

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

PAMELA THAIS SOUSA MELO

**NANOCRISTAIS OBTIDOS DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE
CELULOSE BACTERIANA APLICADOS COMO AGENTE DE
REFORÇO EM FILMES BIOPOLIMÉRICOS**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

PAMELA THAIS SOUSA MELO

**NANOCRISTAIS OBTIDOS DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE
CELULOSE BACTERIANA APLICADOS COMO AGENTE DE
REFORÇO EM FILMES BIOPOLIMÉRICOS**

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

Marcia Regina de Moura Aouada
Orientador

Fauze Ahmad Aouada
Coorientador

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Melo, Pamela Thais Sousa.
M528n Nanocristais obtidos de resíduos industriais de celulose bacteriana aplicados
como agente de reforço em filmes biopoliméricos / Pamela Thais Sousa Melo. -
- Ilha Solteira: [s.n.], 2021
115 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia
de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2021

Orientador: Marcia Regina de Moura Aouada
Coorientador: Fauze Ahmad Aouada
Inclui bibliografia

1. Filmes biodegradáveis. 2. Polímeros naturais. 3. Embalagens .


Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9999



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Nanocristais obtidos de resíduos industriais de celulose bacteriana aplicados como agentes de reforço em filmes biopoliméricos

AUTORA: PAMELA THAIS SOUSA MELO

ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

COORIENTADOR: FAUZE AHMAD AOUADA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: Química dos Materiais pela Comissão Examinadora:

Digite o texto aqui

Marcia R. de Moura Aouada

Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA (Participação Virtual)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. ALEX OTÁVIO SANCHES (Participação Virtual)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. MIGUEL ÂNGELO PARENTE RIBEIRO CERQUEIRA (Participação Virtual)
Food Processing and Nutrition Group / International Iberian Nanotechnology Laboratory

Prof. Dr. HERNANE DA SILVA BARUD (Participação Virtual)
Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais / Universidade de Araraquara - UNIARA

Profa. Dra. VÂNIA REGINA NICOLETTI (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos / Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de Rio Preto - UNESP

Ilha Solteira, 15 de abril de 2021

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, Rosico Carlos de Melo, pelo amor e incentivo.

À minha irmã, Lorrane Nahara S. Melo, por sempre me apoiar e se dedicar ao máximo para me ver feliz.

À Profa. Dra. Marcia Regina de Moura Aouada, pela orientação, paciência, dedicação e amizade. Como seria bom se existissem mais “Marcias” neste “mundão”. Impossível expressar o sentimento e admiração que tenho por ela em tão poucas palavras.

Ao Dr. Caio Gomide Otoni, por ter participado de todo o trabalho, desde a ideia inicial até a sua execução e finalização. Exemplo de profissional extremamente dedicado e de uma competência imensurável.

Ao prof. Dr. Hernane S. Barud, por me acolher tão bem em seu grupo de pesquisa e por ter tido uma participação tão grande em meu trabalho. Nem tenho palavras para expressar minha gratidão.

Ao Dr. Alex Otávio Sanches, que contribuiu significativamente com o meu trabalho, mesmo não tendo nenhuma relação direta com minha pesquisa me ajudou em tudo que precisei. Sempre que eu tinha alguma dúvida era na porta dele que primeiramente eu batia, e bati por muitas vezes “rs”. Não só por confiar muito nele como profissional, mas também por saber que jamais me negaria ajuda. Como foi bom poder contar com seu apoio incondicional.

Ao José Luis Vilches, por ter realizado as análises de termogravimetria e de difratometria de raios X, pela amizade e pela disposição em me ajudar sempre.

Aos meus grandes amigos que fiz por aqui, em especial à Aline, Tascila, Mayk, Juliana, Beatriz, Tamires, Tiago, Bruna, Vinícius, Kelder...enfim, vencer todas as pedras que havia no caminho foi muito mais fácil tendo essas pessoas maravilhosas ao meu lado.

Aos colegas do DFQ, que sempre me ajudaram na pesquisa e tornaram tudo mais fácil.

A todos os professores do departamento, especialmente aos professores Fauze A. Aouada, José A. Malmonge e Luiz F. Malmonge.

Ao Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH) pelo apoio na pesquisa e infraestrutura disponibilizada.

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

À Embrapa Instrumentação.

À CAPES, pelo auxílio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À FAPESP pelo auxílio regular vigente e apoio financeiro Proc. 2013/07296-2 e Proc. 2019/06170-1.

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

RESUMO

Devido aos diversos problemas ambientais relacionados ao uso de embalagens plásticas oriundas de fontes não renováveis, pesquisas têm sido realizadas com o intuito de explorar e otimizar a utilização de matérias-primas que sejam ecologicamente corretas para a obtenção desses materiais. A celulose é o biopolímero mais abundante no mundo e um dos mais importantes de que se tem conhecimento. O uso de estruturas celulósicas em escala nanométrica tem sido investigado por apresentarem algumas vantagens, como por exemplo, maiores áreas superficiais, contribuindo, assim, para aplicações mais promissoras como agentes de reforço mecânico em materiais biopoliméricos. As principais rotas de obtenção de nanocelulose estão relacionadas à exploração de recursos vegetais, entretanto, algumas bactérias são capazes de produzir celulose bacteriana que, assim como as de origem vegetal, servem de fonte para se obter materiais nanocelulósicos. Dessa forma, o presente trabalho consistiu na obtenção e caracterização de nanocelulose bacteriana (do tipo “nanocristais”) e foi estudada a influência da adição desses nanocristais em filmes à base de três polímeros naturais hidrossolúveis (gelatina, hidroxipropilmetilcelulose e pectina) nas propriedades físicas (mecânica, barreira ao vapor de água, hidrofobicidade e umidade), bem como químicas (cristalinidade e temperatura de degradação). Os nanocristais de celulose bacteriana foram obtidos por hidrólise ácida a partir de resíduos industriais de curativos de biocelulose. Os nanocristais apresentaram comprimento médio de 120 ± 31 nm e 13 ± 3 nm de diâmetro. Foi estudada também a influência do tipo de homogeneização das dispersões filmogênicas (baixa energia e alta energia) nas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. Os filmes resultantes de dispersões seguindo protocolo de alta energia apresentaram de maneira geral melhores propriedades. Foi observado também um incremento nas propriedades mecânicas dos filmes após a adição dos nanocristais, especialmente nos filmes de hidroxipropilmetilcelulose e nos filmes de pectina contendo 10% em massa de nanocristais. A permeabilidade ao vapor de água diminuiu com a adição de 5% e 10% em massa de nanocristais nos filmes de hidroxipropilmetilcelulose quando os protocolos de alta e baixa energia foram empregados, respectivamente. Através das análises de microscopia eletrônica de varredura foi possível observar, de maneira geral, filmes com aspecto homogêneo, indicando uma boa dispersão dos nanocristais nas matrizes poliméricas, com exceção

dos filmes de pectina contendo nanocristais nas concentrações de 2,5% e 5%. Nas análises de microscopia eletrônica de varredura das superfícies de fratura mecânica foi possível verificar uma diferença na microestrutura da região onde houve o rompimento nos filmes nanoestruturados, porém não houve indícios de aglomerações do agente de reforço e nem a presença de imperfeições nessas regiões. O presente trabalho auxiliou na elucidação do comportamento do agente de reforço em cada matriz através da correlação com os resultados obtidos por meio das caracterizações das propriedades citadas.

Palavras-chave: Nanocelulose. Embalagens biodegradáveis. Economia circular. Biorrefinaria.

ABSTRACT

Due to the several environmental problems related to the use of plastic packaging from non-renewable sources, research has been carried out in order to explore and optimize the use of raw materials that are environmentally friendly to obtain these materials. Cellulose is the most abundant biopolymer in the world and one of the most important known. The use of cellulosic structures on a nanoscale has been investigated for presenting some advantages, such as, for example, larger surface areas, thus contributing to more promising applications as mechanical reinforcement agents in biopolymeric materials. The main routes for obtaining nanocellulose are related to the exploitation of plant resources, however, some bacteria are capable of producing bacterial cellulose which, like those of plant origin, serve as a source for obtaining nanocellulosic materials. Thus, the present work consisted in obtaining and characterizing bacterial nanocellulose (of the type “nanocrystals”) and the influence of the addition of these nanocrystals in films based on three water-soluble natural polymers (gelatin, pectin and hydroxypropylmethylcellulose) on physical properties (mechanical, water vapor permeability, hydrophobicity and humidity), as well as chemical (crystallinity and degradation temperature). The bacterial cellulose nanocrystals were obtained by acid hydrolysis from industrial residues of biocellulose dressings. The nanocrystals had an average length of 120 ± 31 nm and 13 ± 3 nm in diameter. The influence of the type of homogenization of filmogenic dispersions (low energy and high energy) on the mechanical and water vapor barrier properties was also studied. The films resulting from dispersions following the high energy protocol showed better properties in general. It was also observed an increase in the mechanical properties of the films after the addition of the nanocrystals, especially in the hydroxypropylmethylcellulose films and in the pectin films containing 10% of nanocrystals. Water vapor permeability decreased with the addition of 5% and 10% by mass of nanocrystals in hydroxypropylmethylcellulose films when the high and low energy protocols were employed, respectively. Through scanning electron microscopy analyzes it was possible to observe, in general, films with homogeneous aspect, indicating a good dispersion of nanocrystals in polymer matrices, with the exception of pectin films containing nanocrystals in concentrations of 2.5% and 5%. In the scanning electron microscopy analysis of the mechanical fracture surfaces, it was possible to verify a difference in the microstructure of the region where there was a break in the nanostructured films, but there was no evidence of agglomerations of the reinforcing agent or the presence of imperfections in these regions. The present work helped to elucidate the behavior of the filling agent in each matrix through the correlation with the results obtained through the characterization of the properties mentioned.

Keywords: Nanocellulose. Biodegradable packaging. Circular economy. Biorefinery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da celulose	25
Figura 2 – Celulose bacteriana sendo produzida por bactérias do gênero Gluconacetobacter.	26
Figura 3 – Estrutura química da HPMC.....	33
Figura 4 – Estrutura química da gelatina.....	34
Figura 5 – Estrutura química da pectina.....	36
Figura 6 – Resíduos de celulose bacteriana antes (A) e após (B) a trituração	40
Figura 7 – Filme de HPMC em processo de secagem	42
Figura 8 – Filme cortado e célula utilizada para realizar as medidas de PVA	45
Figura 9 – Micrografia dos NCCB obtidas por MET (A), suspensão de NCCB (B), distribuição de tamanho dos NCCB (C) e distribuição de largura dos NCCB (D).....	49
Figura 10 – DRX do filme dos NCCB confirmando sua estrutura cristalina.....	50
Figura 11 – Valores de tensão de ruptura dos filmes de gelatina.....	52
Figura 12 – Valores de módulo de elasticidade dos filmes de gelatina	53
Figura 13 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina	55
Figura 14 – Umidade dos filmes à base de gelatina.....	60
Figura 15 – Micrografias de superfície dos filmes de gelatina - G (A), GNC25T (B), GNC5T (C), GNC10T (D)	61
Figura 16 – Micrografias de fratura criogênica dos filmes de gelatina - G (A), GNC25T (B), GNC5T (C), GNC10T (D)	62
Figura 17 – Micrografias de fratura mecânica dos filmes de gelatina - G (A), GNC25T (B), GNC5T (C), GNC10T (D)	63
Figura 18 – DRX dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia .	62
Figura 19 - Curvas de TG dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia	66
Figura 20 - Curvas de DTG dos filmes de gelatina elaborados com mistura de alta energia	66
Figura 21 – Valores de tensão na ruptura dos filmes de HPMC.....	70
Figura 22 – Valores de módulo de elasticidade dos filmes de HPMC	71
Figura 23 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de HPMC	73
Figura 24 – Umidade dos filmes à base de HPMC.....	76

Figura 25 – Micrografias de superfície dos filmes de HPMC - H (A), HNC25T (B), HNC5T (C), HNC10T	78
Figura 26 – Micrografias de fratura criogênica dos filmes de HPMC - H (A), HNC25T (B), HNC5T (C), HNC10T (D).....	79
Figura 27 – Micrografias de fratura mecânica dos filmes de HPMC - H (A), HNC25T (B), HNC5T (C), HNC10T (D).....	80
Figura 28 – DRX dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia ..	81
Figura 29 - Curvas de TG dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia	82
Figura 30 Curvas de DTG dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia	83
Figura 31 – Valores de tensão na ruptura dos filmes de pectina	86
Figura 32 – Valores de módulo de elasticidade dos filmes de pectina	87
Figura 33 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de pectina	89
Figura 34 – Umidade dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia	93
Figura 35 – Micrografias de superfície dos filmes de pectina - P (A), PNC25T (B), PNC5T (C), PNC10T	94
Figura 36 – Micrografias de fratura criogênica dos filmes de pectina - P (A), PNC25T (B), PNC5T (C), PNC10T (D)	95
Figura 37 – Micrografias de fratura mecânica dos filmes de pectina - P (A), PNC25T (B), PNC5T (C), PNC10T (D)	96
Figura 38 – DRX dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia ..	97
Figura 39 - Curvas de TG dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia	99
Figura 40 Curvas de DTG dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Deformação dos filmes de gelatina	53
Tabela 2	- Ângulo de contato dos filmes de gelatina no tempo inicial para os filmes elaborados com protocolo de alta energia	56
Tabela 3	- Umidade dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia	58
Tabela 4	- Valores das temperaturas iniciais e finais dos principais eventos de degradação dos filmes de gelatina	67
Tabela 5	- Deformação dos filmes de HPMC	71
Tabela 6	- Ângulo de contato no tempo inicial dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia	74
Tabela 7	- Umidade dos filmes à base de HPMC elaborados com protocolo de alta energia	76
Tabela 8	- Valores das temperaturas iniciais e finais dos principais eventos de degradação dos filmes de HPMC	83
Tabela 9	- Deformação dos filmes de pectina	87
Tabela 10	- Ângulo de contato no tempo inicial dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia	89
Tabela 11	- Valores de umidade dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia	91
Tabela 12	- Valores das temperaturas iniciais e finais dos principais eventos de degradação dos filmes de pectina	100

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ASTM	American Society for Testing and Materials
CB	Celulose bacteriana
DFF	Dispersão formadora de filme
DRX	Difratometria de raios X
DTG	Curva termogravimétrica derivada
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
G	Gelatina
GM	Grau de metoxilação
GNC10	Filmes de Gelatina 2% + NC 10%
GNC10T	Filmes de Gelatina 2% + NC 10% + Turrax®
GNC25	Filmes de Gelatina 2% + NC 2,5%
GNC25T	Filmes de Gelatina 2% + NC 2,5% + Turrax®
GNC5	Filmes de Gelatina 2% + NC 5%
GNC5T	Filmes de Gelatina 2% + NC 5% + Turrax®
H	Filmes de hidroxipropilmetilcelulose
HNC10	Filmes de HPMC 2% + NC 10%
HNC10T	Filmes de HPMC 2% + NC 10% + Turrax®
HNC25	Filmes de HPMC 2% + NC 2,5%
HNC25T	Filmes de HPMC 2% + NC 2,5% + Turrax®
HNC5	Filmes de HPMC 2% + NC 5%
HNC5T	Filmes de HPMC 2% + NC 5% + Turrax®
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
m_f	Massa final da amostra
m_i	Massa inicial da amostra
m_w	Massa molar da água
NC	Nanocristais
NCC	Nanocristais de celulose
NCCB	Nanocristais de celulose bacteriana

NF	Nanofibras
NFC	Nanofibras de celulose
P	Pectina
PNC10	Filmes de Pectina 2% + NC 10%
PNC10T	Filmes de Pectina 2% + NC 10% + Turrax [®]
PNC25	Filmes de Pectina 2% + NC 2,5%
PNC25T	Filmes de Pectina 2% + NC 2,5% + Turrax [®]
PNC5	Filmes de Pectina 2% + NC 5%
PNC5T	Filmes de Pectina 2% + NC 5% + Turrax [®]
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
rpm	Rotações por minuto
T	Turrax [®]
Td	Temperatura de degradação
Td ₁	Temperatura de degradação associada ao primeiro evento térmico
Td ₂	Temperatura de degradação associada ao segundo evento térmico
Td ₃	Temperatura de degradação associada ao terceiro evento térmico
Td ₄	Temperatura de degradação associada ao quarto evento térmico
T _f	Temperatura final de degradação
TG	Análise termogravimétrica
T _i	Temperatura inicial de degradação
T _m	Temperatura de degradação
UR	Umidade relativa
WVTR	Velocidade de transmissão do vapor de água
θ	Ângulo de difração

LISTA DE SÍMBOLOS

® (marca registrada)
°C (graus Celsius)
c (centi)
D (difusividade de vapor de água através do ar)
g (grama)
h (hora)
k (quilo)
K (temperatura em Kelvin)
L (litro)
m (metro)
m (mili)
m (mili)
min (minuto)
n (nano)
 P (pressão total)
 P_1 (pressão saturada de vapor a 298 K)
 P_2 (pressão parcial da face inferior do filme)
 P_3 (pressão parcial do lado superior do filme)
Pa (Pascal)
R (constante dos gases)
s (segundo)
T (temperatura)
V (volts)
y (espessura média dos filmes)
z (altura média atingida pelo gás inerte)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	RELEVÂNCIA CIENTÍFICO-SOCIAL DA PESQUISA DESENVOLVIDA.....	22
3	REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1	Embalagens à base de biopolímeros na forma de filmes.....	23
3.2	Celulose	24
3.3	Nanocelulose	26
3.4	Propriedades dos filmes.....	28
3.4.1	Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	28
3.4.2	Propriedades mecânicas.....	29
3.5	Biopolímeros	31
3.5.1	Hidroxipropilmetilcelulose	32
3.5.2	Gelatina.....	33
3.5.3	Pectina.....	35
4	OBJETIVOS	38
4.1	Objetivo geral	38
4.2	Objetivos específicos	38
5	MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1	Material	39
5.2	Métodos	39
5.2.1	Isolamento dos nanocristais de celulose bacteriana (NCCB)	39
5.2.2	Obtenção dos filmes bionanocompósitos.....	40
5.2.2.1	<i>Otimização da dispersão dos NCCB nas matrizes poliméricas</i>	42
5.2.3	Caracterização dos nanocristais de celulose bacteriana (NCCB) 43	
5.2.3.1	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos NCCB</i>	43
5.2.3.2	<i>Potencial zeta aparente das suspensões de NCCB</i>	43
5.2.3.3	<i>Difração de raios X (DRX) dos filmes de NCCB</i>	43
5.2.4	Caracterização dos filmes nanocompósitos.....	43
5.2.4.1	<i>Análise subjetiva dos filmes</i>	43
5.2.4.2	<i>Propriedades mecânicas dos filmes</i>	44
5.2.4.3	<i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes</i>	44
5.2.4.4	<i>Ângulo de contato dos filmes elaborados com protocolo de alta energia</i>	45

5.2.4.5	<i>Umidade dos filmes elaborados com protocolo de alta energia</i>	46
5.2.4.6	<i>Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos filmes elaborados com protocolo de alta energia</i>	46
5.2.4.7	<i>Difração de raios X (DRX) dos filmes elaborados com protocolo de alta energia</i>	46
5.2.4.8	<i>Termogravimetria (TG) dos filmes elaborados com protocolo de alta energia</i>	47
5.2.4.9	<i>Análise estatística</i>	47
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6.1	<i>Suspensões de nanocristais de celulose bacteriana (NCCB)</i>	48
6.2	<i>Filmes nanocompósitos</i>	50
6.2.1	<i>Filmes nanocompósitos à base de gelatina</i>	50
6.2.1.1	<i>Propriedades subjetivas e valores de espessura dos filmes de gelatina</i>	51
6.2.1.2	<i>Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina</i>	51
6.2.1.3	<i>Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina</i>	54
6.2.1.4	<i>Ângulo de contato dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia</i>	56
6.2.1.5	<i>Umidade dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia</i>	58
6.2.1.6	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia</i>	61
6.2.1.7	<i>Difratometria de raios X (DRX) dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia</i>	64
6.2.1.8	<i>Termogravimetria (TG) dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia</i>	65
6.2.2	<i>Filmes nanocompósitos à base de HPMC</i>	69
6.2.2.1	<i>Propriedades subjetivas e espessura dos filmes de HPMC</i>	69
6.2.2.2	<i>Propriedades mecânicas dos filmes de HPMC</i>	69
6.2.2.3	<i>Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de HPMC</i>	72
6.2.2.4	<i>Ângulo de contato dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia</i>	73
6.2.2.5	<i>Umidade dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia</i>	75
6.2.2.6	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia</i>	77
6.2.2.7	<i>Difratometria de raios X (DRX) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia</i>	81
6.2.2.8	<i>Termogravimetria (TG) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia</i>	82

6.2.3	Filmes nanocompósitos à base de pectina	84
6.2.3.1	<i>Propriedades subjetivas e espessura dos filmes de pectina</i>	84
6.2.3.2	<i>Propriedades mecânicas dos filmes de pectina</i>	85
6.2.3.3	<i>Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de pectina</i>	88
6.2.3.4	<i>Ângulo de contato dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia</i>	90
6.2.3.5	<i>Umidade dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia</i>	91
6.2.3.6	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia</i>	93
6.2.3.7	<i>Difratometria de raios X (DRX) dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia</i>	97
6.2.3.8	<i>Termogravimetria (TG) dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia</i>	98
7	CONCLUSÃO	102

1 INTRODUÇÃO

A maioria das embalagens plásticas são produzidas a partir de fontes não renováveis, como o petróleo. No entanto, a crescente preocupação em diminuir o uso dos recursos fósseis e a geração de resíduos não biodegradáveis vem impulsionando pesquisas no sentido de se desenvolver embalagens que sejam ecologicamente corretas (Ghaderi, Hosseini, Keyvani & Gómez-Guillén, 2019).

Os resíduos sólidos resultantes do uso de embalagens plásticas constituem em um dos principais problemas ambientais relacionados ao uso dos plásticos. No Brasil são produzidos cerca de 11 milhões de toneladas por ano, colocando o país em 4º lugar na produção mundial desse tipo de resíduo (Yuliana, Huynh, Ho, Truong & Ju, 2012; Mohan, Harini, Aafrin, Babuskin, Karthikeyan, Sudarshan, Renuka & Sukumar, 2018). No mundo, são produzidas mais de 350 milhões de toneladas de plásticos e estima-se que 85% do lixo presente nos oceanos seja de material plástico (Haghighi, Gullo, La China, Pfeifer, Siesler, Licciardello & Pulvirenti, 2020).

Diante desse cenário, materiais de fontes renováveis vêm sendo utilizados como matéria-prima para se obter embalagens a partir dos “plásticos verdes” ou “bioplásticos”. Diversos materiais têm sido estudados como fonte de matéria-prima para a obtenção desses bioplásticos, como por exemplo, os polímeros naturais e/ou biodegradáveis (Pellá, Silva, Pellá, Beneton, Caetano, Simões & Dragunski, 2020). Dependendo da formulação e metodologia empregada, os bioplásticos podem ser, inclusive, biodegradáveis, e até comestíveis, possibilitando assim, novas formas de aplicações (Kowalczyk & Baraniak 2014).

Existe uma série de biopolímeros utilizados na fabricação dos bioplásticos. Dentre eles, alguns polissacarídeos se destacam, como o amido, derivados de celulose, pectina, alginato e quitosana. Já entre o grupo das proteínas, o colágeno, gelatina, proteínas do leite, proteína de soja, albumina, glúten e zeína têm sido amplamente estudados. Esses materiais despertam interesse devido às suas características como biocompatibilidade, abundância e biodegradabilidade (Souza & Fernando, 2016; Najwa, Guerrero, de la Caba & Hanani, 2020).

Além dos polímeros citados acima, a celulose e seus derivados merecem destaque quando se fala em produção de filmes biopoliméricos. Além de a celulose ser o polímero natural mais abundante no mundo, possui excelentes propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixo custo, quando comparada a

outros polímeros de origem sintética (Klemm, Schumann, Kramer, Hebler, Hornung, Schmauder & Marsch, 2006; Vanitjinda, Nimchua & Sukyai, 2019).

Entretanto, embalagens à base de biopolímeros em geral exibem características que necessitam ser melhoradas para que sejam equiparáveis às tradicionais obtidas do petróleo, especialmente no que tange às suas propriedades mecânicas, de barreira a vapores e solubilidade. Nesse sentido, a nanotecnologia tem sido utilizada para melhorar a performance das embalagens biopoliméricas (Cerqueira, Bourbon, Pinheiro, Martins, Souza, Teixeira & Vicente, 2011; Sánchez, Hortal, Aliaga, Devis & Cloquell-Ballester, 2014).

A celulose é um biopolímero altamente versátil, podendo ser usada como matriz contínua e também em forma de nanocelulose, ou seja, nanofibrilas (NF) ou nanocristais (NC), para formar materiais sustentáveis e multifuncionais. As nanoceluloses estão entre os materiais em escala nanométrica que podem ser usados como agentes de reforço mecânico em matrizes poliméricas usadas no preparo de filmes. Os NC são conhecidos como “whiskers” e podem ser obtidos a partir de fibras e fibrilas após a remoção dos domínios desordenados via hidrólise ácida, por exemplo (Kontturi, Laaksonen, Linder, Gröschel, Rojas & Ikkala, 2018).

As nanoceluloses podem ser extraídas da celulose de origem vegetal, bem como da celulose bacteriana. A primeira é a principal fonte de extração, sendo constituída de componentes lignocelulósicos, ou seja, uma mistura complexa de celulose, hemicelulose e lignina. Já a celulose bacteriana é desprovida de componentes não celulósicos, o que torna o processo de isolamento mais fácil do que o realizado com a celulose vegetal (George & Siddaramaiah, 2012).

Essas nanoestruturas de origem bacteriana mesclam características presentes em seus precursores, como a pureza da celulose bacteriana (CB), a alta área de superfície específica e elevada cristalinidade. Dependendo da rota de isolamento, grupos carregados podem ser introduzidos na superfície dos NC, proporcionando-lhes estabilidade coloidal melhorada decorrente da repulsão eletrostática. Tal característica é benéfica para os compósitos porque a dispersão do agente de reforço na matriz é um fator determinante para permitir a transferência ideal do estresse mecânico (Otoni, Carvalho, Cardoso, Bernardinelli, Lorevice, Colnago, Loh & Mattoso, 2018).

Nesse sentido, usar uma matriz com cargas diferentes como aglutinante para os nanocristais de celulose bacteriana (NCCB) é uma abordagem interessante para

verificar a compatibilidade química entre as fases e a adesão interfacial entre as nanoestruturas e o polímero, bem como avaliar o incremento nas propriedades finais dos filmes obtidos.

Dentro desse contexto, foi realizada uma abordagem de biorrefinaria para reciclar resíduos resultantes da modelagem comercial de celulose bacteriana em forma de curativos como fonte de CB usada para obtenção dos NC. O objetivo principal do trabalho foi isolar NCCB carregados negativamente desses resíduos de baixo valor agregado e promover sua dispersão adequada como cargas dentro de três matrizes formadoras de filmes, uma com caráter predominantemente catiônico, outra com caráter não-iônico e por fim, uma do tipo aniônica.

Para isso, foram selecionados três biopolímeros para servirem como matriz: gelatina (catiônica), hidroxipropilmetilcelulose (não-iônica) e pectina (aniônica). Os filmes elaborados com as nanoestruturas apresentaram melhor desempenho no que diz respeito a embalagens flexíveis. Dessa forma, do ponto de vista ambiental, esses materiais são bastante promissores, uma vez que são oriundos de materiais sustentáveis e biodegradáveis, diminuindo não só o tempo de permanência de lixo plástico no ambiente, como também o uso de combustíveis fósseis e geração de gases estufa decorrentes da produção dos plásticos convencionais.

2 RELEVÂNCIA CIENTÍFICO-SOCIAL DA PESQUISA DESENVOLVIDA

Bactérias como a *Komagataeibacter xylinus*, usam fontes de carbono de baixa massa molecular para produzir filmes de celulose bacteriana com uma gama de aplicações comerciais, entre as quais o campo biomédico se destaca. Após purificação, secagem e modelagem, esses filmes servem comercialmente como curativos para feridas.

A etapa de corte desses filmes no formato de curativos gera uma grande quantidade de aparas que não seguem a rota comercial e acabam sendo descartadas ou utilizadas em aplicações de baixo valor agregado. Para somar esforços para o aproveitamento máximo da biomassa, e para aumentar a competitividade dos nanocristais de celulose bacteriana em termos de custos de produção, apenas as sobras foram aqui utilizadas.

Essa abordagem de biorrefinaria também agrega valor à celulose bacteriana, diminuindo a geração de resíduos e ampliando a gama de aplicações desse material. As aparas de celulose bacteriana resultantes dos cortes em formato de curativo comercial de celulose bacteriana foram submetidas a tratamentos químicos e mecânicos em condições otimizadas, resultando em nanocristais versáteis que podem ser usados como biocoloides em suspensão ou a seco em materiais de estado sólido, incluindo nanocompósitos à base de polímero.

Dessa forma, os nanocristais foram adicionados a dispersões formadoras de filmes, que após serem depositadas em suporte específico para que houvesse a evaporação dos solventes resultaram em compósitos com propriedades que aumentaram a aplicabilidade desses filmes como material de embalagem para alimentos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Embalagens à base de biopolímeros na forma de filmes

Os filmes à base de polímeros naturais têm despertado o interesse de pesquisadores nas últimas décadas por serem potenciais substitutos dos plásticos sintéticos em determinadas aplicações em alimentos. A principal vantagem de utilizá-los é que, dependendo da formulação, podem, inclusive, serem ingeridos, além de auxiliarem no controle da permeabilidade ao vapor de água, oxigênio e gás carbônico, sendo uma forma eficiente de retardar a degradação de vegetais frescos e outros alimentos durante o período de estocagem (Fakhouri, Martelli, Caon, Velasco & Mei, 2015; Fonseca-García, Jiménez-Regalado & Aguirre-Loredo, 2021).

Uma das técnicas de produção de filmes à base de biopolímeros mais usadas em escala laboratorial, principalmente na área de pesquisa, é denominada de “*solvent casting*” (deposição seguida de evaporação do solvente) e consiste no preparo de uma dispersão relativamente viscosa através da adição de um ou mais polímeros em um solvente ou mistura de solventes adequados. Posteriormente, essa dispersão é vertida sobre um suporte específico para que o solvente evapore e seja possível desprender o filme formado do suporte (Tavassoli-Kafrani, Shekarchizadeh & Masoudpour-Behabadi, 2016).

Os biopolímeros mais utilizados na formação dos filmes biodegradáveis pertencem ao grupo dos polissacarídeos e das proteínas. 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. Os biopolímeros pertencentes ao grupo dos lipídeos também podem ser adicionados no preparo dos filmes, entretanto, normalmente são misturados a outros polímeros para que seja possível a formação do filme. Os lipídeos que se destacam são os monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácidos graxos (Santacruz, Rivadeneira & Castro, 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.), como já mencionado anteriormente, e eventualmente, alguns 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 comumente adicionados às matrizes, resultando em filmes mais flexíveis e maleáveis.

Os plastificantes aumentam a mobilidade das cadeias poliméricas, devido à diminuição das forças intermoleculares entre as mesmas, reduzindo a viscosidade do sistema. Em geral 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, Rivadeneira & Castro, 2015; Suderman, Isa & Sarbon, 2018). O sorbitol e o glicerol são exemplos de plastificantes comumente empregados na produção de filmes à base de polímeros naturais.

Além dos aditivos citados, nanoestruturas, dentre elas, os nanocristais de celulose (NCC), têm sido adicionados a matrizes poliméricas para melhorar as propriedades dos filmes, especialmente as mecânicas e as de permeabilidade a vapor de água.

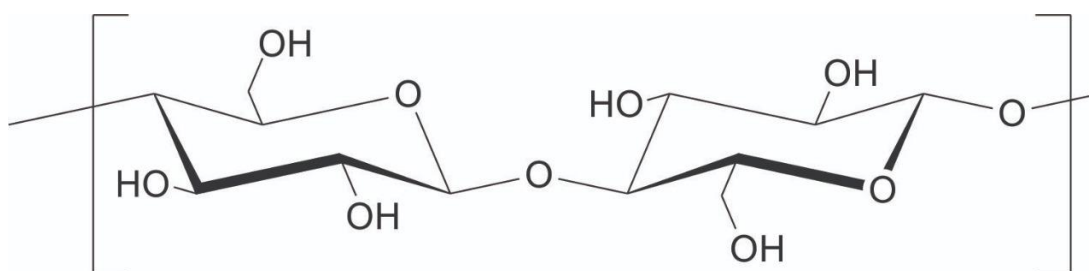
Vale destacar também que a água pode atuar como um plastificante. Nesse sentido, a umidade presente nos filmes deve ser considerada ao se discutir a influência do agente de reforço nas propriedades finais do material.

3.2 Celulose

A celulose é o principal componente da parede celular vegetal e o polímero natural em maior abundância no planeta, sendo, portanto, de fonte praticamente inesgotável. A celulose também pode ser sintetizada por outros organismos vivos, como as bactérias, por exemplo. Essa última, conhecida como biocelulose, é livre de impurezas, tais como a lignina e hemicelulose, que estão presentes na celulose de origem vegetal (Donini, de Salvi, Fukumoto, Lustri, da Silva Barud, Marchetto, Younes & Ribeiro, 2010).

A celulose (Figura 1) é formada pela união de moléculas de β -D glucopirranose através de ligações 1,4-glicosídicas. É um polímero linear de cadeia rígida não ramificada com a presença de grupos polares do tipo hidroxila, que fazem com que suas moléculas se unam por ligações de hidrogênio, impossibilitando a penetração de água e dando origem a fibras compactas.

Figura 1 – Estrutura química da celulose



Fonte: própria autora

Além de insolúvel em água, a celulose apresenta outras características importantes, como biodegradabilidade, biocompatibilidade, vasta capacidade de modificação química, além da já citada capacidade de formar estruturas fibrosas semicristalinas, o que lhe confere aplicações extremamente versáteis (Klemm, Heublein, Fink & Bohn, 2005).

A celulose foi descrita pela primeira vez em 1838 pelo químico francês Anselme Payene. Naquela época era utilizada como fonte de energia, material de construção e confecção de vestimentas. Nos últimos anos, a celulose tem chamado a atenção por suas aplicações biotecnológicas. E graças a esse crescente interesse em se descobrir os mecanismos por trás de sua síntese é que se tem sido possível tornar o seu uso cada vez mais sustentável.

Embora as características supracitadas possibilitem uma vasta aplicação da celulose em diversas áreas, seu uso como matriz polimérica formadora de filmes é dificultado, uma vez que a celulose é insolúvel em água. No entanto, ela é comumente empregada como agente de reforço em matrizes poliméricas, especialmente em forma de “nanocelulose” (Zimmermann, da Silva, Zattera & Campomanes Santana, 2017).

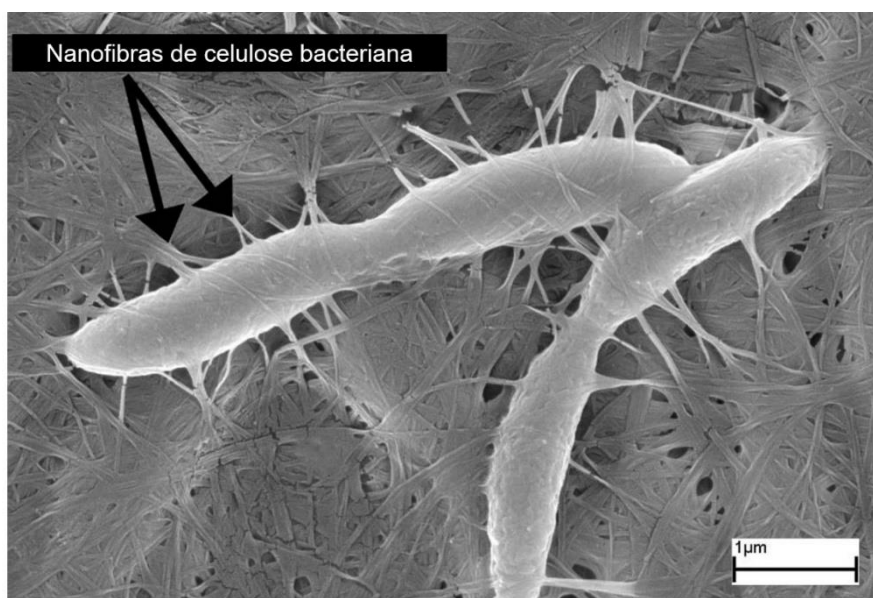
3.3 Nanocelulose

O termo nanocelulose é utilizado para definir materiais celulósicos que apresentam pelo menos uma de suas dimensões (comprimento, largura ou diâmetro) em escala nanométrica (1-100 nm).

A nanocelulose tem ganhado muita atenção, especialmente pelo seu uso como material biomédico devido à sua notável propriedade física e química e por apresentar biocompatibilidade e biodegradabilidade. O uso desse material como agente de reforço em matrizes poliméricas também vem ganhando bastante destaque em diferentes áreas de aplicação, já que além das características supracitadas, é sustentável e extremamente versátil (Thomas, Duolikun, Rumjit, Moosavi, Lai, Johan & Fen, 2020).

A nanocelulose pode ser obtida a partir de fontes vegetais, animais marinhos, como os tunicatos, algas, fungos ou ainda através de bactérias. Nesse último caso é conhecida como nanocelulose bacteriana (de Oliveira Barud, 2016). Na Figura 2 é possível observar bactérias do gênero *Komagataeibacter* produzindo nanofibras de celulose (NFC).

Figura 2 – Celulose bacteriana sendo produzida por bactérias do gênero *Komagataeibacter*



Fonte:

<https://www.vtnews.vt.edu/articles/2008/11/2008-693.html> (Adaptado)

As nanoceluloses podem ser divididas em duas categorias principais: nanofibras (ou nanofibrilas) e nanocristais (também conhecidos como *nanowhiskers*). Ambos podem ser isolados tanto da celulose vegetal quanto da celulose de origem bacteriana (Klemm, Kramer, Moritz, Lindström, Ankerfors, Gray & Dorris, 2011). No entanto, a rota dominante de obtenção é a partir de fontes vegetais, em função de sua grande disponibilidade.

Os nanocristais de celulose podem ser isolados por meio de hidrólise utilizando-se ácidos minerais para atacar as regiões amorfas das fibras celulósicas e consequente liberação dos domínios cristalinos. O tipo de ácido usado exerce um papel importante nas características do material final: cristais oriundos da hidrólise por ácido clorídrico exibem baixa estabilidade coloidal, enquanto aqueles obtidos da hidrólise por ácido sulfúrico sofrem sulfatação superficial e, por isso, são estabilizados pela forte repulsão eletrostática entre os grupos negativamente carregados (Klemm, Kramer, Moritz, Lindström, Ankerfors, Gray & Dorris, 2011). Já as nanofibras de celulose são obtidas em geral através de processos de desfibrilação usando tratamentos mecânicos, químicos e/ou enzimáticos.

As vantagens das nanoceluloses sobre materiais celulósicos de dimensões maiores são inúmeras, sendo reportadas em diversos trabalhos de revisão recentes e por isso foram aqui utilizadas para atuarem como agente de reforço (Zhang, Zhang, Cao & Jiang, 2020).

Alguns autores incluem ainda no grupo das nanoceluloses as celulosas microfibriladas e as celulosas microcristalinas. As primeiras são reconhecidas por possuírem um arranjo de múltiplas fibras primárias finas em seções cristalinas e amorfas que garantem uma razão de aspecto e área de superfície maiores. São obtidas através da fragmentação de fibras de celulose em dimensões na ordem de microns. Quando essas fibrilas são capazes de se fragmentar em uma escala nano, são chamadas de celulose nanofibrilada (Nehra & Chauhan, 2021).

Já as celulosas microcristalinas possuem morfologia cristalina característica e são constituídas de microfibrilas de celulose fortemente ligadas por meio de ligações de hidrogênio. Encontram-se na forma de pó com partículas de 10 a 50 nm de diâmetro. A celulose microcristalina é obtida principalmente a partir de fibras de madeira pela técnica de branqueamento seguida de tratamento com ácido sulfúrico (Nehra & Chauhan, 2021).

3.4 Propriedades dos filmes

3.4.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Boa parte dos alimentos pode sofrer modificações em suas características originais devido a absorção ou perda de umidade. Nesse sentido, as embalagens alimentícias devem possuir boas propriedades de barreira à passagem de vapor de água para garantir a preservação das características originais do produto. A permeabilidade ao vapor de água é a propriedade de barreira mais estudada por ser uma propriedade fácil de ser medida e também porque a perda de umidade é um dos principais fatores relacionados à alteração da característica sensorial e tempo de estocagem do alimento (Galus & Kadzińska 2015).

A PVA é definida como a quantidade de vapor de água que permeia através de uma unidade de área de material com espessura conhecida em razão da diferença de pressão de vapor entre dois meios específicos. As medidas devem ser realizadas em temperatura e umidade relativa controladas durante todo o experimento (ASTM E96-95).

Filmes à base de polissacarídeos e proteínas, em geral, apresentam altas taxas de PVA por serem muito solúveis em água. Já nos filmes que levam lipídeos em sua composição, geralmente ocorre o oposto, devido ao caráter hidrofóbico dos componentes graxos (Galus & Kadzińska 2015). Dessa forma, a associação de materiais lipídicos em filmes hidrofílicos pode contribuir para a diminuição da PVA.

Outra alternativa viável é a adição de materiais nanoestruturados nas matrizes poliméricas. Essas estruturas são capazes de preencher os espaços vazios presentes nas cadeias, torná-las mais compactas, dificultando, assim, a permeação de vapor de água (Lorevice, Moura & Mattoso, 2014; Haghighi, Gullo, La China, Pfeifer, Siesler, Licciardello & Pulvirenti, 2020; Ahmadi, Ahmadi, Sani, Ehsani & Ghanbarzadeh, 2021).

Como mencionado anteriormente, filmes à base de biopolímeros, em geral, apresentam valores de permeabilidade ao vapor de água elevados quando comparados aos tradicionais derivados do petróleo. Essa característica limita a aplicação desses materiais na área de produtos alimentícios, especialmente nos casos em que há a necessidade de se limitar as trocas gasosas entre o meio interno e externo para conservação das propriedades sensoriais do alimento, como crocância,

por exemplo. Por essa razão, no presente trabalho, os nanocristais de celulose bacteriana foram adicionados às matrizes objetivando diminuir os valores de PVA.

3.4.2 Propriedades mecânicas

Outra propriedade muito requerida na área de embalagens é a que diz respeito ao desempenho mecânico. As propriedades mecânicas são definidas de acordo com a resposta do material às influências mecânicas externas em que é submetido, podendo gerar deformações reversíveis ou irreversíveis. A resposta pode ser do tipo tensão ou deformação e depende da estrutura química do material polimérico, temperatura, tempo e condições de processamento do polímero, dentre outros fatores (Canevarolo, 2002).

Existem vários tipos de ensaios utilizados para se conhecer o comportamento mecânico dos polímeros, podendo ser estáticos ou dinâmicos, destrutivos ou não destrutivos, de curta duração ou longa duração, dentre outros. Na maioria deles são registradas as curvas de tensão *versus* deformação, em que se é possível obter as medidas de módulo de elasticidade, tensão e deformação no escoamento, tensão máxima, tensão e deformação na ruptura e a tenacidade (Canevarolo, 2002).

O teste mais utilizado para estudar a força mecânica de filmes é o teste de tração. Através desse ensaio podem ser obtidos os valores de tensão na ruptura, a deformação sofrida até a o momento da ruptura e o módulo de elasticidade, que são as medidas de maior interesse para o material em questão.

Saber como o material responde mecanicamente é fundamental para determinar sua aplicação. Os filmes serão manuseados juntamente com os produtos e, portanto, devem ser capazes de suportar tensões durante sua distribuição e comercialização, garantindo tanto a integridade da embalagem quanto a do produto por ele embalado.

O desempenho mecânico de cada material varia de acordo com a natureza dos seus constituintes, como já mencionado anteriormente. Quando se trata de filmes para aplicação como embalagens, de maneira geral, aqueles à base de polissacarídeos e proteínas geralmente possuem propriedades mecânicas satisfatórias quando comparados aos filmes plásticos convencionais derivados de polímeros sintéticos (Villadiego, Soares, Andrade, Puschmann, Minim & Cruz, 2005).

Entretanto, é possível, ao combinar diferentes tipos de materiais que constituem a matriz polimérica, obter filmes com propriedades mecânicas distintas, e dessa forma, ampliar sua gama de aplicações.

3.5 Biopolímeros

Devido ao aumento do interesse em se utilizar materiais que não gerem danos ao meio ambiente, alternativas biodegradáveis têm sido amplamente exploradas. Os biopolímeros são polímeros obtidos através de matérias-primas de fontes renováveis, podendo ser biodegradáveis ou não. De acordo com a origem, podem ser classificados em naturais ou sintéticos (Polman, Gruter, Parsons & Tietema, 2020).

Atualmente os biopolímeros são os principais e mais atrativos candidatos à substituição de polímeros de origem fóssil, especialmente os biopolímeros que apresentam biodegradabilidade, ou seja, a capacidade de sofrerem degradação resultante da ação de microrganismos de ocorrência natural, como por exemplo, as bactérias e fungos.

Os biopolímeros de origem natural, também conhecidos como polímeros naturais, podem ser obtidos de plantas, animais ou microrganismos. Vale destacar que o termo biopolímero não possui uma definição clara na literatura, sendo muitas vezes sinônimo de outros termos, como polímero de base biológica, bioplásticos e polímeros biodegradáveis. No presente trabalho estão sendo adotadas, como já citadas anteriormente, as seguintes definições, de acordo com a European Bioplastics (2018) e Canevarolo (2002):

- Biopolímeros: polímeros ou copolímeros sintetizados ou obtidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis. Estão incluídos aqui também os polímeros de ocorrência natural, ou seja, não modificados pelo homem. Os biopolímeros podem ser biodegradáveis ou não. Os biopolímeros são sinônimos de “polímeros de base biológica”. Pode assumir também o significado de “polímeros biologicamente ativos”, ou, ainda, polímeros sintéticos com aplicações biológicas ou biomédicas.
- Bioplásticos: materiais plásticos com diferentes propriedades e aplicações que apresente pelo menos um dos seguintes requisitos – ser de base biológica ou apresentar biodegradabilidade. Sinônimos de “plásticos verdes”. O termo “base biológica” se refere a materiais ou produtos que sejam derivados integralmente ou parcialmente de biomassa (plantas).
- Polímeros naturais: polímeros de ocorrência natural, ou seja, obtidos diretamente da natureza.

- Polímeros biodegradáveis: polímeros ou copolímeros que sofrem degradação através da ação de microrganismos. Podem ser de ocorrência natural ou sintetizados através de matérias-primas de fontes renováveis ou não.

Os biopolímeros podem ser do tipo polissacarídeos, poliésteres microbianos, proteínas, enzimas, dentre outros. Os classificados como polissacarídeos constituem o grupo de macromoléculas mais estudado e com maior biodisponibilidade. Devido às suas propriedades, possuem uma vasta gama de aplicações nas mais diversas áreas, destacando-se a celulose e seus derivados (Sivakanthan, Rajendran, Gamage, Madhujith & Mani, 2020).

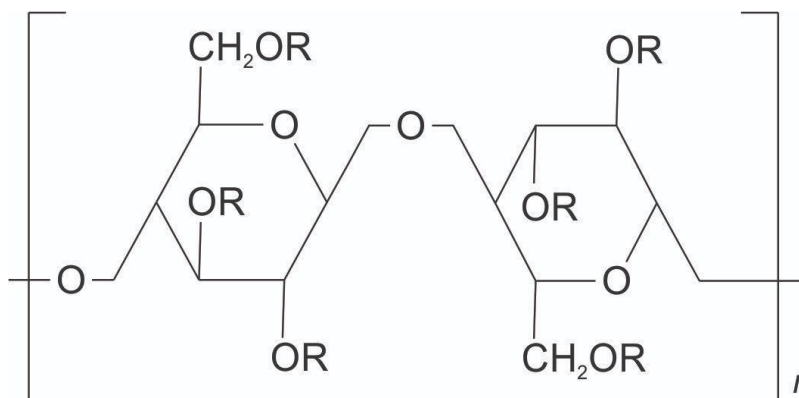
As proteínas também merecem destaque principalmente por sua aplicação tanto na área de embalagens de alimentos, que é o foco do presente trabalho, como também em diversas aplicações biomédicas. Embalagens à base de proteínas apresentam excelentes propriedades de barreira a oxigênio, até mesmo quando comparadas às tradicionais sintéticas (Gómez-Estaca, Gavara, Catalá & Hernández-Muñoz, 2016).

3.5.1 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

A hidroxipropilmetilcelulose é um polissacarídeo não iônico derivado da celulose, biodegradável, biocompatível, inodoro, solúvel em água, possui propriedades gelificantes e uma ampla aplicação na área médica, farmacêutica, química e de alimentos (Guo, Skinner, Harcum & Barnum, 1998).

A HPMC é obtida através de uma modificação da celulose alcalina por um tratamento da polpa de madeira purificada usando uma solução de hidróxido de sódio. Isso resulta em um éter de celulose resultante da substituição parcial de átomos de hidrogênio e grupamentos hidroxilas da celulose por grupos metil e hidroxipropílicos. O grau de substituição por esses grupos confere propriedades como solubilidade em água fria, por exemplo (Burdock, 2007).

Figura 3 – Estrutura química da HPMC



Fonte: própria autora

A HPMC possui boa capacidade de formação de filme. Esse polímero, mesmo quando usado isoladamente, é capaz de formar filmes com propriedades satisfatórias para serem aplicados como material de embalagem. Os filmes de HPMC tendem a ser resistentes, transparentes, inodoros e insípidos e possuem boa flexibilidade. No entanto, são muito solúveis em água e isso pode dificultar sua aplicabilidade (Bilbao-Sáinz, Avena-Bustillos, Wood, Williams & McHugh, 2010).

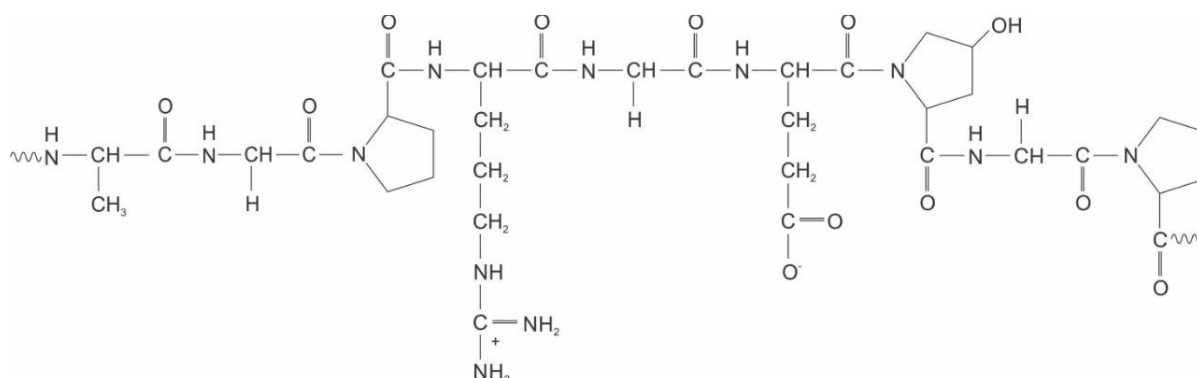
O uso da nanotecnologia pode ser viável para conferir ainda mais resistência mecânica a filmes de HPMC (Lorevice, Moura & Mattoso, 2014; Otoni, Carvalho, Cardoso, Bernardinelli, Lorevice, Colnago, Loh & Mattoso, 2018). George, Kumar, Sajeevkumar, Ramana, Rajamanickam, Abhishek & Nadanasabapathy (2014) estudaram a influência de nanocristais de biocelulose isolados com ácido clorídrico e nanopartículas de prata em filmes de HPMC. Os autores relataram aumento nas propriedades mecânicas (resistência à tração e módulo de elasticidade) quando os nanocristais foram adicionados.

3.5.2 Gelatina

A gelatina é um biopolímero extremamente versátil, sendo aplicada em diversas áreas da indústria, dentre elas a alimentícia e a farmacêutica. Isso se deve às suas características, tais como: biodegradabilidade, biocompatibilidade e fonte abundante (Bang, Shankar & Rhim, 2019). Além disso, possuem propriedades

espessantes, gelificantes, emulsificantes e espumantes, o que justifica seu extensivo uso nas referidas áreas (Morrison, Clark, Chen, Talashek & Sworn, 1999). A estrutura química da gelatina encontra-se ilustrada na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura química da gelatina



Fonte: própria autora

A gelatina é obtida através da hidrólise parcial do colágeno. O colágeno pode ser encontrado em ossos, cartilagens ou peles, sendo os tecidos oriundos de bovinos e suínos as suas principais fontes. Outras fontes alternativas também são exploradas por fatores socioeconômicos e culturais, como pele de peixes e aves (Hanani, Roos & Kerry, 2014).

Para que a gelatina seja obtida, ocorre, portanto, a desnaturação do colágeno e consequente perda de sua estrutura tridimensional. Isso pode ser alcançado por processos químicos, enzimáticos ou térmicos. A obtenção industrial da gelatina envolve três etapas: pré-tratamento da matéria-prima, extração e por fim, a purificação/secagem. A primeira etapa define o tipo de gelatina obtida. Essa etapa consiste na conversão de colágeno em gelatina e pode ocorrer por uma de duas vias: um pré-tratamento ácido, que produz gelatina do tipo A, ou ainda, um pré-tratamento alcalino, que produz gelatina do tipo B (Ahmad, Ismail, Ahmad, Khalil, Kumar, Adeyemi & Sazili, 2017).

A gelatina possui capacidade filmogênica satisfatória, sendo um dos primeiros materiais usados como matriz biopolimérica na obtenção de filmes. Ainda continua sendo muito utilizada para esse fim uma vez que os mesmos apresentam propriedades mecânicas satisfatórias para determinadas aplicações no quesito

resistência à tração e deformação (Vanin, Sobral, Menegalli, Carvalho & Habitante, 2005).

Por outro lado, uma das características que limitam bastante o uso de filmes de gelatina em substituição aos tradicionais derivados do petróleo é o fato de os primeiros apresentarem altas taxas de permeabilidade a vapor de água e alta solubilidade em água (Shankar, Jaiswal, Selvakannan, Ham & Rhim, 2016; Riahi, Priyadarshi, Rhim & Bagheri, 2020).

Uma das formas de melhorar as propriedades funcionais dos filmes de gelatina e aumentar a sua gama de aplicação é reforçá-los com materiais nanoestruturados, como as nanoceluloses, por exemplo. Leite, Bilatto, Paschoalin, Soares, Moreira, Oliveira, Mattoso & Bras (2020) adicionaram nanocristais de celulose funcionalizados em matrizes de gelatina e obtiveram filmes com melhores propriedades mecânicas e de barreira. Haghighi, Gullo, La China, Pfeifer, Siesler, Licciardello & Pulvirenti (2020) também observaram incremento nas propriedades de barreira ao vapor de água e aumento da resistência à tração e deformação ao adicionar nanocristais de celulose bacteriana em matrizes constituídas de gelatina e álcool polivinílico.

3.5.3 Pectina

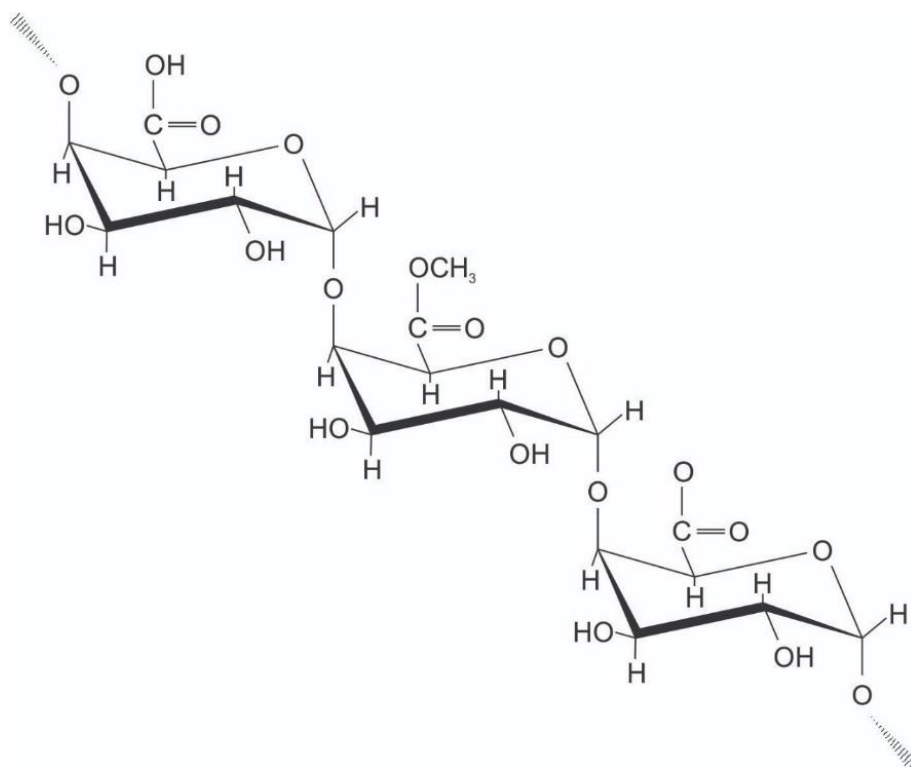
A pectina é um polissacarídeo encontrado na parede celular vegetal e nas camadas intercelulares de algumas plantas. Comercialmente, é extraída principalmente de cascas de frutas cítricas e bagaço de maçã obtidos de subprodutos da indústria de sucos (Qiu, Cai, Wang & Yan, 2019).

A pectina é utilizada na indústria de alimentos como espessante, agente gelificante, emulsificante e estabilizante. 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, Sanjinez-Argandoña & Soares-Júnior, 2010; Zhang, Zhang, Zhang, Decker & McClements, 2015).

É quimicamente constituída por ácidos poli alfa 1-4 galacturônicos, possuindo diferentes graus de metoxilação (GM). De acordo com a Organização das Nações

Unidas para a Alimentação e Agricultura, deve ser constituída de, no mínimo, 65% de ácido galacturônico (Maxwell, Belshaw, Waldron & Morris, 2012). A Figura 5 ilustra a estrutura química da pectina.

Figura 5 – Estrutura química da pectina



Fonte: própria autora

A pectina pode ser classificada de acordo com o grau de metoxilação em duas classes: pectina de alto GM, quando contiver grau de esterificação superior a 50%; e pectina de baixo GM, quando o percentual de grupamentos esterificados for inferior a 50%. As pectinas de baixo GM podem conter também grupamentos amida na cadeia, sendo classificadas como pectinas amidadas de baixa esterificação. Os graus de metoxilação e de amidação influenciam fortemente nas propriedades funcionais da pectina, como solubilidade, capacidade, temperatura e condições de gelificação. (Videcoq, Garnier, Robert & Bonnin, 2011).

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 (Maxwell, Belshaw, Waldron & Morris, 2012; Chan, Choo, Young, & Loh, 2017).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Obter nanocristais a partir de resíduos de celulose bacteriana oriundos da indústria de curativos utilizando hidrólise ácida. Sequencialmente, aplicar esses nanocristais em filmes à base de gelatina, hidroxipropilmetilcelulose e pectina com o intuito de melhorar as propriedades finais dos filmes, especialmente as mecânicas e as de barreira ao vapor de água.

4.2 Objetivos específicos

- Definir as melhores concentrações de nanocristais a serem utilizados nas matrizes poliméricas e compreender como se relacionam com as propriedades dos nanocompósitos em forma de filmes;
- Otimizar a dispersão dos nanocristais de celulose bacteriana nas matrizes poliméricas e estudar como o método de preparo dos filmes pode influenciar nas propriedades finais dos filmes.
- Investigar o comportamento dos nanocristais de celulose bacteriana em cada uma das matrizes utilizadas para a obtenção dos filmes para fins de comparação. Espera-se que os nanocristais de celulose interajam de forma diferente com polímeros aniônicos, neutros e catiônicos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Material

Gelatina (CAS 9000-70-8; Dinâmica Química Contemporânea, Brasil), HPMC Methocel® K4M (CAS 9004-65-3; Dow Chemical Company, Brasil; razão média de metoxil/hidroxipropil: 2,26), pectina (CAS 9000-69-5; gentilmente doada pela CP Kelco, Brasil; grau de metoxilação > 50%), cloreto de sódio (CAS 7440-23-5; Sigma-Aldrich, EUA), e ácido sulfúrico (CAS 7664-93-9; Êxodo Científica, Brasil) foram usados sem purificação adicional. Sobras de CB resultantes das operações de corte de filmes usados para produção comercial de curativos foram gentilmente cedidos pela Nexfill® (Brasil) e utilizados na obtenção de NCCB. Água Milli-Q deionizada (Millipore Corp., EUA; resistividade de 18,2 MΩ) foi usada em todas as investigações.

5.2 Métodos

5.2.1 Isolamento dos nanocristais de celulose bacteriana (NCCB)

Primeiramente, os resíduos de CB foram triturados até que adquirissem a aparência de um pó fino e então foram hidrolisados com solução de ácido sulfúrico a 64% em massa, seguindo a metodologia proposta por Lima, Santos, Santos, Barud, Henrique, Pasquini, Pecoraro & Ribeiro (2015). Na Figura 6 podem ser observados os resíduos de CB utilizados para a obtenção dos NC.

Figura 6 – Resíduos de celulose bacteriana antes (A) e após (B) a trituração



Fonte: própria autora

A CB triturada foi adicionada à solução de ácido sulfúrico mediante agitação mecânica a 500 rpm em banho termostático de 50 °C por 50 minutos. Para cada grama de CB foram utilizados 17,5 mL da solução do ácido sulfúrico a 64% (m/m).

Posteriormente, a suspensão de NCCB obtida foi lavada com água gelada, adicionando-se 10 partes de água para cada parte de suspensão e logo em seguida foi centrifugada a 6000 rpm por 10 minutos para remover o excesso de ácido sulfúrico. O sobrenadante foi descartado e, por fim, os sedimentos foram coletados e ressuspensos com água destilada para serem então colocados dentro de uma membrana de diálise. A membrana foi colocada contra água destilada até que o pH da suspensão ficasse em torno de 6.

Após o término do processo de diálise foi determinada a concentração de NCCB através da quantidade de sólidos totais obtidos após secagem em estufa a 70°C por 24h. Esse método é conhecido como “método de secagem em estufa” para determinação de sólidos totais. A concentração obtida foi em torno de 2% (m/m).

5.2.2 Obtenção dos filmes bionanocompósitos

Foram preparados três tipos de filmes variando-se o biopolímero utilizado como matriz: HPMC, gelatina e pectina. Inicialmente foram testadas diferentes

concentrações de polímero para que fosse possível obter filmes manuseáveis (2%, 5%, 7% e 10% em massa de polímero em relação à massa de solvente), tendo o cuidado de manter as mesmas concentrações de polímero em todas as dispersões de forma que não houvesse variação de massa final nos filmes após a secagem. Após os testes iniciais foi escolhida a concentração de 2% (m/m). Esse controle foi feito para propiciar uma melhor condição de comparação dos efeitos da adição dos nanocristais em cada tipo de filme, uma vez que a quantidade de sólidos foi praticamente a mesma em todos eles.

Os filmes foram conformados através da evaporação do solvente de dispersões contendo 2% (m/m) de polímero e NCCB. Esse processo é conhecido como *solvent casting* ou simplesmente *casting*. Foi estudada a influência da concentração de NCCB nas propriedades físico-mecânicas dos filmes. Para isso, três concentrações diferentes do agente de reforço foram utilizadas: 2,5%, 5% e 10% (base seca), calculadas em relação à massa de polímero usada para o preparo de cada filme. Foram também preparados filmes controle contendo apenas água destilada e polímero (gelatina ou HPMC ou pectina).

A pectina e a HPMC foram inicialmente dispersas em água destilada e posteriormente os NCCB foram adicionados. A mistura permaneceu em agitação magnética por mais 30 minutos após a incorporação dos NCCB.

Após o preparo das dispersões formadoras de filme (DFF), as mesmas foram degasadas utilizando uma bomba de vácuo até que não fosse mais possível a visualização de bolhas a olho nu. Após esse processo, as dispersões foram vertidas sobre um substrato de poli(tereftalato) de etileno com o auxílio de uma barra de nível para controle de espessura e ali permaneceram por 24 h a 25 ± 5 °C para que o solvente evaporasse. Os filmes foram então retirados do suporte e equilibrados à umidade relativa (UR) de 50% por no mínimo 48h antes de todas as caracterizações.

A Figura 7 corresponde ao filme de HPMC em processo de secagem.

Figura 7 – Filme de HPMC em processo de secagem



Fonte: própria autora

As amostras foram nomeadas utilizando as seguintes abreviaturas: G (gelatina 2% m/m), H (HPMC 2% m/m), P (pectina 2% m/m), 25 (quando foi adicionado 2,5% de NCCB na dispersão, calculado em relação à massa de polímero) e 5 (quando foi adicionado 5% de NCCB na dispersão, calculado também em relação à massa de polímero), e 10 (quando foi adicionado 10% de NCCB na dispersão, calculado em relação à massa do polímero).

5.2.2.1 *Otimização da dispersão dos NCCB nas matrizes poliméricas*

Com o objetivo de melhorar a dispersão dos NCCB nas matrizes poliméricas, cada composição filmogênica foi submetida à homogeneização a 10.000 rpm por 2 minutos usando um Ultra-Turrax® T18 (IKA, Alemanha). Para cada tratamento foram preparados filmes usando apenas agitação magnética (500 rpm) para comparar. As amostras que receberam o tratamento com alta energia foram nomeadas com a letra “T”, em referência ao nome do equipamento utilizado no processo.

5.2.3 Caracterização dos nanocristais de celulose bacteriana (NCCB)

5.2.3.1 *Microscopia eletrônica de transmissão (MET) dos NCCB*

As suspensões de NCCB foram diluídas para 0,01% em massa com água ultrapura e devidamente dispersas foram depositadas em grades de malha de cobre ultrafino de carbono e tingidas por uma solução de acetato de uranila a 2%. As grades foram secas à temperatura e umidade ambientes e fotografadas em um microscópio eletrônico JEM-1400 PLUS operando em modo de transmissão (JEOL Inc., EUA).

5.2.3.2 *Potencial zeta aparente das suspensões de NCCB*

O potencial zeta aparente de suspensões de NCCB a 2% em massa foi determinado por meio de medições de mobilidade eletroforética a 25 °C em analisador Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Reino Unido) à temperatura ambiente. As medições foram realizadas em triplicata.

5.2.3.3 *Difração de raios X (DRX) dos filmes de NCCB*

Os filmes formados pela suspensão de NCCB foram fixados em um suporte de vidro e analisados em um difratômetro DRX-6000 (Shimadzu, Japão) com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) usando um passo de $0,01^\circ$ e ângulos de Bragg (2θ) variando de 4 a 60° a 1° min^{-1} , voltagem de kV e corrente de 30 mA.

5.2.4 Caracterização dos filmes nanocompósitos

5.2.4.1 *Análise subjetiva dos filmes*

Os parâmetros de avaliação dos melhores filmes baseiam-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) (Monterrey & Sobral, 1999).

5.2.4.2 *Propriedades mecânicas dos filmes*

Os filmes foram cortados de acordo com o especificado na ASTM D882/12 e caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas sob tensão - tensão na ruptura, deformação na ruptura e módulo de elasticidade à temperatura de 25 °C. As medidas foram realizadas em uma máquina de ensaio universal (modelo 3369, Instron Corp, Canton-MA, EUA), operando com uma célula de carga de 500 N e esticando as amostras em 10 mm.min⁻¹. Os resultados relatados são a média de pelo menos 9 amostras por tratamento. Os ensaios de tração foram realizados a 50% de UR.

5.2.4.3 *Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes*

A PVA dos filmes foi medida de acordo com a ASTM E96 – 95 com algumas modificações. Primeiramente, as amostras foram cortadas em círculos de 6 cm de diâmetro e fixadas em uma célula padrão contendo 6 mL de água destilada. Em seguida, foram armazenados em estufa a 25 ± 5 °C e UR de 50 ± 5%. A Figura 8 ilustra a célula utilizada para os testes.

Figura 8 – Filme cortado e célula utilizada para realizar as medidas de PVA



Fonte: própria autora

Foram realizadas seis medidas das massas das células em balança analítica durante um período total de 25 h (no início do teste e após 1 h, 2 h, 23 h, 24 h e 25 h). O teste foi realizado em triplicata para cada filme e cada experimento foi repetido três vezes. A espessura do filme foi medida em micrômetro digital (Mitutoyo, Japão) com resolução de 0,001 mm e capacidade de 0-25 mm. As medições foram realizadas em cinco pontos aleatórios ao longo de cada amostra de filme. A umidade relativa foi determinada através do método ASTM E96-80 com algumas modificações (McHugh, Avena-Bustillos & Krochta, 1993).

5.2.4.4 *Ângulo de contato dos filmes elaborados com protocolo de alta energia*

As medidas de ângulo de contato foram realizadas através de um medidor de ângulo de contato (KSV Instruments – Helsinki, Finlândia), na Embrapa Instrumentação de São Carlos - SP. Para a análise, uma gota (5-9 μL) do líquido padrão (água ultrapura) foi depositada sobre a superfície do filme com o auxílio de uma seringa de precisão. Foram realizadas medidas em pelo menos cinco pontos para cada filme e o ângulo monitorado durante 60 segundos. O ângulo de contato médio corresponde à média aritmética dos ângulos determinados nas extremidades direita e esquerda da gota.

5.2.4.5 *Umidade dos filmes elaborados com protocolo de alta energia*

A umidade dos filmes foi determinada coletando-se 3 (três) amostras de filme com cerca de 4 cm de área, tendo sido previamente medidas as suas respectivas massas em balança analítica e em seguida colocadas em estufa a 105 °C por 24 h. O cálculo da umidade foi realizado utilizando-se a equação:

$$U = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100$$

Em que U é a porcentagem de umidade, m_i é a massa inicial e m_f é a massa final do filme após secagem.

5.2.4.6 *Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes elaborados com protocolo de alta energia*

A morfologia dos filmes foi analisada por MEV em um microscópio EVO LS15 (Zeiss, Alemanha). As amostras foram crio-fraturadas em nitrogênio líquido, colocadas em suporte de alumínio usando uma fita de carbono de dupla face (Ted Pella Inc., Redding, EUA) e revestidas com uma fina camada de liga de ouro / paládio por pulverização catódica em um Quorum Q150T E. Foram utilizadas ampliações de 1.000 a 10.000 x e uma tensão de aceleração de 10 kV.

5.2.4.7 *Difração de raios X (DRX) dos filmes elaborados com protocolo de alta energia*

Os filmes foram fixados em um suporte de vidro e analisados em um difratômetro DRX-6000 (Shimadzu, Japão) com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) usando um passo de $0,01^\circ$ e ângulos de Bragg (2θ) variando de 4 a 60° a 1° min^{-1} , voltagem de kV e corrente de 30 mA.

5.2.4.8 *Termogravimetria (TG) dos filmes elaborados com protocolo de alta energia*

As análises foram feitas no aparelho SDT Q600 (TA *Instruments*) utilizando cerca de 5 - 6 mg de amostra. Os experimentos foram realizados com programação de rampa de aquecimento de 20°C até 600 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min. A vazão de nitrogênio foi mantida em 100 mL.min⁻¹. Todas as análises foram feitas em triplicata.

5.2.4.9 *Análise estatística*

Os respectivos dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão (DP). O experimento foi realizado em triplicata e os dados foram analisados no Statistica 10.0 (Stat Soft, Inc., EUA), através de análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey com nível de significância de 95%.

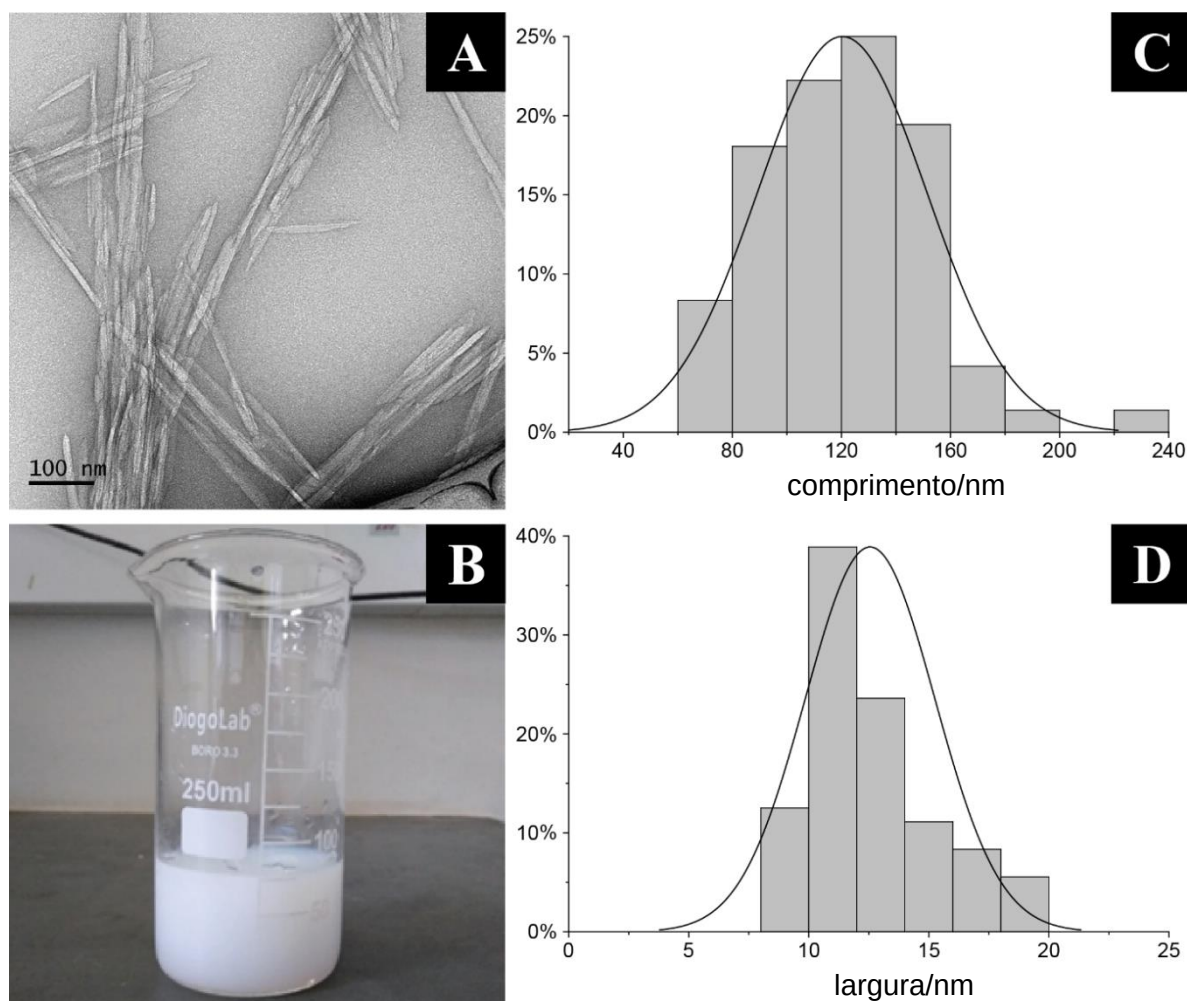
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Suspensões de nanocristais de celulose bacteriana (NCCB)

A suspensão de nanocristais de celulose bacteriana e as micrografias obtidas por MET da solução diluída de NCCB são mostradas na Figura 9B. Os nanocristais apresentaram comprimento médio de 120 ± 31 nm (Figura 9C) e largura média de 13 ± 3 nm (Figura 9D). Dessa forma, os NCCB exibem uma razão de aspecto, ou seja, comprimento sobre largura, de aproximadamente 10 ± 3 .

As dimensões dos nanocristais foram determinadas através do software *ImageJ* aplicado às micrografias obtidas por MET. Foram utilizadas no mínimo 100 medidas de comprimento e largura para determinação das médias. As dimensões dos nanocristais estão de acordo com os valores relatados na literatura, isto é, de 5 a 30 nm (Lima, Santos, Santos, Barud, Henrique, Pasquini, Pecoraro & Ribeiro, 2015; Foster, Moon, Agarwal, Bortner, Bras, Camarero-Espinosa, Youngblood et al., 2018).

Figura 9 – Micrografia dos NCCB obtidas por MET (A), suspensão de NCCB (B), distribuição de comprimento dos NCCB (C) e distribuição de largura dos NCCB (D)



Fonte: própria autora

Foram obtidas suspensões estáveis de nanocristais de celulose bacteriana por hidrólise com ácido sulfúrico na concentração de 2% (m/m). Os NCCB se encontraram altamente carregados negativamente na suspensão coloidal dispersa. O valor do potencial zeta encontrado foi de $-44,84 \pm 4,50$ mV. El Achaby, Miri, Hannache, Gmouh & Aboulkas (2018) também obtiveram valor potencial zeta negativo em torno de -36 mV e atribuíram esse valor à inserção de grupos sulfato durante o processo de hidrólise com sulfúrico, resultando em repulsões eletrostáticas efetivas.

Valores de potencial zeta acima de 15 mV indicam estabilidade da suspensão aquosa, contribuindo para a melhor separação dos nanocristais um do outro. A carga superficial foi afetada pela hidrólise ácida. Resultados elevados de potencial zeta com

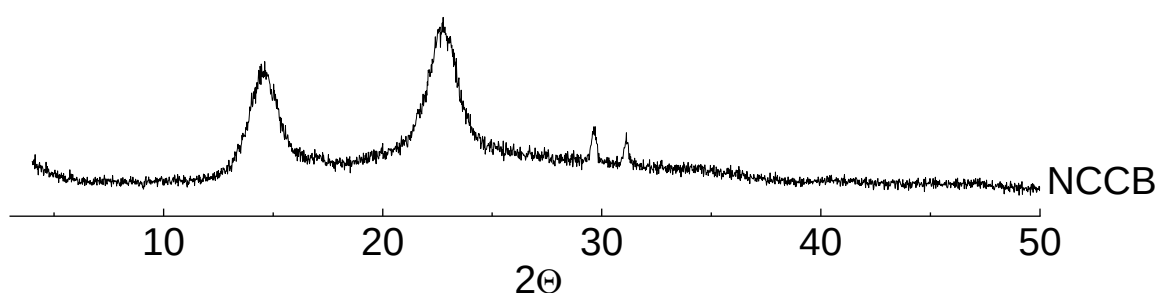
carga negativa ocorrem devido à indução da conversão dos grupos hidroxila em grupos éster sulfato na superfície do NCCB durante o tratamento com ácido sulfúrico (El Achaby, Miri, Hannache, Gmouh & Aboulkas 2018).

Os filmes de NCCB foram analisados por difração de raios X, cujos resultados são apresentados na Figura 10. A difração de raios X ilustra que o tratamento com ácido removeu a fase amorfa da celulose bacteriana, de modo que o pico agudo está relacionado à sua fase cristalina. O DRX foi realizado com a celulose antes do tratamento ácido para comparação. Os resultados confirmam o isolamento dos nanocristais através dos resíduos dos filmes de celulose bacteriana.

O DRX (Figura 10) confirma a alta cristalinidade dos NCCB de 88%, semelhante a outros trabalhos. Para o cálculo da cristalinidade foi utilizada a equação de Segal através dos difratogramas de raios X (Lima, Santos, Santos, Barud, Henrique, Pasquini, Pecoraro & Ribeiro, 2015).

Também foi possível observar através dos difratogramas que a estrutura cristalina típica da celulose tipo I permaneceu ilesa após a hidrólise ácida. Especificamente, os três picos agudos $14,6^\circ$, $16,9^\circ$ e $22,7^\circ$.

Figura 10 – DRX do filme dos NCCB confirmando sua estrutura cristalina



Fonte: própria autora

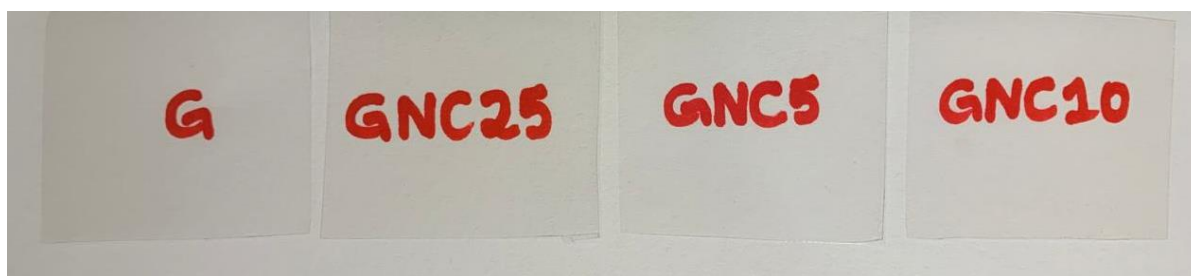
6.2 Filmes nanocompósitos

6.2.1 Filmes nanocompósitos à base de gelatina

6.2.1.1 Propriedades subjetivas e valores de espessura dos filmes de gelatina

Os filmes compostos de gelatina reforçados com NCCB apresentaram-se macroscopicamente contínuos (desprovidos de falhas macroscópicas), homogêneos (sem diferença de cores ou textura ao longo do filme) e flexíveis (flexível o suficiente para manipular e ser destacado da superfície usada como substrato sem que sua integridade fosse prejudicada). Todos os filmes apresentaram a mesma espessura, com valor médio de $25 \pm 3 \mu\text{m}$. A Figura x corresponde à fotografia digital dos filmes de gelatina puros e dos filmes reforçados com NCCB nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%, respectivamente.

Figura 11 – Fotografia digital dos filmes de gelatina puros e dos filmes reforçados com NCCB nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%



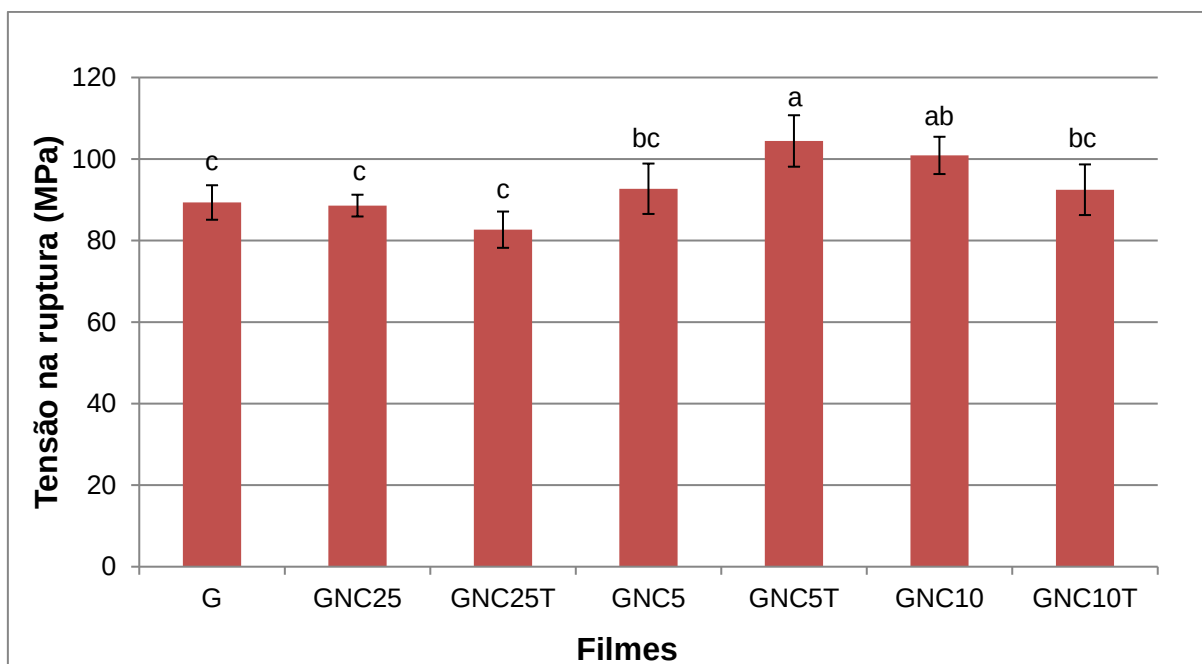
Fonte: própria autora

6.2.1.2 Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina

Nas Figuras 12 e 13 são apresentados os valores de tensão na ruptura e módulo de elasticidade dos filmes à base de gelatina, respectivamente. Os filmes contendo NCCB nas concentrações de 5% e 10% em massa apresentaram um aumento nos valores de tensão na ruptura, sendo o maior valor médio encontrado nos filmes que continham 5% de NCCB preparados através do protocolo de alta energia. Já a adição de 2,5% de NCCB não causou mudança significativa nos valores de tensão na ruptura em relação aos filmes controle.

Pode-se inferir também, através da análise dos dados, que a homogeneização em alta ou baixa energia não causou mudanças significativas ($p < 0,05$) nos valores de tensão na ruptura dos filmes contendo 2,5% de NCCB.

Figura 12 – Valores de tensão na ruptura dos filmes de gelatina



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abc} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

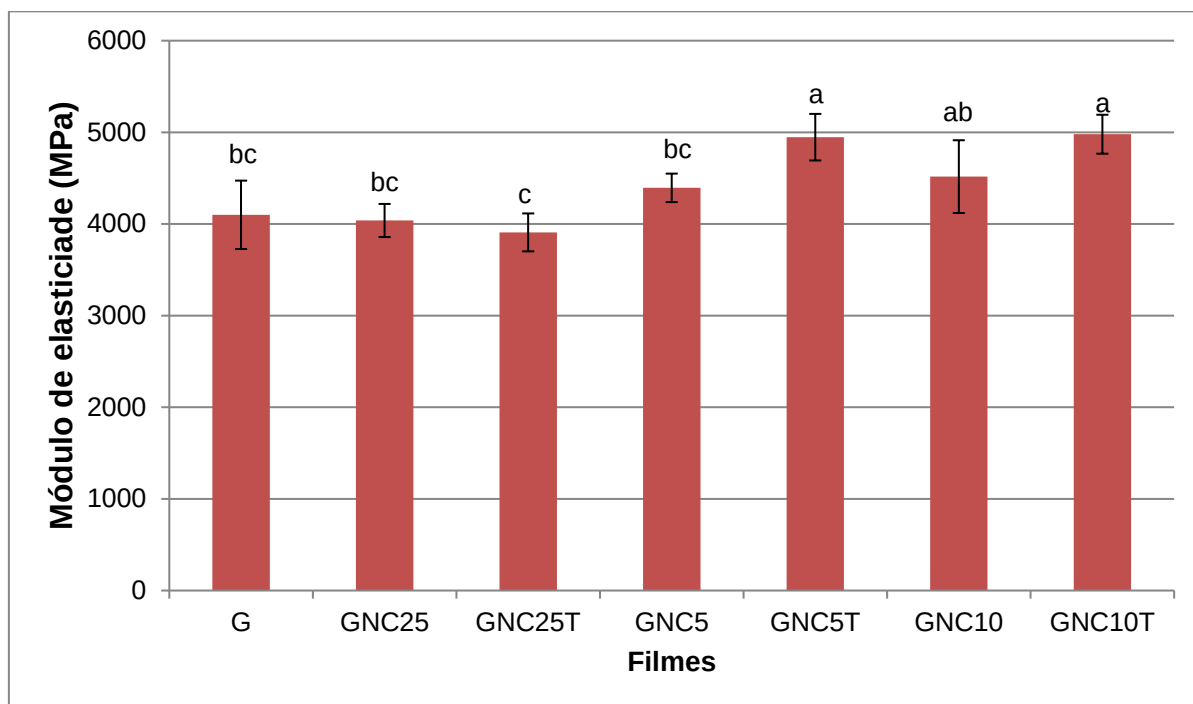
Fonte: própria autora

Os valores de módulo de elasticidade (módulo de Young) (Figura 13) também estão consoantes com os dados de tensão na ruptura, uma vez que nas concentrações de 5% e 10% em massa de NCCB os filmes tornaram-se mais rígidos quando o protocolo de mistura com alta energia foi empregado. A concentração de 2,5% de NCCB não foi suficiente para promover maior rigidez aos filmes de gelatina e, portanto, apresentaram os menores valores de módulo de elasticidade. Isso pode ser resultado de uma baixa concentração do agente de reforço ou devido à má distribuição das nanoestruturas na matriz.

Nanocristais de celulose em formato de bastão têm bastante tendência em formar agregados devido às ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas de sua superfície, o que dificulta sua dispersão no polímero. George & Siddaramaiah (2012) adicionaram NCCB em diferentes concentrações em matrizes de gelatina e observaram que concentrações acima de 4% em massa houve redução da resistência à tração, módulo de Young e alongação na ruptura. Os autores ressaltaram ainda que o sucesso na transferência de tensão e consequente melhora no desempenho

mecânico dos filmes estão relacionados não só a uma boa dispersão dos NC na matriz como também em como esses nanomateriais estão interagindo com o polímero.

Figura 13 – Valores de módulo de elasticidade dos filmes de gelatina



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abc} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Já nos filmes reforçados com 5% e 10% de NCCB o método de preparo usando alta energia contribuiu para aumentar a rigidez dos filmes. Diversos trabalhos relataram o efeito de reforço de nanocristais de celulose em filmes à base de gelatina (George & Siddaramaiah, 2012; Alves, Dos Reis, Menezes, Pereira & Pereira, 2015). No entanto, há um consenso de que vários são os fatores a serem levados em consideração no preparo e homogeneização das fases para se obter materiais com propriedades melhoradas.

Na tabela 1 são apresentados os valores de deformação dos filmes. A adição de NCCB causou diminuição na porcentagem de alongação dos filmes em alguns dos tratamentos (2,5% e 10% de NCCB elaborados segundo protocolo de alta e baixa energia). Os filmes contendo 10% de NCCB elaborados utilizando o protocolo de baixa energia apresentaram os menores valores de deformação.

Tabela 1 – Deformação dos filmes de gelatina

Filmes	Deformação (%)
G	3,45 ± 0,39 ^a
GNC25	2,58 ± 0,37 ^{bc}
GNC25T	3,03 ± 0,54 ^{abc}
GNC5	3,70 ± 0,40 ^a
GNC5T	3,41 ± 0,52 ^a
GNC10	2,22 ± 0,36 ^c
GNC10T	3,21 ± 0,14 ^{ab}

Os valores são expressos como a média ± DP (n = 9). ^{abc} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa (p<0,05).

Fonte: própria autora

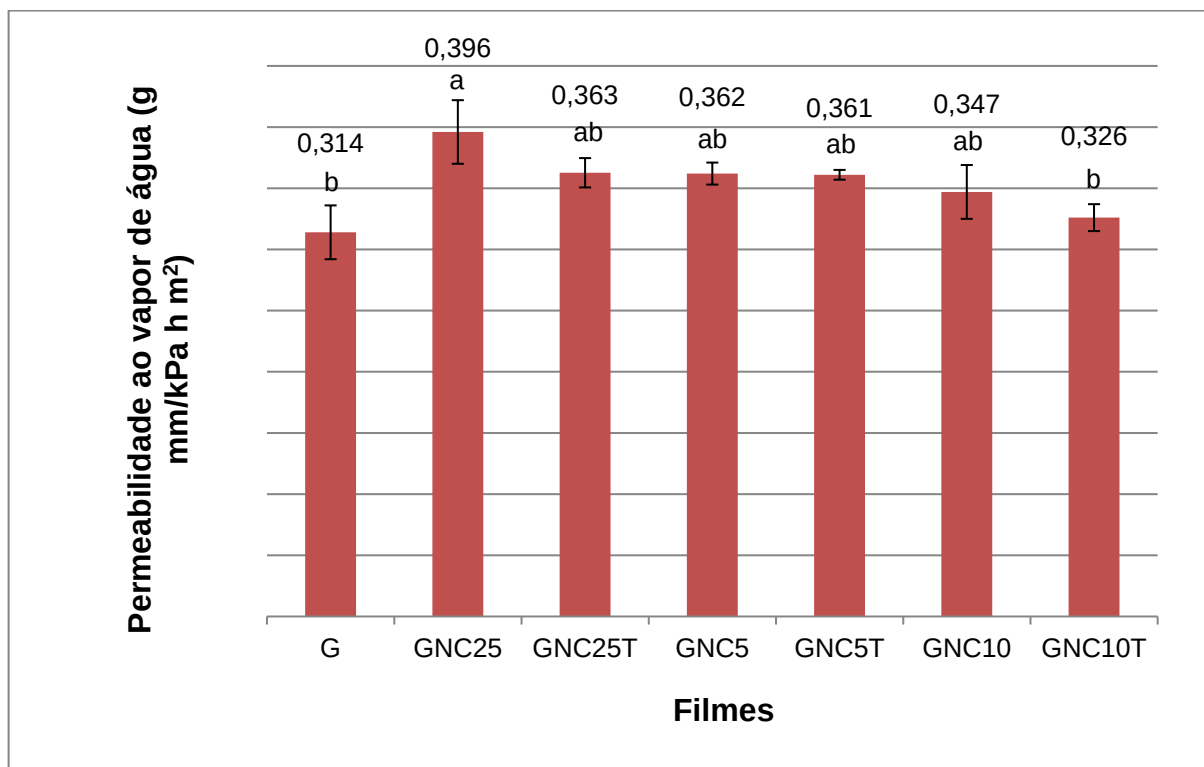
Nos demais filmes não houve mudança significativa desses valores (p<0,05) quando comparados aos filmes controle e os valores médios das porcentagens de alongação foram próximos em todos os filmes. Esse resultado é promissor para área de materiais de embalagem, uma vez que a extensibilidade dos filmes é um fator relevante para diversas aplicações. Em geral, a adição de agentes de preenchimento reduz a alongação dos filmes, diminuindo, assim, a tenacidade desses materiais, o que acaba não sendo tão viável em alguns casos em que essa última propriedade é requerida.

6.2.1.3 Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina

Os valores de PVA dos filmes de gelatina podem ser visualizados na Figura 14. A adição dos NCCB aumentou a PVA dos filmes na maioria das concentrações testadas (exceto nos filmes GNC10T em que não houve mudança significativa, considerando p<0,05, em relação ao controle).

O método de processamento usado para a obtenção dos filmes também não contribuiu para a diminuição da PVA.

Figura 14 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata (n = 9). ^{ab} Letras diferentes indicam uma diferença significativa (p<0,05).

Fonte: própria autora

Ainda que a adição dos nanocristais não tenha causado diminuição da PVA em todas as concentrações de NCCB testadas, os valores obtidos são baixos quando comparados a outras matrizes à base de polímeros naturais, como por exemplo, os filmes de HPMC, que podem apresentar PVA de até $1,5 \text{ g mm kPa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ a depender do tipo de HPMC utilizado conforme descrito por Otoni, Lorevice, de Moura & Mattoso, (2018). Lorevice, Otoni, de Moura & Mattoso (2016) também encontraram valores de PVA em torno de $1,5 \text{ g mm kPa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ para filmes de pectina de alto e baixo grau de metoxilação.

Baixos valores de PVA possibilitam a aplicação desses filmes como material de embalagem em produtos nos quais as trocas de umidade entre o meio externo e interno necessitem ser controladas. Filmes à base de proteínas quando comparados

aos filmes de polissacarídeos possuem melhores propriedades de barreira ao vapor de água e a oxigênio. Isso se deve ao fato de os primeiros possuírem alta densidade de energia coesiva e também devido à sua natureza polar.

Vale lembrar que o agente de reforço aqui utilizado tem caráter hidrofílico, assim como a matriz formadora dos filmes. Isso ajuda a explicar o pouco incremento na propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes nanoestruturados. É importante destacar também que matrizes à base de proteínas apresentam estruturas químicas mais lineares e pouco volume livre entre as cadeias, o que pode estar relacionado com a pouca efetividade do agente de preenchimento usado na diminuição da PVA, uma vez que esses valores já são considerados baixos (Krochta, 2002).

Alguns autores relataram diminuição da PVA quando nanocristais de celulose foram adicionados em uma matriz de gelatina de peixe em concentrações superiores a 15% em massa e atribuíram essa melhora à baixa higroscopicidade dos nanocristais e aumento da cristalinidade do biopolímero formador dos filmes (Santos, Men de Sá Filho, Caceres, Rosa, Morais, Pinto & Azeredo, 2014).

Leite et al. (2020) também relataram diminuição de 55% na PVA de filmes de gelatina quando 0,5% em massa de nanocristais funcionalizados foram adicionados. Nesse trabalho foi utilizada uma baixa concentração de agente de reforço e os autores atribuíram esse resultado a uma diminuição dos grupamentos hidrofílicos livres da matriz de gelatina, o que acabou dificultando a difusão de vapor de água através do filme.

6.2.1.4 *Ângulo de contato dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia*

O ângulo de contato é uma medida que indica a hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade da superfície dos filmes e é usada também para prever a molhabilidade dos filmes. Quanto maior a molhabilidade maior a área de contato entre a superfície e a água e menor será o ângulo de contato formado entre o líquido e a superfície.

Nesse sentido, ângulos de contato menores que 90 ° são característicos de superfícies hidrofílicas, ângulos de contato maiores que 90 ° sugerem superfícies

hidrofóbicas, e, por fim, ângulos superiores a 150° são característicos de superfícies super-hidrofóbicas (Starov, Zhdanov, Kosvintsev, Sobolev & Velarde, 2003).

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios dos ângulos de contato determinados na extremidade direita e esquerda de cada gota de água depositada nos filmes de gelatina no tempo inicial ($t = 0$ s).

Os filmes de gelatina puros apresentaram ângulo de contato médio no tempo inicial igual a $83 \pm 8^\circ$. Não houve mudança significativa nesses valores após a adição dos nanocristais. Esses valores estão de acordo com os já explorados nas propriedades de barreira ao vapor de água. Como pode ser observado, a adição dos NCCB não resultou em mudança do caráter hidrofílico dos filmes (Tabela 2), uma vez que esses valores permaneceram abaixo de 90° (Iost & Raetano, 2010).

Tabela 2 – Ângulo de contato dos filmes de gelatina no tempo inicial para os filmes elaborados com protocolo de alta energia

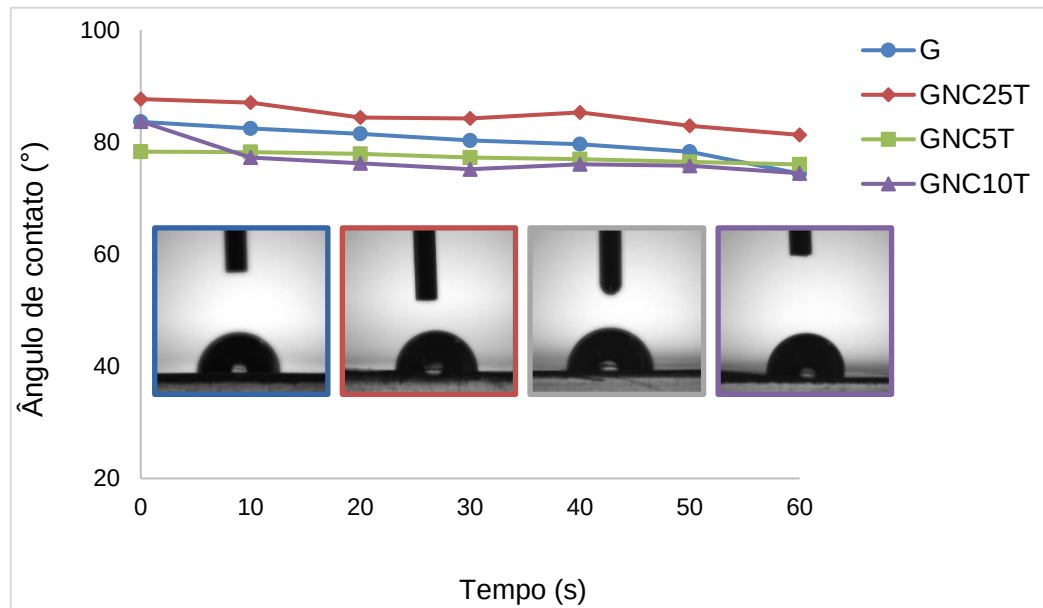
Filmes	Ângulo de contato ($^\circ$)
G	83 ± 8^a
GNC25T	87 ± 4^a
GNC5T	78 ± 7^a
GNC10T	83 ± 9^a

Os valores são expressos como a média $\pm$ DP ($n = 9$). ^a Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Na figura 15 é possível observar a variação da medida dos ângulos de contato ao longo dos 60 segundos de duração do ensaio juntamente com as imagens das gotas sobre cada tipo de filme e os ângulos formados entre a gota e o filme no tempo inicial registrado no teste.

Figura 15 - Ângulo de contato dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia e imagens das gotas em 0 s.



Fonte: própria autora

6.2.1.5 Umidade dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia

Na Tabela 3 são apresentados os valores de umidade dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de mistura de alta energia. A gelatina é composta por uma gama de aminoácidos hidrofílicos que podem absorver grandes quantidades de água do ambiente. Por esse motivo a resistência à umidade dos filmes à base de gelatina deve ser melhorada, especialmente quando esses materiais forem utilizados como embalagem para alimentos úmidos (George & Siddaramaiah, 2012).

Tabela 3 – Umidade dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia

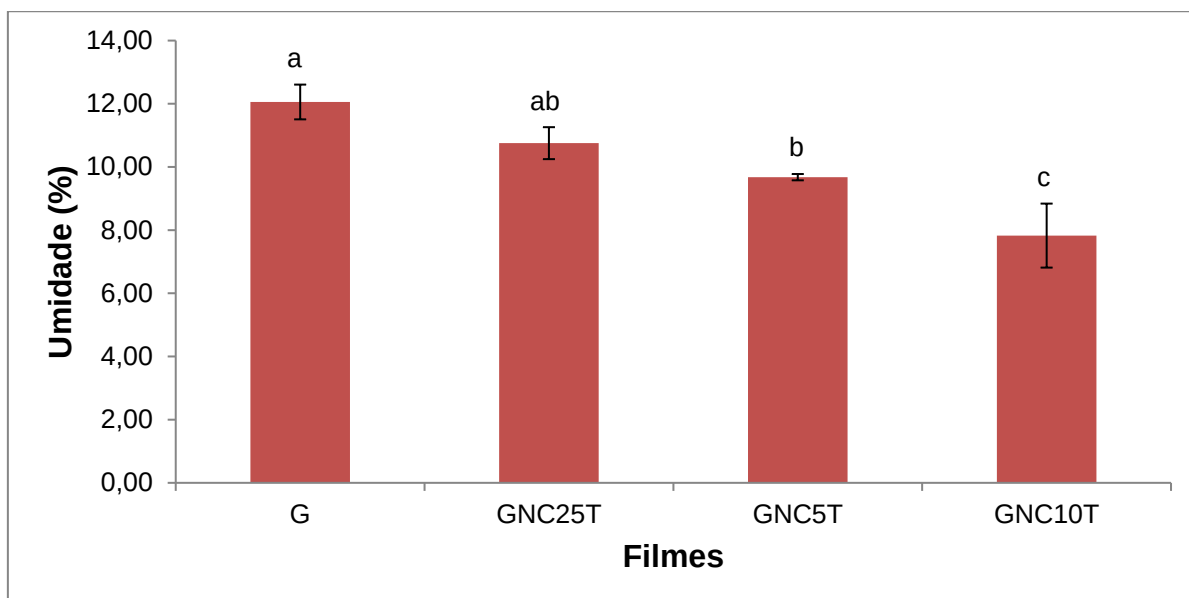
Filmes	Umidade (%)
G	12,06 ^a
GNC25T	10,75 ^{ab}
GNC5T	9,68 ^b
GNC10T	7,83 ^c

Os valores são expressos como a média $\pm$ DP (n = 9). ^{abc} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa (p<0,05).

Fonte: própria autora

Como pode ser observado, houve um decréscimo da umidade com a adição dos NCCB. Conforme a concentração de NCCB aumentou na matriz, a umidade dos filmes diminuiu. Na figura 16 é possível verificar o padrão de redução juntamente com os valores de desvio-padrão. George & Siddaramaiah (2012) atribuíram esse efeito à interação entre os NCCB e os sítios hidrofílicos da gelatina, substituindo, assim, os possíveis locais de interação gelatina/moléculas de água.

Figura 16 – Umidade dos filmes à base de gelatina elaborados com protocolo de alta energia



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata (n = 9). ^{abc} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

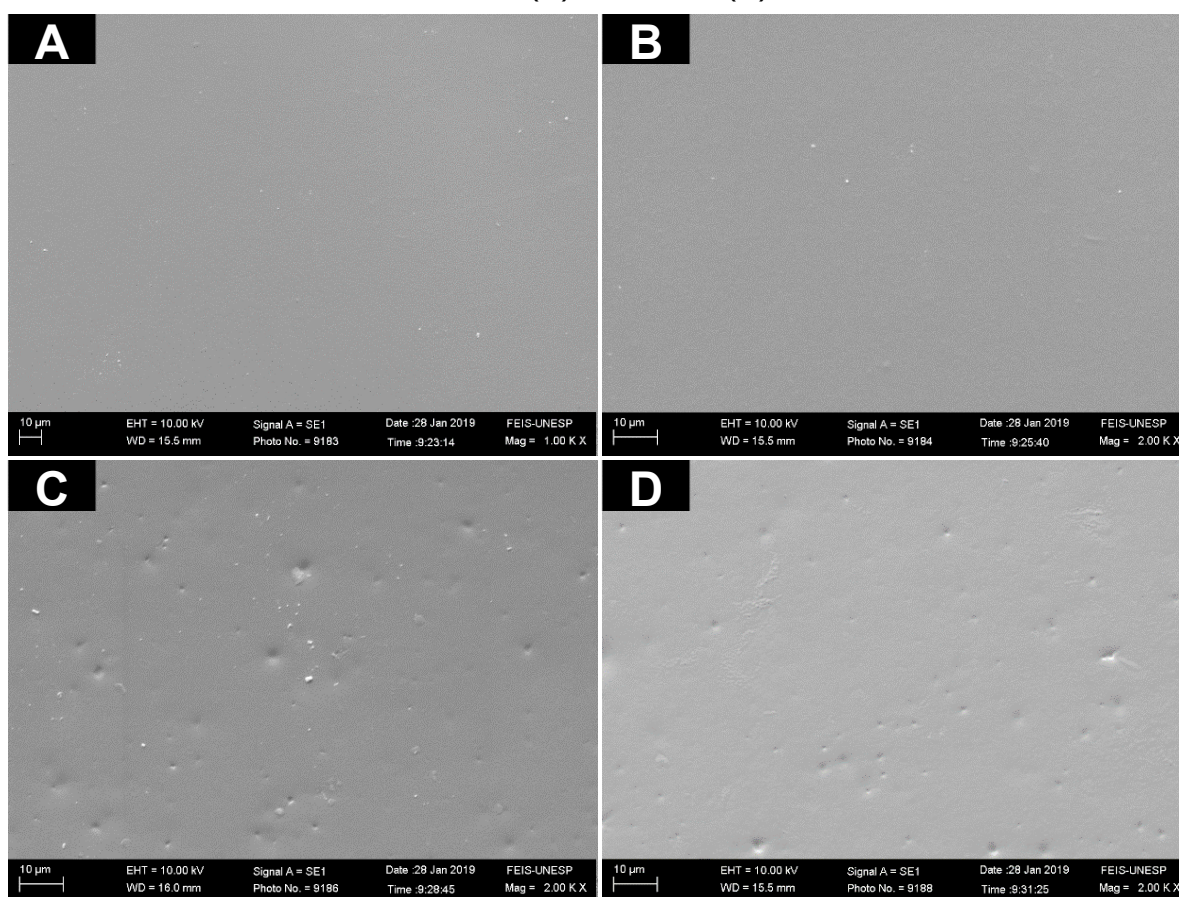
Bilbao-Sainz, Avena-Bustillos, Wood & Williams McHugh (2010) estudaram filmes de hidroxipropilmetilcelulose contendo nanopartículas de celulose microcristalina e também verificaram redução na umidade dos filmes controle. Os autores também atribuíram esse resultado à diminuição dos sítios de ligação de componentes hidrofílicos da matriz devido às interações nanoestrutura / polímero.

Os nanocristais de celulose altamente cristalinos devido à remoção dos domínios amorfos possuem baixa higroscopicidade. O menor teor de umidade encontrado nos filmes nanoestruturados pode estar relacionado à remoção desses domínios, uma vez que essas regiões desordenadas possuem maior afinidade com moléculas de vapor de água (George & Siddaramaiah, 2012).

6.2.1.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia

As imagens superfície obtidas por MEV dos filmes de gelatina preparados por meio de protocolo de alta energia (Figura 17) demonstram superfícies homogêneas em todos os filmes, bem como cargas aparentemente uniformemente distribuídas dentro das seções transversais das matrizes de gelatina (Figura 18) em todas as concentrações de NCCB utilizadas.

Figura 17 – Micrografias de superfície dos filmes de gelatina - G (A), GNC25T (B), GNC5T (C), GNC10T (D)

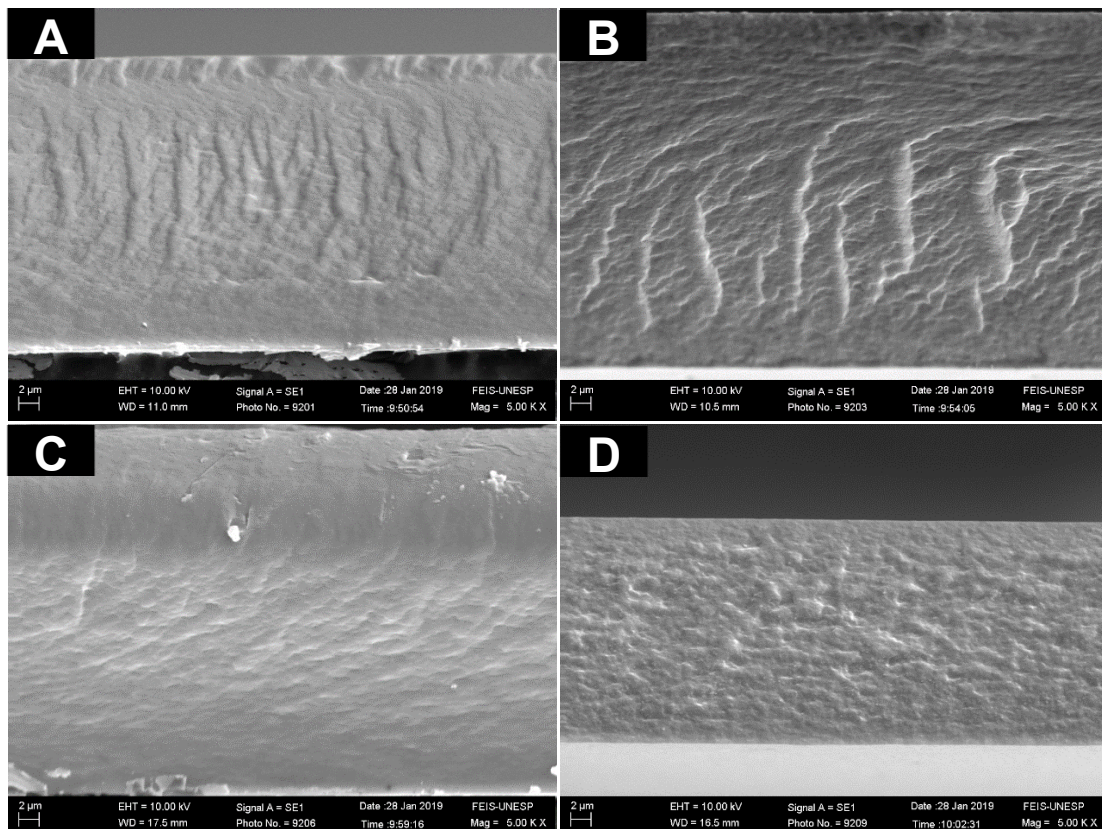


Fonte: própria autora

Mesmo nos filmes contendo 10% de NCCB em ampliações de 5000 vezes não foi possível observar aglomerados ou outros achados que pudessem sugerir uma má distribuição das cargas. Também é possível observar um discreto aumento de

rugosidade nos filmes contendo 10% de NCCB nas micrografias das regiões de fratura criogênica (Figura 19).

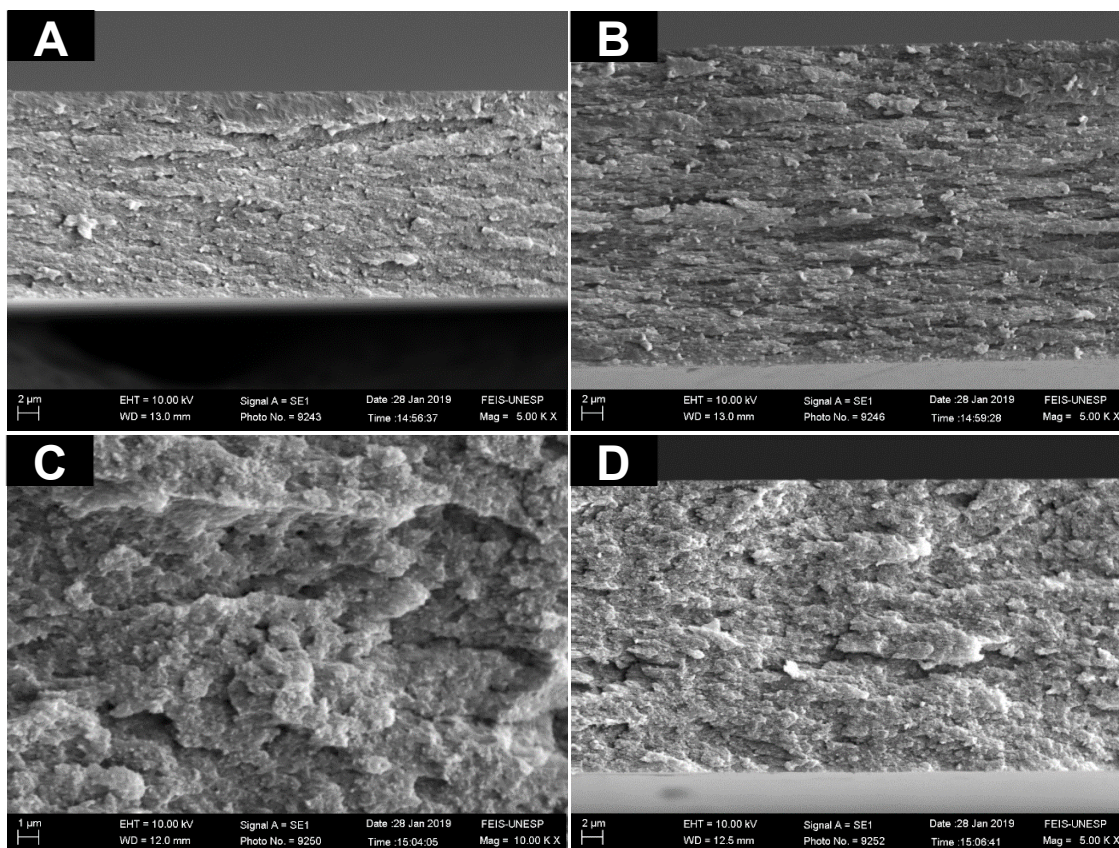
Figura 18 – Micrografias de fratura criogênica dos filmes de gelatina - G (A), GNC25T (B), GNC5T (C), GNC10T (D)



Fonte: própria autora

As micrografias de fratura mecânica podem ser visualizadas na Figura 19. A partir das imagens é possível observar que as regiões onde houve rompimento dos filmes nos testes mecânicos apresentaram-se levemente mais heterogêneas e com poucos espaços vazios na matriz. Com o aumento da concentração dos nanocristais essa rugosidade acentuou-se discretamente.

Figura 19 – Micrografias de fratura mecânica dos filmes de gelatina - G (A), GNC25T (B), GNC5T (C), GNC10T (D)

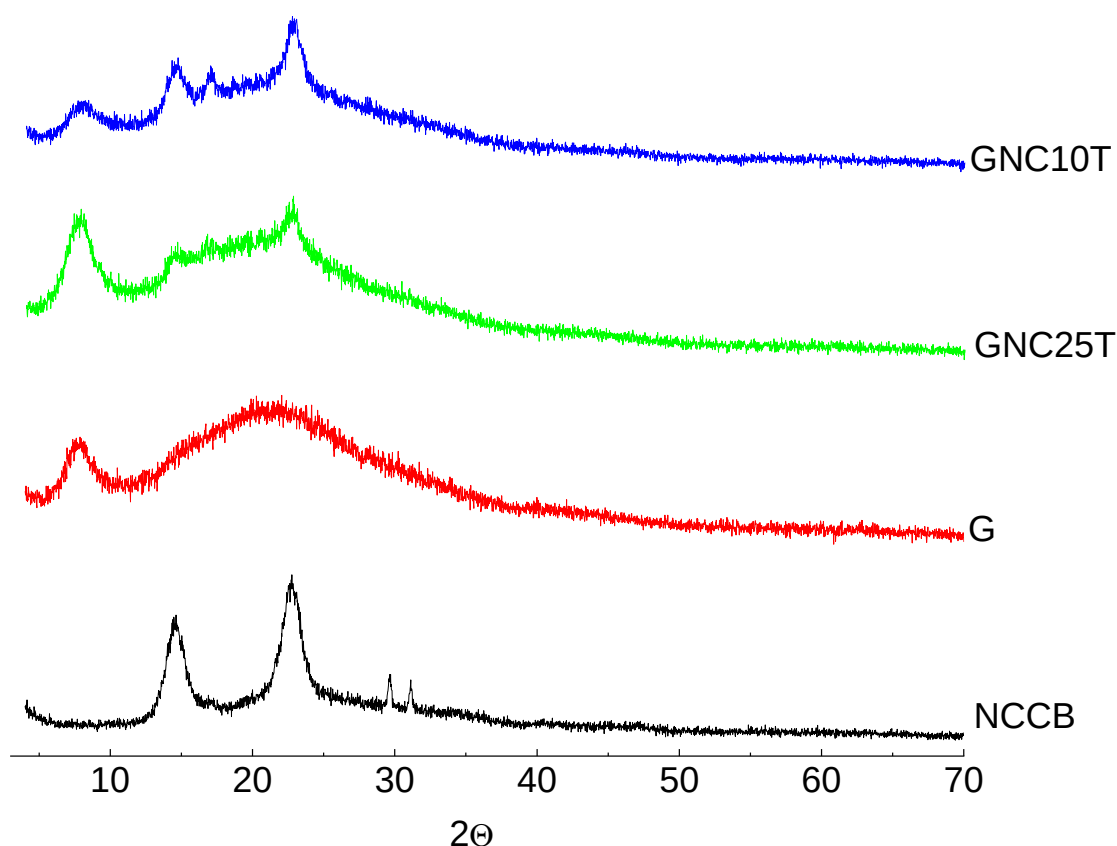


Fonte: própria autora

Leite, Bilatto, Paschoalin, Soares, Moreira, Oliveira Jr, Mattoso & Bras (2020) também observaram um aumento da rugosidade da superfície de fratura nos filmes nanoestruturados quando comparados ao filme controle composto apenas de gelatina. Os autores atribuíram esse fato a uma mudança da microestrutura da gelatina em virtude do agente de reforço. Não foram observadas por eles evidências claras de aglomerados de nanocristais nas micrografias analisadas, sugerindo, dessa forma, uma boa dispersão dos NC. Essas alterações podem ser ocasionadas pela presença de ligações de hidrogênio entre a matriz e os NCCB, o que acaba gerando uma maior compactação da matriz. Isso explica o aumento da rugosidade à medida que a concentração de agente de reforço também aumenta.

6.2.1.7 Difratometria de raios X (DRX) dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia

Os difratogramas dos filmes de gelatina e dos NCCB obtidos por DRX são apresentados na Figura 20. O padrão de DRX para filmes de gelatina pura encontrado na literatura compreende picos em $2\theta = 7,8^\circ$. Esse pico é atribuído à cristalinidade da estrutura tripla-hélice presente no colágeno e também da gelatina renaturada. Outra banda larga característica é encontrada em $2\theta = 22,7^\circ$ e está relacionada à sua fase amorfa (Martucci & Ruseckaite 2010; Pereda, Ponce, Marcovich, Ruseckaite & Martucci, 2011; Lin, Pan, Sun, Ou, Wang & Cao, 2019).



Fonte: própria autora

Após a adição dos NCCB é possível verificar que o pico em $2\theta = 7,8^\circ$ continua presente e com a mesma intensidade nas concentrações de 2,5% de NCCB. No entanto, nos filmes contendo 10% de NCCB ocorre um alargamento desse pico, indicando que houve uma diminuição no conteúdo da estrutura tripla hélice, sugerindo que houve mudanças estruturais das cadeias de gelatina ocasionadas por uma leve desnaturação. A quantidade de NCCB adicionados à matriz pode influenciar a conformação das cadeias do polímero, como já descrito por Leite, Moreira, Mattoso & Bras (2020).

A área do pico está diretamente relacionada à quantidade de estrutura tripla hélice (Bigi, Panzavolta & Rubini, 2004). Nesse sentido, nos filmes contendo 10% de NCCB é possível observar uma diminuição significativa dessa estrutura, já que houve uma nítida diminuição da intensidade do pico característico, permanecendo em seu lugar uma pequena banda.

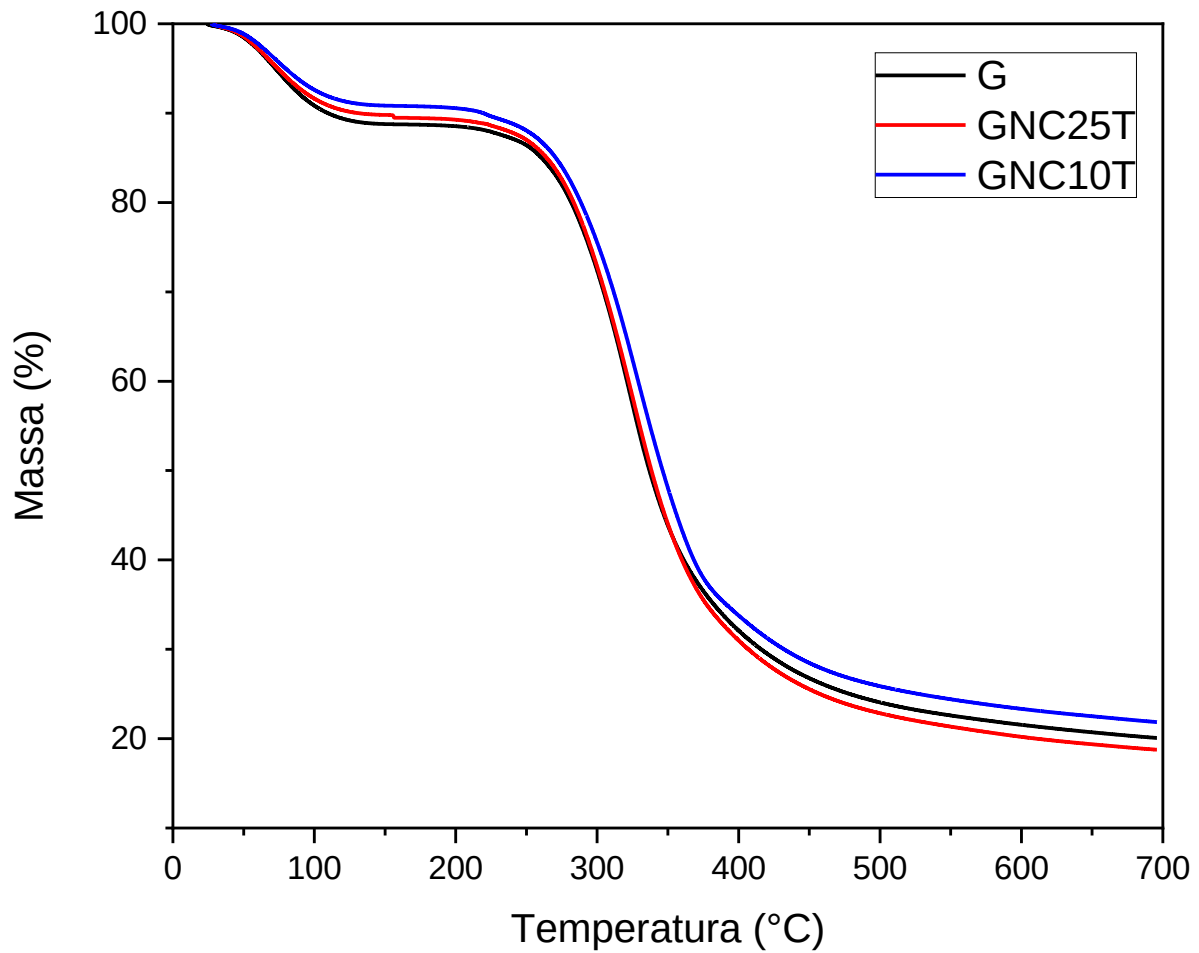
A banda relacionada à estrutura amorfa da gelatina aparece nos filmes nanoestruturados em formato de picos agudos, se mostrando mais intensos nos filmes contendo 10% de NCCB. Também é possível observar a acentuação dos picos em $2\theta = 14,6^\circ$ e $2\theta = 16,9^\circ$ nos filmes com maior quantidade de NC.

6.2.1.8 *Termogravimetria (TG) dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia*

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.

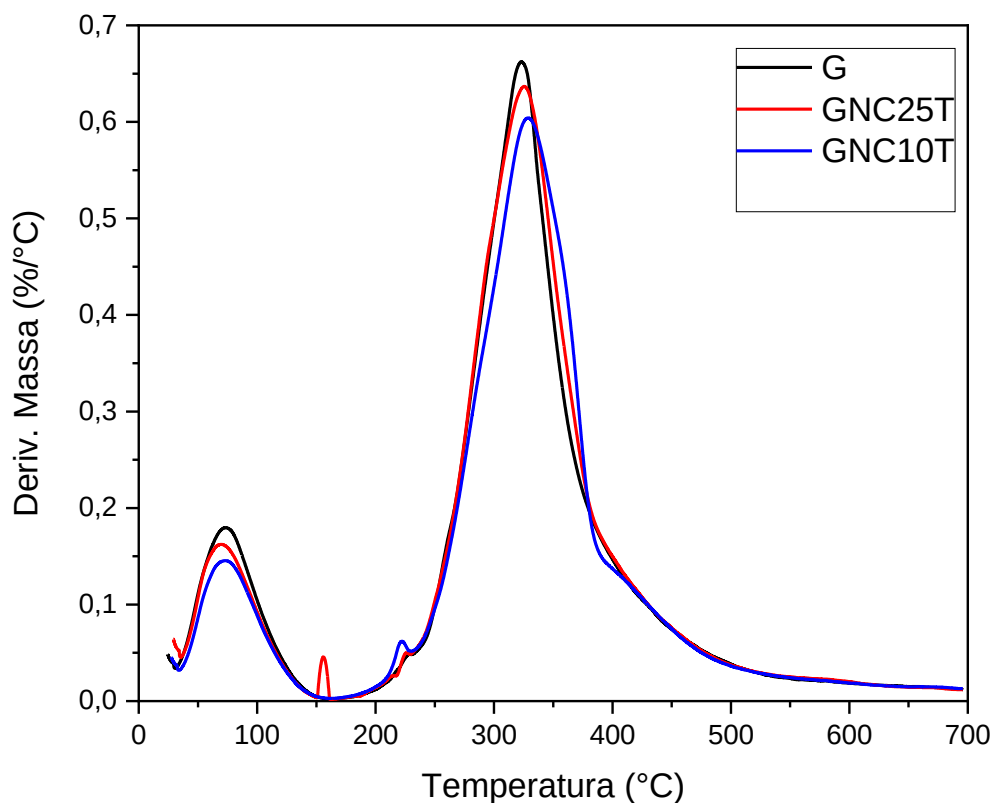
As curvas obtidas para os filmes de gelatina são apresentadas na Figura 21. Na Figura 22 podem ser observadas as derivadas dessas curvas para melhor elucidação dos eventos térmicos. Os valores das temperaturas iniciais (T_i) e finais (T_f) de degradação associados a cada evento térmico para os filmes de gelatina são apresentados na tabela 4.

Figura 20 - Curvas de TG dos filmes de gelatina elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

Figura 21 - Curvas de DTG dos filmes de gelatina elaborados com mistura de alta energia



Fonte: própria autora

A partir da Figura 22 é possível observar a ocorrência de três eventos principais associados à perda de massa dos filmes. O primeiro se refere à vaporização de água livre absorvida pelos filmes (umidade), tendo início numa temperatura em torno de 30,8 °C (T_{d1}) nos filmes compostos apenas de gelatina. Já para os filmes contendo 2,5 % de NCCB, a T_{d1} se deu a 35,7 °C, e para os filmes contendo 10% de NCCB, esse evento ocorreu na temperatura de 34,2 °C.

Tabela 4 - Valores das temperaturas iniciais e finais dos principais eventos de degradação dos filmes de gelatina

T_{d1} (°C)	T_{d2} (°C)	T_{d3} (°C)	T_{d4} (°C)
---------------	---------------	---------------	---------------

Filmes	T _i	T _f	T _i	T _f	T _i	T _f	T _i	T _f
G	30,8	156,9	219,9	230,7	232,8	528,3	-	-
GNC25T	35,7	149,8	217,4	229,5	230,4	229,2	230,6	530,6
GNC10T	34,2	157,9	214,8	230,6	232,4	527,1	-	-

Fonte: própria autora

A temperatura inicial de degradação associada ao segundo evento térmico (Td₂) ocorreu na temperatura de 219,9 °C para o filme de gelatina pura e em 217,4 °C e 214,8 °C após a adição de 2,5% e 10% de NCCB, respectivamente. De acordo com esse resultado é possível inferir que a adição das nanoestruturas causou uma diminuição na estabilidade térmica dos filmes, sendo mais acentuada naqueles contendo 10% de NC.

Shehap, Mahmoud, El-Kader & El-Basheer (2015) também obtiveram valores semelhantes em relação à temperatura inicial de degradação em filmes de gelatina. A faixa de degradação da gelatina encontra-se entre 200 e 400 °C e está associada ao rompimento das cadeias de proteína desse polímero.

O maior pico de máxima degradação nos filmes de gelatina ocorreu na temperatura de 323,5 °C. Com a adição de 2,5% de NCCB, esse valor passou para 324,9 °C. Já nos filmes contendo 10% de NCCB, esse evento ocorreu na temperatura de 328,6 °C. Trabalhos semelhantes relataram picos de temperatura de degradação de filmes de gelatina reforçados com nanocristais de celulose em torno de 350 °C a 364 °C. Decomposições térmicas na faixa de 300 °C a 400 °C são típicas de materiais celulósicos desprovidos de hemicelulose e ligninas e já são amplamente difundidas na literatura (Agustin, Ahmmad, Alonzo & Patriana, 2014; Zhou, He, Jiang, Ma & Yu, 2017).

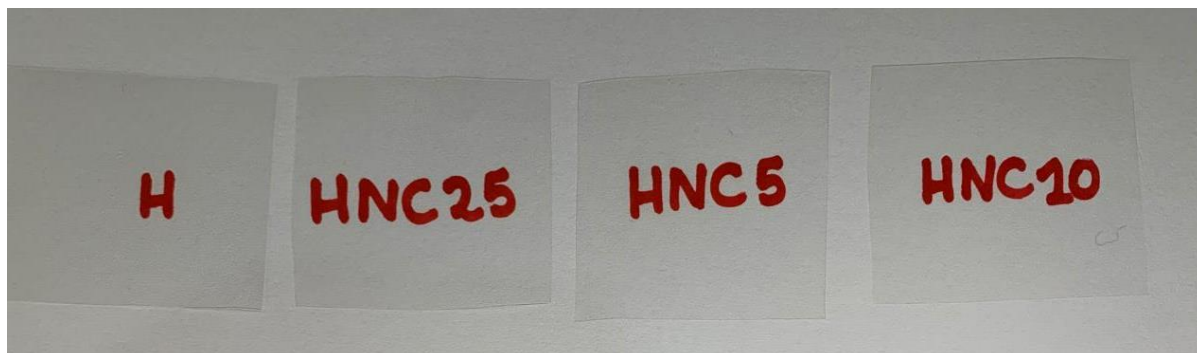
Tanto os filmes contendo apenas gelatina quanto os filmes nanoestruturados apresentaram um padrão de curva semelhante. A adição de NCCB causou uma discreta diminuição na temperatura inicial de degradação dos filmes, sendo esses materiais, portanto, estáveis até uma temperatura próxima de 214 °C. No entanto, as temperaturas máximas de decomposição térmica aumentaram nos filmes reforçados com os nanocristais, indicando que houve incremento da estabilidade térmica. Com a adição do agente de reforço uma energia maior foi necessária para causar a degradação das cadeias devido às interações polímero/reforço.

6.2.2 Filmes nanocompósitos à base de HPMC

6.2.2.1 *Propriedades subjetivas e espessura dos filmes de HPMC*

Os filmes compostos de hidroxipropilmetilcelulose reforçados com NCCB apresentaram-se macroscopicamente contínuos (desprovidos de falhas macroscópicas), homogêneos (sem alterações de cores ou textura ao longo do filme) e flexíveis (flexível o suficiente para serem manipulados e destacados da superfície do substrato sem terem sua integridade prejudicada). Todos os filmes apresentaram espessura em torno de $28 \pm 2 \mu\text{m}$. A Figura 23 corresponde à fotografia digital dos filmes de HPMC puros e dos filmes reforçados com NCCB nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%, respectivamente.

Figura 22 - Fotografia digital dos filmes de HPMC puros e dos filmes reforçados com NCCB nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%



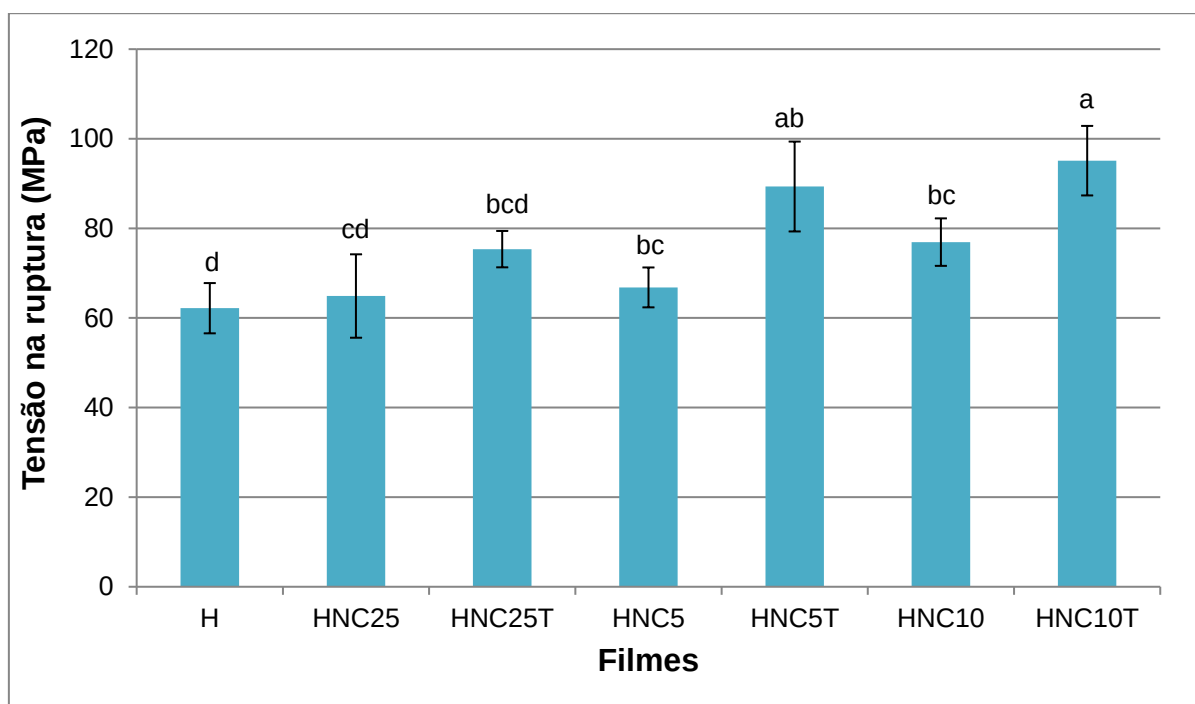
Fonte: própria autora

6.2.2.2 *Propriedades mecânicas dos filmes de HPMC*

A Figura 24 demonstra o efeito de reforço mecânico causado pela adição dos NCCB nos filmes de HPMC. Esse efeito tem sido amplamente relatado em diversos estudos com filmes à base de biopolímeros. George, Kumar, Sajeevkumar, Romana, Rajamanickam, Abhishek, Nadanasabapathy & Siddaramaiah, 2014 observaram

aumento na resistência a tração de filmes contendo HPMC e nanocristais de celulose bacteriana na concentração de 4% em massa. Também pode ser observado que esse reforço foi influenciado não só pela composição filmogênica em termos de concentração como também pelo tipo de processamento das dispersões formadoras dos filmes.

Figura 23 – Valores de tensão na ruptura dos filmes de HPMC

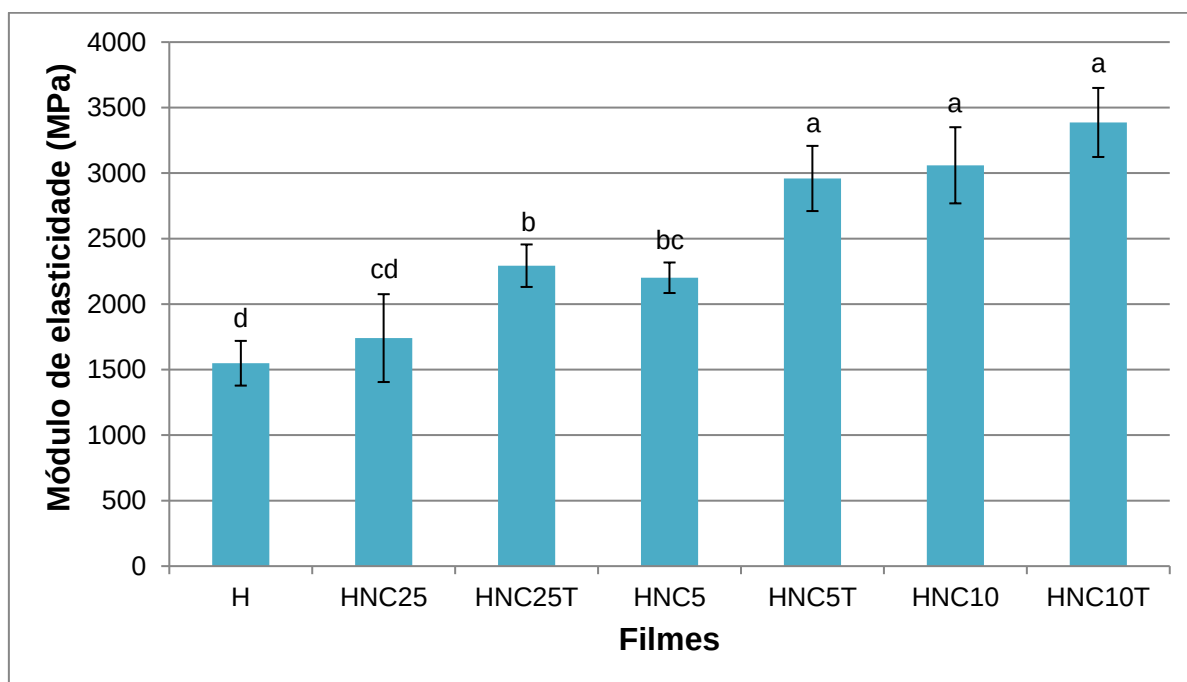


O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abcd} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Independentemente do protocolo usado na mistura, as concentrações de 2,5%, 5% e 10% em massa de NCCB foram bem sucedidas no enrijecimento dos filmes de HPMC, conforme indicado pelos módulos de Young aumentados (Figura 25). Mesmo as concentrações de 2,5% em massa foram suficientes para aumentar significativamente a rigidez dos filmes de HPMC quando os NCCB foram dispersos na formulação formadora de filme por meio de protocolo de baixa e alta energia.

Figura 24 – Valores de módulo de elasticidade dos filmes de HPMC



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abcd} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Esse é um resultado claro da influência da dispersão do agente de reforço na matriz, que deve ser suficientemente alto para evitar a agregação de partículas. Essa agregação é conhecida por criar elevadores de tensão, bem como diminuir a área interfacial específica do reforço/matriz, prejudicando a eficiência de transferência de carga (Otoni, Carvalho, Cardoso, Bernardinelli, Lorevice, Colnago, Loh & Mattoso, 2018).

Comparativamente, Salari, Khiabani, Mokarram, Ghanbarzadeh & Kafil (2018) descobriram que NC são capazes de reforçar filmes de quitosana quando as partículas estão homogeneamente dispersas dentro do nanocompósito, favorecendo as interações carga/matriz e a transferência eficaz de carga/matriz/carga.

Um efeito semelhante foi observado na tensão de ruptura dos filmes apenas de HPMC, que se tornaram mais resistentes após a adição de NCCB independentemente da razão NCCB/HPMC e do protocolo de mistura.

Ao aumentar a tensão de ruptura e o módulo elástico de filmes contendo apenas HPMC em 41% e 80%, respectivamente, a adição de 5% em massa de NCCB por meio de um processo de mistura de alta energia não causou uma redução expressiva na elongação até o ponto de ruptura (Tabela 5).

Tabela 5 – Deformação dos filmes de HPMC

Filmes	Deformação (%)
H	15,17 ± 1,01 ^a
HNC2,5	14,10 ± 3,10 ^{ab}
HNC2,5T	12,30 ± 0,33 ^{abcd}
HNC5	10,70 ± 1,27 ^{cd}
HNC5T	13,86 ± 1,32 ^{abc}
HNC10	9,34 ± 1,83 ^d
HNC10T	11,49 ± 1,42 ^{bcd}

Os valores são expressos como a média ± DP (n = 9). ^{abcd} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa (p<0,05).

Fonte: própria autora

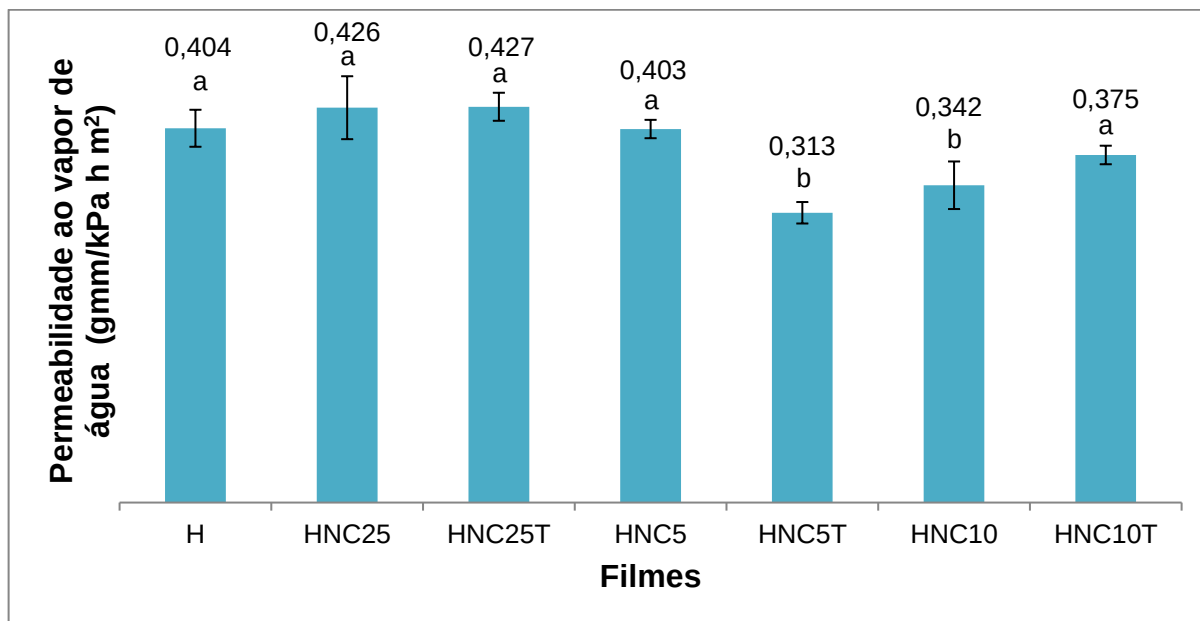
Embora os tratamentos tenham reduzido a extensibilidade do filme conforme relatado por outros autores para sistemas semelhantes (Kargarzadeh, Huang, Lin, Ahmad, Mariano, Dufresne, Thomas & Gałęski, 2018; Otoni, Carvalho, Cardoso, Bernardinelli, Lorevice, Colnago, Loh & Mattoso, 2018) esses valores ainda são altos quando comparados aos das outras matrizes estudadas.

6.2.2.3 Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de HPMC

Os resultados de PVA dos filmes de HPMC são apresentados na Figura 26. Pode-se observar que a adição de NCCB resultou em diminuição da PVA nas concentrações de 5% quando o protocolo de homogeneização em alta energia foi utilizado. Também houve diminuição da PVA nos filmes contendo 10% em massa de NCCB nos filmes elaborados segundo protocolo de baixa energia. Já nos filmes

contendo 2,5% de NCCB em massa a PVA não apresentou mudança significativa ($p < 0,05$) independentemente do protocolo de mistura utilizado quando comparados aos filmes controle.

Figura 25 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de HPMC



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{ab} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Como os baixos valores de PVA são típicos de boas barreiras à umidade, pode-se concluir que os filmes de HPMC podem representar um material de barreira melhor quando preenchidos com NCCB a depender da quantidade de agente de reforço utilizada e do protocolo de mistura. Como a matriz e o agente de reforço são componentes hidrofílicos, o caráter de barreira de água melhorado é atribuído ao estado aprimorado de dispersão NCCB/HPMC após mistura de alta energia nos filmes HNC5T, bem como à formação de uma rede de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas presentes no HPMC e nos NCCB, o que incrementa a coesão entre os constituintes do filme.

6.2.2.4 Ângulo de contato dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

O ângulo de contato, como já mencionado anteriormente, é uma medida que indica a hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade da superfície dos filmes. Na Tabela 6 são apresentados os valores médios dos ângulos de contato no tempo inicial ($t = 0$ s) dos filmes de HPMC controle e dos filmes reforçados com 2,5%, 5% e 10% de NCCB elaborados segundo o protocolo de mistura em alta energia. Na Figura 27 são apresentadas as variações dos ângulos de contato durante os 60 segundos de ensaio juntamente com as imagens das gotas depositadas sobre cada tipo de filme no tempo inicial do teste.

Os filmes de HPMC quando comparados aos filmes de gelatina apresentaram menores valores de ângulo de contato. Nos filmes em que os nanocristais foram adicionados houve um aumento desses valores, indicando, portanto, uma superfície menos hidrofílica nos filmes nanoestruturados. Chen, Shi, Chen & Cai (2020) elaboraram filmes de amido de mandioca e nanocelulose obtida por hidrólise com ácido sulfúrico e obtiveram aumento gradual nos valores de ângulo de contato com a adição das nanoestruturas.

Han, Yu & Wang (2018) obtiveram filmes de proteína isolada de soja e nanocelulose extraída de resíduo de alcaçuz via hidrólise ácida e também relataram diminuição nos valores médios de ângulo de contato com a adição da nanocelulose. Os autores atribuíram esse resultado devido às propriedades altamente cristalinas e hidrofóbicas do agente de reforço, o que contribuiu para diminuir a hidrofiliabilidade dos filmes. Abdollahi, Alboofetileh, Behrooz, Rezaei & Miraki (2013) tiveram resultados semelhantes e também atribuíram o efeito à alta cristalinidade dos NC.

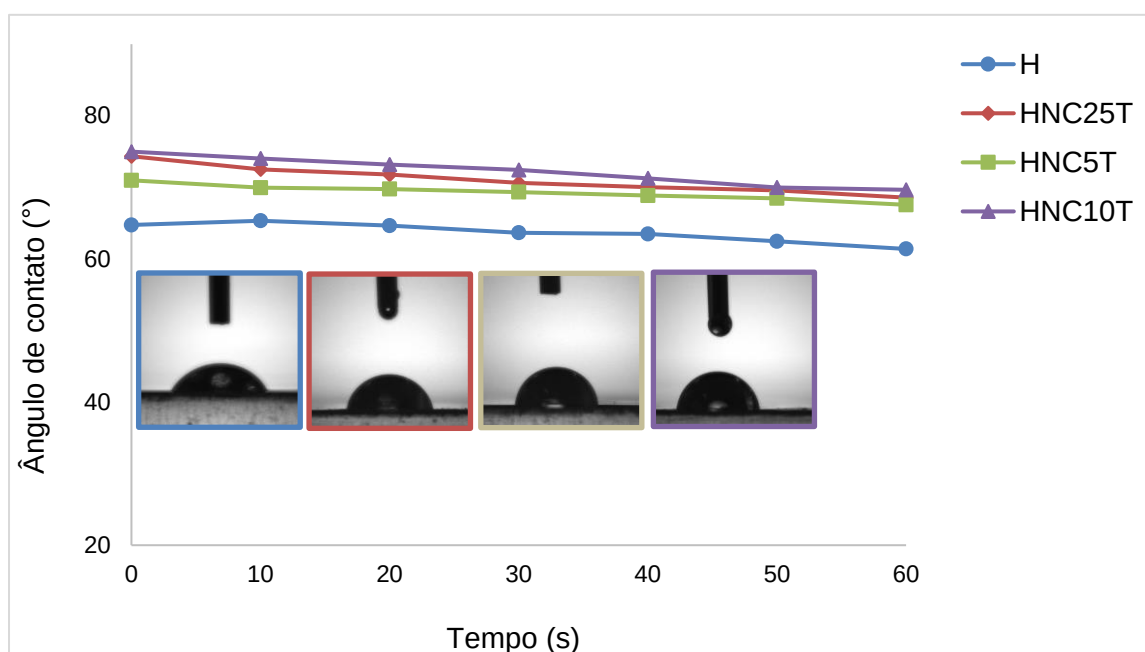
Tabela 6 – Ângulo de contato no tempo inicial dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

Filmes	Ângulo de contato (°)
H	65 ± 5^c
HNC2,5T	74 ± 1^a
HNC5T	71 ± 3^{ab}
HNC10T	75 ± 4^a

Os valores são expressos como a média $\pm$ DP ($n = 9$). ^{abc} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Figura 26 - Ângulo de contato dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia e imagens das gotas em 0 s.

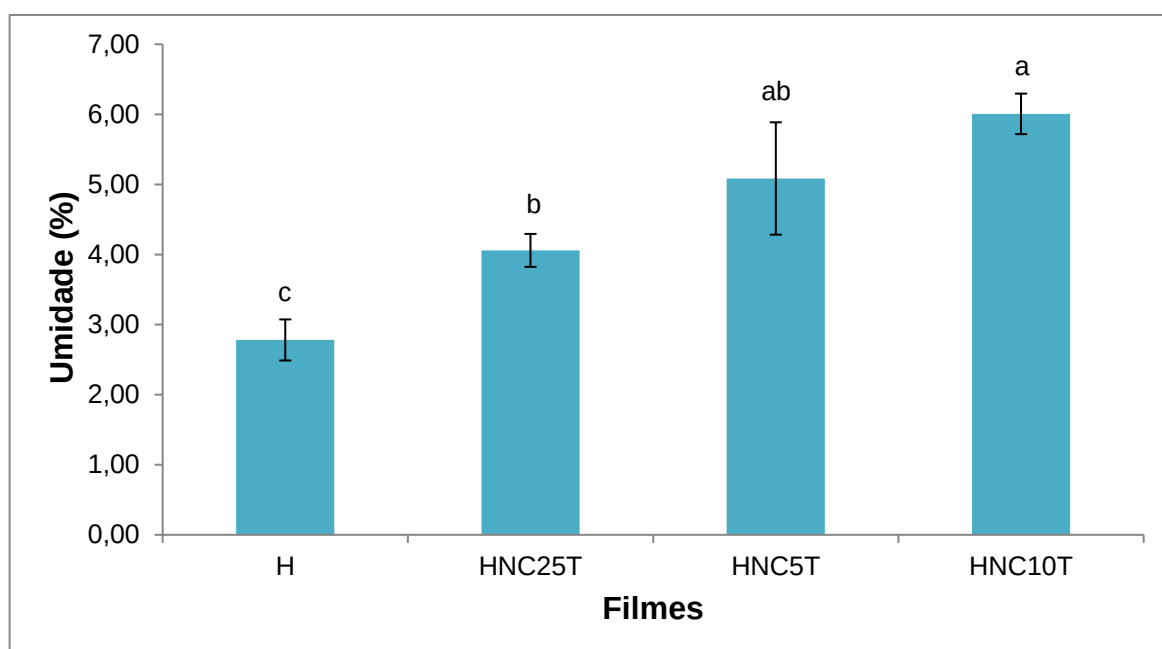


Fonte: própria autora

6.2.2.5 Umidade dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

Os valores de umidade dos filmes de HPMC são apresentados na Tabela 7. Pode-se observar na Figura 28 que a adição dos nanocristais resultou em um aumento da umidade dos filmes que continham o agente de reforço. Esse aumento também ocorreu à medida que se aumentou a quantidade de NCCB nos filmes. Os filmes de HPMC possuem valores de umidade bem inferiores aos de gelatina e de pectina. Enquanto os primeiros possuem umidade em torno de 3%, os filmes de gelatina e pectina têm em média valores em torno de 10% quando se comparam os filmes controle.

Figura 27 – Umidade dos filmes à base de HPMC elaborados com protocolo de alta energia



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abc} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Tabela 7 – Umidade dos filmes à base de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

Filmes	Umidade (%)
H	2,78 ^c
HNC25T	4,06 ^b
HNC5T	5,09 ^{ab}
HNC10T	6,01 ^a

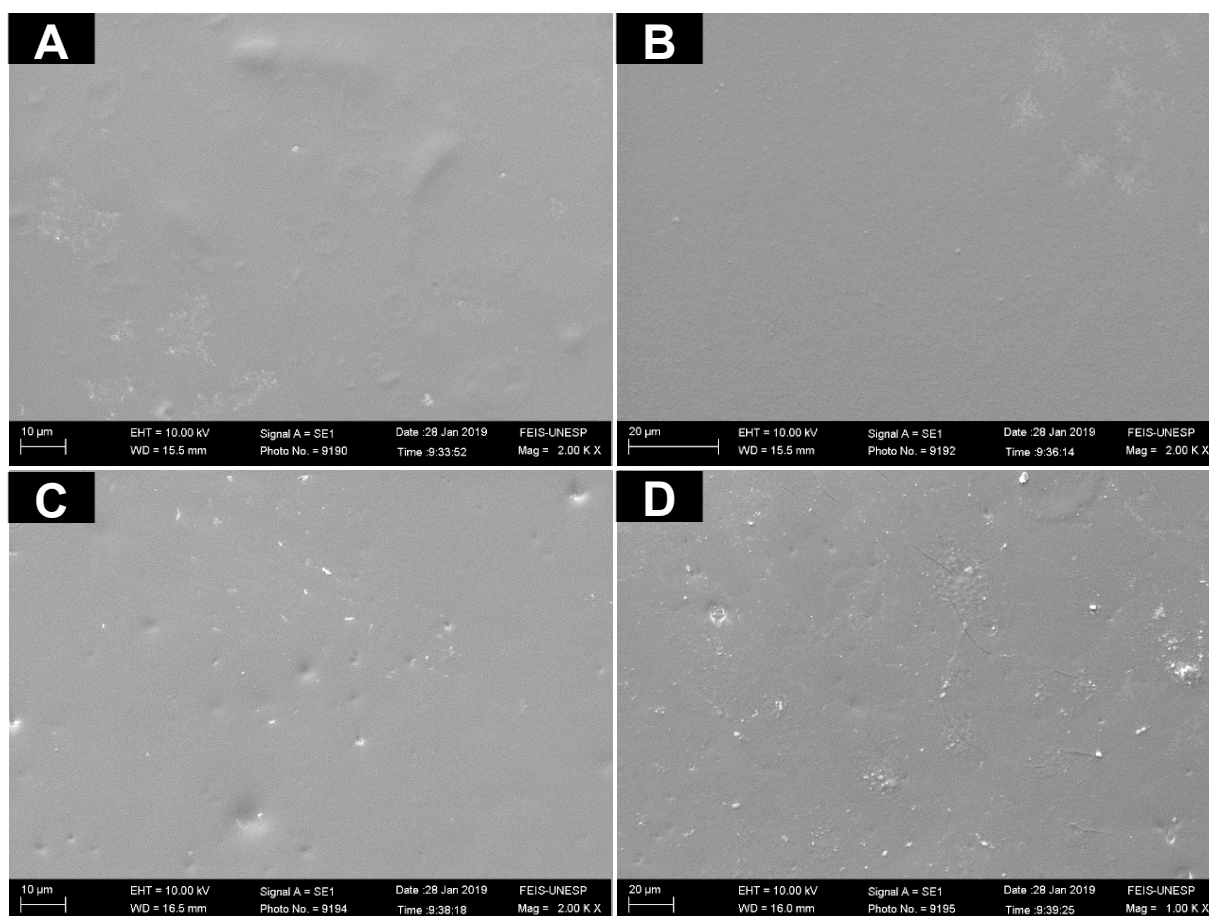
Os valores são expressos como a média $\pm$ DP (n = 9). ^{abc} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa (p<0,05).

Fonte: própria autora

6.2.2.6 *Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia*

A Figura 29 apresenta as imagens de MEV de superfície dos filmes de HPMC (A) e dos filmes em que foram adicionados os NCCB (B, C e D). É possível observar um discreto aumento de rugosidade superficial após a adição dos nanocristais. Essa rugosidade aumenta à medida que a concentração de NCCB também aumenta.

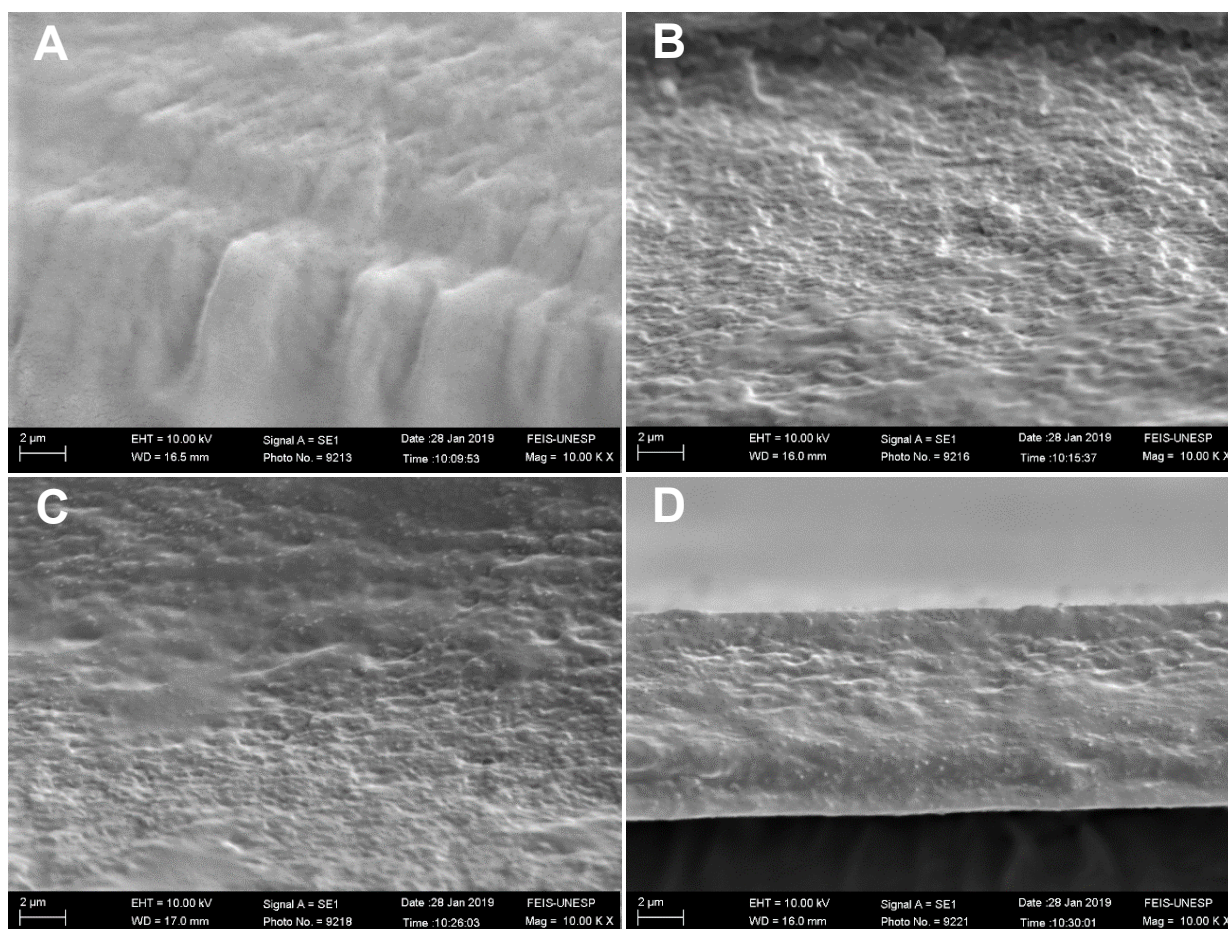
Figura 28 – Micrografias de superfície dos filmes de HPMC - H (A), HNC25T (B), HNC5T (C), HNC10T



Fonte: própria autora

Já na Figura 30 são apresentadas as micrografias das superfícies das secções transversais obtidas por fratura criogênica dos filmes. Observa-se também um aumento de rugosidade após a adição dos NC e alguns poros, especialmente nos filmes contendo 2,5% em massa de NC. Esses poros podem estar relacionados à maior taxa de permeação de vapor de água nos filmes, uma vez que esses espaços vazios facilitam o percurso dessas moléculas ao longo do filme.

Figura 29 – Micrografias de fratura criogênica dos filmes de HPMC - H (A), HNC25T (B), HNC5T (C), HNC10T (D)

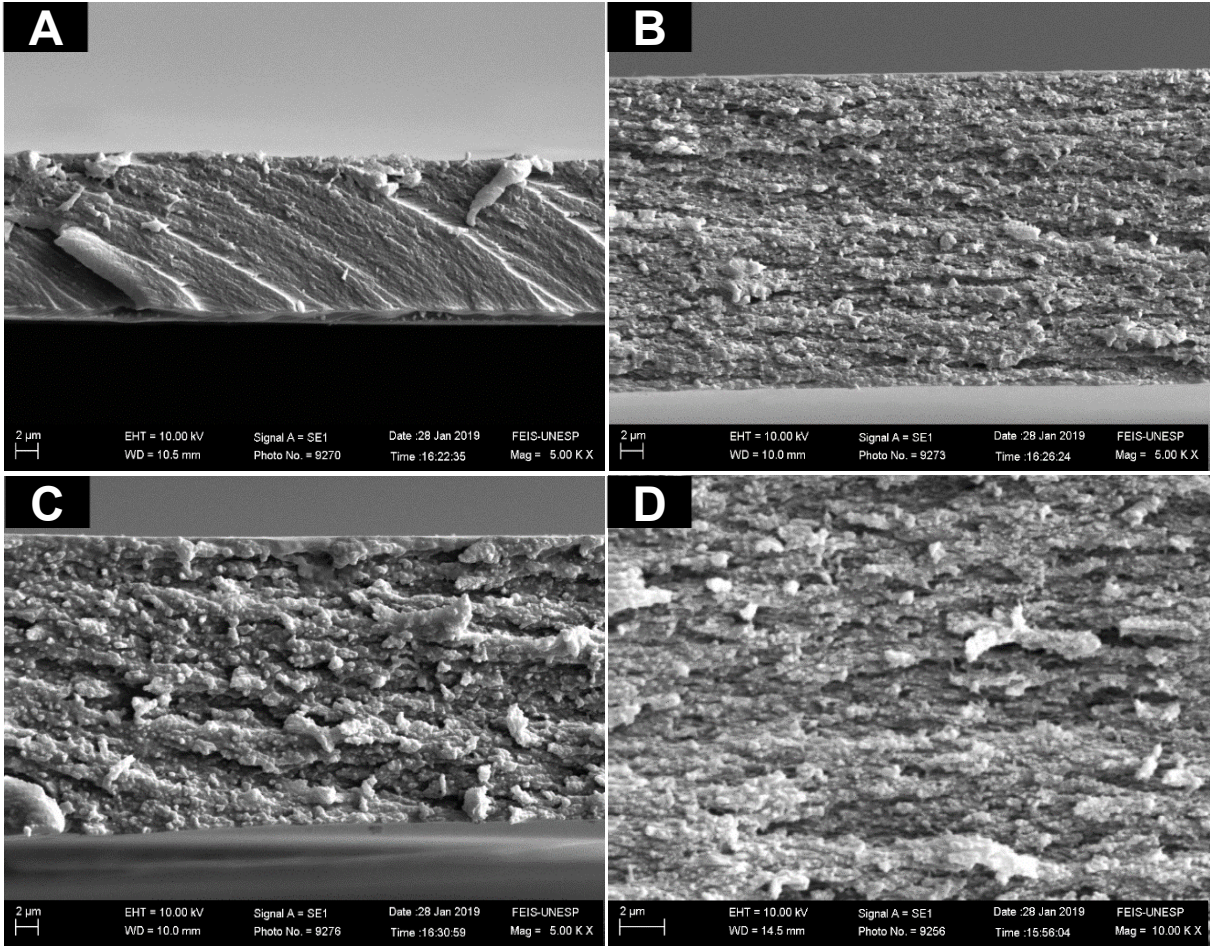


Fonte: própria autora

Na Figura 31 são apresentadas as micrografias das superfícies de fratura desses filmes resultantes dos testes de tração. Pode-se observar que a matriz de HPMC após a adição dos NC torna-se mais heterogênea e menos densa no ponto de fratura. É possível observar também alguns espaços vazios nos filmes nanoestruturados. Esse resultado pode ajudar a explicar o baixo incremento nas propriedades de barreira ao vapor de água nos filmes após a adição dos NC.

Nos filmes contendo 10% de NC é possível observar regiões de fratura um pouco mais regulares quando comparadas aos filmes com menores concentrações. No entanto, ainda assim, nota-se a presença de alguns poros e uma certa heterogeneidade da matriz.

Figura 30 – Micrografias de fratura mecânica dos filmes de HPMC - H (A), HNC25T (B), HNC5T (C), HNC10T (D)

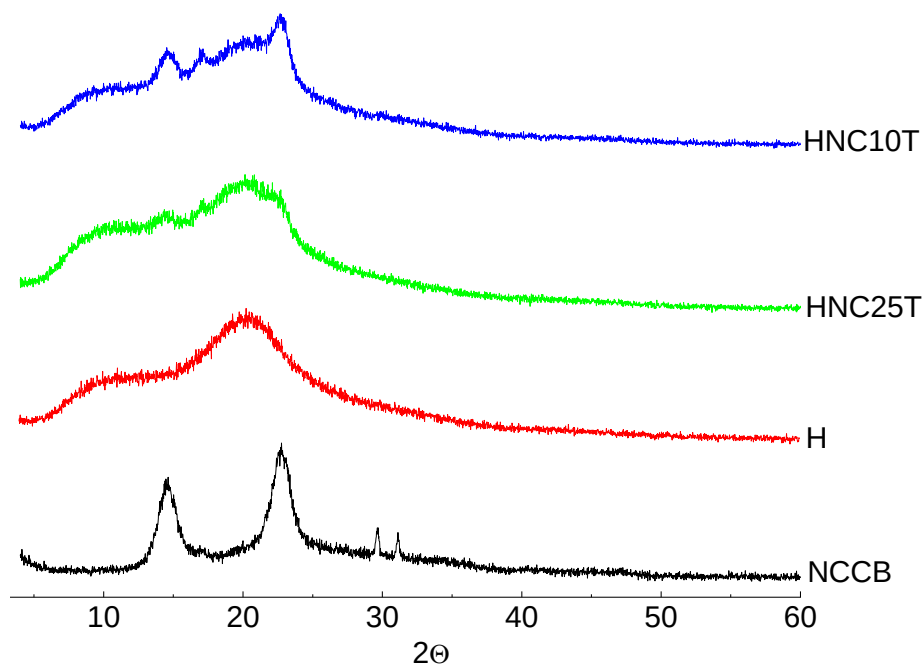


Fonte: própria autora

6.2.2.7 Difractometria de raios X (DRX) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

Os padrões de DRX dos filmes de HPMC são mostrados na Figura 32. O HPMC exibiu uma banda de difração em $2\theta = 20,1^\circ$ que corresponde ao plano cristalino da celulose (0 0 2). A banda larga indica a natureza semicristalina desses materiais (George, Kumar, Sajeevkumar, Romana, Rajamanickam, Abhishek, Nadanasabapathy & Siddaramaiah, 2014).

Figura 31 – DRX dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

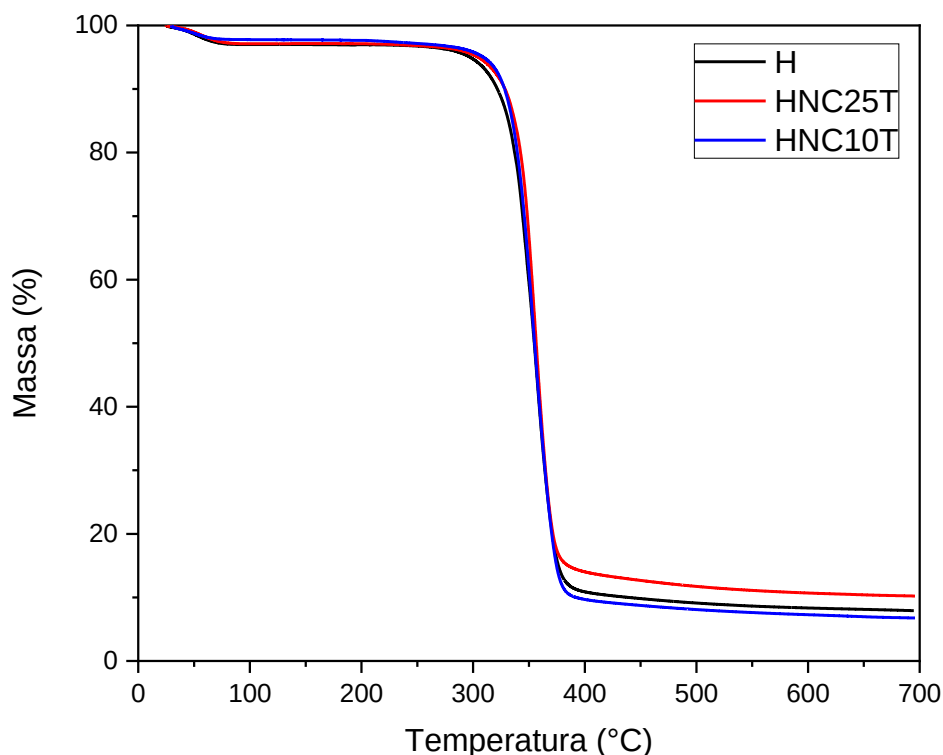
A adição de NCCB nas duas concentrações provocou mudanças significativas nos padrões de DRX do polímero. O pico em $2\theta = 14,6^\circ$ presente nos NC permaneceu nos filmes nanoestruturados, porém com menor intensidade, especialmente naqueles contendo 2,5% de NC.

O pico em $2\theta = 20,1^\circ$ tornou-se mais largo nos filmes com 2,5% de NC e nos filmes contendo 10% de NC foi possível verificar o pico em $2\theta = 22,6^\circ$ característico da estrutura cristalina dos NCCB.

6.2.2.8 Termogravimetria (TG) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

As curvas de TG e DTG dos filmes de HPMC são apresentadas na figura 33 e 34, respectivamente. São observados dois estágios principais de perda de massa. O primeiro ocorre entre 27,6 °C e 95,2 °C, com temperaturas máximas entre 50 °C e 56 °C e está relacionado com a perda de umidade (água não ligada) presente na matriz polimérica devido ao seu caráter higroscópico. Esse fenômeno de perda de água não ligada é chamado de desidratação intermolecular.

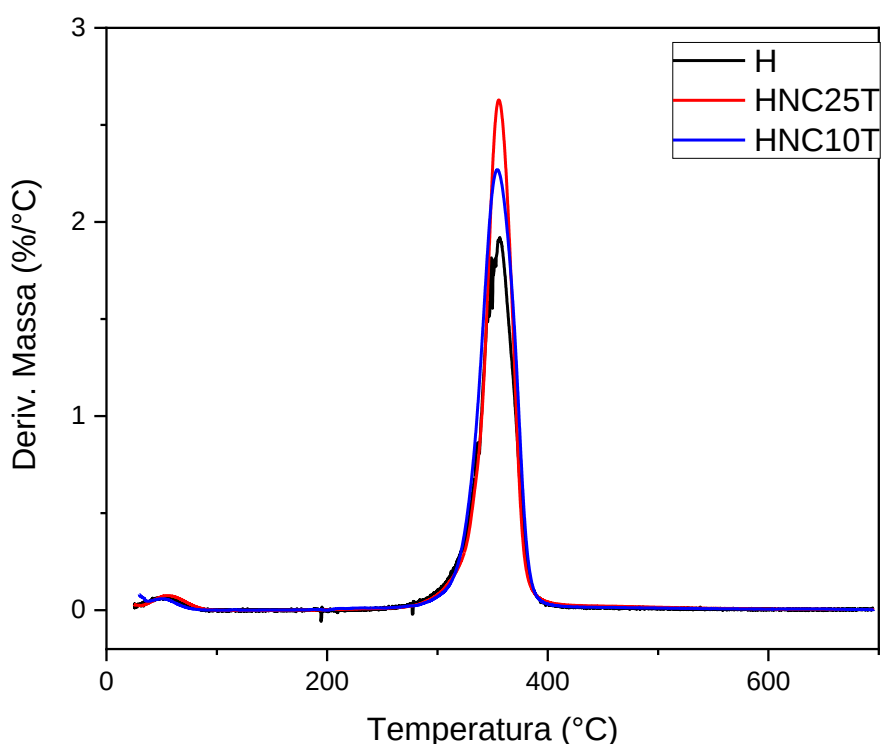
Figura 32 - Curvas de TG dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

A estabilidade térmica dos filmes é mantida até temperaturas próximas a 250 °C quando se inicia um novo estágio de perda de massa, registrado em temperaturas entre 250 °C e 420 °C. Essa faixa de temperatura de degradação é associada à decomposição oxidativa dos éteres de celulose envolvendo perda de água ligada e processos de desmetoxilação. A maior taxa de degradação térmica ocorreu na temperatura de 355 °C (Ding, Zhang & Li, 2015). Valores semelhantes também foram encontrados por Yin, Luo, Chen & Khutoryanskiy (2006). Já em temperaturas superiores a 400 °C, a degradação está relacionada à oxidação térmica e combustão dos compostos gerados no evento anterior.

Figura 33 - Curvas de DTG dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

Na tabela 8 são apresentados os valores de temperatura inicial (T_i) e final de degradação (T_f) associadas aos principais eventos térmicos dos filmes de HPMC. Como pode ser observado, para esses filmes houve apenas o aparecimento de dois

picos principais relacionados às principais taxas de degradação, T_{d1} e T_{d2} , que se referem, respectivamente, às temperaturas de degradação associadas ao primeiro evento térmico e às temperaturas associadas ao segundo evento térmico.

Tabela 8 - Valores das temperaturas iniciais e finais dos principais eventos de degradação dos filmes de HPMC

Filmes	Td ₁ (°C)		Td ₂ (°C)	
	T _i	T _f	T _i	T _f
H	27,6	85,3	249,5	419,5
HN25T	30,6	95,2	250,8	420,9
HNC10T	37,3	83,2	263,2	419,6

Fonte: própria autora

Ao analisar-se as temperaturas iniciais de degradação associadas ao segundo evento térmico é possível concluir que a adição de 2,5 % de NCCB praticamente não alterou a estabilidade térmica dos filmes quando comparada a dos filmes de gelatina. Já a adição de 10% de NCCB provocou um aumento na T_i associada ao segundo evento térmico, indicando, portanto, um aumento na estabilidade térmica desses filmes quando comparados aos filmes controle. Os valores aumentaram de 249,5 °C para 263,2 °C, ou seja, um incremento de aproximadamente 14 °C nos filmes reforçados com 10% de NCCB.

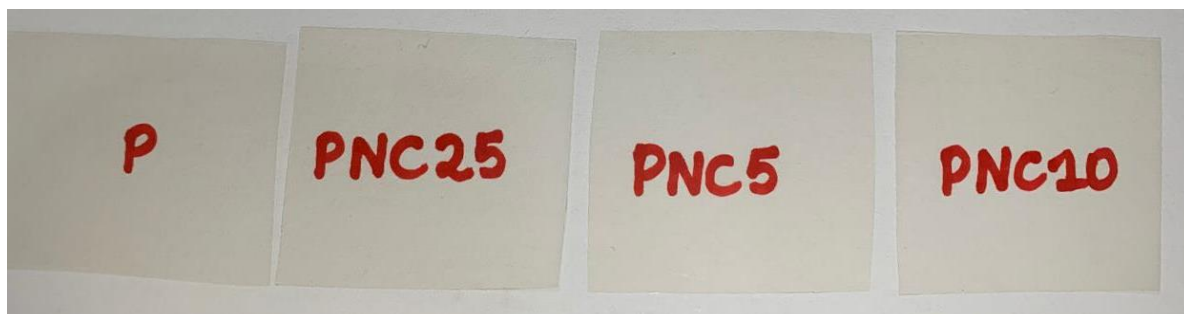
6.2.3 Filmes nanocompósitos à base de pectina

6.2.3.1 *Propriedades subjetivas e espessura dos filmes de pectina*

Os filmes compostos de pectina reforçados com NCCB também apresentaram-se macroscopicamente contínuos (desprovidos de falhas macroscópicas), homogêneos (sem domínios e textura pouco dispersos/gradientes de cores) e flexíveis (flexível o suficiente para manipular e descascar da superfície de fundição sem integridade prejudicada). Todos os filmes apresentaram espessura em

torno de $27 \pm 3 \mu\text{m}$. na Figura 35 é possível verificar a fotografia digital dos filmes de pectina puros e dos filmes reforçados com NCCB nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%, respectivamente.

Figura 34 - Fotografia digital dos filmes de pectina puros e dos filmes reforçados com NCCB nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%



Fonte: própria autora

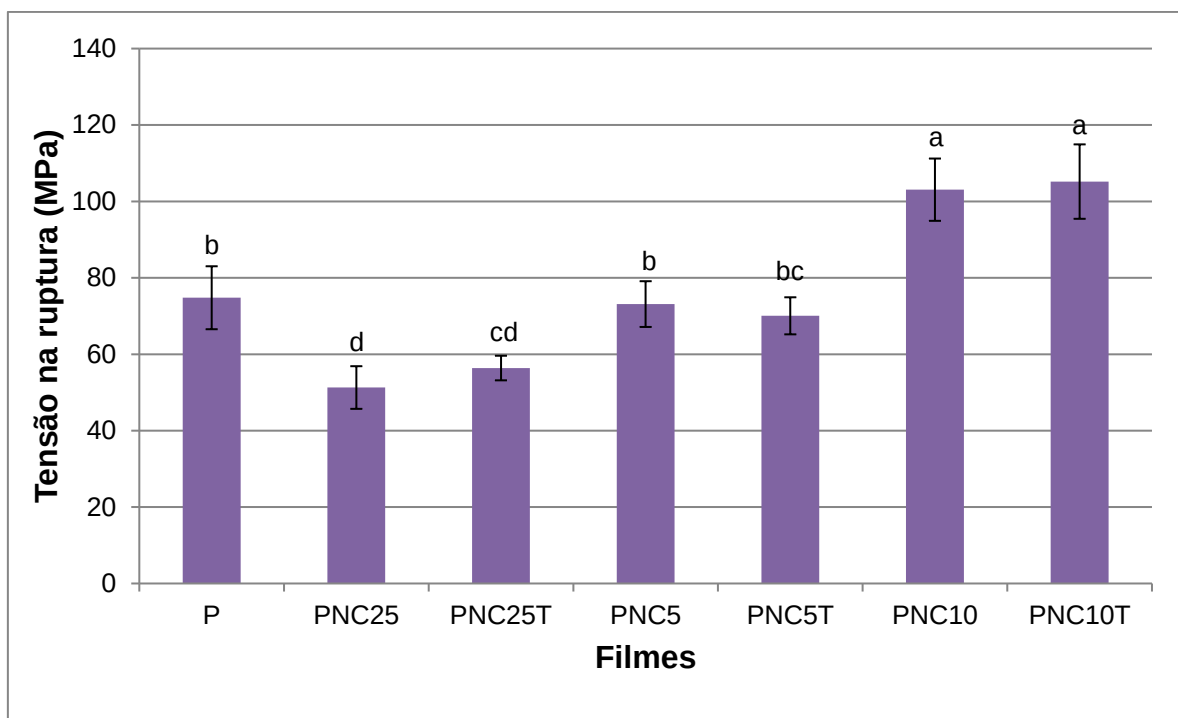
6.2.3.2 *Propriedades mecânicas dos filmes de pectina*

O efeito de reforço mecânico causado pela adição de NCCB na concentração de 10% em massa nos filmes de pectina pode ser observado na Figura 36. Houve um aumento expressivo dos valores de tensão na ruptura dos filmes preparados empregando baixa e alta energia na dispersão dos NCCB. Já nas concentrações de 2,5% e 5% em massa esse efeito não foi observado.

O aumento na tensão de ruptura é atribuído à formação de uma estrutura rígida e contínua causada pelas interações entre as nanopartículas e a matriz. A estrutura química da pectina e da celulose é semelhante e isso acarreta em fortes interações entre os grupos funcionais do polímero - dentre eles, os grupos carboxila e hidroxila - e a celulose, por meio de ligações de hidrogênio (Chaichi, Hashemi, Badii & Mohammadi, 2017).

Os filmes elaborados com 2,5% em massa de NCCB apresentaram os menores valores de tensão na ruptura. Os resultados estão de acordo com os valores de módulo de elasticidade apresentados na Figura 37. Como pode ser observado, nas concentrações de 10% ocorre um aumento da rigidez dos filmes, confirmando, assim, o enrijecimento dos filmes atribuído à interação carga/matriz.

Figura 35 – Valores de tensão na ruptura dos filmes de pectina



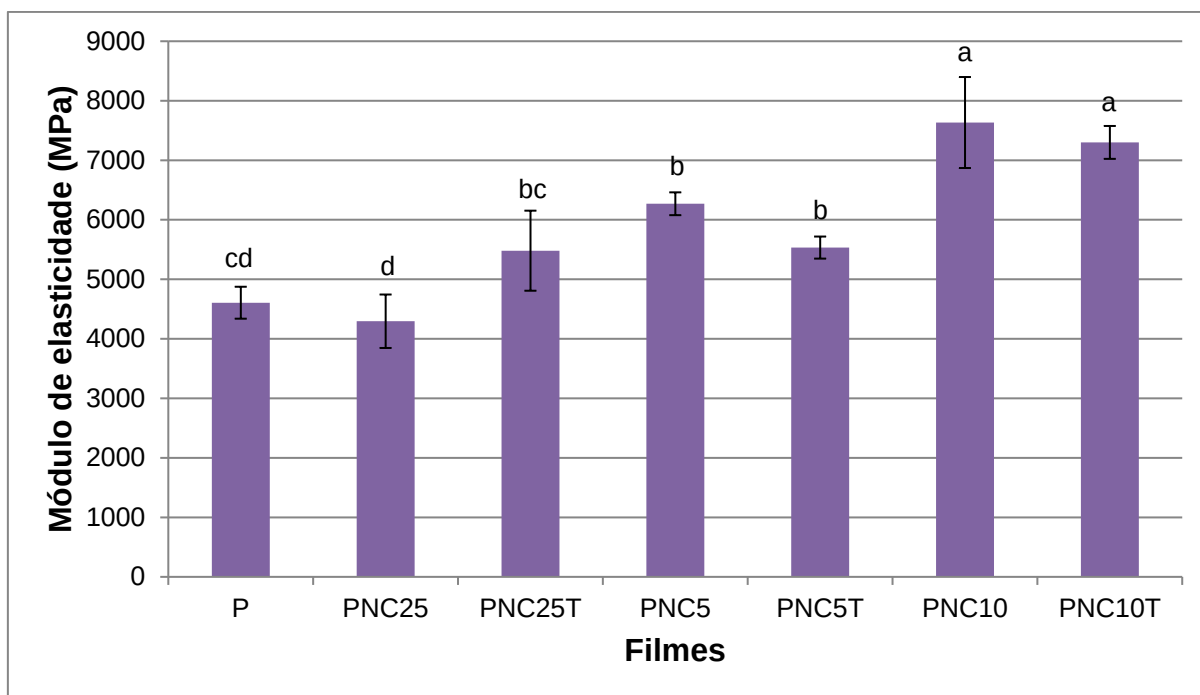
O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abcd} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

A quantidade de agente de reforço adicionada à matriz e o método de processamento para obtenção dos filmes nanocompósitos são fatores extremamente importantes para a resposta mecânica gerada. Como pôde-se observar, concentrações inferiores a 10% não foram suficientes para melhorar a resistência dos filmes de pectina.

O método de processamento dos filmes não influenciou nas propriedades finais uma vez que a matriz de pectina tem caráter aniônico, o que favorece a repulsão dos NCCB, que se encontram carregados negativamente em decorrência do processo de hidrólise utilizando-se o ácido sulfúrico. Essa característica da matriz contribui para uma melhor dispersão do agente de reforço ao longo do filme, diminuindo, assim, o surgimento de partículas aglomeradas.

Figura 36 – Valores de módulo de elasticidade dos filmes de pectina



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{abcd} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Na tabela 9 podem ser observados os valores de deformação dos filmes. A adição de 2,5% e 10% de NCCB causou uma diminuição na elongação dos filmes durante o teste de tração independentemente do protocolo de mistura empregado. Para os filmes elaborados com 5% de NCCB mediante protocolo de mistura de baixa energia não houve redução da deformação quando o agente de reforço foi adicionado.

Outros autores também relataram diminuição da deformação de filmes após a adicionarem agentes de reforço. Azeredo, Mattoso, Avena-Bustillos, Filho, Munford, Wood & McHugh (2010) elaboraram filmes de quitosana reforçados com nanofibras de celulose e observaram decréscimo da elongação dos filmes nos testes de tração.

Tabela 9 – Deformação dos filmes de pectina

Filmes	Deformação (%)
P	2,70 ± 0,38 ^a
PNC25	1,57 ± 0,06 ^b
PNC25T	1,53 ± 0,46 ^b
PNC5	2,71 ± 0,33 ^a
PNC5T	1,96 ± 0,25 ^{ab}
PNC10	1,89 ± 0,27 ^b
PNC10T	1,92 ± 0,62 ^b

Os valores são expressos como a média ± DP (n = 9). ^{ab} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa (p<0,05).

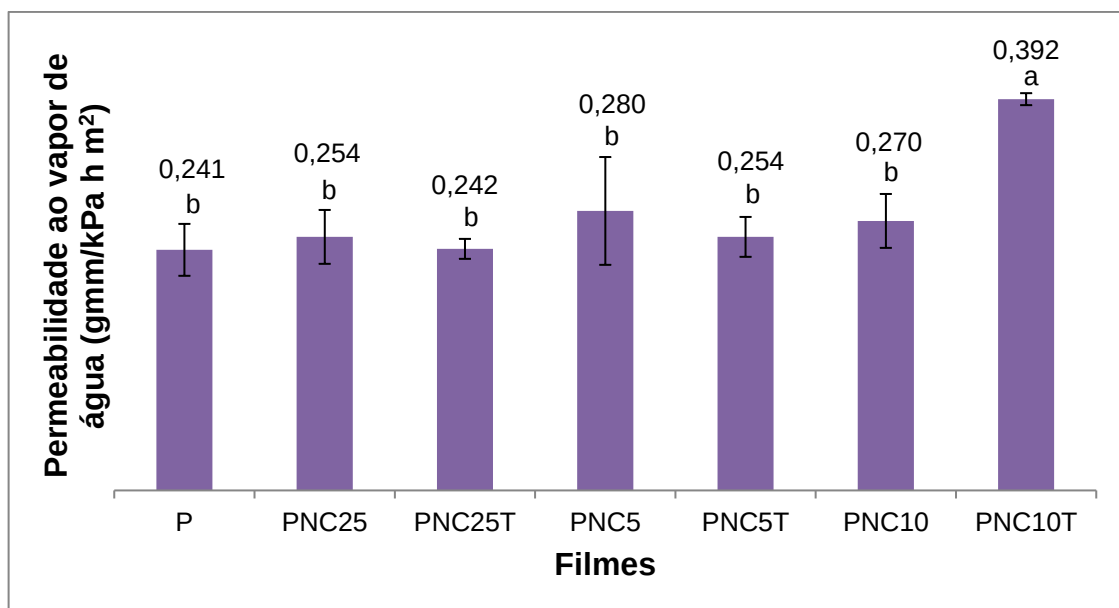
Fonte: própria autora

Agustin, Ahmmad, De Leon, Buenaobra, Salazar & Hirose (2013) produziram filmes de amido e adicionaram nanocristais de celulose extraídos de talos de alho e também reportaram diminuição na deformação dos filmes após adicionarem o agente de reforço.

6.2.3.3 Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de pectina

Os valores de PVA dos filmes de pectina são apresentados na Figura 38. Os filmes contendo 10% em massa de NCCB preparados com protocolo de alta energia apresentaram os maiores valores de PVA. Para as demais concentrações não houve mudanças significativas (p<0,05) nesse parâmetro. A adição dos nanocristais não causou redução da permeabilidade a vapor de água e a homogeneização das dispersões filmogênicas realizadas com protocolo de alta energia também não se mostrou efetiva para reduzir a PVA dos filmes.

Figura 37 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de pectina



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^{ab} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Assim como a gelatina, a pectina também é um polímero altamente hidrofílico. Os NCCB, como dito anteriormente, também são materiais hidrofílicos e a diminuição da permeabilidade ao vapor de água pode não ser efetiva quando se introduz um agente de reforço com tal característica. Para que haja redução da PVA, esse agente tem de ser capaz de aumentar a hidrofobicidade da matriz, dificultando a permeação do vapor ao longo do filme ou ainda possuir uma boa interação com a matriz, gerando uma estrutura mais compacta e livre de poros.

Chaichi, Hashemi, Badii & Mohammadi (2017) desenvolveram filmes de pectina e adicionaram nanocristais de celulose nas concentrações de 2%, 5% e 7% em massa. Nos filmes elaborados com a maior concentração do agente de reforço a PVA aumentou quando comparada a dos outros com menor quantidade de NC. Os autores atribuíram esse efeito à agregação e autocondensação das nanopartículas, o que gerou espaços vazios na matriz.

6.2.3.4 Ângulo de contato dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia

Os valores de ângulo de contato dos filmes no tempo inicial são apresentados na Tabela 10. Nos filmes constituídos de pectina o valor médio de ângulo de contato foi de $73 \pm 4^\circ$, ficando próximo ao dos filmes com 5% de NCCB de HPMC e nanocristais não diferido estatisticamente ($p < 0,05$). A variação dos ângulos no decorrer dos 60 segundos do teste é apresentada na Figura 39. Também na mesma figura é possível observar as imagens obtidas das gotas sobre cada tipo de filme no tempo inicial do ensaio e o ângulo formado entre eles.

Já o filme com 2,5% de NCCB apresentou acréscimo no valor de ângulo de contato quando comparado ao controle. O filme de pectina com 10% em massa de NCCB apresentou o menor valor médio de ângulo de contato no tempo inicial ($t = 0$).

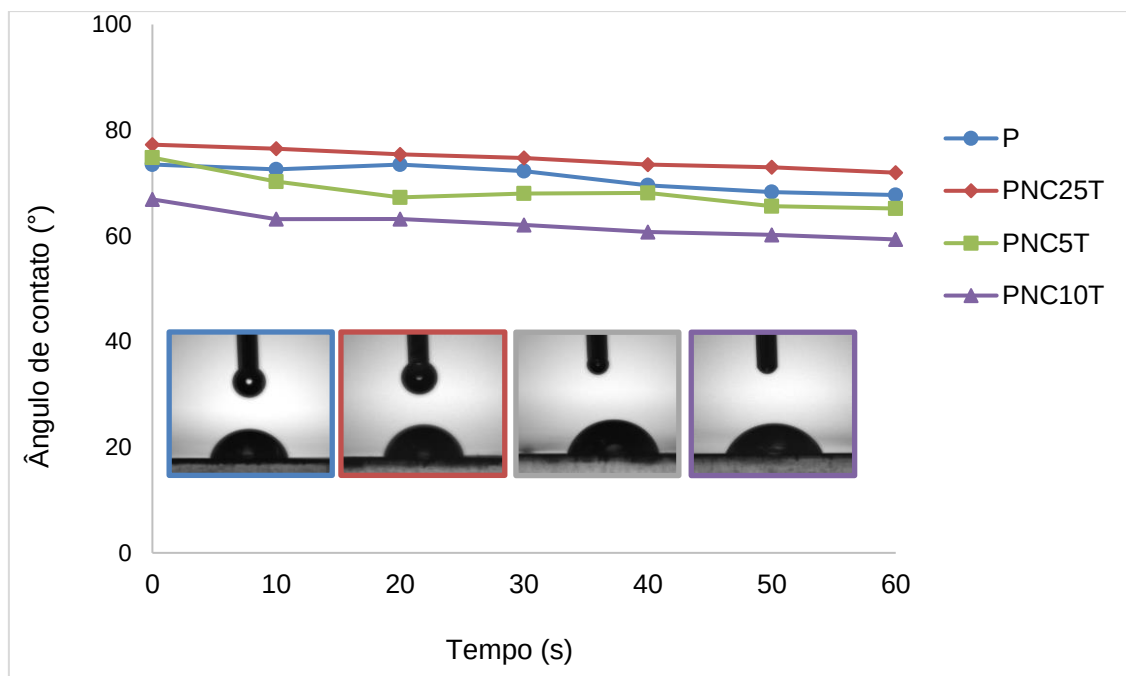
Tabela 10 – Ângulo de contato no tempo inicial dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia

Filmes	Ângulo de contato ($^\circ$)
P	73 ± 4^{ab}
PNC25T	77 ± 5^a
PNC5T	75 ± 4^{ab}
PNC10T	67 ± 2^b

Os valores são expressos como a média $\pm$ DP ($n = 9$). ^{ab} Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Figura 38 – Ângulo de contato dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia e imagens das gotas em 0 s



Fonte: própria autora

Através dessa análise pôde-se concluir que em geral os filmes apresentaram caráter hidrofílico, uma vez que os ângulos de contato foram inferiores a 90 °. De acordo com esses parâmetros, os filmes de HPMC e pectina são mais hidrofílicos que os de gelatina, já que esses últimos apresentam ângulos de contato maiores que os demais (HPMC e pectina). Isso se dá ao fato de os primeiros serem polímeros do tipo polissacarídeos (Galus & Debeaufort, 2014).

6.2.3.5 Umidade dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia

Os valores de porcentagem de umidade dos filmes de pectina encontram-se na Tabela 11. A porcentagem de umidade dos filmes situou-se na faixa de 10 a 12%. O menor valor médio de umidade encontrado foi para o filme de pectina contendo do 2,5% de NCCB em massa, no entanto, não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais.

Tabela 11 – Valores de umidade dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia

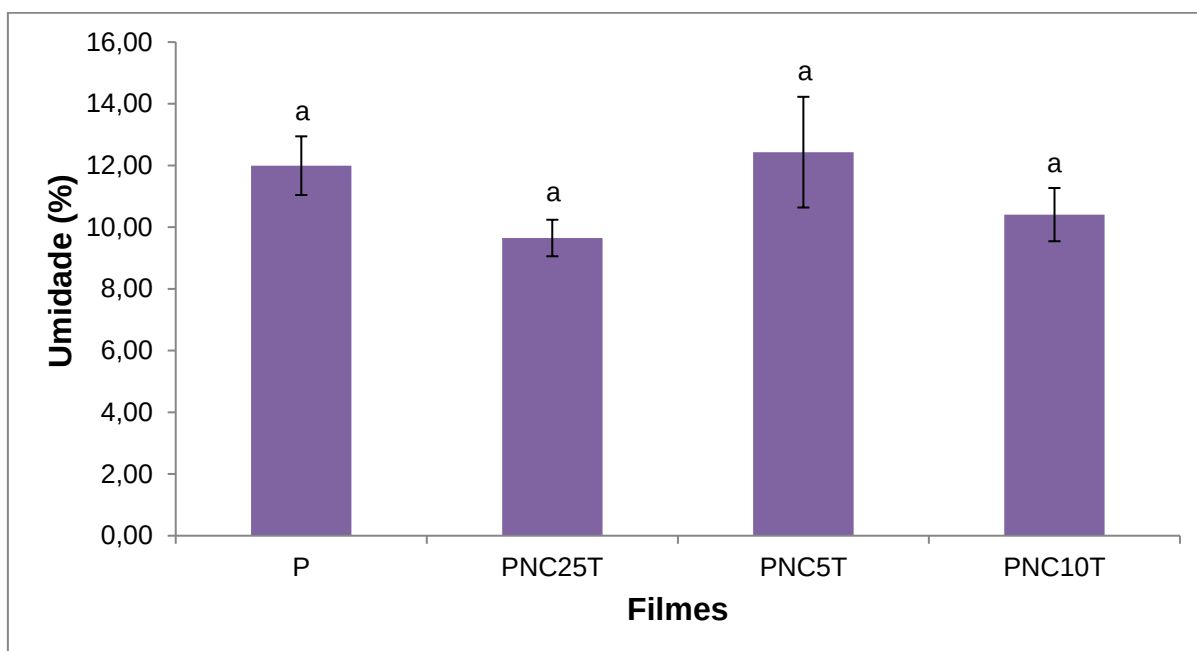
Filmes	Umidade (%)
P	12,00 ^a
PNC25T	9,65 ^a
PNC5T	12,43 ^a
PNC10T	10,41 ^a

Os valores são expressos como a média $\pm$ DP (n = 9). ^a Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

Na Figura 40 é possível verificar a umidade em porcentagem com os respectivos valores de desvio-padrão. Como pode ser observado, a adição de NCCB não alterou os valores de umidade dos filmes ($p < 0,05$).

Figura 39 – Umidade dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia



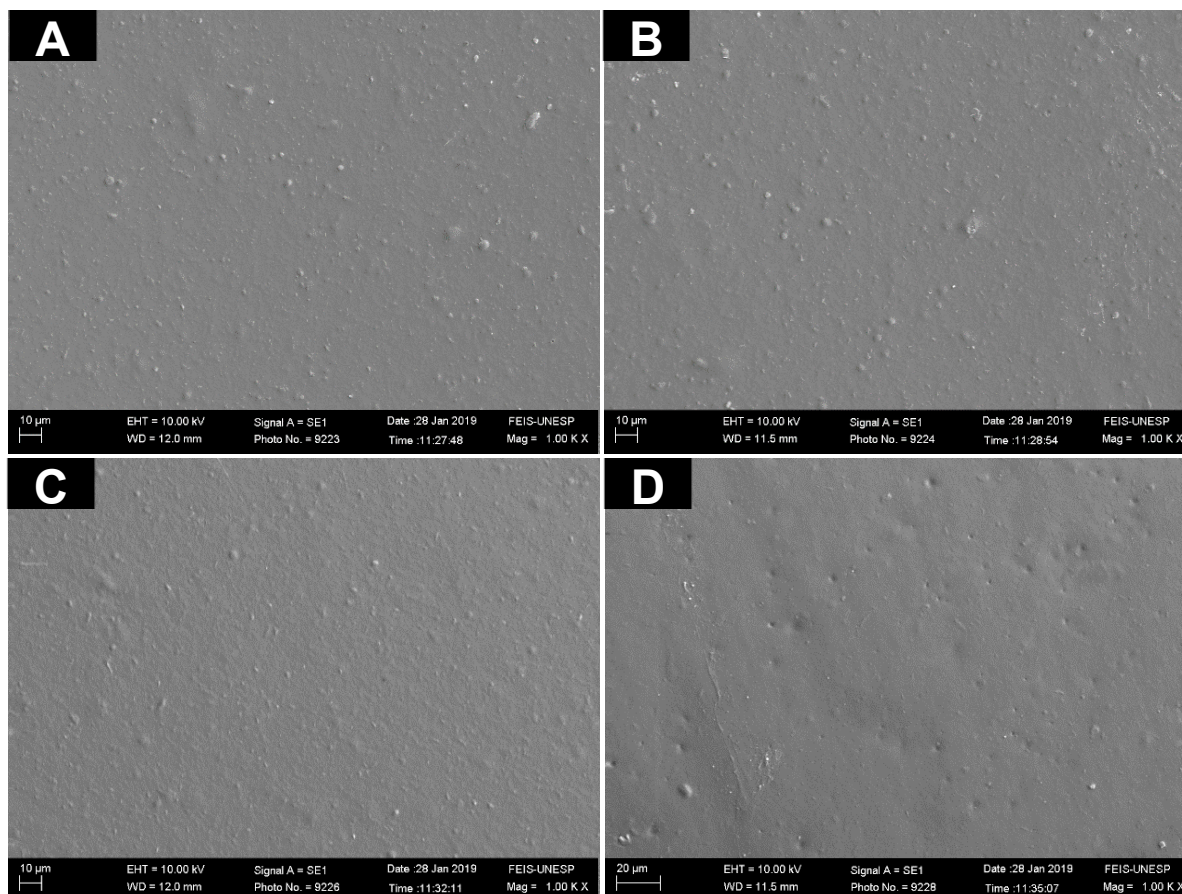
O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata ($n = 9$). ^a Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora

6.2.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de HPMC elaborados com protocolo de alta energia

A Figura 41 refere-se às micrografias de superfície dos filmes de pectina. Os filmes apresentaram uma superfície rugosa e homogênea, com exceção do filme contendo 10% de NCCB (D).

Figura 40 – Micrografias de superfície dos filmes de pectina - P (A), PNC25T (B), PNC5T (C), PNC10T



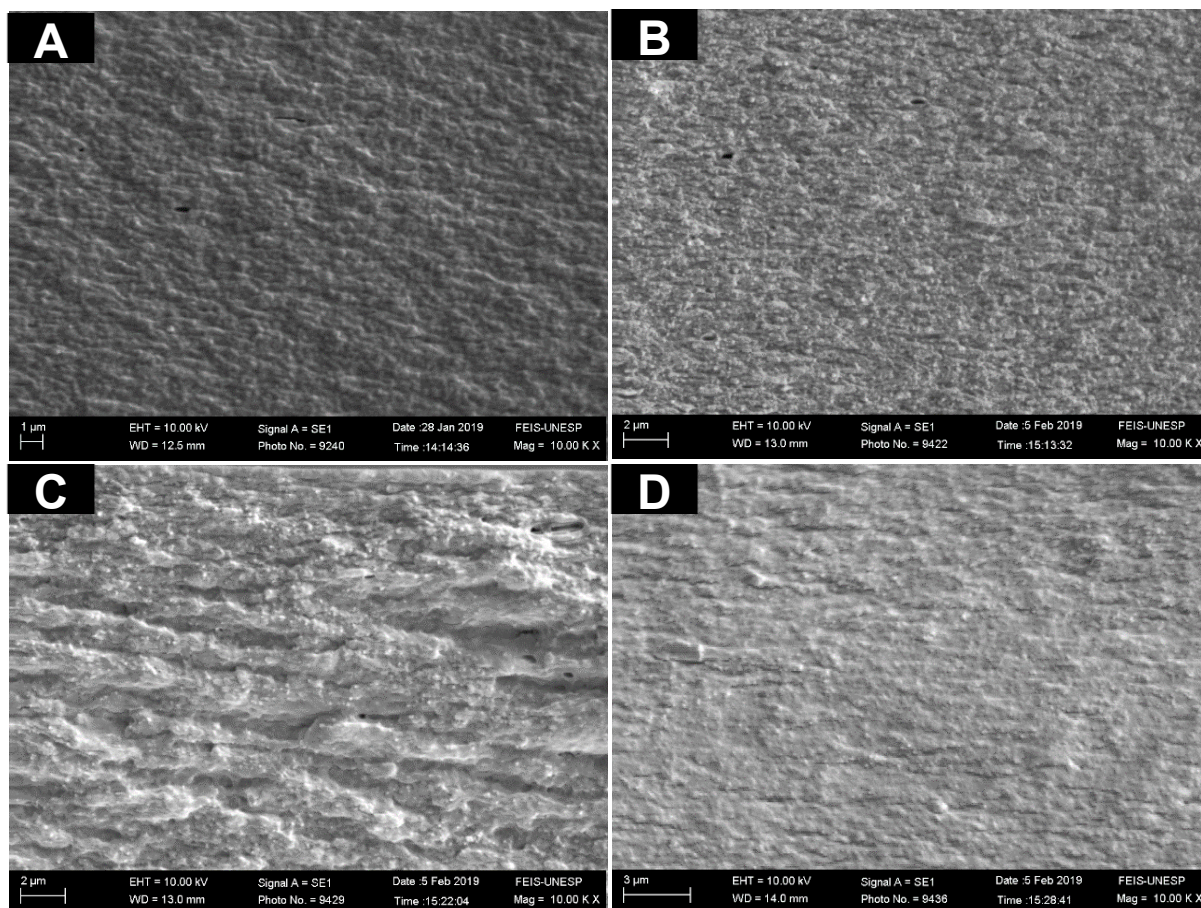
Fonte: própria autora

Na Figura 42 é possível observar as micrografias de superfícies após fratura criogênica. A adição do agente de reforço provocou algumas mudanças na microestrutura dos filmes. Pode-se observar a presença de alguns poros, especialmente nos filmes preenchidos com 2,5% e 5% de NCCB (B e C). Esse resultado corrobora com os resultados de propriedades mecânicas e de permeabilidade a vapor de água. A presença de poros, como já mencionado anteriormente, facilita a passagem de moléculas de água através dos filmes. Esses poros também podem servir como pontos de ruptura dos filmes durante o ensaio de tração.

Através das análises mecânicas foi possível observar um decréscimo nos valores de tensão na ruptura dos filmes reforçados com 2,5% e 5% de NCCB. Somente nas concentrações de 10% é que houve melhora significativa na resistência

dos filmes. Na análise da Figura 42 (D), pode-se notar que o filme com 10% de NCCB foi o que apresentou microestrutura mais compactada e mais homogênea, estando de acordo, portanto, com os resultados anteriores.

Figura 41 – Micrografias de fratura criogênica dos filmes de pectina - P (A), PNC25T (B), PNC5T (C), PNC10T (D)

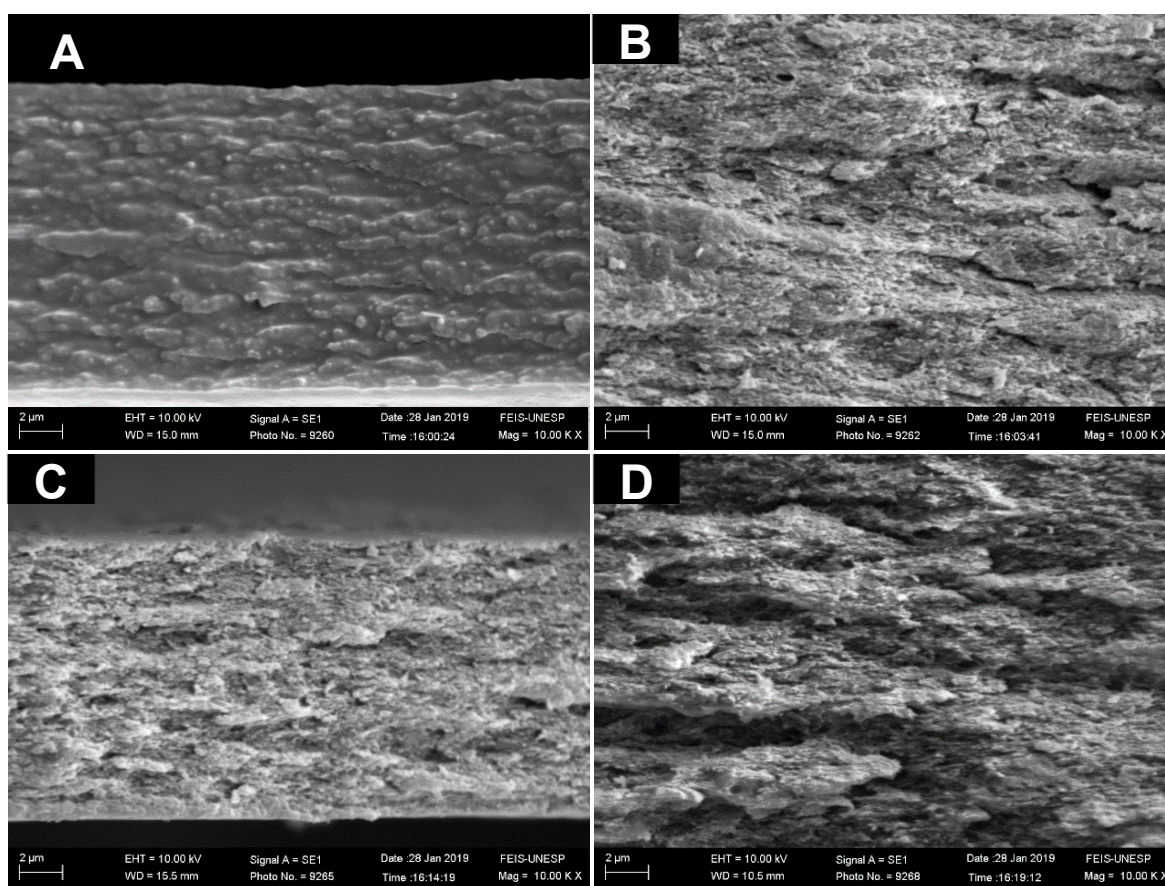


Fonte: própria autora

Na figura 43 é possível observar as micrografias de superfície de fratura mecânica. Em A tem-se o filme constituído apenas do polímero, onde nota-se uma estrutura compacta, livre de poros e sem indícios de separação de fases. Entretanto, quando os nanocristais são adicionados há uma mudança na superfície das fraturas mecânicas dos filmes. Nos filmes contendo 2,5% é possível notar a presença de uma elevada quantidade de poros e separação de fases. Isso pode estar relacionado com uma má distribuição do agente de reforço na matriz e consequentemente, a um enfraquecimento desses filmes do ponto de vista mecânico, como fora abordado nas análises das curvas de tensão *versus* deformação.

Os mesmos achados também podem ser observados nos filmes com 5% de NCCB. Já nas micrografias dos filmes com nanocristais na concentração de 10% em massa verifica-se uma microestrutura mais coesa e mais compactada, com uma quantidade bem menor de poros. Isso pode estar relacionado ao fato de os filmes contendo essa concentração de agente de reforço terem respondido melhor à força aplicada durante os ensaios mecânicos.

Figura 42 – Micrografias de fratura mecânica dos filmes de pectina - P (A), PNC25T (B), PNC5T (C), PNC10T (D)



Fonte: própria autora

Vários autores têm relatado a relação entre baixa compatibilidade entre os agentes de reforço e matrizes poliméricas e o pouco ou nenhum incremento nas propriedades mecânicas de filmes. Para que haja melhora nessas propriedades as partículas devem estar homogeneamente dispersas, gerando uma maior compactação da matriz e melhor interação entre os componentes dos filmes. Esses

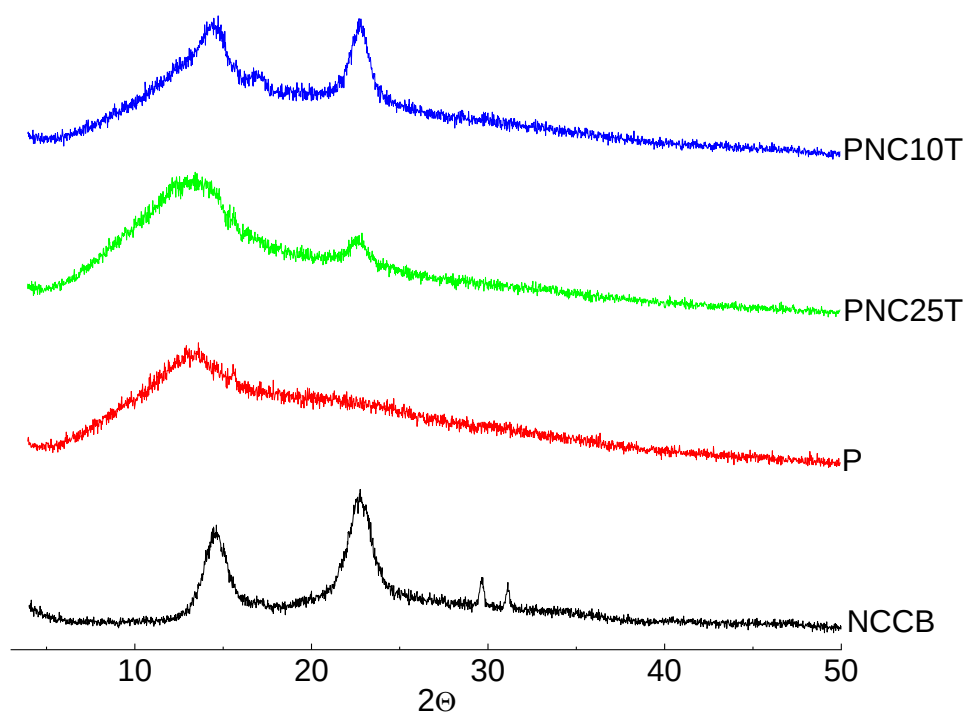
fatores associados são extremamente importantes para que haja uma transferência satisfatória de carga durante o estresse mecânico (George & Siddaramaiah, 2012).

6.2.3.7 Difratometria de raios X (DRX) dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia

Os difratogramas dos filmes de pectina e dos NCCB obtidos por DRX são apresentados na Figura 44. Pode-se observar a presença de uma banda em $2\theta = 12,9^\circ$ revelando uma estrutura pouco cristalina. A presença dessa banda está em conformidade com a literatura (de Oliveira, Ferreira, de Oliveira Begali, Ugucioni, de Sena Neto, Yoshida & Borges, 2021).

Após a adição de 2,5% de NCCB é possível verificar dois picos, um em $2\theta = 13,5^\circ$ e outro em $2\theta = 22,6^\circ$. Já nos filmes contendo 10% de NCCB podem ser visualizados picos em $2\theta = 14,5^\circ$ e $2\theta = 22,7^\circ$.

Figura 43 – DRX dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

Com a adição dos nanocristais houve um aumento da cristalinidade dos filmes, indicando uma combinação de picos amorfos e cristalinos. Segundo Chaichi, Hashemi, Badii & Mohammadi (2017), esse aumento de cristalinidade pode ser atribuído à atuação dos NCCB como agente nucleante durante a cristalização do polímero. Segundo os autores, os nanocristais causam um mecanismo de nucleação heterogêneo, reduzindo, assim, a barreira de energia livre acelerando a cristalização.

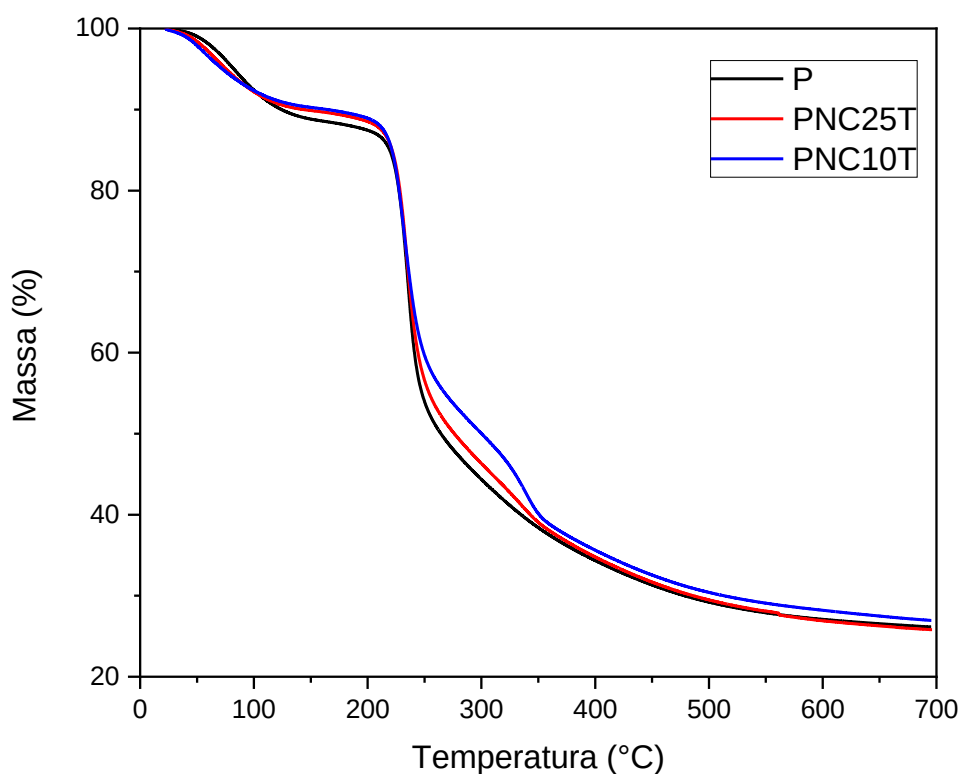
Além disso, os picos característicos dos NCCB não puderam ser visualizados, uma vez que pode ter havido uma sobreposição das bandas referentes à cadeia de pectina por ela ser o material predominante no compósito.

6.2.3.8 *Termogravimetria (TG) dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia*

A estabilidade térmica é uma propriedade muito importante quando se fala em materiais que são projetados para atender a indústria de alimentos. Muitas vezes os materiais de embalagens são utilizados para conter produtos em altas temperaturas e conhecer o comportamento dessa embalagem diante da variação de temperatura é de extrema relevância para se garantir a segurança do consumidor.

Nesse sentido, as curvas de TG e DTG dos filmes de pectina são apresentadas nas figuras 45 e 46, respectivamente. Como pode ser observado nas Figuras 46 e na Tabela 11, uma perda de massa inicial foi registrada em temperaturas iniciais de torno de 30 °C e abaixo de 100 °C, relacionada à perda de água (água de ligação) e degradação de compostos voláteis. Em torno de 130°C a 140 °C ocorreu uma decomposição atribuída à pectina (Espitia, Avena-Bustillos, Du, Teófilo, Soares & McHugh, 2014).

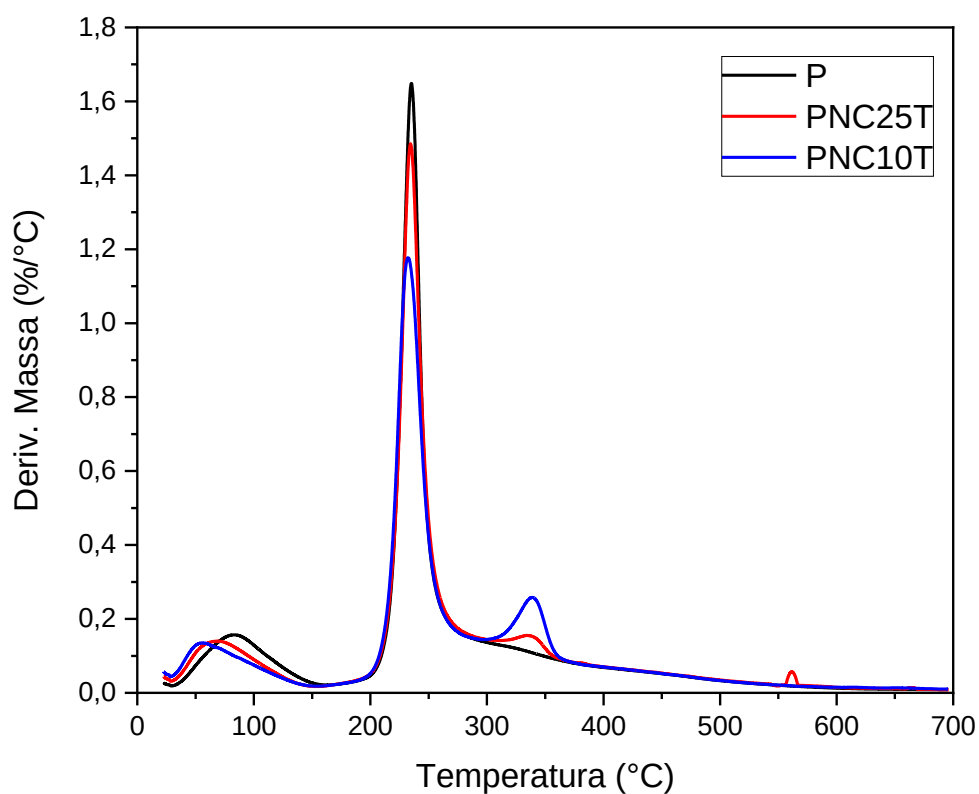
Figura 44 - Curvas de TG dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

O segundo evento térmico inicia-se em 179,5 °C para os filmes de pectina e em 183,2 °C e 183,3 °C para os filmes contendo 2,5% e 10% de NCCB, respectivamente. A adição das nanoestruturas diminuiu em aproximadamente 4 °C a estabilidade térmica dos filmes. A temperatura em que houve a maior taxa de degradação térmica situou-se em torno de 230 °C para todos os filmes testados.

Figura 45 - Curvas de DTG dos filmes de pectina elaborados com protocolo de alta energia



Fonte: própria autora

De acordo com a Tabela 12 é possível observar os valores iniciais das temperaturas de degradação associadas ao terceiro evento térmico, ocorrido apenas para os filmes que continham nanoestruturas. Esse evento inicia-se na temperatura de 318,6 °C e 305,4 °C nos filmes contendo 2,5% e 10% de NCCB e estão associados à degradação do agente de reforço.

Tabela 12 - Valores das temperaturas iniciais e finais dos principais eventos de degradação dos filmes de pectina

Filmes	Td ₁ (°C)		Td ₂ (°C)		Td ₃ (°C)		Td ₄ (°C)	
	T _i	T _f	T _i	T _f	T _i	T _f	T _i	T _f
P	30,6	159,5	179,7	299,5	-	-	-	-
PNC25T	29,2	150,8	183,3	297,2	318,6	361,1	556,1	569,9
PNC10T	29,3	151	183,4	292,4	305,4	369,1	-	-

Fonte: própria autora

Abitibol, Mijlkovic, Malafronte, Stevanic, Larsson & Lopez-Sanchez (2020) estudaram hidrogéis de pectina de baixo grau de metoxilação e nanocristais de celulose e obtiveram resultados semelhantes. Os autores atribuíram o segundo evento térmico, que teve início em torno de 300 °C, à presença dos nanocristais na matriz polimérica.

Como pôde ser observado através das análises de termogravimetria, a adição do nanomaterial melhorou a estabilidade térmica dos filmes, uma vez que as temperaturas iniciais de degradação associadas ao segundo evento térmico ficaram em torno de 183 °C e nos filmes controle esses valores situaram-se na faixa de 179 °C. Esses resultados são bastante promissores uma vez que a adição dos NCCB não prejudicou a estabilidade térmica desses materiais.

7 CONCLUSÃO

Em resumo, os filmes compostos de gelatina, HPMC e pectina reforçados com nanocristais de celulose bacteriana apresentaram propriedades adequadas para aplicação como material de embalagem. Todos os filmes eram contínuos, manuseáveis, homogêneos e transparentes. Os nanocristais contribuíram para melhorar a resistência mecânica dos filmes de maneira geral. Entretanto, os que obtiveram melhores respostas foram os filmes formulados com HPMC e pectina quando a concentração de 10% em massa de agente de reforço foi utilizada. As nanoestruturas na concentração de 5% contribuíram para melhorar a barreira ao vapor de água nos filmes de HPMC quando o protocolo de mistura de alta energia foi adotado. Através das análises de microscopia eletrônica de varredura foi possível verificar as mudanças na microestrutura dos filmes ocasionadas pela adição do agente de reforço e que eles apresentaram boa dispersão em todas as matrizes, de maneira geral. É importante ressaltar que os nanocristais foram isolados da biomassa excedente, atendendo às tendências de biorrefinarias e bioeconomia circular, além de tal método potencialmente reduzir os custos de produção de embalagens em comparação com as de plásticos convencionais. Os resultados aqui obtidos têm implicações claras nos esforços recentes da comunidade científica para tornar a substituição de plásticos não renováveis e não biodegradáveis por compósitos à base de fontes renováveis que sejam viáveis tanto técnica quanto economicamente, em particular, para aplicações de curto prazo como materiais de embalagem, como objetivou o presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., & Miraki, R. (2013). Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 54, 166-173.
- Abitbol, T., Mijlkovic, A., Malafronte, L., Stevanic, J. S., Larsson, P. T., & Lopez-Sanchez, P. (2020). Cellulose nanocrystal/low methoxyl pectin gels produced by internal ionotropic gelation. *Carbohydrate Polymers*, 117345.
- Ahmad, T., Ismail, A., Ahmad, S. A., Khalil, K. A., Kumar, Y., Adeyemi, K. D., & Sazili, A. Q. (2017). Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. *Food Hydrocolloids*, 63, 85-96.
- Agustin, M. B., Ahmmad, B., De Leon, E. R. P., Buenaobra, J. L., Salazar, J. R., & Hirose, F. (2013). Starch-based biocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals from garlic stalks. *Polymer Composites*, 34(8), 1325-1332.
- Agustin, M. B., Ahmmad, B., Alonzo, S. M. M., & Patriana, F. M. (2014). Bioplastic based on starch and cellulose nanocrystals from rice straw. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 33(24), 2205-2213.
- Ahmadi, A., Ahmadi, P., Sani, M. A., Ehsani, A., & Ghanbarzadeh, B. (2021). Functional biocompatible nanocomposite films consisting of selenium and zinc oxide nanoparticles embedded in gelatin/cellulose nanofiber matrices. *International Journal of Biological Macromolecules*, 175, 87-97.
- Alves, J. S., Dos Reis, K. C., Menezes, E. G. T., Pereira, F. V., & Pereira, J. (2015). Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. *Carbohydrate Polymers*, 115, 215-222.
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-95). *Journal of Testing and Evaluation*, 26(2), 83-88.

ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. (D882-2012). *In Annual Book of American Standard Testing Methods*, 313-321.

Azeredo, H. M., Mattoso, L. H. C., Avena-Bustillos, R. J., Filho, G. C., Munford, M. L., Wood, D., & McHugh, T. H. (2010). Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *Journal of Food Science*, 75(1), N1-N7.

Bang, Y. J., Shankar, S., & Rhim, J. W. (2019). In situ synthesis of multi-functional gelatin/resorcinol/silver nanoparticles composite films. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100399.

Bigi, A., Panzavolta, S., & Rubini, K. (2004). Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. *Biomaterials*, 25(25), 5675-5680.

Bilbao-Sáinz, C., Avena-Bustillos, R. J., Wood, D. F., Williams, T. G., & McHugh, T. H. (2010). Composite edible films based on hydroxypropyl methylcellulose reinforced with microcrystalline cellulose nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3753-3760.

Burdock, G. A. (2007). Safety assessment of hydroxypropyl methylcellulose as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 45(12), 2341-2351.

Canevarolo Jr, S. V. (2002). Ciência dos polímeros. *Artliber editora, São Paulo*, 110-115.

Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2011). Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 22(12), 662-671.

Chaichi, M., Hashemi, M., Badii, F., & Mohammadi, A. (2017). Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, 157, 167-175.

Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., & Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161, 118-139.

Chen, Q., Shi, Y., Chen, G., & Cai, M. (2020). Enhanced mechanical and hydrophobic properties of composite cassava starch films with stearic acid modified MCC (microcrystalline cellulose)/NCC (nanocellulose) as strength agent. *International journal of biological macromolecules*, 142, 846-854.

De Oliveira, A. C. S., Ferreira, L. F., de Oliveira Begali, D., Ugucioni, J. C., de Sena Neto, A. R., Yoshida, M. I., & Borges, S. V. (2021). Thermoplasticized Pectin by Extrusion/Thermo-Compression for Film Industrial Application. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-11.

De Oliveira Barud, H. G., da Silva, R. R., da Silva Barud, H., Tercjak, A., Gutierrez, J., Lustri, W. R., de Oliveira Junior, O. B., & Ribeiro, S. J. (2016). A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 153, 406-420.

Ding, C., Zhang, M., & Li, G. (2015). Preparation and characterization of collagen/hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) blend film. *Carbohydrate Polymers*, 119, 194-201.

Donini, Í. A. N., de Salvi, D. T. B., Fukumoto, F. K., Lustri, W. R., da Silva Barud, H., Marchetto, R., Younes, M., & Ribeiro, S. J. L. (2010). Biosynthesis and recent advances in production of bacterial cellulose. *Eclética Química Journal*, 35(4), 165-178.

El Achaby, M., El Miri, N., Hannache, H., Gmouh, S., & Aboulkas, A. (2018). Production of cellulose nanocrystals from vine shoots and their use for the development of

nanocomposite materials. *International journal of biological macromolecules*, 117, 592-600.

Espitia, P. J. P., Avena-Bustillos, R. J., Du, W. X., Teófilo, R. F., Soares, N. F., & McHugh, T. H. (2014). Optimal antimicrobial formulation and physical–mechanical properties of edible films based on açai and pectin for food preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 2(1), 38-49.

European bioplastics (2018). What are bioplastics? Material types, terminology, and labels – an introduction. [WWW document]. URL https://docs.european-bioplastics.org/publications/fs/EuBP_FS_What_are_bioplastics.pdf (Accessed 04.17.21)

Fakhouri, F. M., Martelli, S. M., Caon, T., Velasco, J. I., & Mei, L. H. I. (2015). 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*, 109, 57-64.

Fonseca-García, A., Jiménez-Regalado, E. J., & Aguirre-Loredo, R. Y. (2021). Preparation of a novel biodegradable packaging film based on corn starch-chitosan and poloxamers. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117009.

Foster, E. J., Moon, R. J., Agarwal, U. P., Bortner, M. J., Bras, J., Camarero-Espinosa, S., ... & Youngblood, J. (2018). Current characterization methods for cellulose nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 47(8), 2609-2679.

Galus, S., & Kadzińska, J. (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 273-283.

George, J. & Siddaramaiah (2012). High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2031-2037.

George, J., Kumar, R., Sajeevkumar, V. A., Ramana, K. V., Rajamanickam, R., Abhishek, V., & Nadanasabapathy, S. (2014). Hybrid HPMC nanocomposites containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 105, 285-292.

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.

Ghaderi, J., Hosseini, S. F., Keyvani, N., & Gómez-Guillén, M. C. (2019). Polymer blending effects on the physicochemical and structural features of the chitosan/poly (vinyl alcohol)/fish gelatin ternary biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 95, 122-132.

Gómez-Estaca, J., Gavara, R., Catalá, R., & Hernández-Muñoz, P. (2016). The potential of proteins for producing food packaging materials: A review. *Packaging Technology and Science*, 29(4-5), 203-224.

Guo, J. H., Skinner, G. W., Harcum, W. W., & Barnum, P. E. (1998). Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymers. *Pharmaceutical science & technology today*, 1(6), 254-261.

Haghighi, H., Gullo, M., La China, S., Pfeifer, F., Siesler, H. W., Licciardello, F., & Pulvirenti, A. (2020). Characterization of bio-nanocomposite films based on gelatin/polyvinyl alcohol blend reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 106454.

Han, Y., Yu, M., & Wang, L. (2018). Soy protein isolate nanocomposites reinforced with nanocellulose isolated from licorice residue: Water sensitivity and mechanical strength. *Industrial Crops and Products*, 117, 252-259.

Hanani, Z. N., Roos, Y. H., & Kerry, J. P. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International journal of biological macromolecules*, 71, 94-102.

Huang, T., Tu, Z. C., Shangguan, X., Sha, X., Wang, H., Zhang, L., & Bansal, N. (2019). Fish gelatin modifications: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 260-269.

Iost, C. A., & Raetano, C. G. (2010). Tensão superficial dinâmica e ângulo de contato de soluções aquosas com surfatantes em superfícies artificiais e naturais. *Engenharia Agrícola*, 30(4), 670-680.

Kargarzadeh, H., Huang, J., Lin, N., Ahmad, I., Mariano, M., Dufresne, A., Thomas, S., & Gałęski, A. (2018). Recent developments in nanocellulose-based biodegradable polymers, thermoplastic polymers, and porous nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, 87, 197-227.

Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte chemie international edition*, 44(22), 3358-3393.

Klemm, D., Schumann, D., Kramer, F., Heßler, N., Hornung, M., Schmauder, H. P., & Marsch, S. (2006). Nanocelluloses as innovative polymers in research and application. *Polysaccharides II*, 49-96.

Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., & Dorris, A. (2011). Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(24), 5438-5466.

Kontturi, E., Laaksonen, P., Linder, M. B., Gröschel, A. H., Rojas, O. J., & Ikkala, O. (2018). Advanced materials through assembly of nanocelluloses. *Advanced Materials*, 30(24), 1703779.

Kowalczyk, D., & Baraniak, B. (2014). Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films—a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 41, 195-209.

Krochta, J. M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. *Protein-based films and coatings*, 1, 1-40.

Leite, L. S., Bilatto, S., Paschoalin, R. T., Soares, A. C., Moreira, F. K., Oliveira Jr, O. N., Mattoso, L. H. C., & Bras, J. (2020). Eco-friendly gelatin films with rosin-grafted cellulose nanocrystals for antimicrobial packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 2974-2983.

Leite, L. S., Moreira, F. K., Mattoso, L. H., & Bras, J. (2020). Electrostatic interactions regulate the physical properties of gelatin-cellulose nanocrystals nanocomposite films intended for biodegradable packaging. *Food Hydrocolloids*, 106424.

Li, X. G., Huang, M. R., & Bai, H. (1999). Thermal decomposition of cellulose ethers. *Journal of Applied Polymer Science*, 73(14), 2927-2936.

Lima, L. R., Santos, D. B., Santos, M. V., Barud, H. S., Henrique, M. A., Pasquini, D., Pecoraro, E., & Ribeiro, S. J. (2015). Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. *Química Nova*, 38(9), 1140-1147.

Lin, J., Pan, D., Sun, Y., Ou, C., Wang, Y., & Cao, J. (2019). The modification of gelatin films: Based on various cross-linking mechanism of glutaraldehyde at acidic and alkaline conditions. *Food science & nutrition*, 7(12), 4140-4146.

Lopes, C. M., Lobo, J. M. S., & Costa, P. (2005). Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41(2), 143-154.

Lorevice, M. V., Moura, M. R. D., & Mattoso, L. H. (2014). Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. *Química Nova*, 37(6), 931-936.

Lorevice, M. V., Otoni, C. G., de Moura, M. R., & Mattoso, L. H. C. (2016). Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high-and low-methyl pectin films. *Food Hydrocolloids*, 52, 732-740.

Martucci, J. F., & Ruseckaite, R. A. (2010). Biodegradable bovine gelatin/Na⁺-montmorillonite nanocomposite films. Structure, barrier and dynamic mechanical properties. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 49(6), 581-588.

Maxwell, E. G., Belshaw, N. J., Waldron, K. W., & Morris, V. J. (2012). Pectin—an emerging new bioactive food polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*, 24(2), 64-73.

McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of food science*, 58(4), 899-903.

Mohan, C. C., Harini, K., Aafrin, B. V., Babuskin, S., Karthikeyan, S., Sudarshan, K., Renuka, V. & Sukumar, M. (2018). Extraction and characterization of polysaccharides from tamarind seeds, rice mill residue, okra waste and sugarcane bagasse for its Bio-thermoplastic properties. *Carbohydrate Polymers*, 186, 394-401.

Monterrey, E. S., & Sobral, P. J. D. A. (1999). Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. *Food Science and Technology*, 19(2), 294-301.

Morrison, N. A., Clark, R. C., Chen, Y. L., Talashek, T., & Sworn, G. (1999). Gelatin alternatives for the food industry. In *Physical chemistry and industrial application of gellan gum*, Springer, Berlin, Heidelberg, 127-131.

Munhoz, C. L., Sanjinez-Argandoña, E. J., & Soares-Júnior, M. S. (2010). Extração de pectina de goiaba desidratada. *Food Science and Technology*, 30(1), 119-125.

Najwa, I. N. A., Guerrero, P., de la Caba, K., & Hanani, Z. N. (2020). Physical and antioxidant properties of starch/gelatin films incorporated with *Garcinia atroviridis* leaves. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100583.

Nehra, P., & Chauhan, R. P. (2021). Eco-friendly nanocellulose and its biomedical applications: current status and future prospect. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 32(1), 112-149.

Otoni, C. G., Carvalho, A. S., Cardoso, M. V., Bernardinelli, O. D., Lorevice, M. V., Colnago, L. A., Loh, W., & Mattoso, L. H. (2018). High-pressure microfluidization as a green tool for optimizing the mechanical performance of all-cellulose composites. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(10), 12727-12735.

Otoni, C. G., Lorevice, M. V., de Moura, M. R., & Mattoso, L. H. (2018). On the effects of hydroxyl substitution degree and molecular weight on mechanical and water barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Carbohydrate polymers*, 185, 105-111.

Pellá, M. C., Silva, O. A., Pellá, M. G., Beneton, A. G., Caetano, J., Simões, M. R., & Dragunski, D. C. (2020). Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. *Food Chemistry*, 309, 125764.

Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A., & Martucci, J. F. (2011). Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1372-1381.

Polman, E. M., Gruter, G. J. M., Parsons, J. R., & Tietema, A. (2020). Comparison of the aerobic biodegradation of biopolymers and the corresponding bioplastics: A review. *Science of The Total Environment*, 141953.

Qiu, W. Y., Cai, W. D., Wang, M., & Yan, J. K. (2019). Effect of ultrasonic intensity on the conformational changes in citrus pectin under ultrasonic processing. *Food chemistry*, 297, 125021.

Riahi, Z., Priyadarshi, R., Rhim, J. W., & Bagheri, R. (2020). Gelatin-based functional films integrated with grapefruit seed extract and TiO₂ for active food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 106314.

Salari, M., Khiabani, M. S., Mokarram, R. R., Ghanbarzadeh, B., & Kafil, H. S. (2018). Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 84, 414-423.

Sánchez, C., Hortal, M., Aliaga, C., Devis, A., & Cloquell-Ballester, V. A. (2014). Recyclability assessment of nano-reinforced plastic packaging. *Waste Management*, 34(12), 2647-2655.

Santacruz, S., Rivadeneira, C., & Castro, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89-94.

Santana, J. S., do Rosário, J. M., Pola, C. C., Otoni, C. G., de Fátima Ferreira Soares, N., Camilloto, G. P., & Cruz, R. S. (2017). Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. *Journal of applied polymer science*, 134(12).

Santos, T. M., Men de Sá Filho, M. S., Caceres, C. A., Rosa, M. F., Morais, J. P. S., Pinto, A. M., & Azeredo, H. M. (2014). Fish gelatin films as affected by cellulose whiskers and sonication. *Food Hydrocolloids*, 41, 113-118.

Shankar, S., Jaiswal, L., Selvakannan, P. R., Ham, K. S., & Rhim, J. W. (2016). Gelatin-based dissolvable antibacterial films reinforced with metallic nanoparticles. *RSC advances*, 6(71), 67340-67352.

Shao, X., Sun, H., Zhou, R., Zhao, B., Shi, J., Jiang, R., & Dong, Y. (2020). Effect of bovine bone collagen and nano-TiO₂ on the properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 937-944.

Shehap, A. M., Mahmoud, K., El-Kader, M. F. A., & El-Basheer, T. M. (2015). Preparation and thermal properties of gelatin/TGS composite films. *Middle East J Appl Sci*, 5, 157-70.

Sivakanthan, S., Rajendran, S., Gamage, A., Madhujith, T., & Mani, S. (2020). Antioxidant and Antimicrobial Applications of Biopolymers: A Review. *Food Research International*, 109327.

Souza, V. G. L., & Fernando, A. L. (2016). Nanoparticles in food packaging: Biodegradability and potential migration to food - A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 63-70.

Starov, V. M., Zhdanov, S. A., Kosvintsev, S. R., Sobolev, V. D., & Velarde, M. G. (2003). Spreading of liquid drops over porous substrates. *Advances in Colloid and Interface Science*, 104(1-3), 123-158.

Suderman, N., Isa, M. I. N., & Sarbon, N. M. (2018). The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. *Food bioscience*, 24, 111-119.

Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., & Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137, 360-374.

Thomas, P., Duolikun, T., Rumjit, N. P., Moosavi, S., Lai, C. W., Johan, M. R. B., & Fen, L. B. (2020). Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 103884.

Vanin, F. M., Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Carvalho, R. A., & Habitante, A. M. Q. B. (2005). Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids*, 19(5), 899-907.

Vanitjinda, G., Nimchua, T., & Sukyai, P. (2019). Effect of xylanase-assisted pretreatment on the properties of cellulose and regenerated cellulose films from sugarcane bagasse. *International journal of biological macromolecules*, 122, 503-516.

Videcoq, P., Garnier, C., Robert, P., & Bonnin, E. (2011). Influence of calcium on pectin methylesterase behaviour in the presence of medium methylated pectins. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1657-1664.

Villadiego, A. M. D., Soares, N. D. F. F., Andrade, N. J. D., Puschmann, R., Minim, V. P. R., & Cruz, R. (2005). Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios.

Yin, J., Luo, K., Chen, X., & Khutoryanskiy, V. V. (2006). Miscibility studies of the blends of chitosan with some cellulose ethers. *Carbohydrate polymers*, 63(2), 238-244.

Yuliana, M., Huynh, L. H., Ho, Q. P., Truong, C. T., & Ju, Y. H. (2012). Defatted cashew nut shell starch as renewable polymeric material: Isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 87(4), 2576-2581.

Zhang, R., Zhang, Z., Zhang, H., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2015). Influence of emulsifier type on gastrointestinal fate of oil-in-water emulsions containing anionic dietary fiber (pectin). *Food Hydrocolloids*, 45, 175-185.

Zhang, W., Zhang, Y., Cao, J., & Jiang, W. (2020). Improving the performance of edible food packaging films by using nanocellulose as an additive. *International Journal of Biological Macromolecules*.

Zhao, G., Lyu, X., Lee, J., Cui, X., & Chen, W. N. (2019). Biodegradable and transparent cellulose film prepared eco-friendly from durian rind for packaging application. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100345.

Zhou, L., He, H., Jiang, C., Ma, L., & Yu, P. (2017). Cellulose nanocrystals from cotton stalk for reinforcement of poly (vinyl alcohol) composites. *Cellul Chem Technol*, 51, 109-119.

Zimmermann, M. V. G., da Silva, M. P., Zattera, A. J., & Campomanes Santana, R. M. (2017). Effect of nanocellulose fibers and acetylated nanocellulose fibers on properties

of poly (ethylene-co-vinyl acetate) foams. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(17).