrumentação.

A todos que, de alguma forma, colaboraram para o desenvolvimento desta pesquisa.

*“A admiração é filha da ignorância, porque ninguém se admira senão das coisas que ignora, principalmente se são grandes; e mãe da ciência, porque admirados os homens das coisas que ignoram, inquirem e investigam as causas delas até as alcançar, e isto é o que se chama ciência” (Padre Antônio Vieira).*

## RESUMO

Os resíduos gerados pelo descarte de embalagens produzidas por fontes não biodegradáveis vêm crescendo a cada ano e constitui um grande problema do ponto de vista ambiental. Uma das formas encontradas para amenizar o problema consiste no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis obtidas através de polímeros naturais. No entanto, estas embalagens apresentam algumas propriedades desfavoráveis, como por exemplo, baixas propriedades de barreira e baixa resistência mecânica, dificultando, assim, sua utilização. Boa parte dos resíduos plásticos gerados é produzida pela indústria de alimentos, o que vem impulsionando pesquisas, principalmente, no desenvolvimento de filmes comestíveis. Vários grupos de polímeros naturais têm sido estudados para a formação dos filmes, dentre eles, os polissacarídeos merecem destaque. Uma das formas reportadas na literatura para melhorar as propriedades de filmes à base de polissacarídeos inclui a adição de nanoestruturas às matrizes poliméricas. O presente trabalho visou à produção de filmes comestíveis baseados em pectina e polpas de frutas. Nanopartículas de quitosana foram sintetizadas e adicionadas às matrizes poliméricas com o objetivo de melhorar as propriedades dos filmes. As nanopartículas apresentaram tamanho médio de 110 nm e potencial zeta em torno de +40 mV. Os filmes foram produzidos por “*casting*” e apresentaram características satisfatórias, como: manuseabilidade, homogeneidade e continuidade. Através das análises mecânicas - tensão máxima e alongação - foi possível concluir que as nanopartículas atuaram como agentes de reforço, aumentando a tenacidade dos filmes. Testes de permeabilidade ao vapor de água evidenciaram que filmes nanoestruturados apresentaram melhores propriedades de barreira. A distribuição das nanoestruturas nas matrizes poliméricas pôde ser melhor elucidada através de análises de microscopia eletrônica de varredura, que demonstraram uma dispersão homogênea das mesmas ao longo dos filmes. A temperatura de transição vítrea dos filmes não sofreu influência significativa com a adição das nanopartículas. Através de medidas de FT-IR foi possível verificar os deslocamentos das bandas características, sugerindo interações entre a matriz e as nanoestruturas.

**Palavras-chave:** Filmes comestíveis. Nanopartículas de quitosana. Pectina.

## ABSTRACT

The residues generated by the disposal of packaging materials produced by non-biodegradable sources have been growing every year and is a major problem from an environmental point of view. One way to mitigate the problem encountered has been the production of biodegradable packaging materials obtained from natural polymers. However, those materials have some unfavorable properties, such as low barrier properties and low mechanical strength, thus hampering their use. Many of the generated plastic waste is produced by the food industry, which has stimulated research, particularly in the development of edible films. Many groups of natural polymers have been studied for film the formation, among them, the polysaccharides are noteworthy. One possible strategy to improve properties of polysaccharide films is by incorporating nanostructured materials into the polymer matrices. One way reported in the literature involves the addition of chitosan nanoparticles. This paper aimed to the production of biodegradable films based on pectin, fruit pulp and chitosan nanoparticles to evaluate the increase in mechanical and physical properties thereof. Initially, the nanostructures were synthesized and characterized. They showed an average size of 110 nm and zeta potential around +40 mV. Then, films were produced using the casting technique. The films showed satisfactory characteristics, such as manageability, homogeneity and continuity. Through the mechanical analysis - maximum stress and elongation - it was concluded that the nanoparticles served as fillers, increasing the toughness of the films. Water vapor permeability testing showed that nanostructured films showed improved barrier properties. The chemical interactions between nanoparticles and polymer matrices could be better elucidated by analysis of scanning electron microscopy, which showed a homogeneous dispersion of the same over the films. The glass transition temperature of the films was not affected by the addition of nanoparticles. FT-IR spectra indicated the displacement of the characteristic bands, suggesting interactions between the matrix and the nanostructures.

**Keywords:** Edible films. Chitosan nanoparticles. Pectin.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura molecular da pectina.....	20
<b>Figura 2</b> - Estrutura molecular da quitina.....	24
<b>Figura 3</b> - Estrutura molecular da celulose .....	24
<b>Figura 4</b> - Estrutura molecular da quitosana.....	25
<b>Figura 5</b> - Cupuaçu ( <i>Theobroma grandiflorum</i> ) .....	29
<b>Figura 6</b> - Cacau ( <i>Theobroma cacao</i> ).....	30
<b>Figura 7</b> - Representação da síntese de nanopartículas de quitosana pelo método de gelatinização ionotrópica .....	35
<b>Figura 8</b> - Fotografia digital da solução filmogênica contendo pectina, polpa de cacau e nanopartículas em processo de secagem .....	36
<b>Figura 9</b> - Célula contendo o filme utilizada para as medidas de permeabilidade ao vapor de água .....	39
<b>Figura 10</b> - Fotografia digital dos filmes de pectina 2% (P2), pectina 2% + NPs (P2NP), pectina 2% + cacau (P2CA), pectina 2% + cacau + NPs (P2CANP).....	43
<b>Figura 11</b> - Valores de tensão máxima de ruptura dos filmes testados .....	45
<b>Figura 12</b> - Valores de alongação dos filmes testados .....	46
<b>Figura 13</b> - Micrografia obtida por MEV da superfície do filme de pectina 3% puro (a) e do filme de pectina 3% contendo nanopartículas (b). As micrografias possuem magnitude de 2000 X .....	56
<b>Figura 14</b> - Micrografia obtida por MEV da superfície do filme de pectina 3% e polpa de cacau (a) e filme de pectina 3% contendo cacau e nanopartículas (b). A micrografia possui magnitude de 1000 X .....	56
<b>Figura 15</b> - Micrografia obtida por MEV da superfície do filme de pectina 2% e polpa de cacau (a) e filme de pectina 3% e polpa de cupuaçu (b). A micrografia possui magnitude de 2000 X .....	57
<b>Figura 16</b> - Micrografia obtida por MEV da fratura do filme de pectina 2% (a) e do filme de pectina 2% contendo nanopartículas (b). A micrografia possui magnitude de 5000 X.....	58
<b>Figura 17</b> - Micrografia obtida por MEV da fratura do filme de pectina 2% (a) e do filme de pectina 2% contendo nanopartículas (b). A micrografia possui magnitude de 5000 X.....	59

<b>Figura 18</b> - Espectros obtidos por Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) dos filmes de cacau.....	59
<b>Figura 19</b> - Espectros obtidos por Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) dos filmes de cupuaçu.....	60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Classificação das pectinas comerciais de acordo com o grau de metoxilação .....	22
<b>Tabela 2</b> - Conteúdo de pectina de alguns frutos em relação ao material seco.....	23
<b>Tabela 3</b> - Siglas utilizadas para cada tipo de filme preparado.....	37
<b>Tabela 4</b> - Valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes .....	48
<b>Tabela 5</b> - Temperatura de transição vítrea (Tg) dos filmes .....	50
<b>Tabela 6</b> - Temperatura dos picos endotérmicos e valores de entalpia dos filmes...	52
<b>Tabela 7</b> - Temperaturas aproximadas do início do processo de degradação dos filmes .....	54
<b>Tabela 8</b> - Valores característicos dos picos existentes nas análises de FT-IR.....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM (alto grau de metoxilação)  
ASTM (American Society for Testing and Materials)  
BM (baixo grau de metoxilação)  
CA (cacau)  
CMC (carboximetilcelulose)  
CU (cupuaçu)  
DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)  
EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)  
GM (grau de metoxilação)  
HPMC (hidroxipropil metilcelulose)  
LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia)  
MEC (Ministério da Educação)  
MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)  
mw (massa molar da água)  
NPs (nanopartículas)  
P (pectina)  
P2 (pectina 2%)  
P2CA (pectina 2% + polpa de cacau)  
P2CANP (pectina 2% + polpa de cacau + nanopartículas de quitosana)  
P2CU (pectina 2% + polpa de cupuaçu)  
P2CUNP (pectina 2% + polpa de cupuaçu + nanopartículas de quitosana)  
P2NP (pectina 2% + nanopartículas de quitosana)  
P3 (pectina 3%)  
P3CA (pectina 3% + polpa de cacau)  
P3CANP (pectina 3% + polpa de cacau + nanopartículas de quitosana)  
P3CU (pectina 3% + polpa de cupuaçu)  
P3CUNP (pectina 3% + polpa de cupuaçu + nanopartículas de quitosana)  
P3NP (pectina 3% + nanopartículas de quitosana)  
PVC (poli – cloreto de vinila)  
QS (quitosana)  
RH (umidade relativa do filme)  
rpm (rotações por minuto)

Tg (temperatura de transição vítrea)

Tm (temperatura de degradação)

TPP (tripolifosfato de sódio)

WVP (permeabilidade ao vapor de água)

WVTR (velocidade de transmissão do vapor de água)

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\text{KMnO}_4$  (permanganato de potássio)  
HCl (ácido clorídrico)  
NaOH (hidróxido de sódio)  
 $\text{NH}_2$  (glucosamina)  
 $\text{NH}^{3+}$  (grupo amino protonado)  
c (centi)  
m (metro)  
g (grama)  
 $\text{CO}_2$  (dióxido de carbono)  
 $\text{O}_2$  (gás oxigênio)  
m (mili)  
L (litro)  
min (minuto)  
 $^{\circ}\text{C}$  (graus Celsius)  
 $\sigma$  (tensão máxima de ruptura)  
 $\varepsilon$  (deformação)  
F (força de ruptura)  
S (área seccional do filme)  
L (comprimento final do filme após o teste de tração)  
 $L_0$  (comprimento inicial do filme)  
® (marca registrada)  
D (difusividade de vapor de água através do ar)  
 $P$  (pressão total)  
 $P_2$  (pressão parcial da face inferior do filme)  
 $P_1$  (pressão saturada de vapor a 298 K)  
R (constante dos gases)  
T (temperatura)  
K (temperatura em Kelvin)  
z (altura média atingida pelo gás inerte)  
s (segundo)  
 $P_3$  (pressão parcial do lado superior do filme)  
y (espessura média dos filmes)

k (quilo)

V (volts)

Pa (Pascal)

h (hora)

m (mili)

n (nano)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Pectina .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2 Quitosana .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Embalagens comestíveis .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.1 Propriedades dos filmes comestíveis.....</b>	<b>28</b>
2.3.1.1 Propriedades organolépticas .....	28
2.3.1.2 Propriedades de barreira .....	31
2.3.1.3 Propriedades mecânicas .....	32
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1 Objetivo geral .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>33</b>
<b>4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 Material .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2 Métodos .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2.1 Síntese das nanopartículas (NPs) de quitosana (QS).....</b>	<b>34</b>
<b>4.2.2 Caracterização das nanopartículas.....</b>	<b>35</b>
4.2.2.1 Determinação do tamanho médio.....	35
4.2.2.2 Determinação do potencial zeta .....	35
<b>4.2.3 Preparo dos filmes.....</b>	<b>35</b>
<b>4.2.4 Caracterização dos nanocompósitos na forma de filmes.....</b>	<b>38</b>
4.2.4.1 Determinação da espessura dos filmes.....	38
4.2.4.2 Propriedades mecânicas .....	38
4.2.4.3 Permeabilidade ao vapor de água (WVP) .....	39
4.2.4.4 Propriedades térmicas.....	40
4.2.4.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	40
4.2.4.4.2 Termogravimetria (TG).....	40
4.2.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	41

4.2.4.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>42</b>
5.1 Caracterização das nanopartículas	42
5.1.1 Tamanho médio das nanopartículas e potencial zeta	42
5.2 Caracterização dos filmes	42
5.2.1 Análise subjetiva	42
5.2.2 Propriedades mecânicas	44
5.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)	47
5.2.3 Propriedades térmicas	50
5.2.3.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	50
5.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	55
5.2.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	60
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Anualmente, milhões de toneladas de plásticos são produzidas por todo o mundo e a maior parte da produção industrial provém de matérias-primas de fontes não renováveis, como o petróleo e o gás natural. Além disso, grandes quantidades de gases de efeito estufa são geradas enquanto são produzidos. Vale destacar também que estes materiais, por serem altamente resistentes à decomposição, geram resíduos preocupantes do ponto de vista ambiental (por não serem biodegradáveis), e os plásticos destinados a envolver alimentos são responsáveis por boa parte da geração destes resíduos (ESPITIA et al., 2014a; SUN et al., 2015).

Devido aos grandes problemas relacionados ao uso dos plásticos derivados de fontes fósseis, o interesse em se pesquisar os polímeros naturais para a fabricação de embalagens biodegradáveis vem aumentando. Muitas pesquisas têm se concentrado, principalmente, na obtenção de filmes comestíveis com características próximas às dos convencionais (baixa solubilidade em água, boa tenacidade, baixas taxas de permeabilidade a vapores, etc.). Vale destacar que, nem sempre, os filmes comestíveis são projetados para substituir os plásticos convencionais, uma vez que podem ser utilizados como embalagem primária, necessitando de uma embalagem secundária para proteger o alimento de agentes contaminantes, por exemplo. (RAZAVI et al., 2015).

Filmes obtidos através de polissacarídeos têm se mostrado promissores, porém é necessário que suas propriedades sejam melhoradas, especialmente as de barreira e mecânicas. A nanotecnologia, que é a capacidade de se manipular átomos e moléculas em escala nanométrica, tem sido utilizada para melhorar a qualidade das embalagens biodegradáveis. Trabalhos recentes têm sugerido a adição de nanoestruturas às matrizes poliméricas como agentes de reforço (CERQUEIRA et al., 2011; SANCHÉZ et al., 2014).

Com a finalidade de se manter a comestibilidade dos filmes, o uso de nanoestruturas à base de quitosana tem sido explorada. A quitosana é um polímero natural biodegradável, biocompatível e possui propriedades antimicrobianas (ANTONIOU et al., 2015; LIN, 2015; YOUNES et al., 2015). Moura et al. (2009) verificaram que o uso de nanopartículas de quitosana obtidas pelo método de gelatinização ionotrópica melhoram as propriedades térmicas e mecânicas, além de

diminuir a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de hidroxipropil metilcelulose (HPMC), quando comparados àqueles obtidos apenas com HPMC.

Hosseini et al. (2015) adicionaram nanopartículas de quitosana em filmes de gelatina de peixe e observaram uma melhora nas propriedades mecânicas dos mesmos. Antoniou et al. (2015) relataram aumento nos valores de tensão máxima na ruptura de filmes de goma tara após a adição de nanoestruturas. Lorevice et al. (2016) estudaram a influência das nanopartículas de quitosana em filmes de pectina de alto e baixo grau de metoxilação e verificaram melhora nas propriedades dos filmes após a adição das nanoestruturas.

Atualmente, o mercado global tem buscado oferecer produtos e alimentos com mais qualidade e segurança, o que impulsiona ainda mais o desenvolvimento de mecanismos que satisfaçam aos novos padrões de consumo, como as embalagens biodegradáveis, por exemplo (ESPITIA et al., 2014a). Os filmes comestíveis, definidos como uma fina camada de material que serve como barreira entre o alimento e o meio externo, auxiliando o papel da embalagem externa, podem aumentar a vida de prateleira dos produtos, além de serem ecologicamente corretos, indo ao encontro deste novo padrão de consumo. (BAHRAM et al., 2014; BOURTOON, 2008).

Devido aos inúmeros benefícios trazidos pela ingestão de alimentos naturais, polpas de frutas têm sido utilizadas como principais componentes de dispersões poliméricas para a produção de filmes comestíveis. Além de adicionar propriedades nutricionais e flavorizantes, incrementando cor, odor e sabor, podem contribuir para uma melhor conservação dos produtos por eles recobertos (ESPITIA et al., 2014b).

Em estudos mais recentes, Martelli et al. (2013) relataram incremento não só nas propriedades sensoriais dos filmes, ou seja, aquelas detectadas pelos sentidos (cor, odor, sabor, aparência), como também nas propriedades mecânicas (tensão e alongação) e de barreira (permeabilidade ao vapor de água) quando foi adicionado purê de banana às matrizes poliméricas.

No presente trabalho, filmes foram produzidos à base de pectina, que é um polímero natural, biodegradável e biocompatível. Polpas de cacau e cupuaçu foram adicionadas às matrizes com o objetivo de conferir características organolépticas interessantes para a aplicação em alimentos. As polpas foram utilizadas também com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes e incrementar propriedades nutricionais aos mesmos. Nanopartículas de quitosana

foram sintetizadas e, posteriormente, adicionadas às dispersões filmogênicas para atuarem como agentes de reforço.

O Cacau (*Theobroma cacao*), pertencente à família *Sterculiaceae*, exerce grande importância econômica mundial pelo fato de possuir alto valor nutricional e antioxidante. Estudos recentes têm reportado os inúmeros benefícios do consumo deste fruto, atribuídos principalmente, à presença de flavonoides em sua composição (ABE et al., 2007; GURREA et al., 2014).

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum), pertence à família *Malvaceae*, é uma fruta tropical nativa da Amazônia, sendo uma das mais populares desta região. É utilizada no Brasil no preparo de sorvetes, licores, sucos, e a partir de suas sementes pode ser produzido o chamado “cupulate”, um produto semelhante ao chocolate (MEC, 2007). Sua polpa é rica em vitamina C e é bastante apreciada devido ao seu sabor e aroma (PETKOWICZ et al., 2009).

A crescente procura por alimentos saudáveis e que exerçam funções nutraceuticas, ou seja, que contenham nutrientes capazes de proporcionar benefícios à saúde e atuarem na prevenção e tratamento de doenças, impulsionou a escolha das polpas de cacau e cupuaçu. Outra característica relevante foi a alta concentração de agentes antioxidantes que elas possuem, e que, além de serem importantes do ponto de vista nutricional, podem vir a contribuir com a diminuição de processos oxidativos nos alimentos, quando incorporadas às matrizes de pectina.

Diante do exposto, o trabalho propõe a síntese e caracterização de nanopartículas de quitosana para serem adicionadas aos filmes com o intuito de melhorar suas propriedades, especialmente as mecânicas (tensão máxima e alongação) e as de barreira (permeabilidade ao vapor de água). Além disso, a utilização das polpas de cacau e cupuaçu são importantes para adicionar sabor aos filmes e contribuir para enriquecê-los do ponto de vista nutricional. O incremento de tais propriedades é de extrema importância para a utilização de embalagens derivadas de polímeros biodegradáveis em substituição (total ou parcial) às tradicionais à base de polímeros sintéticos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

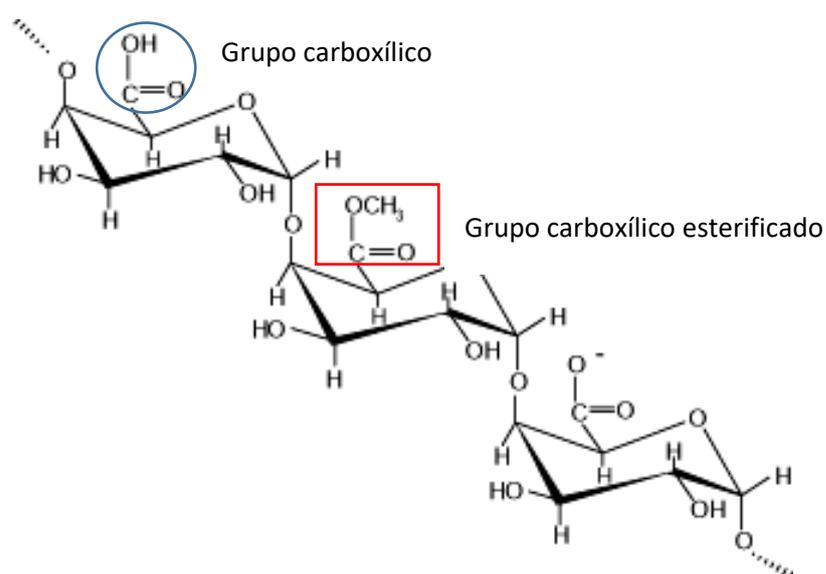
### 2.1 Pectina

A pectina é um polissacarídeo estrutural complexo encontrado na parede celular e nas camadas intercelulares de algumas plantas. Comercialmente, é extraída principalmente de cascas de frutas cítricas e bagaço de maçã obtidas de subprodutos da indústria de sucos (BRANDÃO et al., 1999; YULIARTI et al., 2015).

A pectina é utilizada como espessante, agente geleificante, emulsificante e estabilizante em produtos alimentícios. Na indústria farmacêutica, é usada como veiculador de fármacos e, nos últimos anos, vem sendo empregada também como fibra dietética solúvel por apresentar efeitos fisiológicos benéficos ao organismo humano, tais como: redução dos níveis de colesterol, lipoproteínas, ácidos biliares e glicose (MUNHOZ et al., 2010; ZHANG et al., 2015).

É formada por ligações de alfa (1,4) D ácido galacturônico com diferentes graus de esterificação. Deve ser constituída de, no mínimo, 65% de ácido galacturônico, segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura) e EU (União Européia). A figura 1 exemplifica a estrutura molecular da pectina.

Figura 1 - Estrutura molecular da pectina



Fonte: <http://www.infoescola.com/bioquimica/pectina/>. Acesso em jun. 2016.

O grau de metoxilação representa a proporção de grupos carboxílicos que estão na forma esterificada. O grau de amidação se refere à porcentagem de grupos carboxilas na forma amida. Os graus de metoxilação e de amidação influenciam fortemente nas propriedades funcionais da pectina, como solubilidade, capacidade de gelificação, temperatura e condições de gelificação.

A pectina pode ser classificada de acordo com o grau de metoxilação (GM) em duas classes: pectina de alto grau de metoxilação (AM), quando contiver grau de esterificação superior a 50% e pectina de baixo grau de metoxilação (BM), quando o percentual de grupamentos esterificados for inferior a 50%. As pectinas BM podem conter também grupamentos amida na cadeia e são classificadas, neste caso, como pectinas amidadas de baixa esterificação (CANTERI et al., 2012).

As pectinas de alto grau de metoxilação possuem propriedades gelificantes consideráveis e são muito utilizadas para fabricação de geleias e sucos de frutas. Já as pectinas de baixo grau de metoxilação gelificam em meio ácido. A propriedade gelificante da pectina varia em função da fonte de extração, devido às diferenças de tamanho das cadeias de ácido galacturônico e do grau de esterificação. A solubilidade e condições de gelificação também são influenciadas pelo grau de esterificação (BRANDÃO et al., 1999).

Como o grupo éster, presente em maior quantidade nas pectinas AM, é menos hidrofóbico que o grupo ácido, as pectinas de alto grau de metoxilação geralmente gelificam em temperaturas maiores que as pectinas BM. Outro fator que influencia na gelificação é a presença de açúcar e sólidos solúveis, que tendem a desidratar as moléculas de pectina em solução. Quanto maior a quantidade de açúcar, menor será a quantidade de água para agir como solvente, e, portanto, a gelificação é favorecida. As pectinas AM necessitam de sólidos solúveis na ordem de 55%. As de BM gelificam com quantidades menores e também na presença de grupamentos catiônicos, uma vez que a quantidade de grupamentos hidroxilas são maiores nas pectinas de baixo grau de metoxilação (CANTERI et al., 2012). Na tabela 1 encontra-se a classificação das pectinas de acordo com as porcentagens de esterificação dos grupos carboxílicos.

Tabela 1 - Classificação das pectinas comerciais de acordo com o grau de metoxilação

<b>Tipos de pectinas comerciais</b>	<b>Grau de Metoxilação (GM) em %</b>
Pectinas AM	55 a 75
Pectinas BM	15 a 45
Pectinas BM amidadas	10 a 25

Fonte: elaboração da própria autora

A extração da pectina geralmente é realizada por métodos químicos e enzimáticos, podendo variar de acordo com a matéria-prima utilizada. De maneira geral, o processo compreende as seguintes etapas: extração do vegetal de origem em meio aquoso ácido, purificação do líquido extraído e por fim, isolamento da pectina por precipitação. Alguns fatores podem influenciar os processos acima, tais como, temperatura, pH, tipo de ácido utilizado e tempo de extração (CANTERI et al., 2012; MUNHOZ et al., 2010).

A maior parte da pectina usada pela indústria de alimentos é obtida através do bagaço de maçã, albedo cítrico, polpa de beterraba e capítulos de girassol. No entanto, o teor de substâncias pécticas e algumas características, como grau de esterificação, tamanho de partículas, conteúdo de açúcares, dentre outros, podem ser diferentes, resultando, conseqüentemente, em propriedades funcionais diferentes. Pesquisas sobre métodos e fontes de extração alternativos têm sido realizadas com o propósito de otimizar o aproveitamento de resíduos industriais com potencial fonte de pectina. A tabela 2 resume as porcentagens de pectina que estão presentes em alguns frutos.

Tabela 2 - Conteúdo de pectina de alguns frutos em relação ao material seco

Fruto	% de pectina
Maçã ( <i>Malus sp.</i> )	4-7
Bagaço de maçã	15-20
Albedo cítrico ( <i>Citrus sp.</i> )	30-35
Bagaço de beterraba	15-20
Cenoura ( <i>Daucus carota</i> )	10
Batata	2,5
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	3

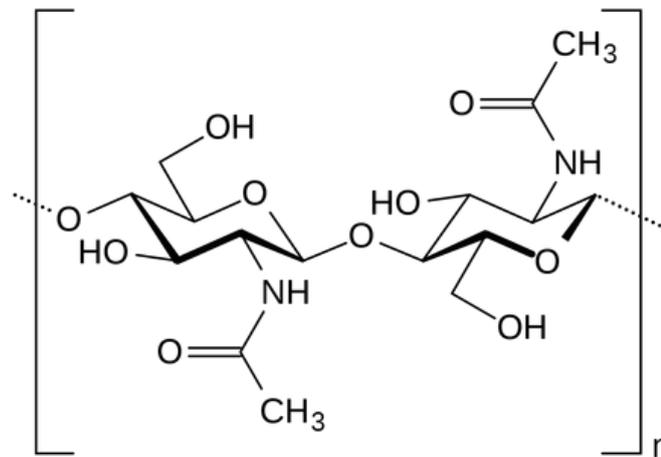
Fonte: Elaboração da própria autora

## 2.2 Quitosana

A quitosana foi descoberta no século XIX, entretanto, somente nas últimas décadas, tem sido amplamente estudada por ser um polímero de fonte renovável e, também, devido à suas diversas aplicações nas áreas tecnológicas e biomédicas. Atualmente, é produzida em grande escala em vários países, sendo obtida a partir de um outro polímero natural, a quitina. A quitosana também pode ser encontrada em alguns fungos, como aqueles pertencentes aos gêneros *Mucor* e *Zygomycetes* (LARANJEIRA et al., 2009; SILVA et al., 2006).

A quitina (figura 2) é um polissacarídeo encontrado naturalmente em diversos organismos vivos. É o principal componente da parede celular de fungos e exoesqueleto de crustáceos. (KROCHTA et al., 1994). É um copolímero formado pelas unidades monoméricas de  $\beta$  -(1→4)- 2-amino-2-desoxi-D-glicose e  $\beta$ -(1→4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose. Possui uma estrutura cristalina altamente organizada, sendo insolúvel na maioria dos solventes orgânicos, o que limita a utilização deste biopolímero em larga escala. Por este motivo, derivados solúveis em água têm sido produzidos, sendo a quitosana o mais importante deles (HAMED et al., 2016; LARANJEIRA et al, 2009).

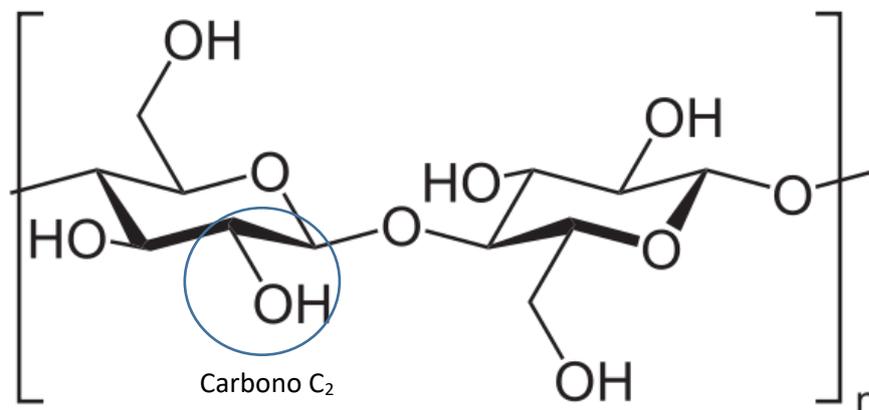
Figura 2 - Estrutura molecular da quitina



Fonte: <http://www.fcencias.com/2014/05/15/quitina-molecula-da-semana/>. Acesso em: jul. 2016.

Estruturalmente, a quitina é muito semelhante à celulose (figura 3) em que o grupo hidroxila [-OH] da posição C<sub>2</sub> é substituído pela acetamida [-NHCOCH<sub>3</sub>]. Sua estrutura pode ser modificada removendo grupos acetila que se encontram ligados a radicais amina na posição C<sub>2</sub> do anel de glucano por hidrólise química, produzindo um derivado desacetilado. Quando a fração de grupos amina acetilados fica em torno de 35-40%, o copolímero resultante é denominado de quitosana (TAVARIA et al., 2013).

Figura 3 - Estrutura molecular da celulose

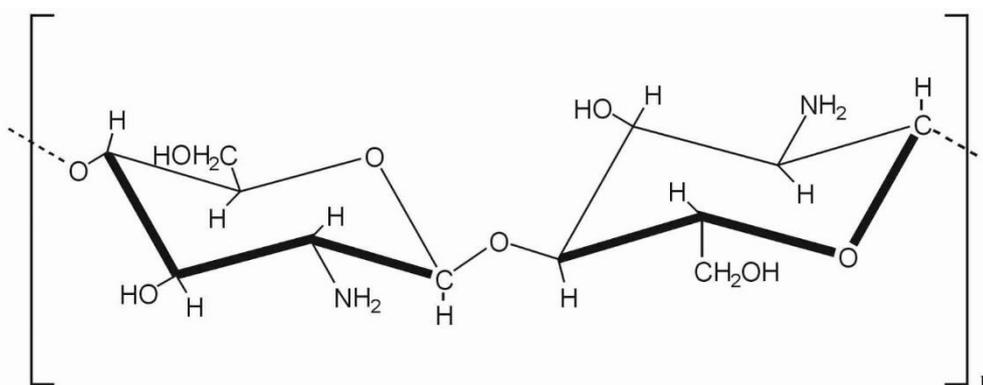


Fonte: <http://www.wikiwand.com/pt/Celulose>. Acesso em: set. 2016.

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, perdendo apenas para a celulose. Ela é separada dos outros componentes da carapaça de crustáceos através de um processo químico que compreende as etapas de desmineralização e desproteinização das carapaças com soluções diluídas de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH), seguida de descoloração com permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) e ácido oxálico, por exemplo (AZEVEDO et al., 2007). A quitina é, então, submetida a processo de desacetilação com solução concentrada de NaOH, produzindo a quitosana.

A quitosana (figura 4) possui uma estrutura química única formando um policátion linear com alta densidade de carga, grupos hidroxila e grupos amino presentes na cadeia polimérica. A presença de uma alta porcentagem de grupos reativos permite inúmeras modificações químicas. É amplamente utilizada por apresentar biocompatibilidade, biodegradabilidade e ser atóxica, tornando-se atrativa para aplicações em diversas áreas: alimentos e nutrição, biomedicina, biotecnologia, agricultura, veterinária, etc. (WANG et al., 2016).

Figura 4 - Estrutura molecular da quitosana



Fonte: <http://integradoemquimica.blogspot.com.br/2012/12/estudo-da-viabilidade-de-quitosana-como.html>. Acesso em: jul. 2016.

A quitosana é insolúvel em água, solventes orgânicos e em bases. Dissolve-se facilmente em soluções de ácidos orgânicos fracos diluídos, devido à protonação de seus grupos amino, em que as unidades de glucosamina (NH<sub>2</sub>) podem ser convertidas na sua forma protonada e solúvel (NH<sup>3+</sup>). O ácido acético e o ácido fórmico são os mais empregados para sua solubilização. A solubilidade da quitosana depende da sua origem biológica, massa molecular e grau de acetilação, afetando diretamente

suas aplicações (TAVARIA et al., 2013). O grau de desacetilação, distribuição de massa molar e quantidade de impurezas dependem da matéria-prima utilizada para sua obtenção e dos métodos de preparação (DAMIAN et al., 2005).

Os resíduos produzidos anualmente pelas indústrias de processamento de pescados são compostos em sua grande maioria por cascas e carapaças de crustáceos. A ineficiência no correto manejo destes resíduos gera um problema para o meio ambiente. Desta forma, a extração da quitina de resíduos de crustáceos é interessante também do ponto de vista ambiental, por ser uma maneira de dar um destino útil para estes materiais que possuem propriedades biológicas tão importantes (TAVARIA et al., 2013).

### **2.3 Embalagens comestíveis**

O uso de filmes e coberturas comestíveis em produtos alimentícios não é uma técnica recente. Na China, desde os séculos XII e XIII, ceras eram aplicadas para retardar a desidratação e melhorar a aparência de frutas cítricas. Na Europa, desde o século XVI, carnes eram recobertas com gordura para evitar a dessecação e trocas gasosas (KROCHTA, 2002).

O recobrimento desempenha uma importante função na conservação, distribuição e comercialização de produtos alimentares, protegendo o produto de danos mecânicos, físicos e microbiológicos (FALGUERA et al., 2011). Os filmes e coberturas, além de possuírem a função de barreira, inibindo ou reduzindo a migração de gases, podem servir como carreadores de ingredientes alimentícios, tais como antioxidantes, agentes antimicrobianos e flavorizantes. Desta forma, podem oferecer muitas vantagens para a indústria de alimentos, podendo ser utilizados em conjunto com outros aditivos para aumentar a vida de prateleira dos produtos.

Os termos “filme” e “cobertura” são utilizados erroneamente como sinônimos quando se trata da área de embalagens comestíveis. Filmes são definidos como uma camada fina pré-formada de material que, após formada, pode ser colocada sobre o produto. Já a cobertura é definida como uma fina camada de material aplicado e formado diretamente na superfície do produto. Ambos podem ser comestíveis e/ou biodegradáveis, dependendo das matérias-primas utilizadas e métodos de preparo e aplicação (FAKHOURI et al., 2015).

Os filmes comestíveis têm despertado o interesse de pesquisadores nas últimas décadas com o intuito de ser um complemento ao uso de plásticos sintéticos que são aplicados em alimentos. A principal vantagem em utilizá-los é que, além de poderem ser ingeridos juntamente com o alimento, podem também ser utilizados para controlar a permeabilidade à água, oxigênio e gás carbônico, sendo uma forma eficiente de retardar a degradação de vegetais frescos e outros alimentos durante o período de estocagem (ARHAM et al., 2016; FAKHOURI et al., 2015).

Uma das técnicas de produção de filmes mais usadas é denominada de “*solvent casting*” (deposição seguida de evaporação do solvente) e consiste no preparo de uma dispersão relativamente viscosa através da dispersão de um ou mais polímero em um solvente ou mistura de solvente adequados. Posteriormente, a dispersão é vertida sobre um suporte específico para que o solvente evapore até que seja possível desprender o material do suporte (TAVASSOLI-KAFRANI et al., 2016).

Os biopolímeros mais utilizados na formação dos filmes comestíveis são as proteínas, os polissacarídeos, ou até mesmo, uma combinação entre eles. Dentre as proteínas, merecem destaque a gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares. Os polissacarídeos que se destacam são o amido, a quitosana, pectina e celulose. Já os lipídios, pode-se destacar o uso dos monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácidos graxos (SANTACRUZ et al., 2015).

Além do componente principal para a formação da matriz polimérica, que pode ser constituída de um ou mais tipos de polímeros, as dispersões filmogênicas são formadas de solvente (água, etanol, solução de ácido acético etc.) e eventualmente diversos aditivos, tais como: plastificantes, agentes reticulantes, agentes antimicrobianos, reguladores de pH, etc. (KROCHTA, 2002).

Dentre os aditivos utilizados na fabricação dos filmes, vale destacar a função dos plastificantes. Os filmes à base de polímeros naturais, do ponto de vista mecânico, normalmente são frágeis e rígidos devido às forças intermoleculares existentes entre as cadeias poliméricas. Para reduzir essas interações, os plastificantes são adicionados às matrizes, resultando em um filme mais flexível e maleável.

Os plastificantes aumentam a mobilidade das cadeias poliméricas, devido à diminuição das forças intermoleculares entre as cadeias, reduzindo a viscosidade do sistema e normalmente provocam um deslocamento da temperatura de transição

vítrea para temperaturas mais baixas. Os plastificantes normalmente possuem baixa massa molecular e sua capacidade plastificante depende de alguns fatores, tais como: configuração molecular, número de hidroxilas livres, compatibilidade com o polímero, dentre outros (SANTACRUZ et al., 2015).

Além dos aditivos citados, polpas e purês de frutas e legumes têm sido adicionados em filmes comestíveis. Azeredo et al. (2009) adicionaram purê de manga à matriz polimérica, não só devido ao seu alto teor de polissacarídeo, mas também por agregar características desejáveis ao filme, como cor e sabor. Lorevice et al. (2012) desenvolveram filmes comestíveis nanoestruturados com purê de goiaba, relatando melhora nas propriedades mecânicas e térmicas. Em estudos mais recentes, Martelli et al. (2013) relataram melhora nas propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água em filmes contendo purê de banana.

### **2.3.1 Propriedades dos filmes comestíveis**

#### 2.3.1.1 Propriedades organolépticas

Os filmes comestíveis podem ser considerados como ingrediente de produtos alimentícios, quando melhoram a qualidade nutricional dos mesmos, ou podem ser apenas aditivos alimentares, quando não há um incremento nutricional (VILLADIEGO et al., 2005).

Por serem componentes alimentares e embalagem ao mesmo tempo, em geral, devem apresentar propriedades organolépticas mais neutras, para que não sejam detectados durante o consumo do produto. Além disso, não devem interferir nas características sensoriais e na estabilidade bioquímica, físico-química e microbiológica dos alimentos por eles recobertos (VILLADIEGO et al., 2005). Por outro lado, quando o filme possuir algum sabor ou aroma específico, o sabor deve ser compatível com o alimento que está sendo embalado por ele. Geralmente, os filmes à base de hidrocolóides possuem sabor mais discreto do que aqueles derivados de lipídeos.

A adição de polpa de frutas em matrizes poliméricas tem sido estudada recentemente devido à presença de polissacarídeos formadores de filmes em sua composição, como pectina e amido. Além disso, é uma alternativa interessante, pois

podem-se combinar propriedades mecânicas e de barreira dos polissacarídeos presentes nas polpas com propriedades nutricionais e sensoriais do fruto (AZEREDO et al., 2012). Neste sentido, polpas de frutas foram utilizadas para o preparo das dispersões filmogênicas. Como dito anteriormente, as polpas de cacau e cupuaçu foram escolhidas por causa de suas excelentes propriedades nutricionais.

O Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é conhecido pelas suas características muito agradáveis de sabor e odor. É uma das frutas de maior importância para a Amazônia e constitui um produto com excelentes perspectivas de mercado, dada a grande aceitação dos consumidores regionais e de outros estados. Além disso, existe um crescente interesse de outros países pelo fruto, o que vem aumentando as exportações para o mercado externo (LOPES et al., 2008).

O plantio de cupuaçu no país tem crescido em diversas áreas da região da Amazônica devido ao aumento da demanda pela polpa. O cupuaçuzeiro é encontrado naturalmente nas áreas de mata do sul e noroeste da Amazônia oriental brasileira, nordeste do Maranhão e na região Amazônica de países vizinhos (FREIRE et al., 2009).

As sementes de cupuaçu, que são resíduos do processo de extração da polpa, também estão despertando interesse, sendo objeto de estudo de diversas pesquisas. A partir das sementes fermentadas e torradas é possível obter matérias-primas para a produção de produtos semelhantes ao chocolate (LOPES et al., 2008). O cupuaçu apresenta extremidades obtusas ou arredondadas, possui comprimento entre 12 e 25 cm e diâmetro de 10 a 12 cm, pesando em torno de 500 a 2500 g. O endocarpo ou polpa é a parte mais utilizada do fruto e apresenta sabor ácido e aroma intenso (FREIRE et al., 2009). A figura 5 ilustra o fruto cupuaçu.

Figura 5 - Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)



Fonte: <http://www.suframa.gov.br/invest/onde-cupuacu.cfm>. Acesso em jun. 2016.

O Cacau (*Theobroma cacao*) tem uma grande importância econômica internacional e tem sido associado a vários benefícios nutricionais, incluindo alta capacidade antioxidante. O chocolate é um produto derivado dos grãos da árvore de cacau *Theobroma* e é consumido por civilizações americanas pré-colombianas e foi introduzida na Europa pelos espanhóis no século XVI. Nas últimas décadas, a polpa do fruto tem ganhado destaque. A indústria de alimentos vem desenvolvendo novos produtos à base de polpa de cacau que estão sendo consumidos no mundo todo.

Muitos estudos estão sendo feitos em relação aos benefícios do consumo de cacau (figura 6) para a saúde, devido às suas altas concentrações de flavonoides. Recentemente, a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) emitiu uma declaração científica positiva em relação aos flavonoides presentes no cacau, atribuindo efeitos benéficos à saúde (GURREA et al., 2014).

Figura 6 - Cacau (*Theobroma cacao*)



Fonte: <http://asacolabrazileira.com.br/2013/07/10/cacau-catongo-2/> Acesso em jun. 2016

### 2.3.1.2 Propriedades de barreira

As propriedades de barreira podem ser definidas como a capacidade em resistir à passagem de gases e vapores, lipídeos e à passagem de luz. A permeação aos gases e vapores do agente permeante através dos espaçamentos entre moléculas de um determinado material ocorre basicamente em três etapas: sorção e solubilização; difusão por ação do gradiente de concentração; desorção e evaporação. A difusão entre moléculas é o principal mecanismo de trocas gasosas e de vapores através dos filmes e ocorre pela abertura de espaços vazios existentes entre os segmentos das cadeias poliméricas (MALI et al., 2010).

Dentre as propriedades de barreira, a permeabilidade ao vapor de água em filmes comestíveis é a propriedade de barreira mais estudada, por ser de fácil realização. As trocas de vapores de água entre o alimento e o meio externo são responsáveis pela alteração da qualidade sensorial como também pelas características microbiológicas do alimento, podendo interferir diretamente no tempo de estocagem do alimento (GALUS et al., 2015).

A permeabilidade é definida como a taxa de transmissão de vapor de água através de uma unidade de área de material plano com espessura conhecida, impulsionada pela diferença de pressão de vapor entre dois meios específicos, em condições de temperatura definidas (ASTM E96-95).

Filmes à base de polissacarídeos apresentam altas taxas de permeabilidade ao vapor de água (WVP) por serem, em sua maioria, muito solúveis em meio aquoso. Já nos filmes formados por lipídeos, geralmente ocorre o oposto, devido ao caráter hidrofóbico dos componentes graxos (GALUS et al., 2015).

Mali e Grossmann (2003) estudaram o comportamento de filmes à base de amido de inhame e filmes de PVC (policloreto de vinila) em relação à permeabilidade ao vapor de água. Ao serem utilizados para embalar bandejas de frutas, os filmes de PVC permitiram a formação de gotículas de água no interior das bandejas, favorecendo a proliferação de microrganismos nos alimentos devido ao acúmulo da umidade no interior da embalagem. Já nos filmes de amido o mesmo não ocorreu, por apresentarem maiores valores de WVP que os filmes de PVC, permitindo que os vapores de água pudessem permear melhor através do filme para o meio externo.

Outra propriedade de barreira importante está relacionada com a permeabilidade aos gases dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e oxigênio (O<sub>2</sub>), principalmente se os filmes forem utilizados para o recobrimento de frutas e legumes frescos. O controle das trocas gasosas entre estes alimentos e o meio externo pode contribuir para aumentar o tempo de prateleira dos mesmos (MALI et al., 2010).

### 2.3.1.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos materiais são caracterizadas pela forma como os mesmos respondem às influências mecânicas externas, podendo desenvolver deformações reversíveis e irreversíveis. O teste mais comumente utilizado para estudar a resposta mecânica dos materiais é o teste de tração. O comportamento mecânico do filme geralmente é expresso pela porcentagem de alongação e tensão máxima suportada até a sua ruptura quando submetidos à tração.

Conhecer como o filme responde mecanicamente é de fundamental importância para determinar sua aplicabilidade devido ao manuseio a que estão sujeitos os produtos durante sua distribuição e comercialização. Cada material exibe uma resposta mecânica característica de acordo com sua composição.

Filmes à base de polissacarídeos e proteínas geralmente possuem propriedades mecânicas adequadas. Já os filmes contendo lipídeos, normalmente apresentam-se mais frágeis e instáveis quando comparados aos derivados de polissacarídeos e proteínas. Essas diferenças podem estar relacionadas a diversos fatores, como por exemplo, à estrutura molecular do polímero, dentre outros (EMBUSCADO et al., 2009).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Produzir filmes biodegradáveis à base de pectina com melhores propriedades, através da inserção de nanoestruturas à base de quitosana, para aplicação como embalagens comestíveis.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Sintetizar nanopartículas de quitosana para serem usadas como agentes de reforço em filmes à base de pectina e polpa de frutas.
- Caracterizar as nanoestruturas através da determinação do potencial zeta e diâmetro médio.
- Desenvolver e padronizar a síntese dos filmes através da determinação das melhores concentrações de pectina, polpas de frutas e nanopartículas de quitosana.
- Caracterizar os filmes quanto às suas propriedades: químicas - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR); de barreira - permeabilidade ao vapor de água (WVP); mecânicas - tensão máxima e alongação; térmicas - Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC); microestruturais - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

## 4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 Material

- Polpa de Fruta: Marca De Marchi.
- Quitosana: Polymar, Fortaleza-Brasil. (MW = 71,3 kDa, grau de desacetilação 94%).
- Tripolifosfato de Sódio (TPP, Aldrich, St. Louis, USA).
- Ácido acético (Aldrich, St. Louis, USA).
- Pectina de alto grau de metoxilação (AM): foi gentilmente doada pela empresa CP Kelco.

### 4.2 Métodos

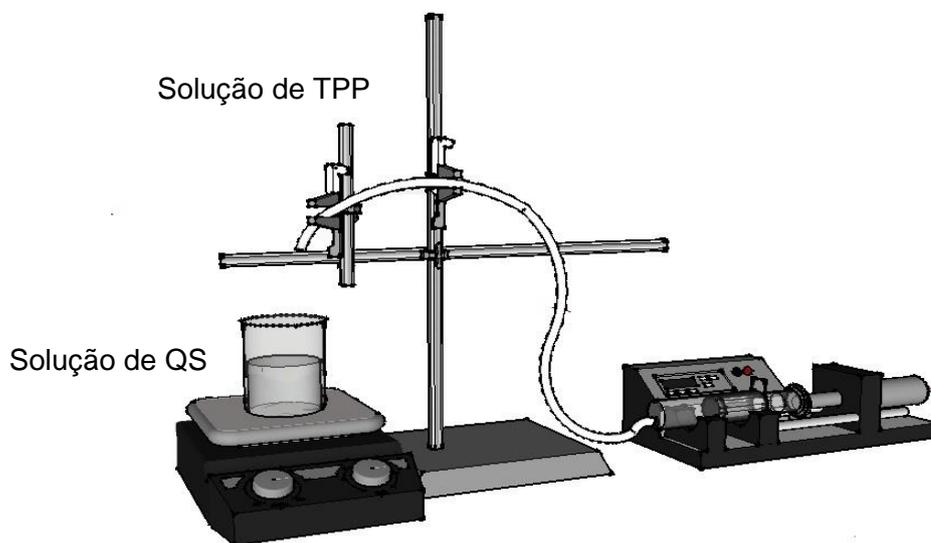
#### 4.2.1 Síntese das nanopartículas (NPs) de quitosana (QS)

As nanopartículas (NPs) de quitosana (QS) foram sintetizadas utilizando o método de gelatinização ionotrópica descrito primeiramente por Calvo et al. (1997), que consiste na adição de uma solução aquosa de TPP (tripolifosfato de sódio) em uma solução de quitosana em meio ácido.

Primeiramente, a quitosana foi solubilizada em uma solução de ácido acético sob agitação magnética constante a 500 rpm por 6 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, uma solução de TPP foi preparada e adicionada à solução de quitosana. A quantidade de ácido acético utilizada foi sempre 1,5 vezes a quantidade de QS presente na solução. As concentrações finais de QS e TPP foram, respectivamente, 0,214% (m/v) e 0,06% (m/v). (MOURA et al., 2009).

A razão entre a solução de QS e TPP que foram misturadas foi de 2,5 : 1. O processo de adição da solução de TPP à solução de quitosana também foi feito mediante agitação magnética contínua a 500 rpm com taxa de adição controlada de 1mL/min através do uso de uma bomba de seringa. A adição da solução de TPP foi realizada à temperatura ambiente. A figura a seguir exemplifica a síntese das NPs.

Figura 7 - Representação da síntese de nanopartículas de quitosana pelo método de gelatinização Ionotrópica



Fonte: Elaboração da própria autora

## **4.2.2 Caracterização das nanopartículas**

### 4.2.2.1 Determinação do tamanho médio

O tamanho médio das partículas foi analisado em um aparelho Malvern pertencente ao LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio). As medidas foram realizadas em triplicata a 25 °C.

### 4.2.2.2 Determinação do potencial zeta

A carga superficial das nanopartículas foi analisada por um Zeta Potencial Analyser (Malvern). As medidas foram feitas na temperatura de 25 °C e em triplicata.

## **4.2.3 Preparo dos filmes**

Os filmes foram preparados pela técnica de “casting”, que consiste no preparo de uma solução coloidal e posterior deposição em suporte de poliéster para secagem em condições controladas. A figura 8 é uma fotografia digital registrada logo após a deposição da solução no substrato.

Figura 8 - Fotografia digital da solução filmogênica contendo pectina, polpa de cacau e nanopartículas em processo de secagem



Fonte: Elaboração da própria autora

Inicialmente foram produzidos filmes variando-se a concentração do polímero, quantidade de polpa utilizada, quantidade de solução de nanopartículas adicionada e com ou sem processamento prévio das polpas (soluções filmogênicas preparadas utilizando polpas filtradas e também com polpa integral foram testadas). Posteriormente, os filmes passaram por uma análise subjetiva macroscópica para determinar a melhor composição, metodologia de preparo e melhor ambiente de formação dos filmes.

Os parâmetros de avaliação dos melhores filmes basearam-se nas seguintes características: manuseabilidade (se o filme podia ou não ser manuseado sem ruptura); continuidade (ausência de rupturas ou fraturas após secagem) e homogeneidade (ausência de partículas insolúveis, zonas de opacidade, bolhas ou cores diferenciadas).

Após a realização das análises subjetivas (manuseabilidade, continuidade e homogeneidade) foram preparados filmes controle contendo água destilada e pectina; filmes contendo água, nanopartículas de quitosana e pectina; filmes contendo água, polpas de frutas e pectina; e filmes contendo água, polpas de frutas (cacau ou cupuaçu), solução de nanopartículas de quitosana e pectina e 12 composições de filmes foram escolhidas para dar sequência ao estudo. Para melhor entendimento, serão utilizadas ao longo do texto as seguintes siglas para fazer referência aos diferentes tipos de filmes, de acordo com a tabela 3.

Tabela 3 - Siglas utilizadas para cada tipo de filme preparado

<b>Siglas</b>	<b>Composição da matriz polimérica</b>
<i>P2</i>	Pectina 2%
<i>P3</i>	Pectina 3%
<i>P2NP</i>	Pectina 2% + nanopartículas de quitosana
<i>P3NP</i>	Pectina 3% + nanopartículas de quitosana
<i>P2CA</i>	Pectina 2% + polpa de cacau
<i>P3CA</i>	Pectina 3% + polpa de cacau
<i>P2CANP</i>	Pectina 2% + polpa de cacau + nanopartículas de quitosana
<i>P3CANP</i>	Pectina 3% + polpa de cacau + nanopartículas de quitosana
<i>P2CU</i>	Pectina 2% + polpa de cupuaçu
<i>P3CU</i>	Pectina 3% + polpa de cupuaçu
<i>P2CUNP</i>	Pectina 2% + polpa de cupuaçu + nanopartículas de quitosana
<i>P3CUNP</i>	Pectina 3% + polpa de cupuaçu + nanopartículas de quitosana

Fonte: Elaboração da própria autora

De acordo com a tabela 3, a letra **P** indica o polímero *pectina* e os números 2 e 3, as *concentrações* em (m/m) de pectina utilizada. As siglas **CA** se referem à *polpa de cacau* e **CU** à *polpa de cupuaçu*. **NP** se refere às *nanopartículas de quitosana*. As siglas são, portanto, constituídas das iniciais dos nomes de cada componente da matriz polimérica.

Como pode ser observado, foram produzidos filmes variando-se as concentrações de pectina e o tipo de polpa (cacau ou cupuaçu). Nos filmes contendo polpas de frutas, a quantidade de polpa adicionada às soluções sempre foi constante (48 g para cada 100 g de solução filmogênica) para que pudesse haver um melhor parâmetro de comparação entre os diferentes materiais obtidos.

A pectina foi solubilizada utilizando um agitador mecânico com rotação em torno de 2000 rpm por 6 horas. As soluções filmogênicas foram depositadas em suporte plástico utilizando uma barra de nível e foram secas à temperatura ambiente por 48 h.

#### **4.2.4 Caracterização dos nanocompósitos na forma de filmes**

##### 4.2.4.1 Determinação da espessura dos filmes

As medidas das espessuras dos filmes foram realizadas utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo Manufacturing, Japan) em 5 diferentes pontos ao redor do filme. A espessura média foi utilizada para obtenção dos resultados das propriedades mecânicas e os de permeabilidade de vapor de água.

##### 4.2.4.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas com base nos tipos diferentes de filmes. Os filmes foram cortados em formato retangular de acordo com a norma ASTM D882 - 98 e condicionados em estufa à temperatura de 25 °C por 48 horas antes das medições com umidade relativa controlada umidade relativa controlada de  $50 \pm 2\%$ . As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas com relação à tensão máxima na ruptura ( $\sigma$ ) e percentual máximo de alongação até a ruptura. A velocidade de tracionamento utilizada foi de  $10 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ . A deformação ( $\varepsilon$ ) dos filmes foi determinada pela equação 1:

$$\varepsilon = \ln\left(\frac{L}{L_0}\right) \cdot 100 \quad (1)$$

Em que L e  $L_0$  são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial do filme, respectivamente.

A tensão ( $\sigma$ ) foi determinada medindo-se a força necessária para romper o filme. Os valores de  $\sigma$  foram obtidos utilizando a equação 2:

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (2)$$

Na equação 2, F é o valor da força de ruptura exercida e S é a área seccional do filme.

#### 4.2.4.3 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) indica o quão permeável o filme é às moléculas de água. É definida pelo “Annual Book of Standards” (ASTM E96-80) como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área do material. Valores de permeabilidade ao vapor de água foram determinados a partir do método modificado ASTM E96-80, utilizado para determinar a umidade relativa (RH) dos filmes, descrito na literatura por McHugh et al. (1993).

Para cada tipo de filme foram utilizadas 3 amostras cortadas em formato circular com diâmetro de 15,5 cm. Posteriormente foram fixadas sobre células padronizadas de Teflon<sup>®</sup> contendo 6 mL de água destilada, conforme a figura 9.

Figura 9 - Célula contendo o filme utilizada para as medidas de permeabilidade ao vapor de água



Fonte: Elaboração da própria autora

As células foram armazenadas em estufa a 25 °C contendo sílica para controle da umidade. A água transferida através do filme foi determinada por pesagens periódicas das placas em balança de precisão analítica e anotadas para os respectivos cálculos. A umidade relativa foi determinada utilizando-se as equações 1, 2 e 3:

$$\text{Velocidade de transmissão do vapor de água (WVTR)} = \frac{\text{perda de massa por tempo}}{\text{área do filme}} \quad (1)$$

$$WVTR = \frac{mw.P.D.ln\left[\frac{(P-P_2)}{(P-P_1)}\right]}{R.T.z} \quad (2)$$

$$RH = \frac{P_2}{P_1} \cdot 100 \quad (3)$$

Em que  $mw$  é a massa molar da água ( $18 \text{ g.mol}^{-1}$ ),  $P$  é a pressão total (1 atm),  $D$  é difusividade de vapor da água através do ar a 298 K ( $0,102 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ ),  $P_1$  é a pressão saturada de vapor a 298 K ( $0,0313 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ ),  $P_2$  é a pressão parcial da face inferior do filme,  $R$  é constante dos gases ( $82,1 \times 10^6 \text{ m}^3 \text{ atm/g mol K}$ ), e  $z$  é altura média atingida pelo gás inerte.

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) foi calculada através da seguinte equação (4):

$$WVP = \frac{WVTR}{(P_2 - P_3)} \cdot y \quad (4)$$

Na equação 4,  $y$  é a espessura média dos filmes e  $P_3$  é a pressão parcial de vapor do lado superior do filme.

#### 4.2.4.4 Propriedades térmicas

##### 4.2.4.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Todas as medidas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram realizadas em um equipamento de DSC da marca TA Instruments Q100. Utilizou-se cerca de 4 mg de amostra. A taxa de aquecimento empregada foi de  $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  em uma faixa de temperatura de  $-50 \text{ }^\circ\text{C}$  até  $350 \text{ }^\circ\text{C}$  sob atmosfera de nitrogênio com vazão de  $50 \text{ mL.min}^{-1}$ .

##### 4.2.4.4.2 Termogravimetria (TG)

As análises foram feitas no aparelho TGA Q - 500 utilizando cerca de 5 - 6 mg de amostra. Os experimentos foram realizados com programação de rampa de aquecimento de  $20^\circ\text{C}$  até  $600 \text{ }^\circ\text{C}$ , com razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ . A vazão de nitrogênio foi mantida em  $60 \text{ mL.min}^{-1}$ . Todas as análises foram feitas em triplicata.

#### 4.2.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os filmes foram analisados utilizando um microscópio eletrônico de varredura, da marca Zeiss, modelo EVO LS15, da UNESP Câmpus de Ilha Solteira, operando com voltagem de 5,00 kV e 10,00 kV. Sobre as amostras foi depositada uma fina camada de ouro usando um *Sputter Coater*.

#### 4.2.4.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Para as análises de FT-IR por reflectância foi utilizado um Paragon 1000 Perkin-Elmer Spectrum (Perkin-Elmer Life and Analytical Science, Inc., Waltham, MA, EUA) com variação do número de onda de 4000 até 400  $\text{cm}^{-1}$ , varredura de 128 scans e resolução de 2,0  $\text{cm}^{-1}$ . As amostras foram cortadas em quadrados (3,0 x 3,0 cm) e condicionadas em dessecador por 24h com umidade relativa controlada de  $50 \pm 2\%$  antes das análises.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Caracterização das nanopartículas**

#### **5.1.1 Tamanho médio das nanopartículas e potencial zeta**

O potencial zeta é de grande importância para a compreensão da estabilidade de dispersões coloidais. A estabilidade de uma suspensão depende das propriedades físicas das partículas coloidais e ao determinar o potencial zeta, é possível prever a estabilidade de suspensões a longo prazo.

A maioria das dispersões coloidais em meio aquoso apresentam uma carga elétrica superficial que pode ser causada devido à dissociação de grupos ionogênicos na superfície da partícula ou pela adsorção diferencial de íons da solução na superfície da partícula. Por isso, geralmente, busca-se maximizar as forças de repulsão entre as partículas com objetivo de diminuir a formação de agregados (KASZUBA et al., 2010).

A suspensão de NPs apresentou-se opalescente após a síntese, o que é um indício da formação das mesmas. As nanopartículas apresentaram tamanho médio em torno de  $110 \pm 4$  nm. O tamanho das NPs está relacionado às concentrações de quitosana e TPP, como já descrito por Calvo et al. (1997).

As soluções apresentaram potencial zeta de aproximadamente +40 mV. O valor de potencial zeta obtido é favorável para formação de suspensões de partículas estáveis, uma vez que são superiores, em módulo, a +20 mV (CALVO et al., 1997; MOURA et al., 2009). Segundo Lorevice et al. (2014), o potencial zeta depende do tamanho de partícula, quanto maior o tamanho da partícula, maior será a concentração de íons  $\text{NH}_3^+$ , uma vez que para se obter partículas maiores são necessárias maiores concentrações de quitosana para a síntese das NPs.

### **5.2 Caracterização dos filmes**

#### **5.2.1 Análise subjetiva**

Os filmes foram analisados subjetivamente baseando-se em parâmetros estabelecidos por Gontard (1991) apud Monterrey e Sobral (1999) levando em consideração três aspectos: continuidade (ausência de rupturas e fraturas depois de secos), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis a olho nu, áreas com

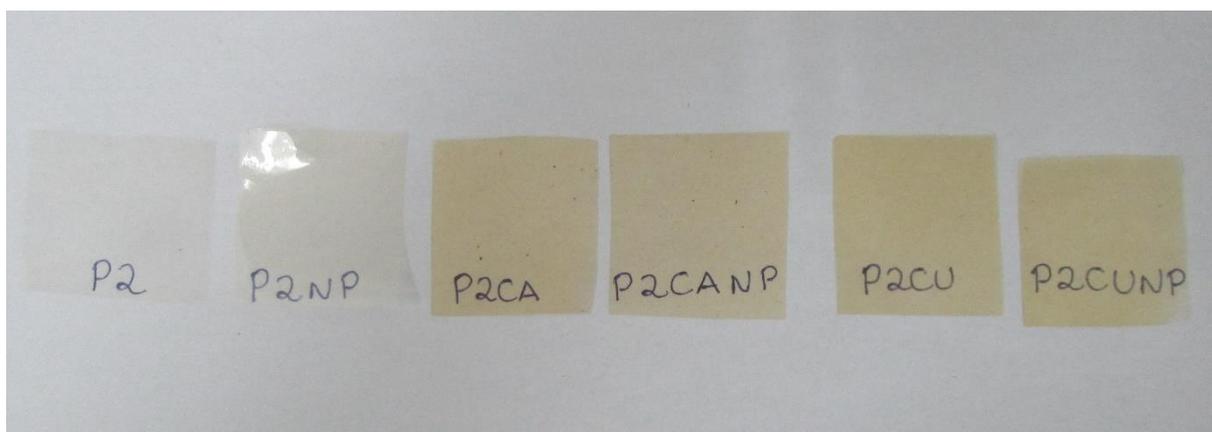
textura ou cores diferentes) e manuseabilidade (capacidade de manipulação dos filmes e retirada dos moldes de secagem sem que houvessem rupturas).

Os filmes contendo apenas polpa de cacau e cupuaçu não apresentaram as características mencionadas anteriormente, sendo necessário a adição de pectina para a formação dos mesmos. Os demais se formaram e a presença ou não de NPs, bem como a variação da concentração do polímero, não influenciaram na manuseabilidade, continuidade e homogeneidade dos filmes.

Os filmes contendo apenas pectina apresentaram uma maior transparência em relação aos demais (filmes com adição de polpas de frutas) e após a adição nas nanoestruturas houve uma diminuição da transparência, tornando-se levemente opacos.

Os filmes contendo polpa de cacau ou cupuaçu apresentaram características sensoriais desejáveis, como cor e odor característicos da polpa utilizada e mesmo depois de certo tempo de estocagem (em torno de 6 meses), estas propriedades se mantiveram. A figura 10 é referente às diferentes composições dos filmes de pectina na concentração de 2%.

Figura 10 - Fotografia digital dos filmes de pectina 2% (P2), pectina 2% + NPs (P2NP), pectina 2% + cacau (P2CA), pectina 2% + cacau + NPs (P2CANP)



Fonte: Elaboração da própria autora

### **5.2.2 Propriedades mecânicas**

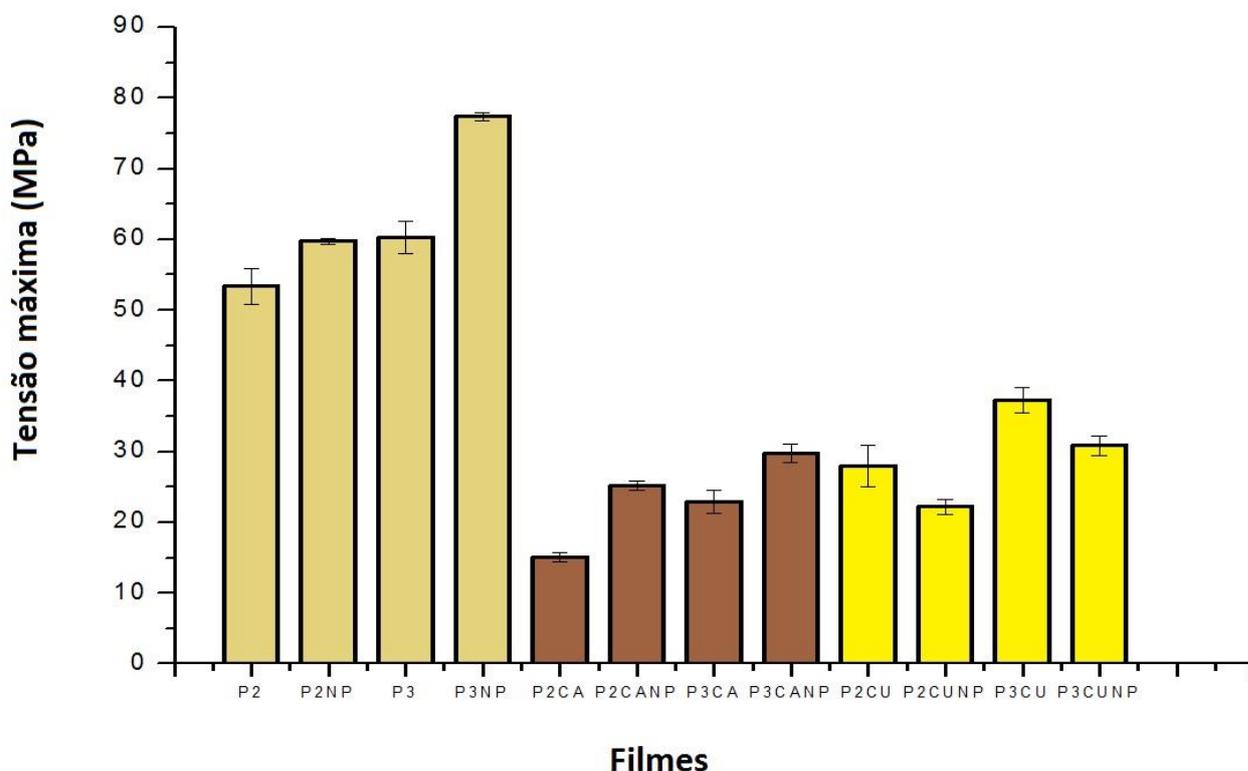
Através dos ensaios mecânicos foi possível obter os valores referentes à tensão máxima na ruptura ( $\sigma$ ) e o percentual máximo de alongação na ruptura filmes. Na figura 11 observa-se a variação nos valores de tensão em função da composição dos filmes. Com o aumento da concentração de pectina houve um acréscimo nos valores de tensão em todos os filmes. Nos filmes contendo polpa de cupuaçu, este aumento foi mais evidente quando comparados aos filmes de cacau.

A adição das polpas de frutas (cacau e cupuaçu) causaram uma diminuição nos valores de tensão devido à presença de açúcares nas polpas. Os açúcares atuam como plastificantes, reduzindo as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, exigindo uma menor força para que haja o rompimento do filme.

Ainda na figura 11 é possível verificar que após a adição das NPs ocorreu um aumento nos valores de tensão nos filmes contendo apenas pectina e nos filmes com polpa de cacau. Com a adição das nanoestruturas, o efeito plastificante causado pela presença dos açúcares é minimizado nos filmes de cacau, o que faz com que os valores de tensão sejam, neste caso, maiores nos filmes nanoestruturados. Isto ocorre porque os plastificantes atuam reduzindo as interações entre as cadeias de pectina, enquanto as NPs interagem com a matriz polimérica diminuindo o escoamento entre as cadeias do polímero, compensando, assim, a redução da tensão gerada pelos açúcares das polpas. Desta forma, nos filmes de cacau as NPs atuam como agentes de reforço (MARTELLI et al., 2013).

De acordo com Moura et al. (2009), a incorporação de nanoestruturas nos filmes pode aumentar os valores de tensão devido à ocupação de parte dos espaços vazios entre as cadeias do polímero pelas nanoestruturas, o que causa um aumento na resistência decorrente de uma maior compactação da matriz. Este fato também foi observado nas análises microestruturais que serão posteriormente abordadas.

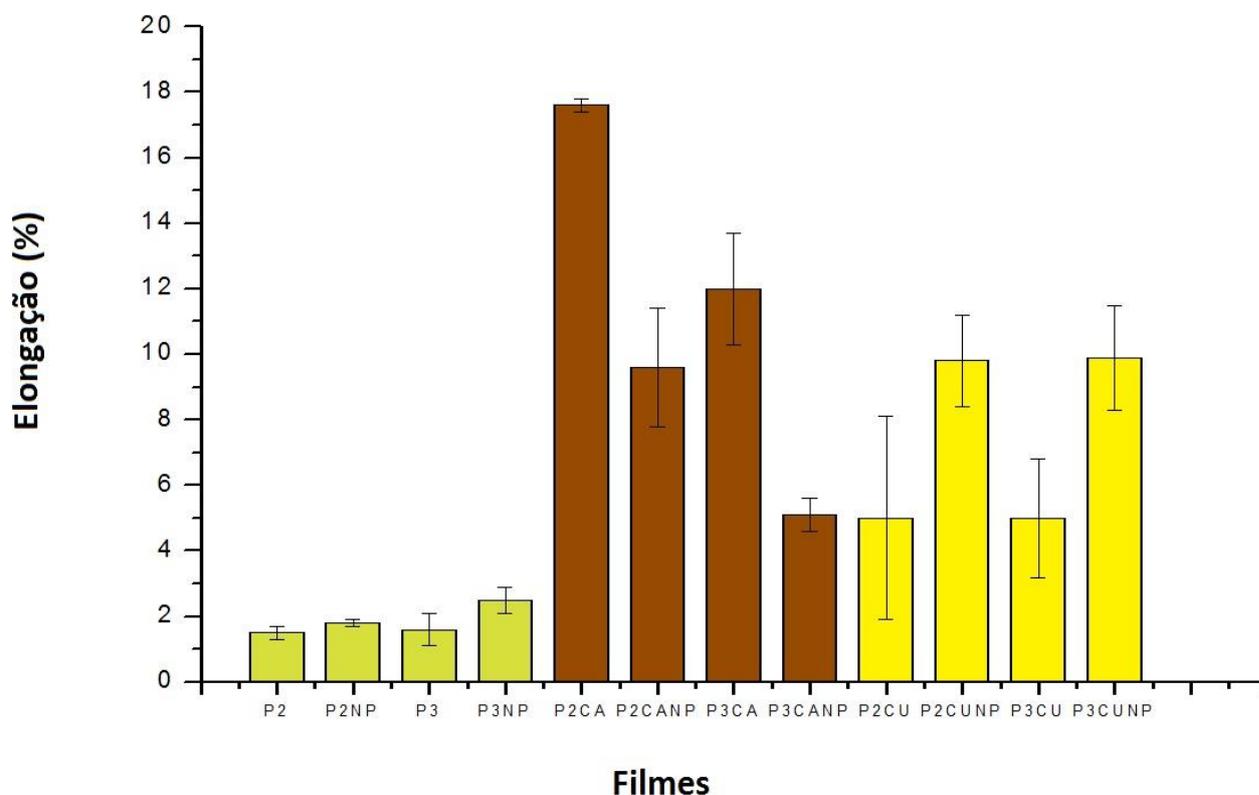
Figura 11 - Valores de tensão máxima de ruptura dos filmes testados



Fonte: Elaboração da própria autora

Nos filmes de cupuaçu, a adição das nanoestruturas levou a uma diminuição nos valores de tensão ( $\sigma$ ). Como pode ser observado na figura 12, os filmes contendo cupuaçu apresentaram porcentagens de alongação menores do que os de cacau. Essa redução pode estar relacionada a uma menor quantidade de açúcar presente na polpa de cupuaçu e explica também os maiores valores de tensão nos filmes de cupuaçu em relação aos de cacau. Devido a isso, a interação entre as nanoestruturas e a matriz polimérica é dificultada, e, neste caso, as NPs acabam exercendo um efeito plastificante, reduzindo as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, e, conseqüentemente, aumentando os valores de alongação após a adição das NPs. (KROCHTA et al., 1994).

Figura 12 - Valores de alongação dos filmes testados



Fonte: Elaboração da própria autora

Na figura 12 pode ser observado que ocorre uma melhoria na alongação dos filmes quando as polpas de cacau e cupuaçu são adicionadas. Essa característica é interessante uma vez que a utilização de filmes com maior tenacidade na área de embalagens é muito requisitada.

Nos filmes contendo polpa de cacau a alongação diminui nas duas concentrações de polímero quando são adicionadas as nanoestruturas. Entretanto, mesmo diminuindo, continuam bem superiores aos valores obtidos sem a adição da polpa.

Uma diminuição na alongação também foi observada por Hosseini et al. (2015) em filmes de gelatina de peixe e nanopartículas de quitosana. As nanoestruturas diminuiriam o volume livre entre as cadeias do polímero, aumentando as forças intermoleculares na matriz, e, conseqüentemente, dificultando o escoamento entre as cadeias.

Já nos filmes de cupuaçu, a adição das nanoestruturas causou um aumento nos valores de alongação, o que pode sugerir que as NPs estão atuando como agentes plastificantes neste caso. Isso pode ser evidenciado também quando se comparam os valores de tensão dos filmes nanoestruturados de cacau e cupuaçu em relação aos filmes sem as nanoestruturas (figura 11), já discutido anteriormente.

Esse resultado é bastante inovador nessa área, uma vez que não é encontrado ainda na literatura relatos do comportamento de filmes de polpa de cacau e cupuaçu melhorados com nanopartículas de quitosana que apresentem tenacidade satisfatória.

### **5.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)**

A espessura média dos filmes foi utilizada para os cálculos de WVP. Os valores de WVP para os filmes são apresentados na tabela 4. A adição de nanoestruturas teve como objetivo melhorar as propriedades de barreira dos filmes, especialmente, a permeabilidade ao vapor de água.

De acordo com Gianconi et al. (2011), as propriedades de barreira a vapores de água em filmes de pectina são influenciadas não só pela presença de nanopartículas de quitosana, como também pelo grau de metoxilação ou esterificação da pectina.

Pectinas de baixo grau de metoxilação (BM) possuem menores quantidades de grupos metoxílicos que as pectinas de alto grau de metoxilação (AM), tendo assim, maiores quantidades de hidroxilas livres capazes de interagir com moléculas de água, favorecendo uma maior permeabilidade ao vapor de água do que em filmes com pectina AM.

Tabela 4 - Valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes

<b>Tipos de filmes</b>	<b>WVP (g mm/kPa h m<sup>2</sup>)</b>
<b>P2</b>	0,415 ± 0,008
<b>P2NP</b>	0,528 ± 0,027
<b>P3</b>	0,333 ± 0,003
<b>P3NP</b>	0,734 ± 0,037
<b>P2CA</b>	2,696 ± 0,028
<b>P2CANP</b>	2,467 ± 0,114
<b>P3CA</b>	2,470 ± 0,101
<b>P3CANP</b>	1,904 ± 0,125
<b>P2CU</b>	1,616 ± 0,041
<b>P2CUNP</b>	1,683 ± 0,046
<b>P3CU</b>	1,892 ± 0,100
<b>P3CUNP</b>	1,372 ± 0,041

Fonte: Elaboração da própria autora

Os menores valores de WVP são observados nos filmes contendo apenas pectina. Quando se adicionam nanoestruturas aos filmes contendo somente pectina, os valores de permeabilidade aumentam. Lorevice et al. (2016) relataram que em filmes de pectina AM, a adição de NPs não causavam mudança significativa na permeabilidade ao vapor de água.

Pectinas com alto grau de metoxilação possuem menor quantidade de grupamentos hidroxílicos livres para interagir com as nanoestruturas, o que não causa uma mudança expressiva nos valores de WVP quando são adicionadas às matrizes. Como as NPs de QS não encontram hidroxilas livres na matriz polimérica, elas passam a interagir com as moléculas de vapores de água, explicando o aumento nos valores de WVP com a adição de NPs nos filmes compostos somente por pectina.

Com a adição das polpas, os valores de WVP (tabela 4) aumentaram em todos os filmes. De acordo com Lorevice et al. (2014) existe uma diferença na quantidade de moléculas entre os filmes e que parte da água fica retida na matriz atuando como um plastificante. Além disso, a polpa de fruta contém açúcares que também atuam como plastificantes, aumentando a mobilidade das cadeias de pectina e,

conseqüentemente, aumentando tamanho dos poros, contribuindo para uma maior difusão de moléculas de vapores de água no material.

Quando se adiciona as NPs ocorre uma diminuição da permeabilidade ao vapor de água dos filmes quando comparados àquele contendo apenas pectina e polpa de cacau (tabela 4). Isto se deve ao fato de que as nanoestruturas preenchem os poros das matrizes de pectina. Segundo Chang et al. (2010), a adição de NPs de QS dificulta a passagem de moléculas de água através do filme por preencher os espaços vazios existentes entre as cadeias poliméricas.

Moura et al. (2009) constataram diminuição nos valores de WVP de filmes de hidroxipropil metilcelulose (HPMC) nanoestruturados devido às ligações de hidrogênio existentes entre as nanopartículas e o polímero. Dados semelhantes foram encontrados por Lorevice et al. (2012), em um estudo das propriedades de filmes de polpa de goiaba e NPs de QS sintetizadas por polimerização em molde de ácido metacrílico. Lorevice et al. (2014) verificaram que filmes de HPMC e polpa de mamão apresentaram decréscimo nos valores de WVP na presença de NPs de QS.

Nos filmes de cacau as nanoestruturas causam diminuição dos valores de WVP devido à presença dos açúcares na polpa. Como ocorre um maior afastamento das cadeias poliméricas, as NPs atuam por mecanismo diferente do que nos filmes que não contém agente plastificante, ou seja, elas atuam preenchendo os espaços vazios entre as matrizes de pectina, tornando-as mais compactas e dificultando a passagem de vapores de água. Além disso, vale destacar que as polpas possuem pectina em sua composição, o que favorece maiores interações secundárias entre os grupos hidroxilas e as NPs.

Nos filmes contendo polpa de cupuaçu, somente aqueles contendo 3% de polímero apresentaram decréscimo nos valores de WVP com a adição de nanoestruturas. Como os filmes de polpa de cupuaçu foram preparados sem filtração prévia, a fim de se preservar todos os componentes da mesma, uma quantidade considerável de material que não se solubilizou na solução polimérica pode ter influenciado na homogeneidade e distribuição dos componentes ao longo do filme. Pelo alto teor de açúcares contido na polpa de cupuaçu, a análise microestrutural por MEV, que será abordada logo mais, não foi suficiente para elucidar tal suposição, uma vez que só foi possível observar uma discreta irregularidade superficial do material em questão quando comparados aos demais.

### 5.2.3 Propriedades térmicas

#### 5.2.3.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O objetivo da técnica de análise por DSC é determinar as temperaturas de transição dos filmes, como a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ). A  $T_g$  se refere ao valor médio da faixa de temperatura que, durante o aquecimento de um determinado material polimérico, em que ocorre a movimentação das cadeias da fase amorfa. Em temperaturas abaixo da  $T_g$  o polímero encontra-se no estado vítreo, ou seja, apresenta-se duro, rígido e quebradiço. Em temperaturas acima da  $T_g$ , o polímero encontra-se no estado elástico, pois a cadeia tem energia o suficiente para se movimentar (CANEVAROLO, 2002). Os valores de  $T_g$  dos filmes encontram-se na tabela 5.

Tabela 5 - Temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) dos filmes

Amostras	$T_g$ (°C)
P2CA	-34,10
P2CANP	-33,08
P3CA	-29,40
P3CANP	-36,42
P2CU	-35,73
P2CUNP	-27,59
P3CU	-26,73
P3CUNP	-23,81

Fonte: Elaboração da própria autora

Nos filmes contendo somente pectina e NPs de QS não foi possível verificar a  $T_g$ . A transição vítrea pode ser de difícil identificação por DSC até mesmo para polímeros sintéticos. Em polissacarídeos, como é o caso da pectina, sua caracterização torna-se mais difícil devido à quantidade de água adsorvida e principalmente ligada. O principal evento térmico registrado em grande parte dos

casos em que se trabalha com polissacarídeos é pico endotérmico largo. Alguns estudos relatam a existência de um pico endotérmico acima de 100 °C em análises de DSC com biopolímeros (ANDREANI, 2005).

A temperatura de transição vítrea aumentou nos filmes contendo polpa de cupuaçu quando NPs foram adicionadas. Os baixos valores de Tg dos filmes são atribuídos ao efeito plastificante do açúcar presente nas polpas. O aumento da Tg depois de incorporação nanopartículas podem ser atribuídos à diminuição do efeito plastificante causado por nanoestruturas e diminuição da mobilidade da matriz do polímero (AZEREDO et al., 2009).

Já nos filmes de cacau, não houve um aumento significativo da Tg quando NPs foram adicionadas naqueles com concentração de 2% de pectina. Para os filmes de 3%, a temperatura de transição vítrea foi menor com a adição de NPs.

Nos filmes contendo 2% de pectina a explicação é semelhante à anterior, para os filmes com cupuaçu. Já nos filmes com 3% de pectina, o efeito é outro. As interações do polímero com os açúcares de polpa de cacau se tornaram maiores com a adição de nanopartículas, favorecendo a mobilidade das cadeias.

As propriedades térmicas dos polímeros, principalmente quando utilizados como embalagens, são de extrema importância. Conhecendo-se a temperatura de degradação dos materiais, é possível direcionar melhor suas aplicações comerciais. Além disso, é possível otimizar os processos de produção em escala industrial, diminuindo custo e tempo.

A tabela 6 mostra valores da temperatura dos picos endotérmicos dos filmes e a entalpia durante os processos. Nos filmes contendo polpa de cacau, tanto nas concentrações de 2% e 3% houve uma diminuição nas temperaturas dos picos endotérmicos após a adição de nanopartículas.

Tabela 6 - Temperatura dos picos endotérmicos e valores de entalpia dos filmes

<b>Filmes</b>	<b>Temperatura do pico endotérmico (°C)</b>		<b><math>\Delta H</math> (J/g)</b>	
<b>P2NP</b>	108,20		552,2	
<b>P3NP</b>	109,50		568,2	
<b>P2CA</b>	131,77		105,0	
<b>P2CANP</b>	93,52		372,4	
<b>P3CA</b>	110,31	153,58	96,29	0,499
<b>P3CANP</b>	92,33		178,5	
<b>P2CU</b>	114,0	166,99	158,5	7,47
<b>P2CUNP</b>	118,51	175,99	267,9	2,22
<b>P3CU</b>	86,83	164,04	134,3	2,55
<b>P3CUNP</b>	110,01		276,1	

Fonte: Elaboração da própria autora

Através dos termogramas de DSC dos filmes de cupuaçu e pectina a 2% foi possível observar dois picos endotérmicos agudos a 114 °C e 166,99 °C. Depois da adição das nanoestruturas os valores aumentaram para 118,51 °C e 175,99 °C. Nos filmes de cupuaçu e pectina a 3% ocorreu uma diminuição das temperaturas dos picos endotérmicos depois que as NPs foram adicionadas (tabela 6). As nanopartículas de quitosana causaram uma diminuição da mobilidade das matrizes de pectina, atribuída à forte interação entre as nanoestruturas e as cadeias do polímero. (LOREVICE et al., 2014).

Os valores de entalpia diminuíram após a adição de polpa de cacau e cupuaçu. Isso pode ser atribuído ao efeito plastificante causado pelos açúcares presentes nas polpas, o que favorece uma diminuição das interações entre as cadeias de pectina. Já com a adição das NPs ocorre o contrário e entalpia aumenta devido às interações existentes entre as cadeias de pectina e as nanoestruturas (forças intermoleculares). Outro fator relacionado ao incremento nos valores de entalpia dos filmes nanoestruturados pode ser atribuído ao aumento da cristalinidade após a adição de NPs (HOSSEINI et al., 2015).

### 5.2.3.2 Termogravimetria (TG)

A determinação das propriedades térmicas das embalagens permite estudar as alterações estruturais provocadas por variações da temperatura. As análises de TG foram utilizadas para avaliar a estabilidade térmica dos filmes, pois eles poderão ser submetidos a processos térmicos durante a produção em escala industrial e também quando processados juntamente com os alimentos.

Uma perda de massa inicial em temperaturas abaixo de 100 °C está relacionada à perda de água (água de ligação) e degradação de compostos voláteis. Nos filmes contendo apenas pectina e NPs a temperatura de degradação inicial ocorreu em torno de 180 °C.

Quando as polpas de cacau e cupuaçu foram adicionadas, houve um decréscimo nas temperaturas de degradação. Em torno de 130°C a 140 °C ocorreu uma decomposição atribuída à pectina nos filmes contendo as polpas (ESPITIA et al., 2014b). Os açúcares presentes na polpa, bem como a presença de outros compostos de baixo peso molecular provavelmente estão contribuindo para diminuir a Td. É de grande importância a determinação da Td dos filmes uma vez que é necessário saber a quais temperaturas os mesmos poderão ser processados durante o processo industrial ou quando forem, futuramente, aplicados em alimentos que poderão ser submetidos a variações de temperatura.

Lorevice et al. (2014) também verificaram diminuição nas temperaturas de degradação quando polpa de mamão foi adicionada às matrizes de hidroxipropil metilcelulose (HPMC). A adição de polpas de frutas faz com que haja uma diminuição das temperaturas iniciais de degradação, uma vez que a polpa começa a degradar em temperaturas mais baixas que o polímero HPMC.

Nos filmes com pectina a 2% e polpa de cacau não houve variação significativa na temperatura inicial de degradação, que ocorreu em torno de 130 °C. Nos filmes contendo 3% de pectina a temperatura de degradação (Td) aumentou levemente para 133 °C e após a adição das nanoestruturas houve uma diminuição no valor de Td, passando para aproximadamente 125 °C.

Nos filmes de cupuaçu, a Td aumentou com a adição das NPs, passando de 127 °C (filmes sem nanoestruturas) para 135 °C (filmes com nanoestruturas). Lorevice et al. (2014) também verificaram pequenas influências da adição de nanopartículas

de quitosana nas temperaturas de degradação dos filmes. Nesse trabalho, a adição de NPs resultaram em um incremento nas propriedades térmicas dos filmes, uma vez que as nanoestruturas tornaram a matriz de HPMC mais compacta, diminuindo a mobilidade das cadeias devido às forças intermoleculares entre as NPs e a matriz polimérica.

Ainda nos filmes de cupuaçu, nas concentrações de pectina a 3% ocorreu uma diminuição nos valores de Td nos filmes contendo NPs, de 135 °C para 122 °C e nos filmes sem as nanoestruturas, os valores aumentaram de 135 °C para 140 °C.

A tabela a seguir (tabela 7) mostra as temperaturas aproximadas do início do processo de degradação dos filmes.

Tabela 7 - Temperaturas aproximadas do início do processo de degradação dos filmes

<b>Filmes</b>	<b>Td (°C)</b>
<b>P2NP</b>	184
<b>P3NP</b>	188
<b>P2CA</b>	130
<b>P2CANP</b>	131
<b>P3CA</b>	133
<b>P3CANP</b>	125
<b>P2CU</b>	127
<b>P2CUNP</b>	135
<b>P3CU</b>	140
<b>P3CUNP</b>	122

Fonte: Elaboração da própria autora

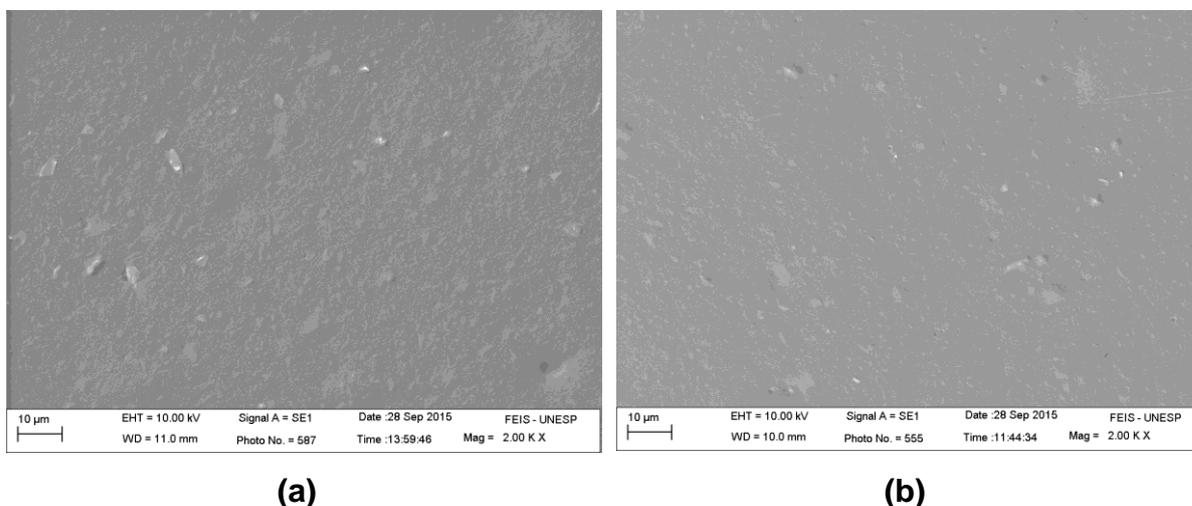
#### **5.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Na figura 13 são apresentadas micrografias obtidas por MEV dos filmes P3 e P3NP. Com a adição de NPs praticamente não houve alteração na superfície dos filmes. Quando se observa a figura 14 notam-se os efeitos da adição das polpas de frutas na microestrutura dos filmes. Os filmes contendo polpa de cacau ou cupuaçu apresentam-se mais heterogêneos devido à presença de componentes adicionais como açúcares, pigmentos e macromoléculas. Isto torna-se mais evidente quando se comparam as imagens da figura 13 (filme sem polpa) e da figura 14 (filmes com polpa).

Em um trabalho com filmes de pectina e polpa de açaí, resultados semelhantes foram relatados. Os filmes contendo somente pectina apresentaram uma superfície mais homogênea quando comparados aos filmes que continham açaí (ESPITIA et al., 2014b). Tais resultados são de extrema importância, uma vez que é possível incrementar propriedades nutricionais e sabor aos filmes sem a perda da aparência. Na área de embalagem a apresentação é uma propriedade muito requisitada, pois, além de servir de barreira e transporte, a embalagem também possui a função de servir como apelo mercadológico, impulsionando o consumo e promoção do produto do ponto de vista comercial.

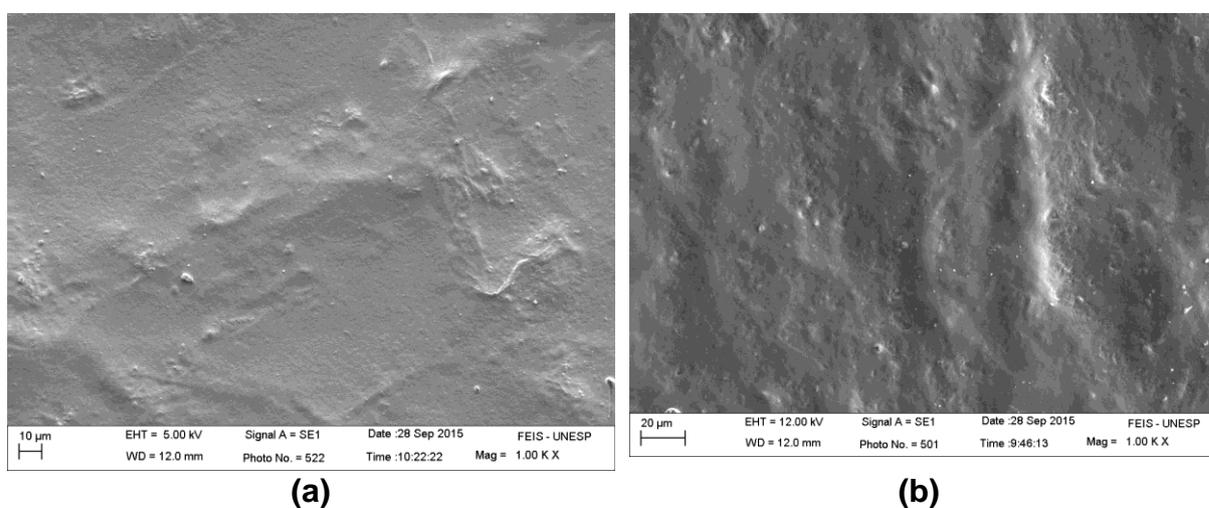
Lorevice et al. (2016) relataram em estudos de filmes de pectina que através de imagens de MEV foi possível observar uma estrutura condensada, homogênea, e fratura e sem poros, sugerindo filmes com melhores propriedades mecânicas, térmicas e de barreira.

Figura 13 - Micrografia obtida por MEV da superfície do filme de pectina 3% puro (a) e do filme de pectina 3% contendo nanopartículas (b). As micrografias possuem magnitude de 2000 X



Fonte: Elaboração da própria autora

Figura 14 - Micrografia obtida por MEV da superfície do filme de pectina 3% e polpa de cacau (a) e filme de pectina 3% contendo cacau e nanopartículas (b). A micrografia possui magnitude de 1000 X

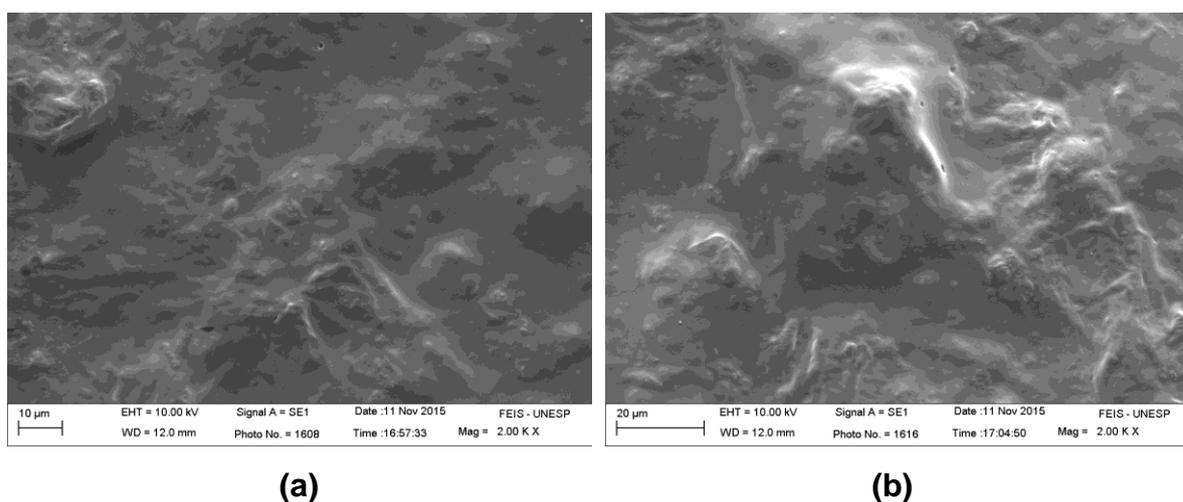


Fonte: Elaboração da própria autora

Na figura 15 são apresentadas as micrografias de filmes contendo polpa de cacau e cupuaçu. Como pode ser observado, a presença da polpa contribui para que a superfície do material se torne irregular. Isto ocorreu tanto nos filmes de cacau como também nos filmes de cupuaçu. Não é possível verificar diferenças muito relevantes entre as duas imagens da figura em questão. O filme com polpa de cupuaçu apresenta uma irregularidade discretamente maior que o de cacau provavelmente por possuir

porcentagens maiores de fibras, que não se solubilizam durante o preparo da solução filmogênica.

Figura 15 - Micrografia obtida por MEV da superfície do filme de pectina 2% e polpa de cacau (a) e filme de pectina 3% e polpa de cupuaçu (b). A micrografia possui magnitude de 2000 X

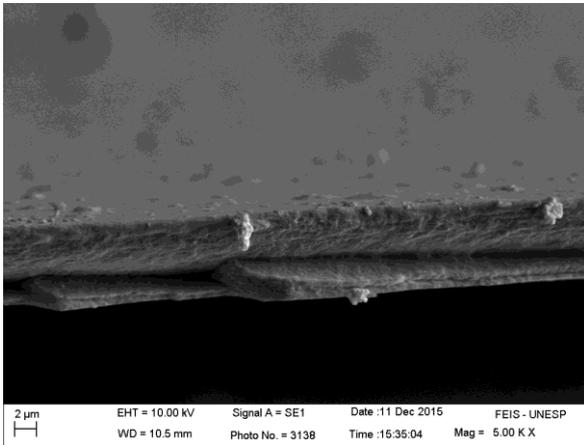


Fonte: Elaboração da própria autora

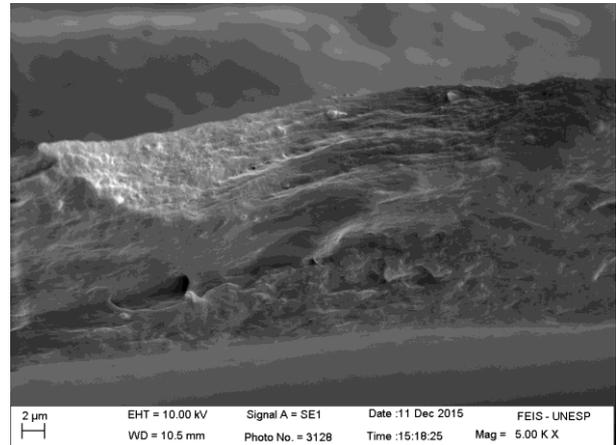
Na Figura 16 são apresentadas as micrografias obtidas por MEV da fratura dos filmes de pectina sem nanoestruturas e filmes nanoestruturados. As imagens da fratura possibilitam identificar possíveis alterações microestruturais nos filmes que podem não ter sido identificadas nas análises de superfície. Pode-se observar que as nanopartículas passam a ocupar os poros dos filmes aumentando sua compactação, funcionando como um mecanismo de reforço. Lorevice et al. (2014) também relataram diminuição na quantidade de poros em filmes de HPMC e polpa de mamão quando a estes foram adicionados nanopartículas de quitosana. Além disso, é possível verificar que a adição das NPs causou uma discreta modificação na microestrutura do filme, tornando a matriz mais heterogênea. Resultados semelhantes foram reportados por Hosseini et al. (2015) e Huq et al. (2012) em matrizes de alginato e celulose microcristalina.

Em trabalho recente, Lorevice et al. (2016) notaram que a adição de nanopartículas de quitosana não alterou significativamente matrizes de pectina quando foram analisadas as imagens de fratura por MEV.

Figura 16 - Micrografia obtida por MEV da fratura do filme de pectina 2% (a) e do filme de pectina 2% contendo nanopartículas (b). A micrografia possui magnitude de 5000 X



(a)

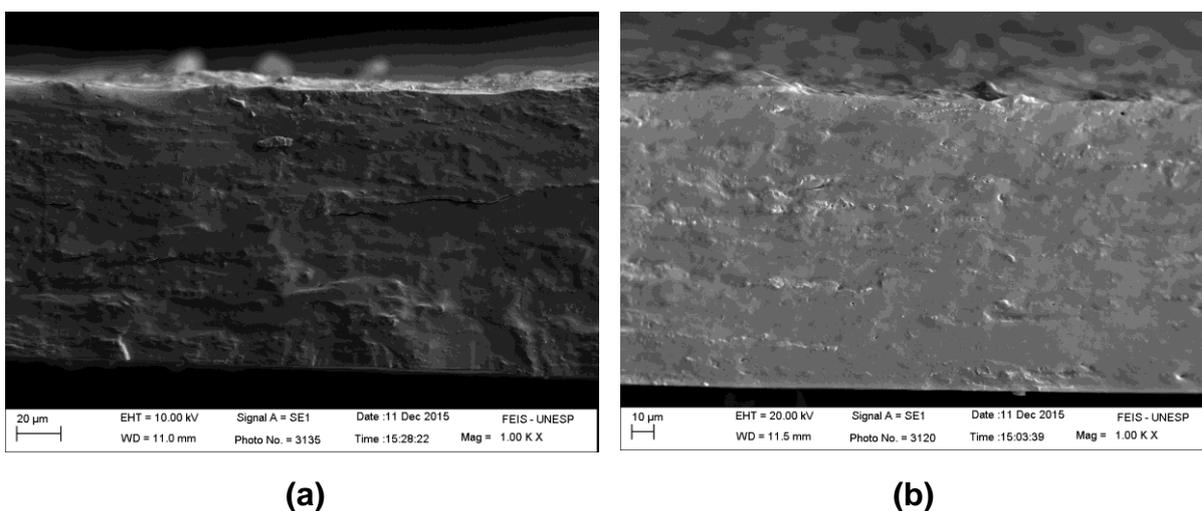


(b)

Fonte: Elaboração da própria autora

Na figura 17 também é possível notar as nanopartículas espalhadas na matriz polimérica. Mesmo nos filmes contendo polpa de frutas, há uma maior compactação da mesma, ainda que discreta, demonstrando mais uma vez que as nanoestruturas estão atuando como agentes de reforço. Além disso, as NPs diminuem a interação da matriz com a água, tornando o filme mais hidrofóbico. Essa característica é de fundamental importância na área de embalagens alimentícias, pois com a adição de polpa de frutas, filmes comestíveis tornam-se muito hidrofílicos, limitando algumas de suas aplicações. Resultados assim são de extrema relevância para se fazer uma projeção em relação à aplicabilidade de determinado material.

Figura 17 - Micrografia obtida por MEV da fratura do filme de pectina 2% (a) e do filme de pectina 2% contendo nanopartículas (b). A micrografia possui magnitude de 5000 X



Fonte: Elaboração da própria autora

### 5.2.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Tabela 8 - Valores característicos dos picos existentes nas análises de FT-IR

Tipos de filmes	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )						
<b>P2<sup>b</sup></b>	3354	2934	1732	1628	-	-	-
<b>P3<sup>a</sup></b>	3354	2934	1732	1628	-	-	-
<b>P2NP</b>	3351	2935	1738	1629	1228	1096	1013
<b>P3NP</b>	3351	2934	1738	1629	1226	1096	1014
<b>P2CA</b>	3292	2931	1739	1629	1229	-	1014
<b>P2CANP</b>	3288	2930	1738	1629	1231	-	1014
<b>P3CA</b>	3296	2930	1739	1623	1229	-	1013
<b>P3CANP</b>	3292	2931	1739	1629	1230	-	1013
<b>P2CU</b>	3303	2925	1725	1629	1228	-	1013
<b>P2CUNP</b>	3286	2924	1725	1629	1228	-	1013
<b>P3CU</b>	3319	2926	1728	1623	1227	-	1013
<b>P3CUNP</b>	3303	2925	1728	1622	1227	-	1013

<sup>a</sup> Resultados retirados do trabalho *Lorevice et al., 2016*. <sup>b</sup> Segundo os autores, a porcentagem de pectina não mostrou diferença nos espectros dos filmes controle, de modo que para a análise aqui, os números de ondas foram considerados os mesmo tanto para 2 quanto para 3% m/m de pectina nos filmes controle.

Fonte: Elaboração da própria autora

Com a finalidade de se analisar as interações entre as nanopartículas e a matriz de pectina, os espectros dos filmes (figura 17) foram obtidos por FT-IR. Estas interações ajudam a explicar a melhora nas propriedades físicas dos filmes nanocompósitos. As interações podem ser estudadas através dos deslocamentos de bandas características de cada composto presente na matriz (tabela 8).

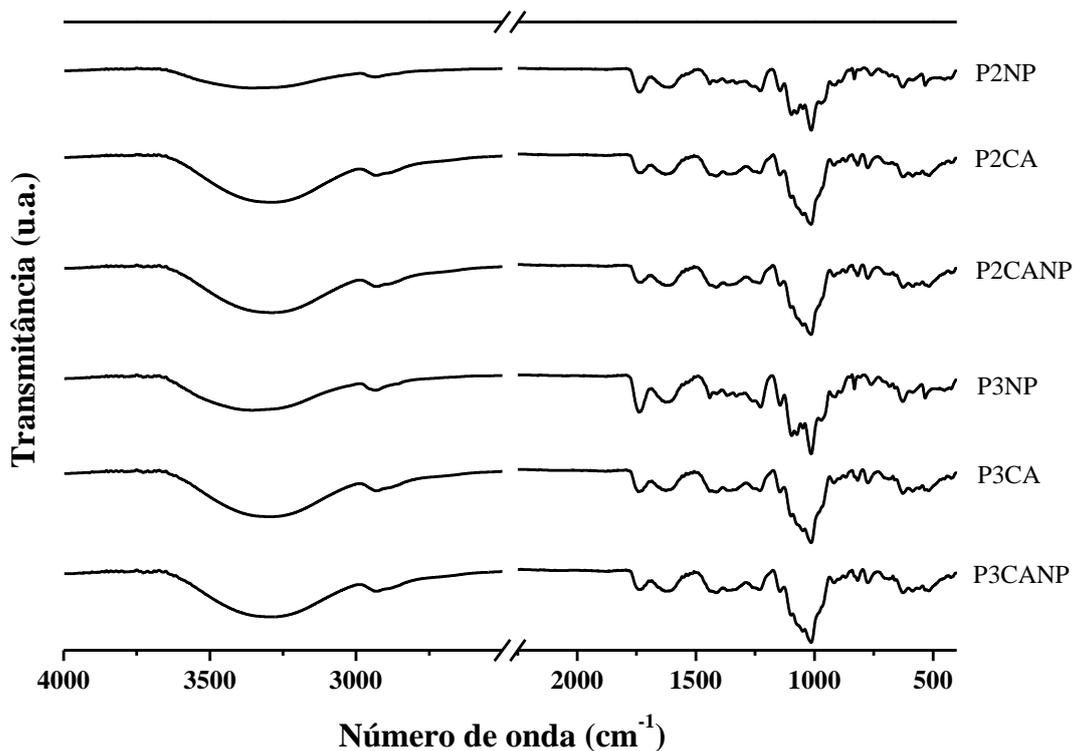
De acordo com a tabela 8 é possível observar uma ligeira diminuição nos números de onda dos filmes de pectina após a adição das NPs, passando de 3354 cm<sup>-1</sup> para 3351 cm<sup>-1</sup>. As mudanças estão relacionadas às interações entre os

grupamentos amina presentes na quitosana e os grupos carbonila encontrados na pectina (LOREVICE et al., 2016).

Segundo Hosseini et al. (2015), o deslocamento dos picos, em alguns aspectos, após a adição das NPs, pode ser um indício de ligações de hidrogênio entre a matriz de pectina e as nanopartículas. Os picos nas regiões próximas a  $1730\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao número de carbonos esterificados e o alongamento próximo a  $1629\text{ cm}^{-1}$  pode estar relacionado com o grupamento COOH da pectina.

Na figura 18 a mudança nas características da banda em aproximadamente  $1000\text{ cm}^{-1}$  está no fato da presença de diferentes vibrações da ligação C=O da quitosana, da pectina e das polpas.

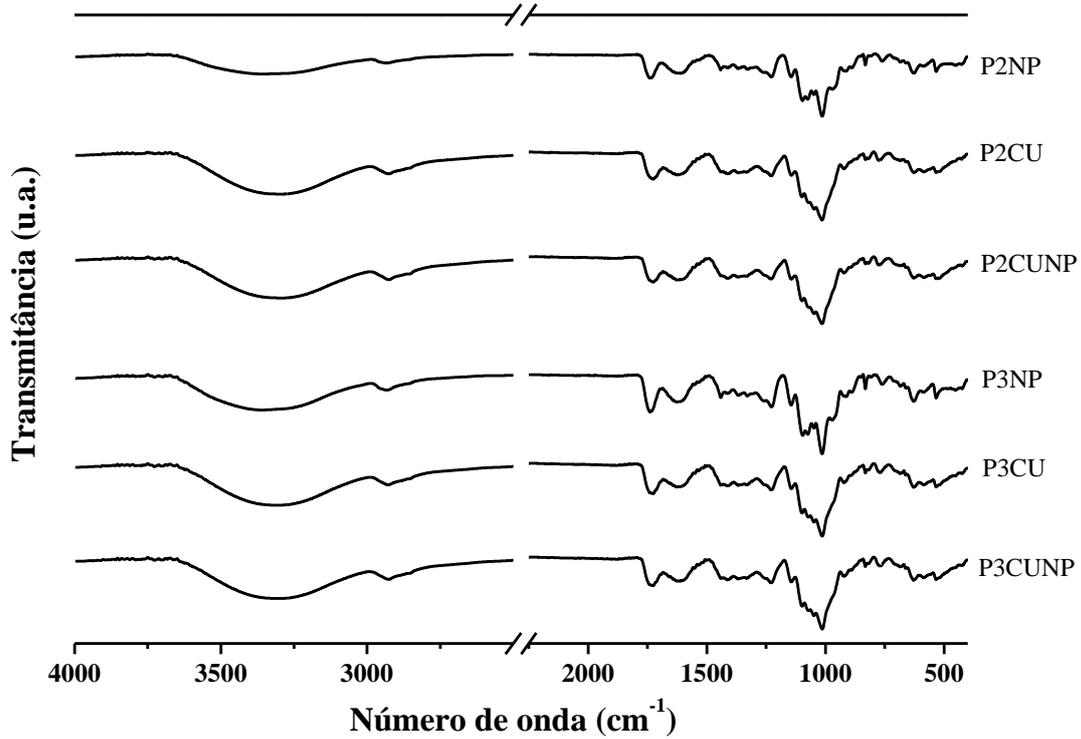
Figura 18- Espectros obtidos por Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) dos filmes de cacau



Fonte: Elaboração da própria autora

Na figura 19 a ocorrência das bandas características nos fornece materiais em regiões próximas com espectros muito semelhantes devido a sobreposição de picos.

Figura 19- Espectros obtidos por Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) dos filmes de cupuaçu



Fonte: Elaboração da própria autora

## 6 CONCLUSÃO

Foram obtidos filmes com propriedades satisfatórias, sugerindo que filmes bionanocompósitos de pectina e polpas de cacau e cupuaçu oferecem grande potencial para serem aplicados como embalagens alimentícias. A adição das nanoestruturas nas matrizes não causou modificações significativas nas características macroscópicas analisadas (cor, odor, manuseabilidade, continuidade e homogeneidade).

Foram observadas diminuição da permeabilidade ao vapor de água em todos os filmes contendo pectina a 3% após a adição de nanopartículas de quitosana com exceção do filme controle (filme formado apenas de pectina). A adição das polpas, além de acrescentar propriedades sensoriais interessantes aos filmes para a aplicação em alimentos, melhorou a tenacidade dos mesmos.

De acordo com as imagens de microscopia eletrônica de varredura foi possível observar que as nanopartículas encontraram-se dispersas de forma homogênea na matriz polimérica e que a mesma tornou-se mais compacta e resistente, como mostraram também os ensaios mecânicos.

Através das análises térmicas foi possível verificar que as nanopartículas não influenciaram significativamente nas temperaturas de transição vítrea dos filmes, entretanto, em alguns deles, houve um aumento na temperatura de degradação depois que as nanoestruturas foram adicionadas.

O presente estudo traz uma inovação na área de pesquisas em filmes comestíveis visto que não há relatos na literatura de trabalhos com as mesmas composições das matrizes poliméricas aqui abordadas.

## REFERÊNCIAS

ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 394 - 400, 2007.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting D882 - 98. In: STORER, R. A. (Ed.). **Annuals Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, 1998. p. 163-171.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials E96-95. In: STORER, R. A. (Ed.). **Annuals Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1995. p. 697 - 704.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials (1980). E96 - 80. In: **Annual Book of American Standard Testing Methods**. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, 1980.

ANDREANI, L. **Propriedades térmicas, mecânicas e estabilidade de filmes de pectina cítrica e poli (4 - estirenosulfonato de sódio)**. 2005. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química. Florianópolis, 2005.

ANTONIOU, J. et al. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 309 - 319, 2015.

ARRHAM, R. Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer. **International Food Research Journal**, v.23, p. 1669 -1675, 2016.

AZEREDO, H. M. C. et al. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 294 - 297, 2012.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. **Journal of Food Science**, v. 74, p. 31, 2009.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2.3, p. 34, 2007.

BAHRAM, S. et al. Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1251 - 1258, 2014.

BOURTOOM, T. Review article edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, v. 15, p. 237 - 248, 2008.

BRANDÃO, E. M., ANDRADE, C. T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros**, v. 9, p. 38 - 44, 1999.

CALVO, P. et al. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carrier. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, p. 125 - 132, 1997.

CANEVAROLO, J. R. S. V. **Ciência dos polímeros**. São Carlos: Artliber Editora, 2002.

CANTERI, M. H. G. et al. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v. 22, v. 22, 2012.

CERQUEIRA, M. A. et al. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. **Trend in Food Science & Technology**, v. 22, p. 662 - 671, 2011.

CHANG, P.R. et al. Fabrication and characterization of chitosan nanoparticles/plasticized-starch composites. **Food Chemistry**, v. 120, p. 736 - 740, 2010.

DAMIAN, C. et al. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr., Araraquara**, v. 16, n. 2, p. 195 - 205, 2005.

EMBUSCADO, M., HUBER, K. C. **Edible films and coatings for food applications**. Food science and nutrition, 1.ed. Nova lorque: Springer LLC, 2009.

ESPITIA, P. J. P., et al. Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 287 - 296, 2014a.

ESPITIA, P. J. P., et al. Optimal antimicrobial formulation and physical-mechanical properties of edible films based on açaí and pectin for food preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, p. 38 - 49, 2014b.

FAKHOURI, F. M. et al. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 57 - 64, 2015.

FALGUERA, V. et al. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 292 - 303, 2011.

FREIRE, M. T. A. et al. Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma grandiflorum Schum*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, p. 09 - 16, 2009.

GALUS, S.; KADZINSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, p. 273 - 283, 2015.

GIANCONE, T., et al. Effect of surface density on the engineering properties of high methoxyl pectin-based edible films. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 1228 - 123, 2011.

GURREA, C. M. L. et al. Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities of *Theobroma cacao* extract. **Journal of Functional Foods**, v. 10, p. 485 - 498, 2014.

HAMED, I.; OZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 40 - 50, 2016.

HOSSEINI, S. F. et al. Fabrication of bio - nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 172 - 182, 2015.

HUQ, T. et al. Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 1757 - 1763, 2012.

KASZUBA, M. High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. **Philosophical Transactions A Math Phys Eng Science**, v. 368, p. 4439 - 4451, 2010.

KHAZAEI, N. et al. Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 199 - 206, 2014.

KROCHTA J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. **Edible coatings and films to improve food quality**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 1994.

KROCHTA, J. M. **Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunities**. In Protein-Based Films and Coatings, edited by A. Gennadios, Boca Raton, FL: CRC Press, p: 672, 2002.

KURT, A.; KAHYAOGULU, T. Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, p. 50 - 58, 2014.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, p. 672 - 678, 2009.

LIN, W. J.; HSU, W. Y. Pegylation effect of chitosan - based polyplex on DNA transfection. **Carbohydrate Polymers**, v. 120, p. 7 - 14, 2015.

LOPES, A. S.; PEZOA-GARCÍA, N.H.; AMAYA-FARFÁN, J. Qualidade nutricional das proteínas de cupuaçu e de cacau. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 28, p. 263 - 268, 2008.

LOREVICE, M. V. et al. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high - and low - methyl pectin films. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 732 - 740, 2016.

LOREVICE, M. V. et al. Development of novel guava puree films containing chitosan nanoparticles. **Journal for Nanoscience and Nanotechnology**, v. 11, p. 1 - 7, 2012.

LOREVICE, M. V. et al. Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. **Química nova**, v. 37, p. 931 - 936, 2014.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, p. 7055 - 7011, 2003.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, p.137-156, 2010.

MARTELLI, M. R. et al. Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 98 -104, 2013.

MCHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, 1993. v. 58, p. 899, 1993.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. **Cupuaçu**. Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica: Brasília, 2007.

MONTERREY, E. S.; SOBRAL, P. J. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície - resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, p. 294 - 301, 1999.

MOURA, M. R., et al. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 448 - 453, 2009.

MUNHOZ, C. L.; SANJINEZ - ARGADOÑA, E. J.; SOARES - JUNIOR, M. S. Extração de pectina de goiaba desidratada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, não pag., 2010.

OTONI, C. G., et al. Antimicrobial and physical - mechanical properties of pectin / papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 188 - 194, 2014.

PETKOWICZ, C. L. O.; VRIESMANN, L. C. Polysaccharides from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*): structural characterization of a pectin fraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 72 - 79, 2009.

RAZAVI, S. M. A.; AMINI, A. M.; ZAHEDI, Y. Characterization of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: influence of plasticizer type and concentration. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 290 - 298, 2015.

ROONEY, M. Reactive packaging materials for food preservation. In: **Proceedings of the First Japan - Australia Workshop on Food Processing**, p. 78 - 82, 1992.

SÁNCHEZ, C. et al. Recyclability assessment of nano-reinforced plastic packaging. **Waste Management**, v. 34, p. 2647 - 2655, 2014.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89 - 94, 2015.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, p. 776 - 785, 2006.

SUN, X. et al. Evaluation of energy consumption and greenhouse gas emissions from poly (phenyllactic acid) production using sweet sorghum. **Journal of Cleaner Production**, v. 87, p. 208 - 215, 2015.

TAVARIA, F. K. et al. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 29, 110 - 120, 2013.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**. v. 137, p. 360 - 374, 2016.

VILLADIEGO, A. M. D. et al. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v. 52, p. 221 - 243, 2005.

WANG, B. et al. Barrier and mechanical properties of carrot puree films. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, p. 149 - 156, 2011.

WANG, J. et al. Recent progress on synthesis, property and application of modified chitosan: An overview. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 333 - 344, 2016.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources structure, properties and applications. **Marine drugs**, v. 13, p. 1133 - 1174, 2015.

YOUSSEF A. M., et al. Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 76, p. 25 - 32, 2015.

YULIARTI, O., et al. Characterization of gold kiwifruit pectin from fruit of different maturities and extraction methods. **Food chemistry**, v. 166, p. 479 - 485, 2015.

ZHANG, R. et al. Influence of emulsifier type on gastrointestinal fate of oil-in-water emulsions containing anionic dietary fiber (pectin). **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 175 - 185, 2015.

ZIVANOVIC, S. et al. Chitosan as an antimicrobial in food products. **Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality**, p. 153 - 181, 2015.