



ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE
ENGENHARIA CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

VANESSA SOLFA DOS SANTOS

DESENVOLVIMENTO NO PREPARO E CARACTERIZAÇÕES DE
BIONANOCOMPÓSITOS COMESTÍVEIS A BASE DE PECTINA E ÓLEO
ESSENCIAL DE ALHO

Ilha Solteira

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” FACULDADE
DE ENGENHARIA

CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

VANESSA SOLFA DOS SANTOS

DESENVOLVIMENTO NO PREPARO E CARACTERIZAÇÕES DE
BIONANOCOMPÓSITOS COMESTÍVEIS A BASE DE PECTINA E ÓLEO
ESSENCIAL DE ALHO

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Ciência dos Materiais da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP,
Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha
Solteira – SP como requisito para obtenção do
título de Doutor em Ciência dos Materiais.
Área de concentração: Química dos Materiais

Prof.^a Dra. Márcia Regina de Moura Aouada

Orientadora

Ilha Solteira

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Santos, Vanessa Solfa dos.
S237d Desenvolvimento no preparo e caracterizações de bionanocompósitos
comestíveis a base de pectina e óleo essencial de alho / Vanessa Solfa dos
Santos. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2020
97 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia
de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2020

Orientador: Márcia Regina de Moura Aouada
Inclui bibliografia

1. Filmes comestíveis. 2. Óleo essencial de alho. 3. Pectina. 4. Nanopartículas
de quitosana .

Raiane da Silva Santos
Raiane da Silva Santos

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Preparo e caracterizações de bionanocompósitos comestíveis a base de pectina e óleo essencial de alho
Preparo e caracterizações de bionanocompósitos comestíveis a base de pectina e óleo essencial de alho

AUTORA: VANESSA SOLFA DOS SANTOS

ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

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

Marcia R. de Moura Aouada

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

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

Prof. Dr. ALEXANDRE BORGES
Departamento de Bioquímica / UNIFUNECS

Prof. Dr. JULIANO ELVIS DE OLIVEIRA
Departamento de Engenharia / Universidade Federal de Lavras - UFLA

Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALMEIDA LUCAS
Departamento de Engenharia de Materiais - DEMA / Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR

Ilha Solteira, 17 de julho de 2020

Aos meus pais Fátima Solfa dos Santos e Moacir Belmonte dos Santos e aos meus avós Aparecida Belmonte e Felintro Messias que sempre acreditaram em mim e me ensinaram que, por mais difícil que as coisas possam parecer, tudo passa e no final o que fica são nossos valores e princípios.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me sustentar até aqui, por ser meu socorro presente nas horas de aflições e angustias. A certeza da sua presença em minha vida me sustenta a cada dia.

Aos meus amados pais, Fátima Solfa dos Santos e Moacir Belmonte dos Santos pelo incentivo e apoio incondicional.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Marcia R. de Moura Aouada, pela orientação, por todas as correções, pela confiança depositada em mim e por todo conhecimento compartilhado. Sua dedicação e paciência fez toda a diferença, levarei por toda a vida tudo o que aprendi durante esses quatro anos e meio de convivência.

Ao Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH) pela oportunidade que me foi dada de desenvolver meu trabalho nesse grupo.

Aos meus companheiros de trabalho e irmãos na amizade, Kely Silveira, Renan Fernandes, Adhemar Watanuki, Elaine Florinda e Uilian Yonezawa pela oportunidade do convívio, por compartilharem comigo os inúmeros desafios e sentimentos sempre com o espírito colaborativo, por todos almoços e cafés da tarde descontraídos. A vocês deixo o meu muito obrigada, e a certeza de que os levarei para sempre em meu coração.

As minhas amigas irmãs companheiras de república e agregados, Mariana Magossi, Maiara Magossi, Carolina Solfa, Vítor Maraldi e Eritácio por todas as conversas e risadas, festas, cafés da tarde, churrascos, por cada minuto dedicado a ouvir minhas lamentações, vocês foram responsáveis por tornar essa caminhada mais significativa, vocês são demais!

Ao Departamento de Física e Química, aos alunos, funcionários e todo seu corpo docente, que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

A todos os funcionários, técnicos administrativos da UNESP de Ilha Solteira (secretárias, técnicos de laboratório, motoristas, setor de limpeza, zeladoria, biblioteca, etc.).

À EMBRAPA. Pelo apoio durante toda a pesquisa e aos amigos da EMBRAPA Juliana Reghine e Marcos Lorevice, pela amizade, por todo auxílio e atenção a mim concedidos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento e pela bolsa de doutorado.

“Tudo quanto te vier a mão para fazer, faze- o conforme as tuas forças, porque na sepultura, para onde tu vais, não há obra nem projeto, nem ciência nem sabedoria alguma.”

Eclesiastes 9:10

“A coragem não é ausência do medo; é a persistência apesar do medo”

Autor desconhecido

RESUMO

Nano partículas de quitosana (NPQs) e óleo essencial (OE) de alho foram incorporados em diferentes proporções, em filmes de pectina, a fim de investigar a interação de cada componente com a matriz nas propriedades físicas de barreira e propriedades antimicrobianas. Para isso, foram preparadas nanopartículas de quitosana (NPQs) com tamanhos médio de 317 nm através da polimerização do ácido metacrílico (MAA), em solução de quitosana por condensação de refluxo, e analisadas quanto ao seu tamanho médio e estabilidade (potencial Zeta). Os filmes foram produzidos através da técnica de *casting*, a partir de suspensões filmogênicas compostas por: Pectina e óleo essencial (OE) de alho em meio aquoso (controle) (Solução A); pectina, óleo essencial de alho e Tween 80 em meio aquoso (Solução B); pectina e óleo essencial de alho em solução de NPQs (Solução C); pectina, óleo essencial de alho e Tween 80 em solução de NPQs (solução D). Os filmes passaram por uma avaliação subjetiva, sendo classificados segundo sua homogeneidade, continuidade e manuseabilidade. As análises de permeabilidade ao vapor de água (WVP) apresentaram os valores de 0,87 g mm/KPhm para o o filmes contendo apenas as NPQs, 0,39 g mm/KPhm² e 0,48 g mm/KPhm² para os filmes contendo surfactante na ausência e na presença de NPQs respectivamente, tais valores foram maiores em relação ao filme controle 0,21g mm/KPhm². A presença de surfactante pode atuar diminuindo as interações intermoleculares entre as cadeias poliméricas adjacentes permitindo a maior permeação do vapor de água. A análise mecânica permitiu observar que a presença das NPQs e do surfactante nas composições do filme controle, não influenciaram significativamente em algumas das propriedades, mas que, o material apresenta uma tendência de melhora na tensão e no módulo elástico. Os resultados decorrentes da atividade antimicrobiana, demonstraram que todos os filmes contendo o OE de alho apresentaram inibição apenas por contato para bactérias do tipo Gram-positiva (*S.aureus*), isso demonstra que os compostos ativos do OE de alho, não estão sendo efetivamente imobilizados na estrutura dos filmes, sendo assim, esses são eficazes a apenas bactérias com estruturas mais simples e sensíveis ao contato do filme. Enquanto que, para as Gram- negativas (*E.coli*), a inibição ocorreu apenas pelos filmes contendo as NPQs, e por contato direto na cultura. A partir de todos os resultados apresentados neste trabalho, os autores concluem que de modo geral, os filmes apresentaram aparência homogênea,

continuidade e maleabilidade, tendo, portanto, propriedades consideradas satisfatórias para filmes comestíveis e inibição antimicrobiana.

Palavras-chave: Filmes comestíveis, nanopartículas de quitosana, OE de alho, surfactante, pectina.

ABSTRACT

In this work, films composed of pectin matrix incorporated with garlic OE and NPQs with variation in the formulations were produced, to investigate the interaction of each component with the matrix in the physical barrier and antimicrobial properties. For this, chitosan nanoparticles (NPQs) with average sizes of 317 nm were prepared through the polymerization of methacrylic acid (MAA), in chitosan solution by reflux condensation, and analyzed for their average size and stability (Zeta potential). The films were produced using the casting technique, from filmogenic suspensions composed of Pectin and garlic essential oil (OE) in an aqueous medium (control) (Solution A); pectin, garlic essential oil and Tween 80 in an aqueous medium (Solution B); pectin, garlic essential oil in NPQs solution (Solution C); pectin, garlic essential oil and Tween 80 in NPQs solution (solution D). After obtained, the films underwent a subjective evaluation, being classified according to their homogeneity, continuity, and handling. Through the analysis of water vapor permeability (WVP) it was found that the films containing the NPQs (0.87 g mm / KPhm) and surfactant (0.39 g mm / KPhm² and 0.48 g mm / KPhm²) presented a higher value compared to the control film 0.21g mm / KPhm². The presence of surfactants can act by decreasing intermolecular interactions between adjacent polymeric chains allowing greater permeation of water vapor. The mechanical analysis allowed us to observe that the presence of NPQs and surfactant in the compositions of the control film, did not significantly influence some of the properties, but that the material tends to improve tension and elastic modulus. The results from the antimicrobial activity showed that all films containing garlic OE showed inhibition only by contact for Gram-positive bacteria (*S.aureus*), this demonstrates that the active compounds of garlic OE are not being effectively immobilized in the structure of the films, therefore, they are effective only for bacteria with simpler structures and sensitive to the contact of the film. While, for Gram-negative (*E.coli*), inhibition occurred only by films containing NPQs, and by direct contact in the culture. Through all the results presented in this work, the authors conclude that, in general, the films presented properties considered satisfactory for application as edible films, demonstrating a homogeneous and continuous appearance, in addition to slight transparency and malleability.

Keywords: Edible films, chitosan nanoparticles, garlic OE, surfactant, pectin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplo genérico da esquematização de embalagem primária, secundária e terciária.....	6
Figura 2: Porcentagens por tipo de embalagens primárias consumidas e que serão consumidas até 2024.....	7
Figura 3: Esquema ilustrativo da formação de uma cobertura comestível: Imersão do fruto em solução filmogênicas (a), atração entre o adsorvato (composto diluído na solução filmogênica) e o adsorvente (casca) (b), evaporação do solvente e reticulação do polímero, para a formação da cobertura (c).	8
Figura 4: Representação esquemática da produção de filmes pela técnica de: A) casting de bancada, B) fotografias digitais do método de casting.	10
Figura 5: Estrutura química do ácido galacturônico (A) e estrutura química representativa da pectina mostrando grupos típicos de repetição (B).	12
Figura 6: Representação das estruturas primárias da quitina e quitosana sendo n o grau de polimerização	14
Figura 7: Bulbilhos e planta de <i>Allium sativum</i>	17
Figura 8: Estrutura da Alicina	17
Figura 9: Estrutura básica da parede celular Gram-negativa (a); estrutura básica da parede celular Gram-positiva (b).	26
Figura 10: Placas de acrílico em formato circular utilizada na análise de WVP	27
Figura 11: Molde para ensaio mecânico.....	29
Figura 12: Fotografias digitais dos diferentes filmes: Pectina + OE de alho (a); Pectina + OE de alho + Tween 80 (b) Pectina+ OE de alho+ NPQs (c); Pectina + OE de alho + NPQs + Tween 80 (d).....	33
Figura 13: Ângulo de contato dos filmes (a) Pectina + OE de Alho (b) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (c) Pectina + OE de Alho + NPQs (d) Pectina + OE de Alho + NPQs + Tween 80.....	35
Figura 14: Imagens de MEV com aproximação de 5.00 Kx dos filmes (a) Pectina + OE de Alho (b) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (c) Pectina + OE de Alho + NPQs (d) Pectina + OE de Alho + NPQs + Tween 80.....	37
Figura 15: Propriedades antibacterianas dos filmes (A) Pectina + Alho (B) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (C) Pectina + OE de Alho + NPQs (D) Pectina + OE Alho + NPQs + Tween 80 contra <i>E. coli</i>	39

Figura 16: Propriedades antibacterianas dos filmes (A) Pectina + Alho (B) Pectina + Alho + Tween 80 (C) Pectina + Alho + NPQs (D) Pectina + Alho + NPQs + Tween 80 contra <i>S. aureus</i>	40
Figura 17: Complexo de polieletrólitos entre pectina-quitosana.	41
Figura 18: Efeito das diferentes composições do filme na permeabilidade ao vapor de água. Em (a) Pectina + OE de Alho (b) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (c) Pectina + OE de Alho + NPQs (d) Pectina + OE de Alho + NPQs + Tween 80.....	43
Figura 19: Representação da interação intermolecular entre o OE e a matriz e da matriz com moléculas de água, aprisionadas por interações de van der Waals.	44
Figura 20: Representação das possíveis interações entre a matriz e o Tween, entre o OE e a matriz e o OE de alho com o Tween presentes no filme de Pectina + OE de alho+ Tween 80	45
Figura 21: Representação das possíveis interações entre a matriz e o Tween, entre o OE e a matriz, entre OE de alho e o Tween e entre as NPQs e a matriz, presentes no filme de Pectina + OE de alho+ Tween 80 + NPQs.	45
Figura 22: Representação das possíveis interações entre o OE e a matriz e as NPQs e a matriz presentes no filme de Pectina + OE de alho+ NPQs	46
Figura 23: Espectros no infravermelho: óleo essencial de alho (a), pectina pura (b) quitosana pura (c).	50
Figura 24: Espectros no infravermelho: pectina + OE de alho (a), pectina + OE de alho + Tween (b), pectina + OE de alho + NPQs (c), pectina + OE de alho + Tween + NPQs (d).....	51
Figura 25: Curva de TG para: petina (A), pectina+ OE de alho+ Tween80 (B), pectina + OE de alho+ NPQs (C), pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs (D).	52
Figura 26: DTG para: pectina + OE de alho (A), pectina+ OE de alho+ Tween80 (B), pectina + OE de alho+ NPQs (C), pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs (D).....	53
Figura 27: Arroz integral de saquinho cozido diretamente com a embalagem: A e B) arroz antes do cozimento, C) arroz após o cozimento.....	57
Figura 28: Arroz integral embalado na embalagem preparada a partir desse trabalho, cozido diretamente com a embalagem: A) arroz antes do cozimento, B) arroz durante o cozimento C) arroz após o cozimento.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:Valores do diâmetro médio das nanopartículas em solução e do potencial Zeta32

Tabela 2:Espessura média dos filmes com seus respectivos valores de desvio padrão, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de tukey com nível de confiança de 95%.....34

Tabela 3: Solubilidade total em solução aquosa dos filmes feitos a partir de diferentes composições de solução filmogênicas com e sem aquecimento.....42

Tabela 4: Resultados das propriedades mecânicas para as diferentes formulações de filmes com seus respectivos valores de desvio padrão, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de tukey com nível de confiança de 95%.47

Tabela 5: Valores da temperatura inicial (T_i), temperatura máxima ($T_{máx}$), temperatura final (T_f), perda de massa e resíduos para análises de TG pectina + OE de alho (A), pectina+ OE de alho+ Tween80 (B), pectina + OE de alho+ NPQs (C), pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs (D).....55

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LM	Baixo grau de metoxilação
HM	Alto grau de metoxilação
pH	Potencial hidrogeniônico
Qs	Quitosana
NPS	Nanopartículas
NTs	Nanotubos
NPQs	Nanopartículas de Quitosana
OE	Óleo essencial
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
WVP	Permeabilidade ao vapor de água
WVTR	Velocidade de transmissão de vapor de água
FTIR Fourier	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de
DRX	Difração de raios- X
DTG	Análise termogravimétrica diferencial
TGA	Análise termogravimétrica
kV	Quilovolt

mV	Milivolt
m/v	massa/ volume
m.m-1	massa/massa
NH₂	Grupo amina
KBr	Bometo de potássio
nm	Nanometro
RH	Umidade Relativa
COO⁻	Grupos carboxilatos
OH⁻	Grupos hidroxilas

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	1
LISTA DE TABELAS	8
CAPÍTULO I: Introdução	1
1. INTRODUÇÃO	2
CAPÍTULO II: Revisão Bibliográfica	5
2.1 EMBALAGENS	6
2.2 FILMES E REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS	7
2.3 BIOPOLÍMEROS	10
2.3.1 Pectina	11
2.3.2 Quitina e Quitosana	14
2.3.3 Óleos essenciais	16
2.3.4 Surfactantes	18
2.3.5 Nanopartículas	18
CAPÍTULO III- Objetivos	20
3.1 OBJETIVOS GERAIS	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
CAPÍTULO IV: Material e Métodos	22
4.1 MATERIAL	23
4.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA EM SOLUÇÃO	23
4.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	24
4.3.1 Determinação de espessura	24
4.3.2 Ângulo de contato	24
4.3.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)	25
4.3.4 Determinação dos efeitos antimicrobianos dos filmes	25

4.3.5 Teste de solubilidade dos filmes	26
4.3.6 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)	27
4.3.7 Propriedades mecânicas	28
4.3.9 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	30
4.3.10 Termogravimetria	30
CAPÍTULO V: Resultados e Discussão	31
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA	32
5.1.1 Potencial Zeta e tamanho médio de nanopartículas	32
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	33
5.2.1 Determinação da espessura dos filmes	34
5.2.2 Molhabilidade avaliada por ângulo de contato	34
5.2.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)	36
5.2.4 Atividade antimicrobiana	37
5.2.5 Solubilidade dos filmes em água	40
5.2.6 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)	42
5.2.7 Propriedades mecânicas	47
5.2.8 Espectro de infravermelho com transformada de Fourier	49
5.2.9 Termogravimetria (TGA)	51
CAPÍTULO VI: Possíveis aplicações	56
6.1 EMBALAGENS PRIMÁRIAS PARA ARROZ	57
CAPÍTULO VII: Considerações Finais	59
7.1 CONCLUSÃO	60
CAPÍTULO VIII: Referências bibliográficas	62

CAPÍTULO I: Introdução

1. INTRODUÇÃO

Com o passar dos anos, a preocupação com a qualidade dos produtos consumidos tem aumentado de forma significativa. Durante a estocagem e comercialização, muitos dos alimentos sofrem mudanças em suas características sensoriais, nutricionais e higiênicas, as quais, podem alterar significativamente a qualidade do produto. Baseado na manutenção e qualidade dos alimentos, muitos processos químicos e físicos desenvolvidos de novas embalagens visando a maior preservação e qualidade dos alimentos vem sendo apresentados (DEBEAUFORT et al., 1998; VILLADIEGO, et al., 2005). A necessidade de proteger a vida útil dos alimentos não é algo recente e já vem sendo apresentado desde os séculos XII e XIII quando os chineses, nos quais os chineses utilizavam cera em frutas cítricas, de forma a retardar a desidratação e melhorar a aparência destas e, conseqüentemente, aumentar a vida de prateleira dessas frutas (GENNADIOS et al., 1990; JUNG et al., 1992; LAWTON, 1996; DE CORATO 2019; LIUA et al., 2020).

O uso do plástico, tornou-se preferência entre a indústria alimentícia, pois além de ser um material barato de fácil obtenção, este ainda apresenta grande potencial de aplicação, com resistência suficiente para o transporte e armazenamento seguro dos mais diversos tipos de produtos. Das características referidas as embalagens plásticas baseadas em derivados de petróleo, sua baixa degradabilidade em longos períodos, tem resultado em preocupação recorrente, tendo em vista que, quase metade dos resíduos sólidos descartados nos últimos anos são baseadas em polímeros sintéticos não-degradáveis (GUSTAFSSON et al., 2019). Tal fato decorre tanto pela ação das pessoas que mantêm contato com tais detritos como da falta de políticas públicas, de aterros sanitários adequados e campanha de conscientização de uso de sacolas reutilizáveis ou biodegradáveis.

Nesse contexto, pesquisadores têm aliado esforços para o desenvolvimento de novas embalagens que apresentem as mesmas características das convencionais, mas que tenham como principal propriedade a biodegradabilidade, e que sejam ainda provenientes de fontes naturais e renováveis, visando o menor impacto ambiental possível.

Diante desses requisitos, entende-se que a substituição dos plásticos convencionais por materiais provenientes de biopolímeros naturais é ambientalmente necessária. Dentre a classe dos biopolímeros, chamam a atenção os polissacarídeos de origem animal e vegetal, que dispõe de propriedades atrativas como: biodegradabilidade, renovabilidade, disponibilidade, antioxidante entre outras (GOMES et al., 2017).

De modo geral, além de ser um método menos amigável a natureza, os filmes e revestimentos comestíveis em alimentos possuem diversos objetivos dos quais, reduzir a perda de umidade, controlar a permeabilidade aos gases, controlar a atividade microbiana e preservar a integridade estrutural dos produtos, mantendo-os frescos por mais tempo, tem se mostrado os mais relevantes (VILLADIEGO et al., 2005). Apesar de todas as vantagens e características ressaltadas para a aplicação em embalagens, tais biopolímeros ainda apresentam limitações comparados às embalagens convencionais, no que se refere às propriedades físico-químicas (mecânicas, térmicas e de barreira) (ESPITIA et al., 2014a).

Essas limitações têm motivado o desenvolvimento de rotas alternativas de preparação, dentre as quais, enaltece-se o uso de nanopartículas sintetizadas a partir de materiais poliméricos. Essas nanopartículas, são incorporadas a matriz polimérica, incrementando suas propriedades físico-químicas, como por exemplos agentes de reforço nas propriedades mecânicas (MORADI et al., 2012; VALENZUELA et al., 2013).

A utilização de biopolímeros aliado à nanotecnologia mostram-se opções concretas para obter materiais com propriedades comparáveis ou superiores a matérias primas tradicionais aplicadas na fabricação de embalagens como forma de contornar a sistemática da fragilidade desses materiais.

Sendo assim, apesar dos diversos estudos encontrados na literatura sobre a utilização de biopolímeros como matriz para o desenvolvimento de filmes e revestimentos comestíveis, há a necessidade de mais pesquisas voltadas para a interação entre os materiais ativos naturais que atuam nas propriedades ativas, como é o caso dos óleos essenciais, e de nanoestruturas como as nanopartículas de quitosana que atuam como reforço nos filmes, sendo um diferencial neste trabalho.

Para uma melhor apresentação e discussão dos resultados obtidos, essa tese foi subdividida como descrito a seguir:

- Capítulo I: “INTRODUÇÃO”. Nesse capítulo traremos uma breve apresentação da tese.
- Capítulo II: “REVISÃO BIBLIOGRÁFICA”. Nesse capítulo será apresentada uma revisão geral da literatura sobre elementos essenciais para a tese.
- Capítulo III: “OBJETIVOS”.
- Capítulo IV: “MATERIAL E MÉTODOS”. Esse capítulo abordará o método de síntese e caracterização das nanopartículas de quitosana, bem como os métodos de preparação dos filmes e sua caracterização.
- Capítulo V: “RESULTADOS E DISCUSSÃO”. Nesse capítulo será possível observar os principais resultados das caracterizações tanto das nanopartículas (NPQs) quanto dos filmes.
- Capítulo VI: “POSSÍVEIS APLICAÇÕES”. Neste capítulo os autores apresentam a aplicação proposta para o material desenvolvido.
- Capítulo VII: “CONSIDERAÇÕES FINAIS”. Será apresentado as principais conclusões desta tese.
- Capítulo VIII: “REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS”

CAPÍTULO II: Revisão Bibliográfica

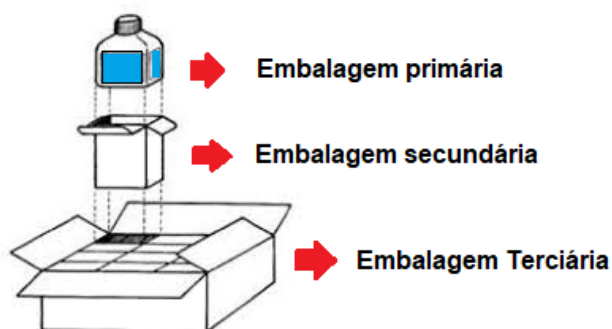
2.1 EMBALAGENS

As funções, das embalagens vão muito além de oferecer proteção ao produto. Elas são vistas como estratégias para empresas de bens de consumo do mundo todo, e deixaram de ser parte, para ser considerada parte do produto. Uma embalagem inovadora ajuda na conquista de espaços nos pontos de venda, elevando o valor da mercadoria e por consequência sua rentabilidade (SEIBEL, 2005).

Cada embalagem é desenvolvida para atender a um determinado produto, e acondicioná-lo de maneira a manter sua qualidade por um tempo maior. Para alimentos, por exemplo, são projetadas de modo a protegê-los de fatores externos, como temperatura, luz e umidade, os quais podem levar à sua degradação (THOGERSEN, 1996, CAROCHO et al., 2015; SANTOS et al., 2017). Este último, influência de forma significativa na qualidade e na segurança dos alimentos, por gerar metabólitos produzidos por microrganismos, os quais alteram significativamente o sabor e o valor nutricional dos alimentos (LIU et al., 2017).

As embalagens podem ser classificadas entre primárias, secundárias e terciárias. Embalagens primárias são aquelas que estão em contato direto com o produto. As secundárias são designadas para conter uma ou mais embalagens primárias, podendo em alguns casos, não ser indicada para o transporte, enquanto que as embalagens terciárias, agrupam diversos tipos embalagens primárias e secundárias que auxiliam no transporte e armazenamento, como caixas de papelão ondulado, caixas de madeira, dentre outras. Geralmente, as embalagens terciárias são reaproveitáveis, ou seja, podem ser reutilizadas em sua forma original para o mesmo fim para a qual foi concebida e projetada (ABRE, 2017; ABNT NBR 9198). A Figura 1 a seguir ilustra genericamente a divisão das definições acima citadas

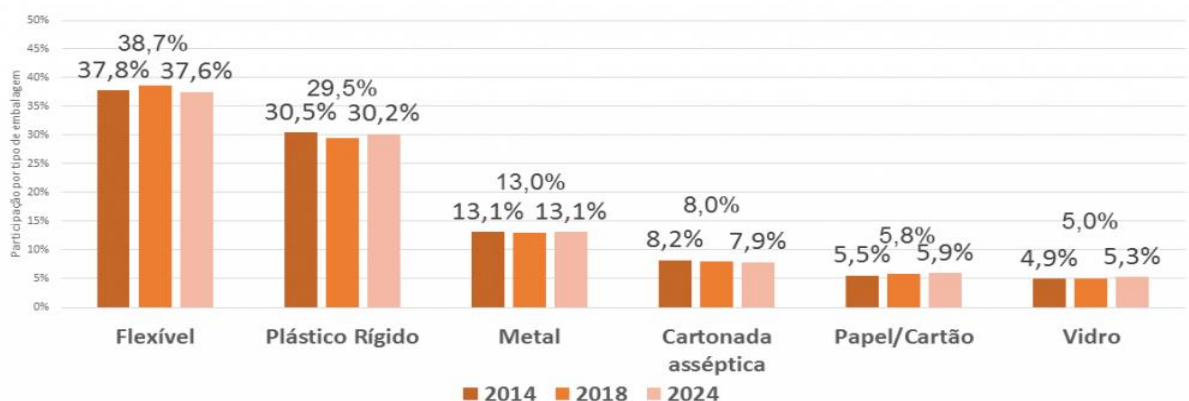
Figura 1: Exemplo genérico da esquematização de embalagem primária, secundária e terciária.



Fonte: SEBRAE

Segundo um estudo macroeconômico divulgado pela associação brasileira de embalagens (ABRE), cujo intuito fora analisar o crescimento de embalagens primárias por categorias, do total de embalagens mensuradas, a maior parte destas correspondem às embalagens flexíveis, seguidas por embalagens de plástico rígido conforme mostra os gráficos da Figura 2. Tais resultados tem despertado uma série de discussões de caráter social e ambiental, como, o que fazer com os invólucros após seu uso. Nesse contexto, a busca por materiais alternativos como a utilização de biopolímeros no desenvolvimento de novos materiais de embalagens, tem crescido consideravelmente, visando sua capacidade em formar matrizes contínuas e principalmente por serem biodegradáveis os tornando ecologicamente corretos.

Figura 2: Porcentagens por tipo de embalagens primárias consumidas e que serão consumidas até 2024



Fontes: Euromonitor Passport

Dados: % de embalagens (primárias) consumidas no varejo (em bilhões de unidades)

*Análise contempla sete verticais: alimentos processados, bebidas alcoólicas e não alcoólicas, cosméticos, cuidados pessoais, produtos de limpeza e alimentos para pets

Fonte: ABRE 2019

2.2 FILMES E REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS

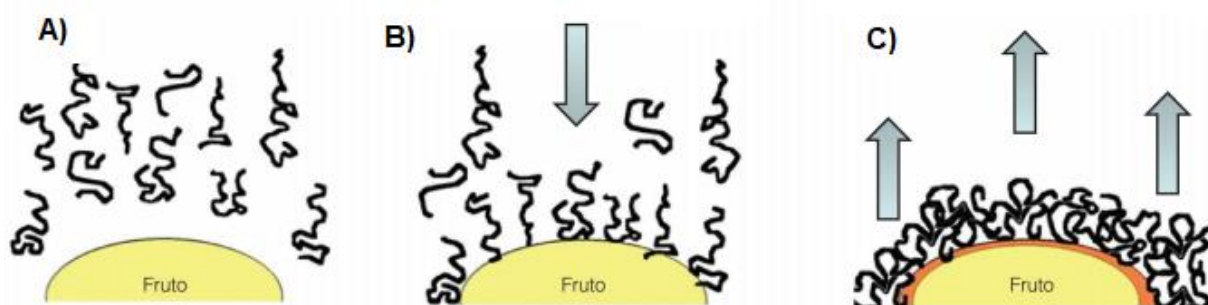
O crescente interesse nos revestimentos e filmes comestíveis é motivado pelo aumento da demanda do consumidor por alimentos que sejam seguros, práticos e estáveis, e pela conscientização dos efeitos ambientais negativos das embalagens convencionais não biodegradáveis. Embora os dois apresentem funções semelhantes, vale mencionar que eles possuem definições completamente diferentes (VILLADIEGO et al., 2005; SOUZA et al., 2010).

Os revestimento comestíveis são definidos como uma fina camada de material comestível, a qual aplicada na superfície dos alimentos na forma líquida, geralmente por meio de imersão do produto em uma suspensão filmogênicas de substâncias formadoras da matriz estrutural, com a finalidade básica, de proteger o produto contra danos mecânicos e reações químicas como barreira à umidade (EMBUSCADO E HUBER, 2009).

Esse tipo de processo é amplamente empregado na conservação de frutas e hortaliças pós-colheita e embora eficientes, eles não substituem o uso das embalagens ou garantem a eliminação definitiva da conservação a frio, por exemplo, mas sim atuam como coadjuvantes a outros processos de proteção, contribuindo assim para a preservação da textura e do valor nutricional, reduzindo as trocas gasosas superficiais e a perda ou ganho excessivo de água.

Ao imergir o alimento em uma solução filmogênica, a cobertura se forma pela deposição das espécies poliméricas suspensas no meio, estabelecendo ligações, fracas e fortes, com a superfície da fruta. ASSIS e BRITTO (2014) detalharam essa interação em estudos publicados na literatura, onde podemos observar essa interação de modo generalizado na Figura 3.

Figura 3: Esquema ilustrativo da formação de uma cobertura comestível: Imersão do fruto em solução filmogênicas (a), atração entre o adsorvato (composto diluído na solução filmogênica) e o adsorvente (casca) (b), evaporação do solvente e reticulação do polímero, para a formação da cobertura (c).



Fonte: ASSIS e BRITO, 2014

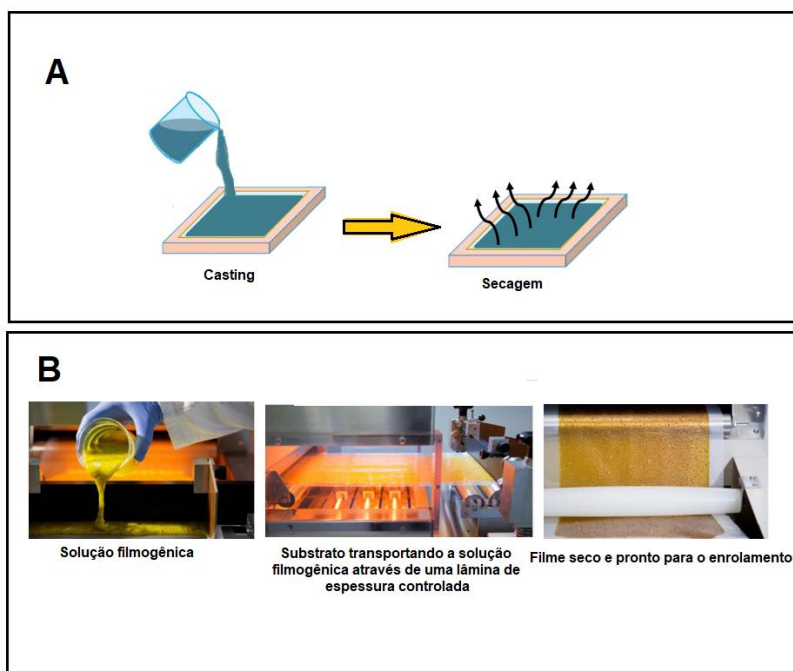
Filmes comestíveis, são formados primeiro como uma fina camada ou lâmina ou folhas sólidas, que podem ser aplicadas como um invólucro no produto alimentício ou ainda podem transportar componentes como: antioxidantes, agentes antimicrobianos e flavorizantes, e/ou melhorar a integridade mecânica e as características de manuseio do alimento (KROCHTA, 1997; JIAN et al., 2019). Dentre os métodos de obtenção destaca-se a técnica de casting a mais utilizada para filmes baseados em polissacarídeos, e pode ser dividida entre casting em bancada e casting contínuo.

A preparação de filmes por casting em bancada consiste em verter a suspensão filmogênica em substrato pré definidos ou superfícies lisas, de forma que o solvente (geralmente água) seja evaporado, permitindo que as macromoléculas se reorganizem de forma coesa. Uma representação esquematizada pode ser observada na Figura 4 (OTONI et., al 2017). A espessura do filme é controlada pela quantidade de suspensão derramada no suporte ou usando uma régua reguladora de lâmina úmida. Embora essa seja uma técnica simples e prática na preparação de filmes,

certos parâmetros como espessura, temperatura, umidade relativa (RH) e a velocidade do ar circulando podem interferir no produto, tornando-o insatisfatório para o uso (MARTELLI et., al 2015). A secagem dos filmes é geralmente realizada em ambiente aberto ou em fornos de circulação de ar com temperaturas que não passam de 30 a 40°C, por um tempo de 12 a 48 h. (MARTELLI et., al 2013).

No casting contínuo a suspensão filmogênicas é espalhada continuamente sobre um substrato em movimento, com uma lâmina que pode ser ajustada para controlar a espessura do filme. Esse substrato passa por uma câmara de secagem e após esse procedimento, o filme seco é enrolado em rolos, conforme ilustra Figura 4B. Esse tipo de casting permite a produção de filmes em escalas maiores em relação ao casting de bancada, sendo ótimo para a estudo de escala apresentando vantagens como a otimização da uniformidade, a transferência de calor, eficiência de secagem, e utilização de menos espaço de trabalho. Embora todas essas vantagens, o casting contínuo pode afetar as propriedades físicas dos filmes resultantes (DU et al., 2008; ROSSMAN, 2009; OTONI et. al., 2017).

Figura 4: Representação esquemática da produção de filmes pela técnica de: A) casting de bancada, B) fotografias digitais do método de casting.



Fonte: Adaptado de OTONI et al., 2017

Essas diferentes vertentes de proteção para alimentos discutidas até aqui, estabelecem novas oportunidades para a aplicação comercial de embalagens de maneira mais sustentável. A embalagem comestível por exemplo, pode ser usada sempre que a aplicação de formas de embalagem convencionais for limitada, como, invólucros, revestimentos, camada separadora para sistemas alimentares complexos e com vários componentes, cápsulas (incluindo cápsulas em nano e microescala), sistemas de liberação controlada de aditivos alimentares (embalagens ativas) (KOWALCZYK et al., 2020).

Tanto os filmes quanto os revestimentos são preparados a partir de biopolímeros como os polissacarídeos que podem ser de origem vegetal ou animal, ou ainda proteínas e lipídios capazes de formar matrizes contínuas, e que apresentem características como, ser transparentes, sem sabor, não interferindo nas propriedades sensoriais dos alimentos, a não ser que essas características sejam desejadas no produto final.

2.3 BIOPOLÍMEROS

Diferentemente dos polímeros convencionais obtidos a partir de fontes não renováveis (fósseis), as quais demandam milhares de anos para se formar, os biopolímeros são homopolímeros ou copolímeros biodegradáveis, produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis que podem ser de origem vegetal como carboidratos derivados do milho, cana-de-açúcar, celulose, ou resíduos obtidos do processamento de indústrias de suco como a pectina, ou de origem animal como a quitina e quitosana, obtidas a partir das carapaças de crustáceos (ABNT NBR 15448-1; PEREIRA et al., 2013).

A principal vantagem do uso dos biopolímeros em embalagens é que além de possuírem a capacidade de biodegradabilidade e compostagem ao meio ambiente, eles podem ser consumidos junto com o alimento, caracterizando-os como comestíveis. O termo biodegradável é aplicado para os materiais que podem ser degradados pela ação enzimática de organismos vivos, como bactérias, leveduras, fungos tendo como produtos do processo de degradação, CO₂, H₂O e biomassa.

Biodegradabilidade e compostabilidade são definidos e regulados pelas normas internacionais: EN 13432, EN 14995, ASTM D6400-19, ABNT NBR 15448-1)

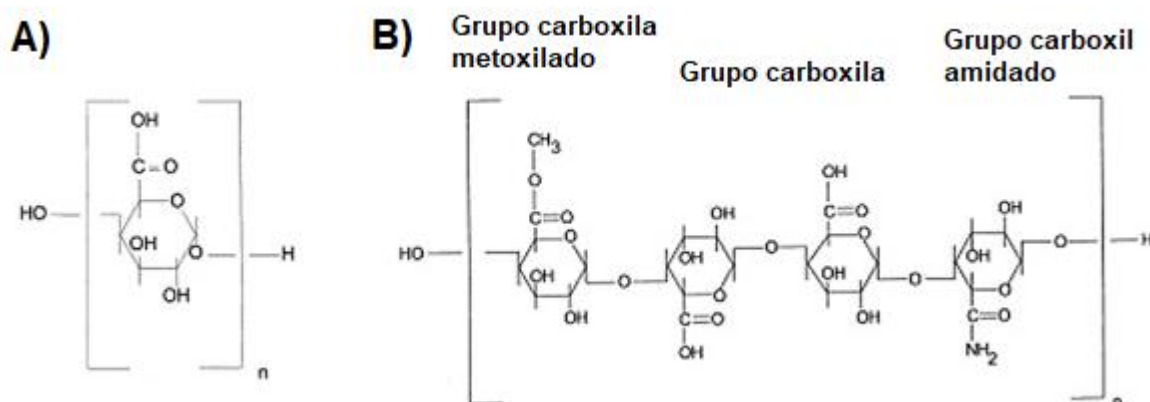
Os biopolímeros comestíveis, possuem propriedades intrínsecas de formação de materiais, consequentemente a isso, a escolha do polímero para a preparação do filme/revestimento é uma etapa importante do processo. Eles devem apresentar características como baixa toxicidade, alta biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de formarem filmes coesos e transparentes e serem reconhecidos como seguros para o consumo humano (TABOADA et al., 2008; PEREIRA et al., 2015; OTONI et al., 2017; LIU et al., 2017; CHEN et al., 2016; KOWALCZYK et al., 2020).

2.3.1 Pectina

A pectina é um polissacarídeo estrutural presente em vários tecidos vegetais. Embora encontrada em abundância nos vegetais, a pectina proveniente dessas fontes, apresenta fraco comportamento gelificante, sendo assim, a principal fonte, para obtenção dessa matéria prima é o bagaço de maçã e a casca de laranja (CIRIMINNA et al., 2015).

Esse polímero natural, remete a família de polissacarídeos, com características similares. O estrutura da pectina é primariamente um homopolímero de ácido galacturônico ligado em α (1 $\rightarrow$ 4) (Figura 5A), com grau variável de grupos metil carboxilas esterificados de resíduos de ácido carboxílico e / ou ácidos poligalacturônicos amidados (Figura 5B) (VORAGEN et al., 1995; PÉREZ et al., 2003). De acordo com a quantidade desses grupamentos esterificados na cadeia, a pectina é classificada entre alto grau de metoxilação (HM) ou baixo grau de metoxilação (LM), e essa característica determina sua capacidade de formar géis (CANTERI, 2010).

Figura 5: Estrutura química do ácido galacturônico (A) e estrutura química representativa da pectina mostrando grupos típicos de repetição (B).



Fonte: WHITE et al., (1999).

O mecanismo de formação desses géis é determinado principalmente por seu grau de esterificação e são diretamente afetados por fatores como massa molar, força iônica, temperatura, pH e outros solutos (SUNDAR et al., 2012; GEERKENS et al., 2015; LIU et al., 2015).

O processo de gelificação da pectina HM (grau de esterificação tipicamente na faixa de 50 a 80%) requer condições específicas, como baixo pH (2,5-3,5), presença de sólidos solúveis; principalmente sacarose (55-75%) ou outros co-solventes semelhantes (por exemplo, sorbitol, etileno glicol) (ESPINOZA et al., 2018). A sacarose nesse processo, exerce uma função de extrema importância, pois ela reduz a atividade da água e estabiliza as zonas de junção, promovendo interações hidrofóbicas (OAKENFULL et al., 1984; LÖFGREN et al., 2002; ESPINOZA et al., 2018). O gel de pectina formado com essa propriedade é considerado uma rede bidimensional de moléculas cujo solvente (água), juntamente com os co-solutos, o açúcar e o ácido são imobilizados. Como resultado, os géis preparados a partir dessa pectina apresentam resistência à deformação e uma relação tensão-deformação para pequenas deformações, além de serem reversíveis termicamente (SHARMA et al., 2006).

Nas pectinas LM (50% do total de grupos carboxila esterificados), a gelificação acontece independentemente do teor de açúcar e são quimicamente mais estáveis à umidade e ao calor do que as pectinas HM. Além de serem mais

resistentes ao pH do que as pectinas HM, podendo-se obter géis em uma ampla faixa de pH (FRAEYE et., al, 2009). Nesse mecanismo, as pectinas LM podem gelificar na presença de cátions divalentes, geralmente cálcio (Ca^{2+}), processo esse reversível apenas com a adição de íons monovalentes como o sódio (Na^+) e potássio (K^+). Nestes sistemas, a gelificação é devida à formação de junção das zonas intermolecular entre pares de grupos carboxilas nas regiões lisas homogalacturônicas de diferentes cadeias.

A capacidade de formação de gel das pectinas LM aumenta com a diminuição do grau de metoxilação e a textura dos géis formados, pode ser controlada ajustando o cálcio à proporção de pectina. Um alto teor de pectina com relativamente pouco cálcio resultará em um módulo elástico menor, enquanto que o uso de mais cálcio com um mínimo de pectina produzirá um produto muito mais frágil, possivelmente com alguma sinérese (MAY, 1990; AXELOS e THIBAUT, 1991, ESPINOZA et al., 2018). Embora nesse mecanismo de gelificação o açúcar não seja essencial, a presença de pequenas quantidades (10 a 20%) de açúcar tende a diminuir a sinérese e adicionam firmeza desejável a esses géis, além de reduzir a quantidade de cálcio necessária para formar o gel. Enquanto, grandes quantidades de açúcar, interferem na formação do gel, pois a desidratação do açúcar favorece a ligação de hidrogênio e diminui a reticulação por forças iônicas divalentes.

Em virtude disso, tanto a pectina HM, quando a LM, tem sido amplamente utilizada em produtos, farmacêuticos, alimentícios e em uma série de outros produtos indústrias incluindo na preparação de filmes comestíveis (ABID et al., 2018). Os filmes comestíveis podem ser classificados como produtos alimentícios, ingredientes alimentares, aditivos alimentares ou materiais de embalagem de alimentos, uma vez que são parte integrante da porção comestível, assim, todas as características de formação de géis supracitadas, refletem diretamente na formação e na característica dos filmes finais (THAKUR et al., 1997; MOHNEN, 2008; ESPITIA et al., 2014).

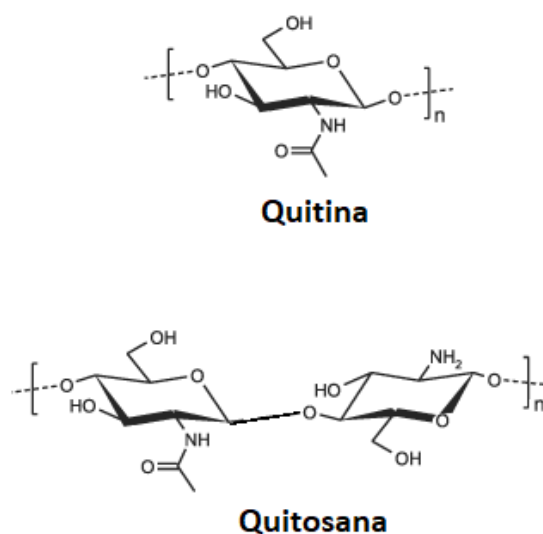
A produção de filmes comestíveis a base de pectina é um assunto bem difundido entre pesquisadores. A utilização desse biopolímeros na composição dos filmes, tem sido uma das forma de contornar os problemas dos resíduos gerados pelo descarte de embalagens, produzidas a partir de polímeros sintéticos, problema

esse, que vêm crescendo a cada ano e constitui um grande problema do ponto de vista ambiental (DE MOURA et al., 2014; MANRICH, et al 2017).

2.3.2 Quitina e Quitosana

A quitosana (Qs), é um polissacarídeo proveniente da desacetilação da quitina, que é um polissacarídeo catiônico de alto massa molar, com grande capacidade de formação de filmes, além de apresentar atividades antibacterianas e antifúngicas, encontrado principalmente no exoesqueleto de insetos e crustáceos , cuja as estruturas podem ser observadas na Figura 6 (LIANG, 2004; MOHAMED et al., 2020).

Figura 6: Representação das estruturas primárias da quitina e quitosana sendo n o grau de polimerização



Fonte: SILVA et al., (2006)

A estrutura desses biopolímeros, vem sendo estudada desde 1859, com o trabalho de Charles Rouget, que relatou que o tratamento da quitina com solução concentrada de potássio cáustico sob refluxo, provoca uma modificação da estrutura da quitina, onde o produto resultante (quitosana) diferente da quitina é solúvel em ácidos orgânicos (CIRINI, 2019). Assim os primeiros filmes e fibras de quitosana foram preparados e patenteados em meados da década de 1930 por George W.

Rigby, e nos anos seguintes ocorreu o primeiro uso na indústria de papel, na industrial têxtil, fotografia e como adesivos (RIGBY, 1936 a, b, c, 1937; LUBS 1937 ; LARSON 1939 ; HECKERT 1937 ; MARASCO 1939; MAXWELL 1939, CIRINI, 2019) .

A quitosana possui estrutura semelhante à da celulose, porém é quimicamente mais propensa a modificações. Isso ocorre, em razão da presença dos grupos amino em sua estrutura (Figura 6). A presença desses grupos permite inúmeras modificações químicas, tais como imobilização de agentes quelantes, carboxilação, acilação, sulfonação, amidação e formação de complexo polieletrólítico (CRINI, 2019). A quitosana (QS), apresenta ainda propriedades biológicas, de extrema importância como baixa toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, além de possuir efeito antifúngico e antibacteriano e não ser nociva à saúde. (MIRANDA, 2004; JAYAKUMAR, 2010).

Diante das propriedades estruturais e funcionais presentes em sua estrutura, atualmente a aplicação desse polissacarídeo tem se tornado bastante atrativa em vários campos, com aplicações desde a agricultura, alimentos, nutrição, biotecnologia, biomedicina, veterinária e áreas ambiental. Também tem ganhado grande destaque na preparação de filmes, sendo usada tanto como matriz polimérica, quanto como estruturas nanométricas. Os filmes à base de quitosana são transparente, flexíveis e resistentes apesar de apresentarem boa resistência a gorduras, óleos e oxigênio, eles são altamente sensíveis à umidade (MOURA et al., 2008; LARANJEIRA, 2009; BIDGOLI, 2010; HOSSEINI et al, 2013; NAYIK et al., 2015; MOHAMED et al., 2020).

Desta forma, é evidente que a aplicação da quitosana em diversas áreas é um campo de pesquisa muito atraente, sendo comprovado pelo grande número de artigos científicos disponíveis na literatura (FRÁGUAS et al., 2015).

2.4 ADITIVOS

Os aditivos são substâncias que são adicionadas à determinado produto com o propósito de manter, modificar ou melhorar suas propriedades. Em filmes

comestíveis esses aditivos podem agregar características como antifúngica, microbiológica, sensoriais, nutricionais além de atuarem como agentes de reforço em propriedades de barreira e mecânica.

A influência de um aditivo nas propriedades do filme, dependerá de alguns fatores importantes como: sua concentração na suspensão filmogênica, interação com a estrutura química da matriz e do seu grau de dispersão no filme (KESTER et al., 1986).

2.4.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas naturais complexas de metabólitos voláteis secundários, os quais são isolados de plantas por destilação a vapor. Eles podem ser constituídos de mono e sesqui terpenos incluindo, carboidratos, álcoois, éteres, aldeídos e cetonas. São responsáveis pelo aroma e pelas propriedades biológicas das plantas medicinais (DEL RÉ et al, 2012). As propriedades biológicas dos óleos essenciais abrangem um amplo espectro de atividades como, anti-inflamatórios, antioxidantes, propriedades anticancerígenas e atividades biocidas. Devido a tais propriedades, os óleos essenciais vêm sendo aplicados nos diversos setores industriais, principalmente farmacêutico e alimentício (DONSÍ et al., 2011).

Observa-se um interesse crescente em se conhecer os efeitos funcionais dos antioxidantes naturais, presentes nessas especiarias, principalmente da indústria alimentícia, que tem buscado estratégias que aumentem a vida de prateleira dos produtos (POKORNY, 2007). As ervas e especiarias são uma das principais fontes de antioxidantes, e tem ganhado destaque, em estudos a fim de investigar e explorar as possíveis aplicações dessa propriedade. Dentre as especiarias mais utilizadas, destacamos o *Allium Sativum*, popularmente conhecido como alho.

2.4.1.1 Óleo essencial de alho

O alho (*allium sativum*), é um vegetal da família Amaryllidaceae e é muito utilizado na culinária e como medicamento há centenas de anos em todo o mundo (ETOH, 2002). Seu bulbo, popularmente conhecido como cabeça, é constituído por vários dentes conforme observa-se na Figura 7.

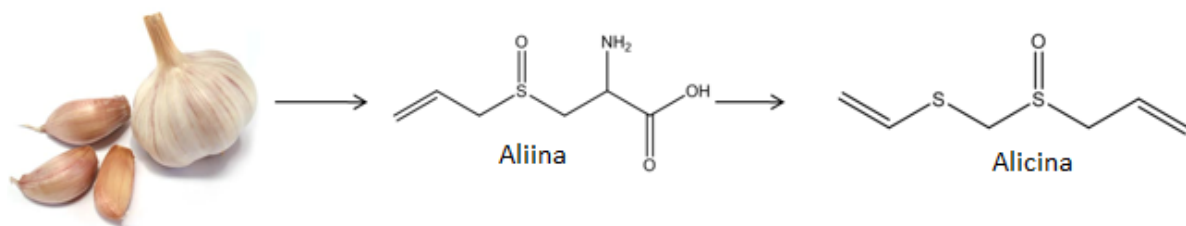
Figura 7: Bulbilhos e planta de *Allium sativum*.



Fonte: ANAPA, 2018

O principal composto da espécie é a Alicina (*dialil-tiosulfinato*) (Figura 8), rica em substâncias organossulfuradas, flavonoides e terpenoides, e que representa 70% dos compostos sulfatados, os quais são responsáveis por grande parte das propriedades farmacológicas e tem como precursora a aliina que é um sulfóxido de cisteína e o principal componente encontrado no alho cru (MARTÍNEZ-VALVERDE et al., 2000; MIRON et al., 2004). Devido à grande porcentagem de compostos organossulfurados o óleo essencial de alho, tem sido amplamente utilizado como agente antimicrobiano e antioxidante no desenvolvimento de biofilmes ativos, a fim de substituir aditivos sintéticos, utilizados para auxiliar na preservação dos alimentos.

Figura 8: Estrutura da Alicina



Fonte: Adaptado de química nova interativa, 2018

Embora seja promissora a utilização de óleos essenciais de especiarias em filmes, a incorporação direta desses aditivos ainda, encontra limitações tecnológicas. Essas limitações estão diretamente relacionadas com a natureza hidrofóbica, reativa e instável das moléculas bioativas, que constituem o óleo essencial. Assim há a necessidade, de encapsulamento em sistemas de carregamento adequados, para que essas possam permanecer ativas. Tal atividade pode ser feita com a ajuda de um surfactante, como o Tween 80 (WEISS et al., 2009; DONSI et al., 2011).

2.4.2 Surfactantes

Os surfactantes são compostos que possuem capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido. Eles possuem uma tendência de formar agregados chamados micelas que, geralmente, se formam a baixas concentrações em água e são estas propriedades que tornam esses compostos adequados para uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, lubrificação, capacidade espumante, capacidade molhante, solubilização, dispersão de fases e emulsificação (JÖNSSON et al., 1998; WATERS et al., 1991; BARROS et al., 2007).

A indústria de alimentos detém grande interesse nesses compostos, principalmente por algumas atividades apresentada pelos surfactantes, como a emulsão. Por definição, uma emulsão é um sistema heterogêneo, constituindo um líquido imiscível (fase interna descontínua) disperso em outro (fase externa contínua) (KACHHOLZ & SCHINGMANN, 1987). Nesse contexto, os surfactantes atuam

reduzindo a tensão interfacial, diminuindo a energia na superfície entre as duas fases e prevenindo a coalescência das partículas através da formação de barreiras estéricas e eletrostáticas.

2.4.3 Nanopartículas

O campo da nanotecnologia é uma das áreas mais populares para pesquisa e desenvolvimento atual em basicamente todas as disciplinas e área.

Segundo a Organização internacional de padronização (ISO- sigla no inglês) um "nanomaterial" é definido como qualquer material com estrutura interna ou superficial em escala nanométrica, que apresenta tamanho de aproximadamente 1 nm a 100 nm (ISO 2008; ARTS et al., 2014), porém ciência, partículas com tamanho abaixo de 1000 nm ainda podem ser classificadas como nanopartículas por causa de suas propriedades físico-químicas únicas em comparação com materiais em escalas normais (LI E GU, 2011 , LI et al., 2011).

Quando uma partícula é reduzida a essa escala (nanomaterial), o material resultante apresenta propriedades físicas e químicas que são significativamente diferentes das propriedades dos materiais em escalas maiores, constituídos pela mesma substância (DUNCAN, 2011). Como as nanopartículas dispõem de alta área superficial específica, a dispersão uniforme numa matriz resulta em grande área interfacial entre ambos os componentes, alterando a mobilidade molecular e as propriedades térmicas e mecânicas do material (ALMEIDA et al, 2015).

As nanopartículas apresentam-se sob várias formas podendo ser: Esféricas, onde apresentam três dimensões na escala nanométrica. Bastões (nanotubos e nanofibras), são estruturas alongadas, com duas dimensões na nanoescala e uma terceira, que pode ter mais de 100nm. Lamelas (placas) – como as nanoargilas, que têm apenas a espessura na dimensão nanométrica (YEO & NAM, 2013, DOS SANTOS, 2016).

Devido a essas características a nanotecnologia tem atraído grande atenção nos últimos anos, por um amplo campo de aplicação, que vai desde a

indústria de eletroeletrônicos, aparelhos e equipamentos de comunicações, petroquímica; químico, siderurgia, materiais; biocombustíveis; até a área de saúde e alimentos (CASANOVA, 2010; CRESPILO, 2009).

Tais materiais podem ser incorporados a outros, como forma de aprimorar e/ou potencializar as características desses. Eles podem ser aplicados como agentes de reforço, de barreira, de condutividade dentre outros. Materiais de reforço com alta razão de aspecto, ou seja, alta relação entre a maior e a menor dimensão, são especialmente eficientes, por causa de sua alta área superficial específica (DALMAS et al, 2007)

Os nanomateriais podem ser desenvolvidos a partir de várias matérias primas, uma delas são os biomateriais à base de polímeros como a quitosana, que tem se destacado no meio científico. As nanopartículas obtidas a partir da quitosana (NPQs) são hidrofílicas, não tóxicas

Após a remoção de unidades acetil dos resíduos de D- glucosamina, a quitosana passa a ter cargas positivas, o que a permite que ela se ligue fortemente a superfícies com carga negativa, tal fato é responsável por muitas das atividades biológicas observadas (MANIVASAGAN et al., 2013; LIANG et al., 2017) .

CAPÍTULO III- Objetivos

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo desse trabalho foi preparar filmes comestíveis a base de biopolímeros naturais com a incorporação de óleo essencial de alho e nanopartículas poliméricas de quitosana (NPQs), para possível aplicação como embalagem primária de alimentos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Esse trabalho teve como objetivos específicos:

- Estudar a obtenção de nanopartículas de quitosana através da polimerização do ácido metacrílico visando obter menores diâmetros de partículas, e maior estabilidade;
- Preparar diferentes soluções filmogênicas variando a composição de cada uma para investigar o efeito de cada componente nas características finais do filme;
- Investigar o efeito de cada componente nas propriedades físico-químicas (mecânicas, térmicas e de molhabilidade à água), antimicrobianas e na morfologia, dos filmes de pectina/surfactante/ OE de alho/ NPQs; pectina/surfactante/ OE de alho; pectina/ OE de alho / NPQs e pectina/ OE de alho produzidos por casting.
- Aplicar os filmes obtidos na confecção de embalagem primárias para arroz e testar o cozimento desse com própria embalagem.

CAPÍTULO IV: Material e Métodos

4.1 MATERIAL

Os reagentes empregados na preparação e nos procedimentos laboratoriais foram utilizados sem purificação adicional. Estes estão descritos a seguir: quitosana em pó da Polymar, Fortaleza-Brasil (MW= 71,3 kDa, grau de desacetilação 94%), ácido metacrílico (MAA) da Aldrich chemistry (MW= 86, 09 kDa, St. Louis, USA), persulfato de Potássio P.AACS, (Dinâmica PM: 270,32), Tween 80, da Oxiten, São Paulo-SP, óleo essencial de alho da Lapiendrius Flavours, Itaquaquecetuba- Brasil (*allium sativum*; densidade: 1,0175 g/ml⁻¹; índice de refração: 1,569), pectina de alto grau de metoxilação (HMP; DE> 50%) da CP Kelco ,Limeira – Brasil e ágar BHI.

4.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA EM SOLUÇÃO

As nanopartículas foram preparadas de acordo como métodos previamente descrito por MOURA et. al, 2008 e SANTOS et al., 2019, que ocorre através da polimerização do ácido metacrílico (MAA) em solução ácida de quitosana. Esta se procede em duas etapas: (1) solubilizou-se 0,2% (m/v) de quitosana em solução aquosa de ácido metacrílico sob agitação constante por 5 horas; (2) esta solução foi transferida para um condensador de refluxo e nesta foi adicionado o iniciador persulfato de potássio (K₂S₂O₈). O sistema foi selado e mantido à 70°C para a polimerização do ácido metacrílico. Ao longo da reação, ocorre o aumento da quantidade de poli (ácido metacrílico) na solução, fato esse evidenciado pelo aumento na opalescência da suspensão, indicando a formação de nanopartículas (NPQs). Após 1 hora de reação, a suspensão foi imersa em banho de gelo, de modo a interromper a polimerização.

4.2.1 Distribuição do diâmetro médio e potencial Zeta

A distribuição do diâmetro médio e potencial Zeta das NPQs, foi obtido em um equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Inc., Irvine, Calif., E.U.A.), que se baseia no espelhamento dinâmico da luz. As análises de potencial Zeta foram realizadas em uma célula capilar contendo dois eletrodos, através da aplicação de um potencial elétrico. Foram utilizadas soluções de NPQs sem diluição em temperatura ambiente (25 °C). Para as análises de diâmetro médio, foram utilizadas três gotas de cada suspensão de NPQs diluídas em 3 ml de água deionizada. As medidas foram realizadas em triplicata a 25 °C.

4.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Foram preparadas quatro combinações diferentes de filmes, cujas suspensões foram submetidas à secagem por meio da técnica de casting variando apenas a composição das suspensões filmogênicas descritas a seguir:

Solução A) Pectina e óleo essencial (OE) de alho em meio aquoso (controle);

Solução B) Pectina, óleo essencial de alho e Tween 80 em meio aquoso;

Solução C) Pectina e óleo essencial de alho em solução de NPQs;

Solução D) Pectina, óleo essencial de alho e Tween 80 em solução de NPQs.

Soluções A e C: A pectina, com alto grau de metoxilação, foi solubilizada (aquosa e/ou NPQs) e mantida sob agitação (15.000 rpm) durante 24h. Após total dissolução da pectina, adicionou-se o OE de alho, e essa foi mantida agitação por mais 24h.

Soluções B e D: O surfactante foi adicionado à solução, e essa foi deixada em agitação (15.000 rpm) por 24h. Após esse período, adicionou-se o OE de alho (1% m/v), na qual permaneceu em agitação por mais 24h. Posteriormente, foi

adicionado a pectina com alto grau de metoxilação (2% m/v), e deixado em agitação constante por mais 24h.

4.3.1 Determinação de espessura

A determinação das espessuras dos filmes, foram realizadas através de um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Manufacturing, Japan) com precisão de 0,001 mm. As análises foram feitas em 3 diferentes posições do filme seco utilizando como resultado a média final.

4.3.2 Ângulo de contato

A molhabilidade da superfície dos filmes foi investigada por meio da técnica de ângulo de contato de uma gota de água a superfície do filme, utilizando para isso o KSV Instruments (Helsinki, Finlândia). As medidas foram realizadas em 5 pontos de cada amostra, conforme descrito na ASTM D5725-99, e o resultado foi obtido através da média aritmética dos ângulos determinados nas extremidades direita e esquerda da gota. O teste consistiu em depositar sobre a superfície do filme uma gota (5,0 µL) de água destilada, e instantaneamente ao contato da água com a superfície, 60 imagens foram registradas em um intervalo de tempo de 60 segundos.

4.3.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

A MEV, foi realizada a partir de um microscópio eletrônico de varredura computadorizado da marca ZEISS modelo EVO LS15 com voltagem de 12 kV. Através dessa análise, é possível avaliar a estrutura morfológica interna dos filmes através de micrografias que permitem analisar a compactação e porosidade dos filmes, separação de fases entre os constituintes, agregação, etc. Para essa análise,

as amostras foram armazenadas em um dessecador de vidro com sílica em gel durante 24 horas, para eliminação da umidade presente no filme, após esse período, os filmes foram fraturados com nitrogênio líquido.

4.3.4 Determinação dos efeitos antimicrobianos dos filmes

A atividade antimicrobiana das amostras, foi obtida segundo o método de difusão em disco contra *E. coli* (ATCC 25922) (Gram-negativa) e *S. aureus* (ATCC 25923) (Gram-positiva). Para tal, as colônias de bactérias foram inoculadas 3 regiões diferentes (contagem de colônia de $1,0 \times 10^6$ UFC/ml) em dez mililitros de ágar BHI.

Os discos de testes dos filmes com diâmetros de 0,5; 0,6; 0,7 e 0,8 cm, foram colocados em contato com a superfície bacteriana e as placas foram incubadas a 37° C durante 24 h na câmara de incubação apropriada.

4.3.5 Teste de solubilidade dos filmes

A solubilidade dos filmes foi obtida através do método adaptado de GONTARD et.al 1994. Neste, os filmes foram cortados, (4 cm x 4 cm), colocados individualmente em 50 ml de água normal aquecida ($100 \pm 5^\circ\text{C}$) e em temperatura ambiente com agitação de 4000 rpm. Um cronômetro digital foi utilizado para registrar o tempo necessário para que o filme, após total imersão no meio, se solubilizasse e visualmente não fosse observado nenhuma porção não solubilizada em um período máximo de 20 min.

4.3.6 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes foi realizada de acordo com o método adaptado da norma ASTM E96-80, por MCHUGH et al. (1993)

e descrito na literatura por vários autores. (ASTM E96-80, 1980; MONTERREY-QUINTERO et al., 1999; MOURA et al., 2009). Para tal, foram utilizadas celas de acrílico em formato circular com profundidade de 1 cm como suporte para os filmes conforme mostra a Figura 9. Os filmes foram cortados em formato circular (5 cm) e acomodados na parte superior do suporte de acrílico contendo 6 ml de água destilada. Em seguida, colocou-se uma segunda placa por cima do suporte e ambas foram fixadas por parafusos, as análises para cada filme, foram realizadas em triplicata.

Figura 9: Placas de acrílico em formato circular utilizada na análise de WVP



Fonte: próprio autor

As placas contendo as amostras foram acondicionadas em um ambiente de temperatura (25°C) e umidade relativa (50%) controlada em uma estufa marca QUIMIS modelo Q317M. Em tempos pré-determinados essas placas foram pesadas e suas massas anotadas. A partir dos valores de WVTR (Velocidade de transmissão de vapor de água), foi determinado o valor de WVP para os filmes, utilizado as Equações de 1 a 3.

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

$$WVTR = \frac{mw.P.D.\ln[(p-p_2)/(p-p_1)]}{R.T.z} \quad (2)$$

$$WVP = \frac{WVRT}{(p_2 - p_3)} y \quad (3)$$

Onde: m_w = massa molar da água (18 g mol^{-1});

D = difusividade do vapor de água pelo ar a 298 K ($0,102 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$);

P = pressão total (1 atm);

p_1 = pressão de vapor a 298 K;

R = constante dos gases ($82,1 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ atm g}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$);

z = altura média que o gás inerte atinge;

p_2 = pressão parcial de vapor da parte inferior do filme;

p_3 = pressão parcial de vapor da parte superior do filme;

y = espessura média dos filmes.

4.3.7 Propriedades mecânicas

Os atributos mecânicos de tensão máxima na ruptura e alongação dos filmes foram avaliados através das curvas de tensão x deformação, quando os filmes são submetidos à teste de tração uniaxial. Os filmes foram cortados em forma retangular nas dimensões de acordo com o método ASTM D882-97 (15 mm de largura e 100 mm de comprimento) como ilustra a Figura 10. As amostras foram acondicionadas em um dissecador com umidade controlada (50%) e temperatura ambiente por 24 h antes dos testes.

Figura 10: Molde para ensaio mecânico



Fonte: próprio autor

O ensaio foi realizado na Instron Universal Testing Machine (Modelo 3369, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.). A velocidade de tracionamento utilizada foi de

50 mm / min. Para cada tipo de filme foram realizados pelo menos 5 ensaios e calculado a elongação (ϵ), tensão (σ) e módulo de elasticidade (E) descritos pelas equações 4, 5 e 6 respectivamente descritas a seguir:

$$\epsilon = \ln \left(\frac{L}{L_0} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde:

L = comprimentos de elongação do filme durante o experimento;

L₀ = comprimento inicial do filme.

Para a determinação da tensão (σ) dos filmes, foi aplicada a equação 5, na qual foi medida a força necessária para rompimento do filme.

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (5)$$

F= força de ruptura exercida

S= área seccional do filme.

O módulo de elasticidade (E) foi calculado através da tensão- deformação a partir da inclinação inicial da curva obtida

4.3.8 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados pela análise de variância e teste de Tukey com 95% de confiança utilizando o programa SISVAR.

4.3.9 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica espectroscópica FTIR foi utilizada para analisar qualitativamente a incorporação das nanopartículas de quitosana e do óleo essencial de alho na matriz de pectina. Para obtenção dos espectros na região do infravermelho, utilizou-se um espectrofotômetro Nicolet 5DXB FT-IR (Nicolet Instruments, Madison, WI).

Aproximadamente 150 mg de KBr foram macerados em um almofariz com pistilo de ágata utilizando uma amostra suficiente para compor 2,0% (m/m) da mistura. Um mínimo de 64 “varreduras” foi empregado para cada amostra numa resolução de $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$, na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} . Os reagentes empregados na preparação e nos procedimentos, foram utilizados sem purificação adicional.

4.3.10 Termogravimetria

As análises foram realizadas em um analisador térmico (TA Instruments SDT Q600), cerca de 8 mg da amostra foram colocadas em um porta amostra de platina, sendo então aquecida programando uma rampa de aquecimento da temperatura ambiente até 800°C com a razão de aquecimento de 10°C/min. A vazão de nitrogênio durante as análises foi de 100 mL/min

CAPÍTULO V: Resultados e Discussão

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA

5.1.1 Potencial Zeta e tamanho médio de nanopartículas

O diâmetro de partícula e distribuição destes são características importantes das nanopartículas, pois são fatores essenciais e que determinam o bom desempenho destas no sistema em quem serão empregadas. Para as NPQs, o diâmetro médio foi correlacionado à concentração de 2% (m/v) de quitosana, e obteve-se resultados de partículas com tamanho médio de 317 nm conforme mostra a Tabela 1. SCHAFFAZICK et al., 2003, relatam em estudos desenvolvidos para a avaliação dos principais fatores que afetam o diâmetro das partículas que; sistemas de quitosana preparados através de diferentes métodos como polimerização *in situ* de monômeros dispersos ou na precipitação de polímeros pré-formados, podem apresentar diâmetros médios variáveis que vão de 50 a 300 nm. Foi reportado de acordo com a literatura na qual esse trabalho se baseia (MARCIA et al., 2008), que as partículas eram esféricas e estáveis tal afirmação pode ser comprovada através dos resultados do potencial Zeta, onde a estabilidade das mesmas está diretamente ligada ao seu tamanho conforme mostra a tabela 1. Os resultados referentes a análise estão publicados em trabalhos anteriores do grupo (SANTOS et al., 2019).

Tabela 1: Valores do diâmetro médio das nanopartículas em solução e potencial Zeta

Tamanho (nm)	Potencial Zeta (V)
316	+20,8
316	+20,9
320	+22,5
Média	
317	21,4

Fonte: próprio autor

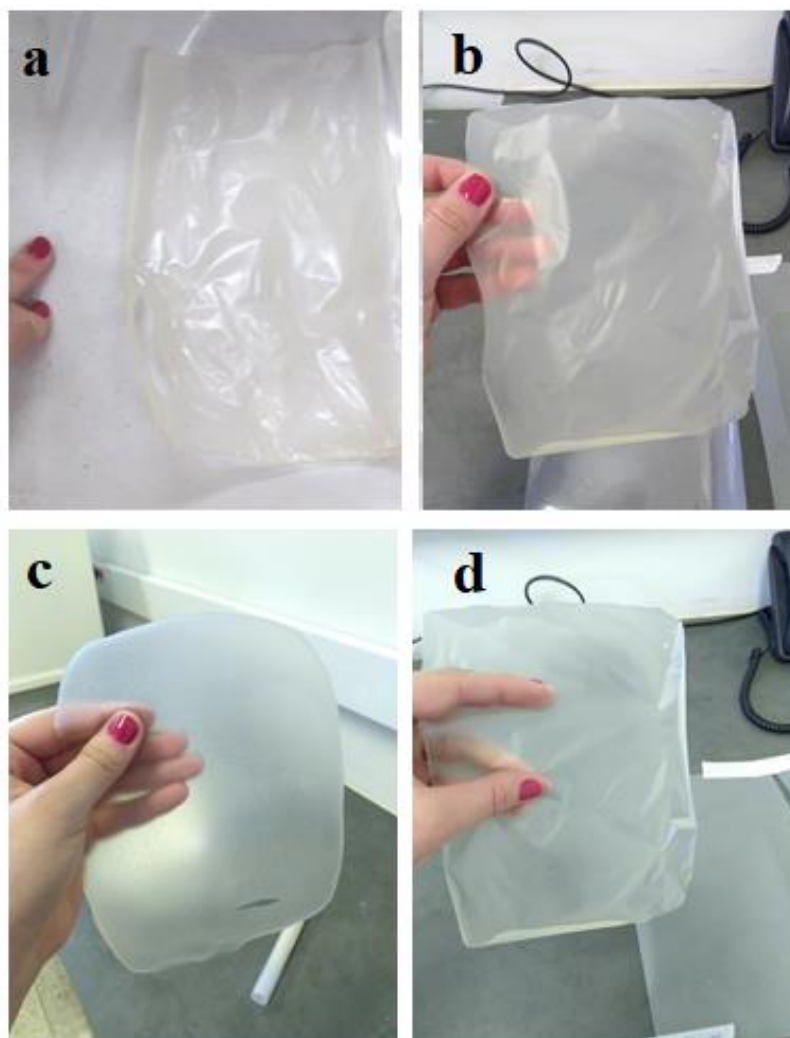
O diâmetro médio de nanopartículas e sua carga superficial estão intimamente relacionados, quanto maior o tamanho das NPQs maior o potencial Zeta (LOREVICE et al., 2014). No caso das NPQs esse aumento está relacionado com a quantidade de quitosana, consequentemente ocorrerá um aumento na concentração de íons NH_3^+ , acarretando uma maior carga positiva superficial. Deste modo, os

valores indicam que a solução é favorável à formação de suspensão e para esse sistema os resultados indicam estabilidade das partículas estáveis, uma vez que os resultados mostram ser superiores em módulo, a 20 mV, segundo MOURA et al, 2008 indicando assim, a estabilidade dessas nanoestruturas.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Foram realizadas análises subjetivas do que se esperava para cada filme, levando em consideração três aspectos: (1) continuidade (inexistência de rupturas e fraturas depois de secos); (2) homogeneidade (inexistência de partículas que não foram solubilizadas quando os filmes foram observados sem o auxílio de lentes ou de instrumentos ópticos, áreas com textura ou cores diferentes); (3) manuseabilidade (capacidade de manipulação dos filmes sem que haja rupturas). Para todos os filmes, os resultados foram satisfatórios, onde a presença ou não de NPQs, bem como a ausência do surfactante, não influenciaram em tais propriedades conforme ilustra as imagens das fotográficas digitais na Figura 11.

Figura 11: Fotografias digitais dos diferentes filmes: Pectina + OE de alho (a); Pectina + OE de alho + Tween 80 (b) Pectina+ OE de alho+ NPQs (c); Pectina + OE de alho + NPQs + Tween 80 (d).



Fonte: próprio auto

5.2.1 Determinação da espessura dos filmes

A espessura do filme é um parâmetro fundamental no cálculo das propriedades mecânicas e nos valores de permeabilidade ao vapor de água e essa, depende fortemente do método de preparação e das condições de secagem.

A espessura média dos filmes foi maior para aqueles contendo as NPQs se comparados com contendo apenas a matriz (pectina) o OE de alho e o surfactante,

conforme mostra a Tabela 2. A espessura pode ser influenciada pela quantidade e tipo de componentes da matriz polimérica (SOBRAL, 2000). O aumento na espessura dos filmes contendo NPQs pode estar relacionado com a quantidade final de sólidos, uma maior massa em um espaço delimitado, resulta em maior volume e consequentemente, em maior espessura.

Tabela 2: Espessura média dos filmes com seus respectivos valores de desvio padrão, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de tukey com nível de confiança de 95%

Tipos de filmes	Espessura (mm)
Pectina + alho	0,021 ^a
Pectina + alho+ Tween 80	0,021 ^a
Pectina + alho + NPQs	0,057 ^c
Pectina + alhos + NPQs + Tween 80	0,031 ^b

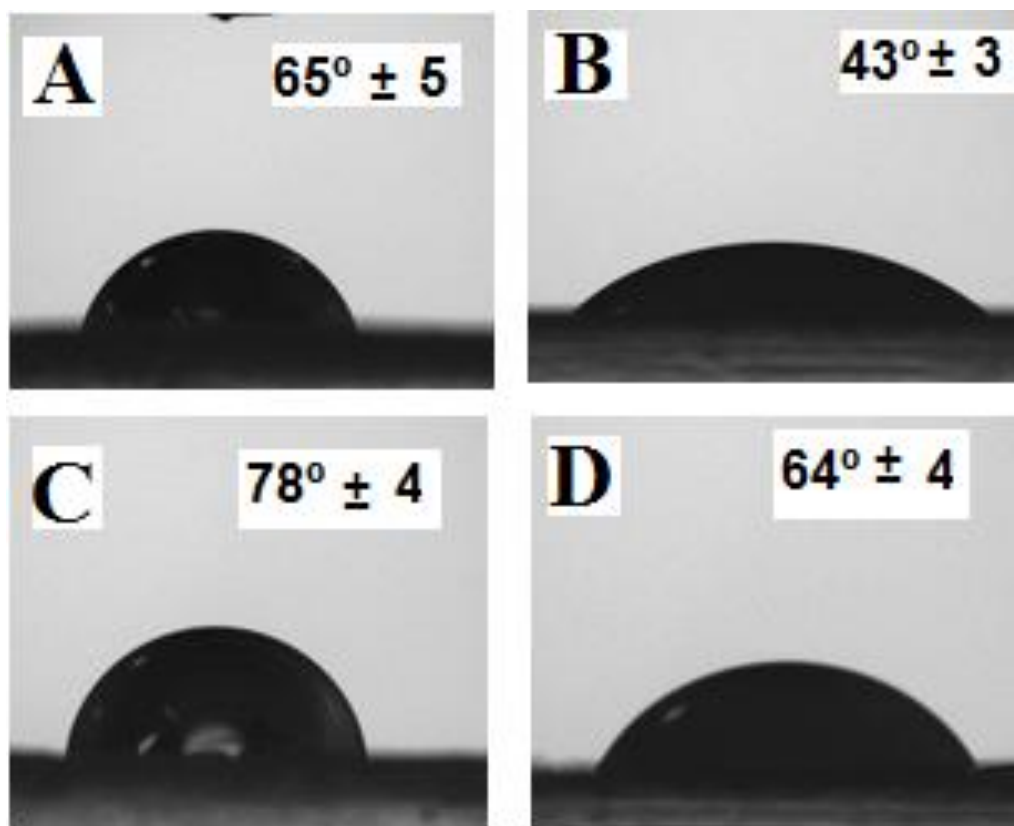
*Diferentes letras na coluna indicam significância a $P < 0,05$. Ou seja, $a \neq b \neq c$

Fonte: Dados do autor

5.2.2 Molhabilidade avaliada por ângulo de contato

As medidas do ângulo de contato permitiram avaliar a molhabilidade (natureza hidrofílica/hidrofóbica) da superfície dos filmes. Valores acima de 90° indicam superfícies com caráter hidrofóbico, enquanto valores menores que 90° sugerem superfícies mais hidrofílicas (ORTEGA-TORO et al., 2014). As análises foram realizadas segundo as diferentes composições das soluções filmogênicas. Os resultados podem ser observados na Figura 12.

Figura 12: Ângulo de contato dos filmes (a) Pectina + OE de Alho (b) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (c) Pectina + OE de Alho + NPQs (d) Pectina + OE de Alho + NPQs + Tween 80



Fonte: Dados do autor

Todos os filmes tenham apresentado superfícies hidrofílicas. É possível observar que o filme contendo a matriz e o OE de alho (controle) (Figura 12 (A)) apresentou um ângulo de contato de 65° .

Com a presença do surfactante (Tween 80) (Figura 12 (B)) o ângulo de contato diminuiu para 43° , indicando que este composto, proporcionou ao filme uma maior afinidade entre sua superfície e o líquido, tornando-o mais hidrofílico, melhorando a molhabilidade reduzindo a tensão superficial da solução (RODRÍGUEZ et al., 2006). Isso pode estar correlacionado a um possível efeito plastificante do surfactante na matriz, onde a parte hidrofílica do surfactante interage com a água, facilitando sua presença entre as cadeias do polímero. Desta maneira, ocorre a diminuição entre as interações polímero-polímero, e ainda a migração do excedente para a superfície, aumentando a hidrofilicidade do filme (HIEMENZ e

RAJAGOPALAN, 1997; RODRÍGUEZ et al., 2006). De modo geral, embora todas as composições contenham óleo essencial de alho, as composições que contem Tween 80 apresentaram hidrofobicidade baixa, tendo em vista que o surfactante intermedia a interface óleo/água dificultando o efeito hidrofóbico nas mediações da superfície do filme.

Em contrapartida, o filme contendo as NPQs (Figura 12 (C)) apresentou um ângulo de contato igual a 78°, enquanto o contendo em sua composição NPQs, OE de alho e Tween80 (Figura 12 (D)), apresentou um ângulo de 64°. Os resultados indicam que, o filme contendo em sua formulação NPQs promoveu menor afinidade superficial pela água em relação ao filme controle e a aqueles contendo em sua formulação surfactante, uma vez que esse último promove a dispersão uniforme do óleo por toda a fase contínua. Tal fato decorre, devido as NPQs proporcionarem ao filme, uma matriz mais densa ocasionada pelo favorecimento de agregação do agentes hidrofóbicos presentes no óleo essencial, durante o processo de secagem (MUSCAT et al., 2014; BASIAK et al., 2015; KUREK et., al 2014). Diante dos resultados, é possível afirmar que a composição química do material influencia diretamente nas características hidrofóbicas do filme final.

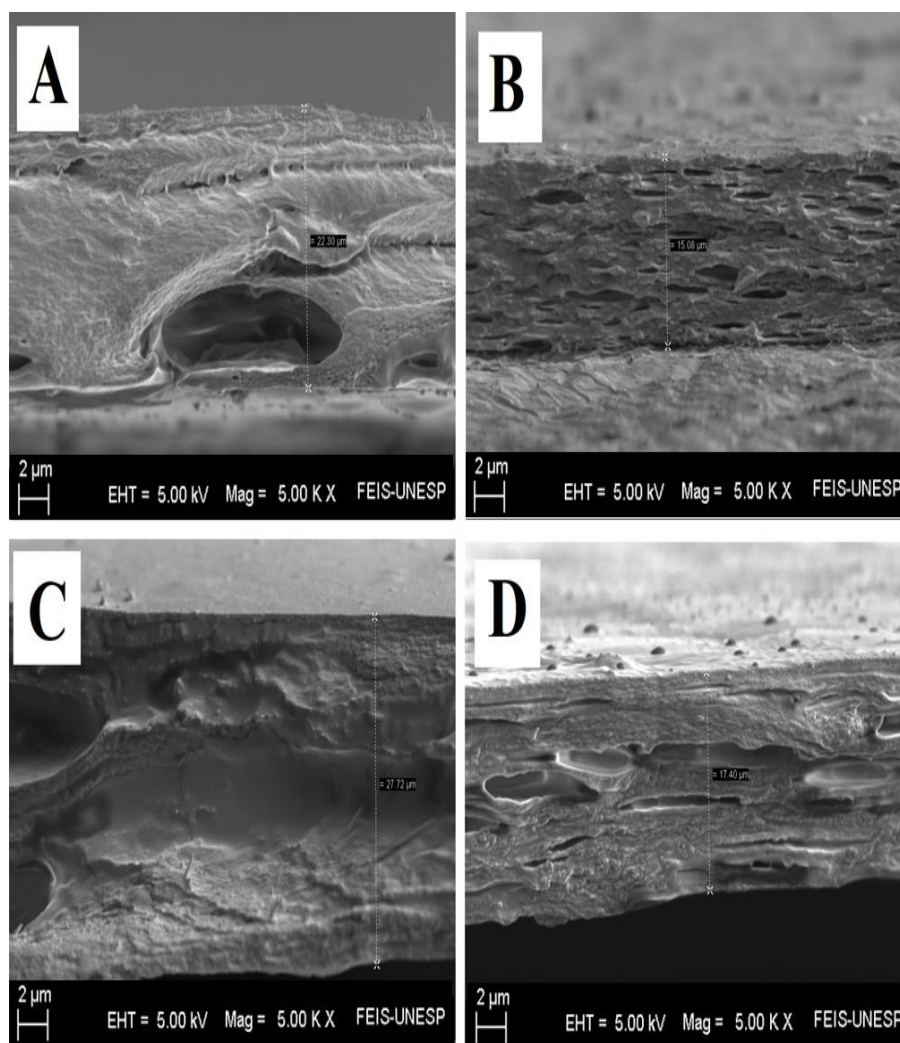
5.2.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

A micrografia de fratura criogênicas dos filmes foi estudada de modo a investigar o efeito das interações entre as NPQs, e o surfactante nos filmes contendo OE de alho. As imagens de A à D da Figura 13, correspondem às seções transversais dos filmes. É possível observar que o filme controle (Figura 14A) contendo apenas a matriz e o OE, apresentou uma estrutura compacta e ordenada, sugerindo que a matriz (pectina) pode ser miscível com alguns componentes do OE.

Já o filme contendo as NPQs sem surfactante (Figura 13 C) apresentou uma rede polimérica mais densa e compactada em relação ao filme controle. A uniformidade de sua estrutura interna e a diminuição do tamanho dos poros, indica que as NPQs estão atuando como agentes de reforço. Elas diminuem a quantidade de poros dos filmes aumentando sua compactação, diminuindo assim, a interação da

matriz com a água atuando como uma barreira física para passagem do vapor d'água, tornando o filme mais hidrofóbico, dessa maneira, contribuem de maneira satisfatória para melhores resultados nas propriedades de barreira dos filmes (MARTELLI et al., 2013; LOREVICE et al., 2014). Já nos filmes contendo Tween 80 (Figura 13 (B) (D)) é possível observar poros internos, com dimensões variáveis distribuídos aleatoriamente dentro da matriz. Característica da presença do surfactante, que contribui para diminuir os aspectos hidrofóbicos e aumento da flexibilidade, proporcionando ao filme uma estrutura mais amorfa (ZHONG, 2011; RUBILAR et al., 2015).

Figura 13: Imagens de MEV com aproximação de 5.00 Kx dos filmes (a) Pectina + OE de Alho (b) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (c) Pectina + OE de Alho + NPQs (d) Pectina + OE de Alho + NPQs + Tween 80.



Fonte: Dados do autor

5.2.4 Atividade antimicrobiana

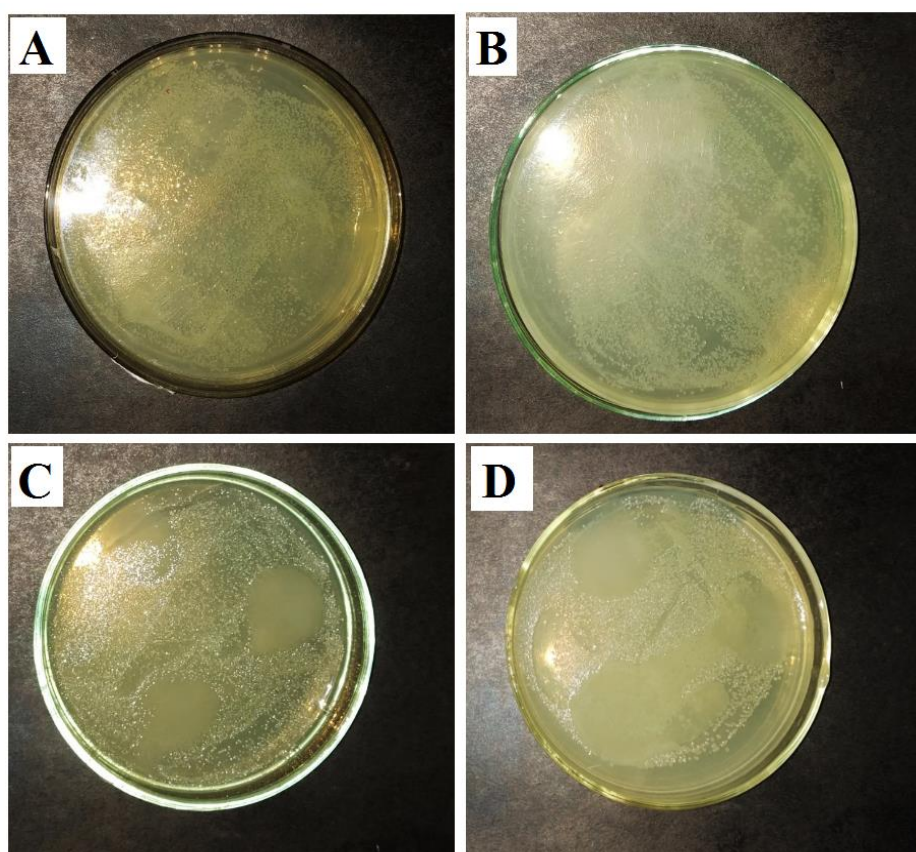
Os filmes foram analisados quanto à atividade antimicrobiana contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, devido a essas serem mais comumente encontradas em alimentos. (MOGHIMI et al., 2016; JAMRÓZ et al., 2019; WU et al., 2019; ZHENG et al., 2019). As Figura 15 e 16 mostram a área onde os filmes foram colocados e seus arredores, após incubação a 37 °C durante 24 horas. É possível observar que a inibição contra *E.coli* ocorreu apenas por contato, nos filmes contendo as NPQs (Figura 15 (C) e (D)) com e sem surfactante. Os resultados sugerem que a atividade inibitória resulta da quitosana, que possui forte atividade bacteriostática, sendo essa potencializada quando o polímero se encontra nanoestruturado na forma de NPQs. Essas possuem uma grande área superficial, a qual permite um maior contato físico com a superfície das células bacterianas. Esse contato estabelece uma interação iônica da carga negativa da parede celular bacteriana o que ocasiona a ruptura de suas células, alterando a permeabilidade da membrana, consequentemente, inibindo a replicação do DNA da bactéria e subsequentemente sua morte (YOUNG & KAUSS, 1983; PRANOTO et al., 2005; GOY et al., 2009; NAGY et al., 2011; WANG et al., 2011; DIVYA et al., 2016; MA et al., 2017).

Já os filmes contendo apenas óleo essencial de alho com e sem surfactante na matriz (Figura 14 A e B), não apresentaram inibição alguma. Esperava-se que todos os filmes apresentassem certa atividade inibitória, devido a presença do óleo essencial de alho e suas características antimicrobianas. Contudo, os óleos essenciais por serem voláteis, acabam evaporando facilmente antes mesmo da difusão no ágar, acarretando na diminuição da propriedade antimicrobiana do filme. ROSS et al. (2001), em estudos mais aprofundados sobre o comportamento do OE de alho, comprovou tal afirmação, onde ele mostra que o uso do métodos de placas de ágar, acaba fornecendo uma maior exposição dos compostos presentes no alho (sulfetos) ao ambiente, dessa forma, a atividade antimicrobiana do OE de alho torna-se indetectável.

Embora a mesma dificuldade tenha sido observada por NAZARI et al. (2019), em seu trabalho é relatado a eficiência do encapsulamento desses OE para contornar esse problema. Através de estudos da atividade antimicrobiana e liberação

in vitro de nanofitossomas de OE de alho, pode-se comprovar que esse procedimento resulta no melhoramento das propriedades antimicrobianas e antioxidantes dos OE, aumentando assim a sua estabilidade, principalmente durante o período de armazenamento. São relatados também, em vários estudos anteriores, que as bactérias Gram-negativas de deterioração de alimentos e patógenos de origem alimentar como as *E.coli*, apresentam maior resistência aos diversos tipos de OE devido à complexidade de sua estrutura, explicando assim o efeito antimicrobiano insatisfatório dos filmes (BURT, 2004, YUAN et al., 2016).

Figura 14: Propriedades antibacterianas dos filmes (A) Pectina + Alho (B) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (C) Pectina + OE de Alho + NPQs (D) Pectina + OE Alho + NPQs + Tween 80 contra *E. coli*.

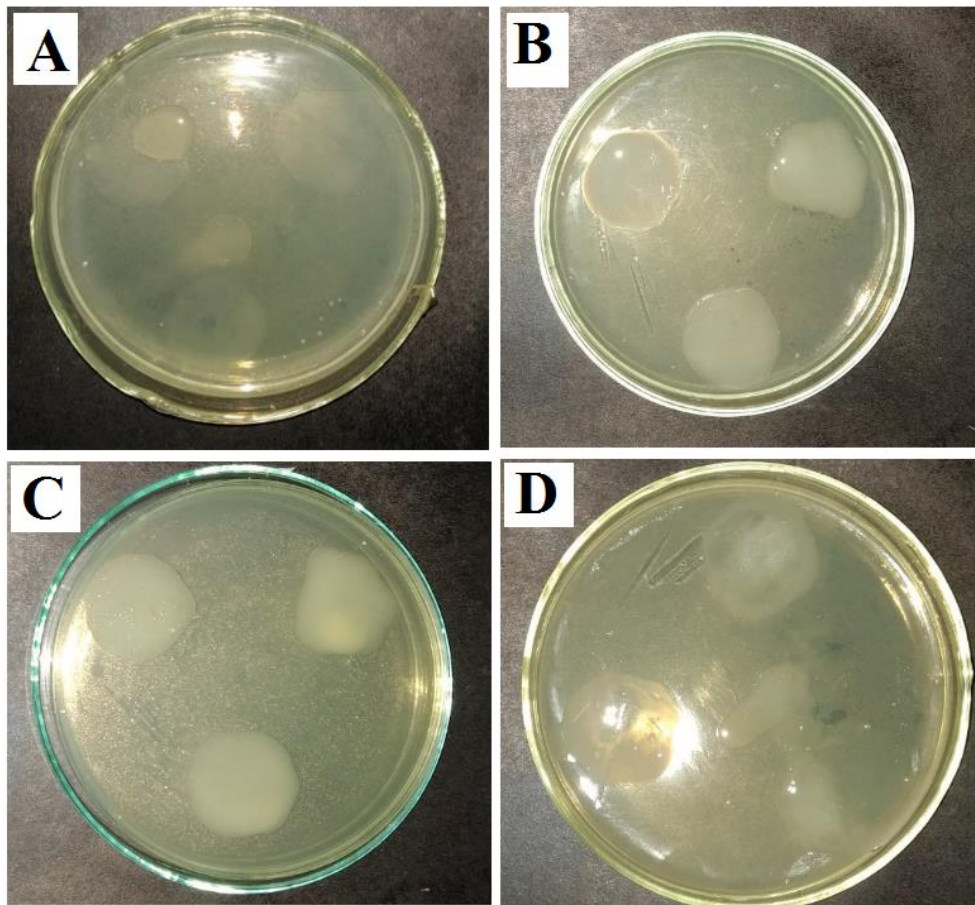


Fonte: Dados do autor

Para as bactérias *S. aureus*, todos os filmes apresentaram uma fraca atividade inibitória sem a presença de halo de inibição, com exceção ao filme contendo o OE de alho e surfactante em solução aquosa, que não foi possível observar nenhuma inibição (Figura 15 (B)). Os resultados indicam que a atividade inibitória dos

filmes resulta tanto das NPQs quanto do OE de alho, devido a essas bactérias apresentarem estruturas mais simples sendo assim mais sensíveis aos filmes (PRANOTO et al., 2005). Estudos indicam que, filmes contendo quitosana incorporados com diferentes OEs possuem uma maior eficácia contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas, devido à diferença na característica da membrana externa entre as espécies. Tal fato explica o porquê de todos os filmes terem apresentado atividade inibitória contra *S.aureus* enquanto para *E.coli* apenas os que continham NPQs foram eficazes na inibição (BURT, 2004).

Figura 15: Propriedades antibacterianas dos filmes (A) Pectina + Alho (B) Pectina + Alho + Tween 80 (C) Pectina + Alho + NPQs (D) Pectina + Alho + NPQs + Tween 80 contra *S. aureus*.



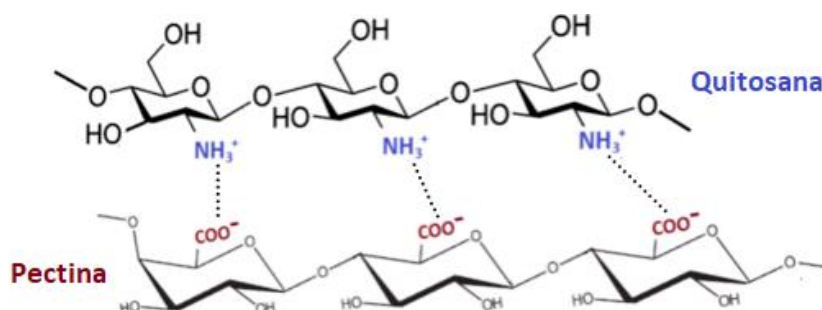
Fonte: Dados do autor

5.2.5 Solubilidade dos filmes em água

A solubilidade em água dos filmes comestíveis é uma propriedade importante quando se visa a aplicação do produto final. Os resultados da solubilidade em água em função do tempo, para cada formulação de filmes apresentados nesse trabalho, podem ser observados na Tabela 3. Para todas as formulações, o tempo de solubilidade total com aquecimento foi de 5 min com exceção do filme contendo na matriz pectina, o OE de alho e as NPQs. Nestes o tempo foi de 10 min para solubilização total. Isso pode estar relacionado com sua espessura (Tabela 2) (GIANCONE T et al, 2011). De forma geral, todas as formulações apresentaram solubilidade relativamente alta, devido aos filmes a base de pectina naturalmente apresentarem essa característica, quando comparados com outros biopolímeros naturais. Tal fato, está relacionado principalmente pela quantidade de grupos carboxílicos esterificados presentes na estrutura da pectina. As interações hidrofóbicas dos grupos ésteres metílicos e formação de pontes de hidrogênio intermoleculares aumentam a absorção de água durante sua hidratação, o que lhe compete uma alta hidrofilicidade (MORILLÓN et al., 2002; MARCOMBE et al., 2010; SALAZAR et al., 2019).

Para a solubilidade em temperatura ambiente, os filmes contendo as nanopartículas de quitosana apresentaram solubilização parcial. Atribui-se tal fato a presença das NPQs. Sistemas à base de pectina e quitosana apresentam interações eletrostáticas entre grupos aniônicos da pectina (COO^-) e grupos catiônicos da quitosana (NH_3^+) (Figura 16). Assim, quanto maior a quantidade de grupos amino livres protonados (NH_3^+) presentes na quitosana, maior a interação eletrostática entre suas cadeias, que formam redes tridimensionais, diminuindo assim, a solubilidade do filme (HAMMAN, 2010; LOREVICE, 2015; DA COSTA et al., 2016)

Figura 16: Complexo de polieletrólitos entre pectina-quitosana.



Fonte: próprio autor

Essas interações acabam influenciando não apenas na solubilidade dos filmes, mas também nas propriedades de barreira, mecânicas e térmicas conforme descrito por LOREVICE et al. (2016) que em seus estudos adicionaram nanopartículas de quitosana em matrizes de pectina de baixo e alto teor de metoxilação para avaliar as propriedades mecânicas, barreira e térmicas dos filmes nanocompósitos e obtiveram resultados semelhantes.

Tabela 3: Solubilidade total em solução aquosa dos filmes feitos a partir de diferentes composições de solução filmogênicas com e sem aquecimento.

Filmes	Tempo (min)	
	Temperatura ambiente	Com aquecimento
Pectina + alho	10 min	5 min
Pectina+ alho + Tween 80	10 min	5 min
Pectina + alho + NPQs	Solubilização parcial	10 min
Pectina + alho+ tween 80 + NPQs	Solubilização parcial	5 min

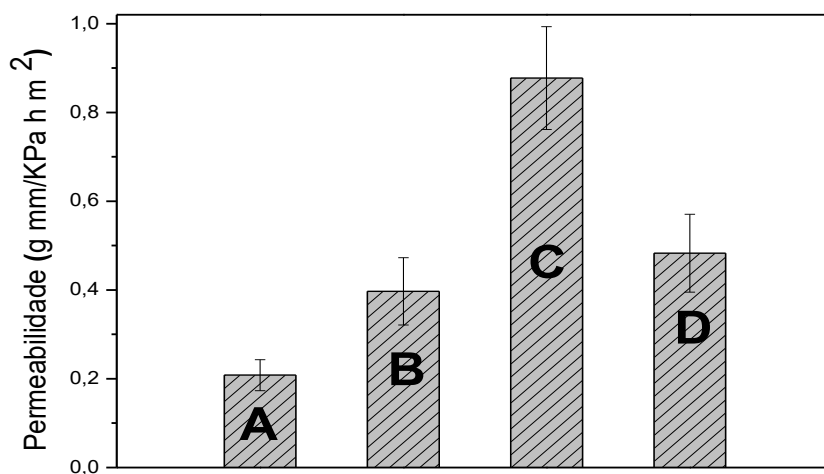
Fonte: Dados do autor

5.2.6 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Os filmes comestíveis de forma geral apresentam resultados de permeabilidade ao vapor que variam de acordo com a matriz utilizada, o que acaba gerando à indústria de alimentos, uma certa preocupação, já que este, é um parâmetro essencial na preservação e qualidade dos alimentos. Nos filmes a base de polímeros naturais essa propriedade é bem maior quando comparado à aqueles de matrizes poliméricas derivadas de petróleo sendo assim, a necessidade de controlar essa propriedade baseia-se no controle da difusividade e solubilidade das moléculas de água através da matriz polissacarídicas do filme, permitindo determinar a quantidade de água que permeia por unidade de área e tempo (mm/KPhm^2) (GONTARD et al., 1992).

A Figura 17 mostra os resultados da WVP para as diferentes composições. É possível observar que, o filme contendo a matriz pectina e o OE de alho (Figura 17 A) apresentou um valor de WVP de $0,21\text{g mm/KPhm}^2$. Tal fato pode estar relacionado tanto com a natureza da matriz, quanto com a hidrofobicidade do OE. Nesse sentido, OJAGH et al. (2010) relataram que os polímeros interagem com os compostos EO, o que pode reduzir a disponibilidade de grupos hidrofílicos para formar ligações hidrofílicas, o que na verdade diminui suas interações com a água, diminuindo assim a taxa de transmissão de vapor de água do filme (BRAVIN et al., 2004; GONZÁLEZ et al., 2009; GHANBARZADEH et al., 2011; ESPITIA et al., (2014); CAZÓN et al., 2017; AITBOULAHSEN et al., 2020).

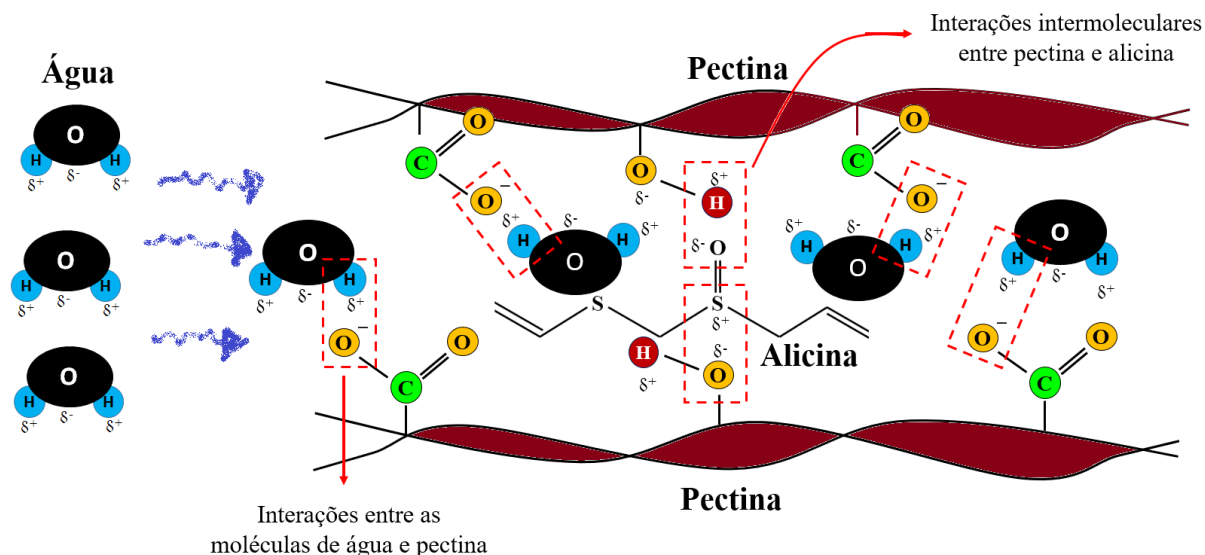
Figura 17: Influência da composição do filme na permeabilidade ao vapor de água. Em (a) Pectina + OE de Alho (b) Pectina + OE de Alho + Tween 80 (c) Pectina + OE de Alho + NPQs (d) Pectina + OE de Alho + NPQs + Tween 80.



Fonte: Dados do autor

Além disso, os autores acreditam que devido a característica hidrofílica da matriz, as moléculas de água estejam interagindo com os grupamentos polares das cadeias poliméricas e ficando aprisionadas por interações de Van der Waals conforme ilustrado na imagem da Figura 18.

Figura 18: Modelo proposto para as interações entre o grupo funcional sulfóxido da alicina e grupos hidroxila das pectinas com moléculas de água, aprisionadas por interações de van der Waals.

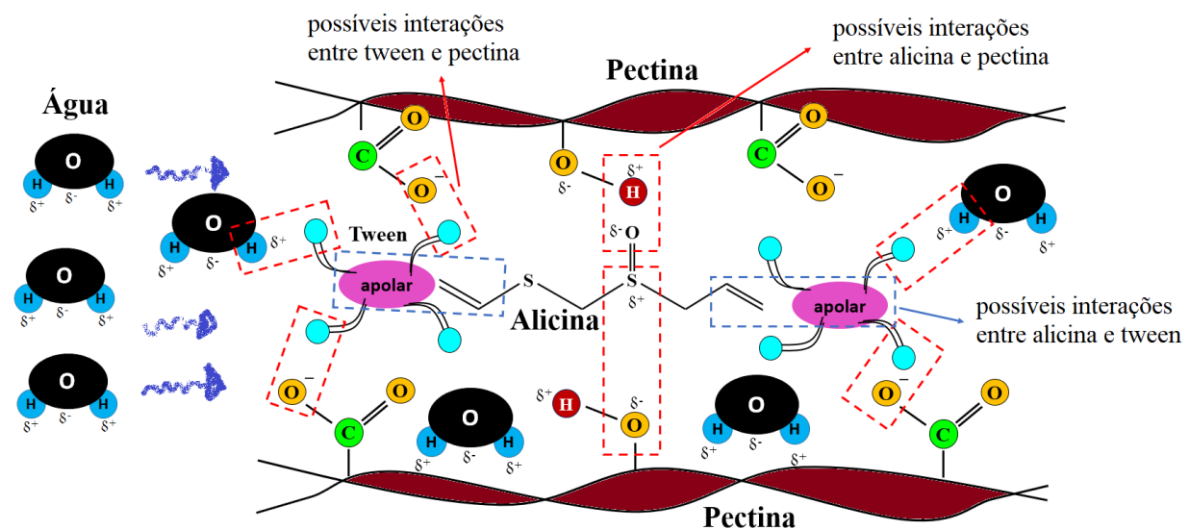


Fonte: próprio autor

Nos filmes contendo o surfactante (Figura 17 B e D), os valores de WVP aumentaram para 0,39 g mm/KPhm² e 0,48 g mm/KPhm² respectivamente, quando comparados com o filme contendo apenas a matriz e o OE de alho. Esse aumento vincula-se aos surfactantes, pois estes podem atuar diminuindo as interações intermoleculares entre as cadeias poliméricas adjacentes, ocasionando a redução das ligações de hidrogênio entre cadeias do polímero e consequentemente, aumentando a permeabilidade ao vapor de água nos filmes (MYLLÄRINEN et. al, 2002).

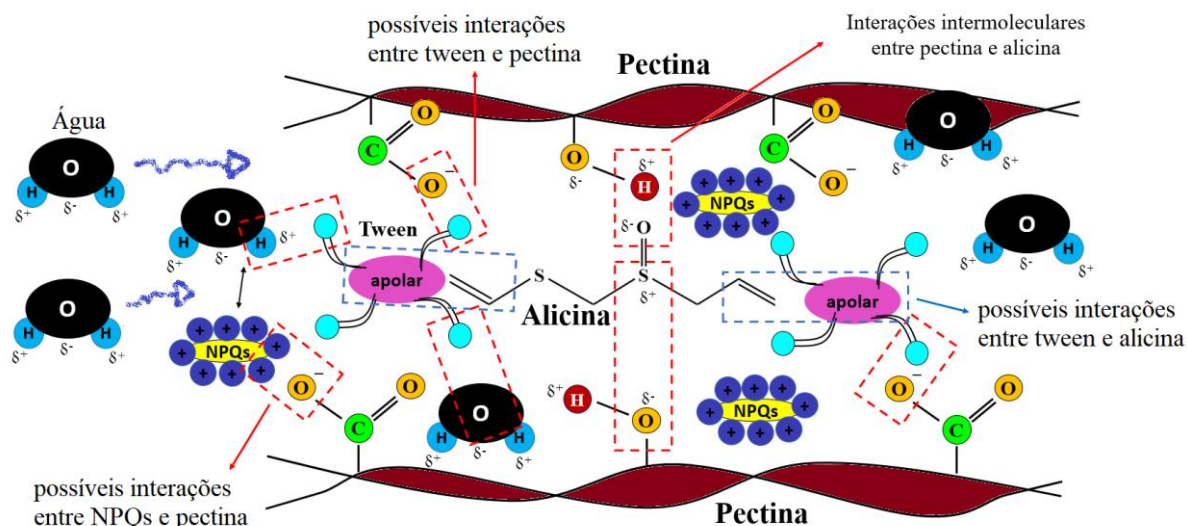
Por outro lado, as moléculas de Tween 80 provavelmente aumentam o espaçamento entre as cadeias de pectina, permitindo a maior difusão das moléculas de água. Ainda assim, a maior quantidade de água permeada para esta formulação pode ser atribuída as interações que há entre o Tween com as cadeias poliméricas ou com OE de alho. Essas interações diminuem a quantidade de grupamentos polares livres que poderiam interagir com as moléculas de água. Os grupamentos não livres favorecem a maior mobilidade, e consequentemente, permeabilidade das moléculas de água, tais interações podem ser observadas no modelo representativo da Figura 19 e 20 para os filmes contendo Tween 80 (BRANDELERO et al., 2010).

Figura 19: Modelo proposto para as interações entre a matriz e o Tween, entre o OE e a matriz e o OE de alho com o Tween presentes no filme de Pectina + OE de alho+ Tween 80



Fonte: Próprio autor

Figura 20: Modelo proposto para as interações entre a matriz e o Tween, entre o OE e a matriz, entre OE de alho e o Tween e entre as NPQs e a matriz, presentes no filme de Pectina + OE de alho+ Tween 80 + NPQs.



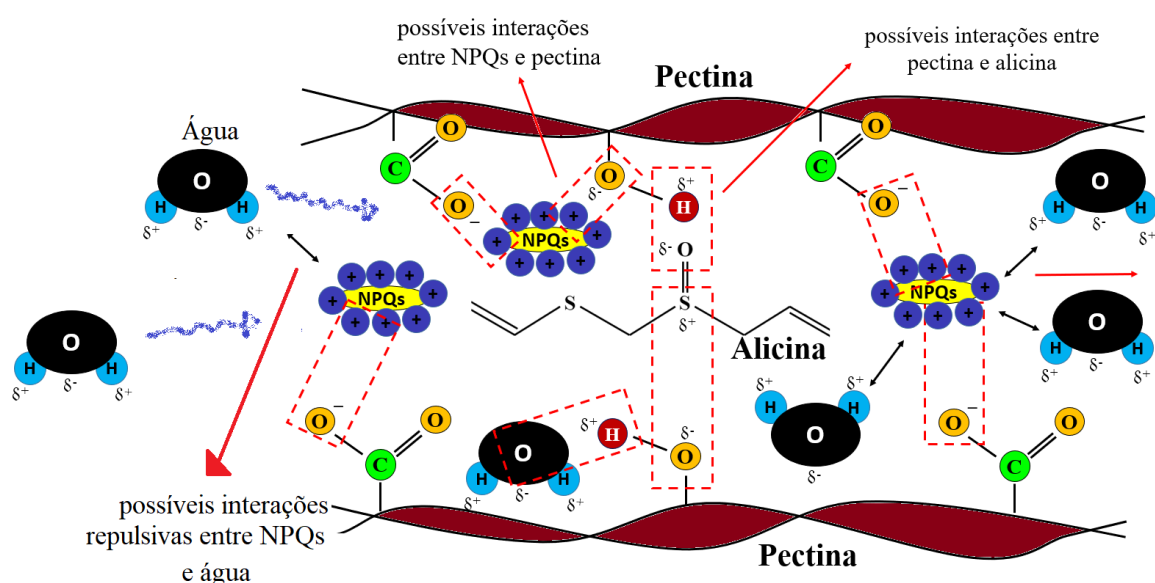
Fonte: próprio autor

O filme contendo as NPQs (Figura 17 C), o valor de WVP foi de 0,87 g mm/KPhm². Esse aumento significativo pode estar relacionado com a espessura do filme, uma vez que segundo SOBRAL, (2000) as propriedades de barreira dos filmes

dependem de fatores como espessura e concentração de plastificante. Vários autores relataram aumento na permeabilidade ao vapor de água em função do aumento da espessura dos filmes. MCHUGH et al. (1993) observou que, à medida que a espessura do filme aumentava, o filme proporcionava uma resistência maior à transferência de massa através dele; consequentemente, a pressão parcial de vapor de água de equilíbrio na superfície interna do filme aumentou. Isso ocasionou um aumento na permeabilidade devido ao maior gradiente de HR entre o filme e o ambiente. Tais observações foram descritas também por PARK E CHINNAN, (1995) e CHEN (1995) que observaram o mesmo comportamento em filmes a base de proteínas.

Adicionalmente, a adição das nanopartículas (superficialmente positiva) estão interagindo com os grupamentos polares da matriz, logo, esses grupos não estão mais livres para interagirem com as moléculas de água. No mesmo contexto, entende-se que pode estar havendo uma interação repulsiva entre a superfície da nanopartícula e os dipolos permanentes positivos das moléculas de água (hidrogênios) permitindo assim a maior difusão entre todas as formulações, tais interações estão representadas na imagem da Figura 21.

Figura 21: Modelo proposto para as interações entre o grupo funcional sulfóxido da alicina e grupos hidroxila das pectinas e as NPQs e a matriz presentes no filme de Pectina + OE de alho+ NPQs



Fonte: próprio autor

5.2.7 Propriedades mecânicas

As análises das propriedades mecânicas para as embalagens de alimentos são imprescindíveis, pois descrevem a resistência à ruptura, a deformação e a rigidez dos filmes. Essas devem apresentar valores próximas ou superiores às embalagens produzidas a partir de polímeros sintéticos para serem consideradas viáveis a aplicação. Essas propriedades dependem das interações entre os componentes que formam o filme, ou seja, da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias (ARFA. B et al., 2006; PHAN et al., 2009)

Segundo Garcia et al. (2000), a tensão de ruptura (σ) é a última tensão suportada pelo material antes da quebra e pode ser definida como a força máxima necessária para que o filme deforme, já a elongação (ϵ) pode ser definida como a deformação total, relacionada com a variação do comprimento inicial e final sofrida pelo material durante a análise enquanto que o módulo de elasticidade (E) é a relação entre a resistência à tração e a porcentagem de alongamento; corresponde à porção linear de uma determinada curva tensão-deformação sofrida pelo filme que pode ser ainda reversível (OLIVEIRA, 1996).

Todos os parâmetros supracitados referente a cada filme podem ser observados na Tabela 4, conforme descrito a seguir: solução A (pectina + OE de alho); solução B (pectina + OE de alho + Tween 80); solução C (pectina + OE de alho + NPQs) e a solução D (pectina + OE de alho + Tween 80 + NPQs).

Tabela 4: Resultados das propriedades mecânicas para as diferentes formulações de filmes com seus respectivos valores de desvio padrão, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de tukey com nível de confiança de 95%.

Filmes	Resistência a tração (Mpa)	Elongação (%)	Módulo Elástico (Mpa)
Solução A	29,03 ± 9 ^a	2,00 ± 0,1 ^a	2097,77 ± 647 ^a
Solução B	13,84 ± 2 ^b	1,6 ± 0,3 ^a	1319,62 ± 174 ^b
Solução C	22,72 ± 4 ^a	1,96 ± 1 ^a	1704,23 ± 142 ^b
Solução D	26,36 ± 4 ^a	2,55 ± 1 ^a	1557,82 ± 106 ^b

Diferentes letras na coluna indicam significância a $P < 0,05$. Ou seja, $a \neq b \neq c$

Fonte: Dados do autor

Segundo a literatura, filmes a base de polissacarídeos com adição de OE, apresentam resistência à tração e módulo de elasticidade baixos, quando comparados com filmes contendo apenas o polissacarídeo. Tal afirmação pode ser observada em trabalhos publicado por DU et al. (2009a) que estudaram filmes comestíveis à base de purê de maçã e pectina com adição de pimenta da Jamaica, óleos essenciais de canela e de cravo e observaram que a incorporação dos OE diminuiu significativamente a resistência à tração e o módulo elástico dos filmes.

Apesar de não variar estatisticamente, o material apresenta uma tendência de melhora. Com a adição de NPQs é possível observar um aumento na elongação do filme referente a composição D em relação ao filme controle (solução A). Tal fato pode estar relacionado com a presença de grupos carboxílicos na pectina que interagem com os grupos aminos da NPQs, além da interação dos componentes hidrofílicos e hidrofóbicos da matriz com o óleo, que podem estar atuando como plastificante, favorecendo ao aumento dessa elongação (MOREIRA et al., 2012; OTONI et al., 2014).

De acordo com KOKOSZKA et al., (2010), os plastificantes enfraquecem as interações intermoleculares entre as cadeias poliméricas de uma maneira que aumenta o volume e a mobilidade livres, levando a menor rigidez, maior extensibilidade e flexibilidade dos filmes.

A adição do surfactante ocasionou uma redução significativa ($p < 0,05$) na resistência à tração comparado com o filme controle (solução A) apenas na composição B. O Tween 80 é um surfactante hidrofílico com maior valor de equilíbrio hidrofílico-lipofílico e pode interagir com água que enfraquece a ligação intermolecular do hidrogênio, resultando consequentemente na diminuição das propriedades mecânicas (ANDREUCCETTI, C et al, 2011; SONG et al. 2018).

A presença das NPQs e o surfactante nas composições B, C e D dos filmes proporcionou uma diminuição significativa no módulo elástico em relação ao filme controle (solução A). Tal resultado pode estar associado ao fato de que tanto as NPQs quanto o surfactante interagem com o OE e a matriz podendo atuar como um plastificante, conforme descrito por MOREIRA et al., 2012.

5.2.8 Espectro de infravermelho com transformada de Fourier

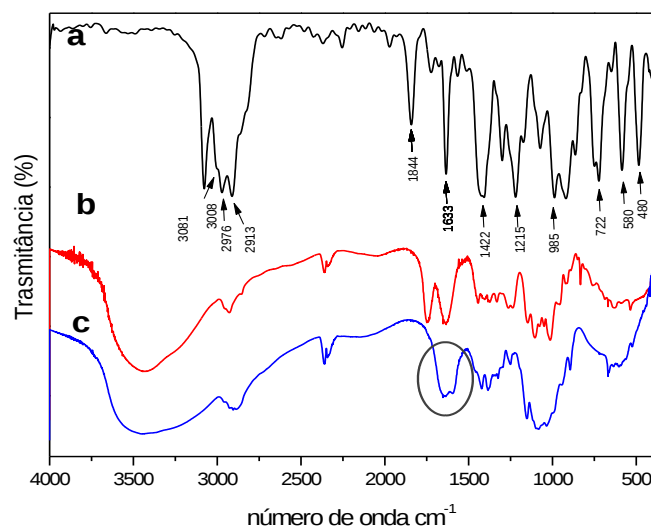
As Figura 22 e 23 mostram os espectros vibracionais na região do infravermelho das diferentes composições dos filmes e seus componentes.

Os espectros do OE de alho (Figura 22a) tipicamente, apresentam quatro principais bandas na região entre 3.100 e 2.900 cm^{-1} . O primeiro em 3.081 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento assimétrico de CH_2 , o segundo entre 3011 - 3007 cm^{-1} ao estiramento C-H, o terceiro em 2980 a 2978 cm^{-1} à vibração de estiramento simétrico de CH_2 , e o quarto entre 2914 e 2912 cm^{-1} ao alongamento de $-\text{CH}_2-$. A segunda região que vai de 1700 a 1000 , apresenta picos importantes. Nesta área, evidenciaremos os picos intenso em 1633 cm^{-1} atribuído a $\text{C}=\text{C}$, referente a vibração do grupo alil presente na estrutura do alho. Esse pico pode ser observado com menor intensidade nos espectros referentes aos filmes (Figura 23 a, b, c, d) indicando a presença do OE de alho. O pico presente entre 1428 e 1401 cm^{-1} pode ser atribuído ao alongamento de $-\text{CH}_2-$, e no comprimento 1217 cm^{-1} temos os grupo referente ao alongamento $\text{CH}_2=\text{CH}-$ (BARANSKA et al., 1987; DEAN, 1999; AYALA et al., 2008).

Os espectros de FTIR da quitosana pura e das NPQS incorporadas nos filmes, podem ser vistos nas Figuras 22c e 23c, d respectivamente. É possível observar uma banda entre 1657 cm^{-1} e 1598 cm^{-1} , referente ao grupo $\text{CO}-\text{NH}_2$ da estrutura da quitosana. Já nos espectros referentes aos filmes contendo as NPQS, o surgimento de duas novas bandas em 1638 e 1545 cm^{-1} são atribuídos a interação entre grupamento amina da quitosana (NH^{+3}) e o grupamento do ácido metacrílico (COO^-) polimerizado. Segundo DE MOURA et al., (2008) o surgimento dessas duas novas bandas indicam a interação iônica entre PMAA e a Quitosana, associados com a formação de nanopartículas, porém, essas bandas podem ter sido sobrepostas pelas vibrações do grupo alil presente no OE de alho, assim, não encontrando-se tão evidentes nos espectros. A banda acentuada, que pode ser observada no comprimento de onda entre 3419 e 2859 cm^{-1} é decorrente dos picos combinados do alongamento assimétrico e simétrico das aminas primárias (NH_2) e OH com ligações de hidrogênio e podem ser observados tanto no espectro de quitosana puro e em todos os espectros referente aos filmes, comprovando a presença da quitosana na estrutura (BANERJEE et al., 2002. ; QI et al., 2004).

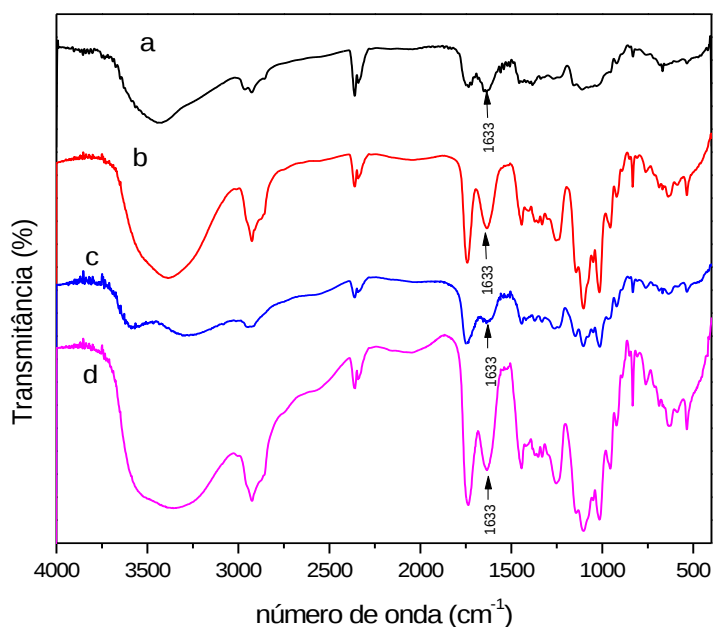
Para a preparação dos filmes, usou-se como matriz a pectina de alto grau de metoxilação, assim é possível observar nos espectros referentes aos filmes picos característicos da pectina. Nos espectros da pectina pura (Figura 22 b) é possível observar picos bem evidenciados em aproximadamente 1750 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} , que caracterizam grupos e banda de alongamento de íons carboxilato (COO^-). O estiramento simétrico de COO^- mais fraco é seguido por padrões de absorção moderadamente intensos entre os comprimentos de onda 1300 e 800 cm^{-1} , denominados de região de impressão digital que é exclusiva da pectina, tais estiramentos, podem ser observados também nos espectros referente aos filmes mostrados na figura 23 a, b, c ,d. (FILIPOV, 1999; GNANASAMBANDAM, 2000)

Figura 22: Espectros no infravermelho: óleo essencial de alho (a), pectina pura (b) quitosana pura (c).



Fonte: Dados do autor

Figura 23: Espectros no infravermelho: pectina + OE de alho (a), pectina + OE de alho + Tween (b), pectina + OE de alho + NPQs (c), pectina + OE de alho + Tween + NPQs (d).

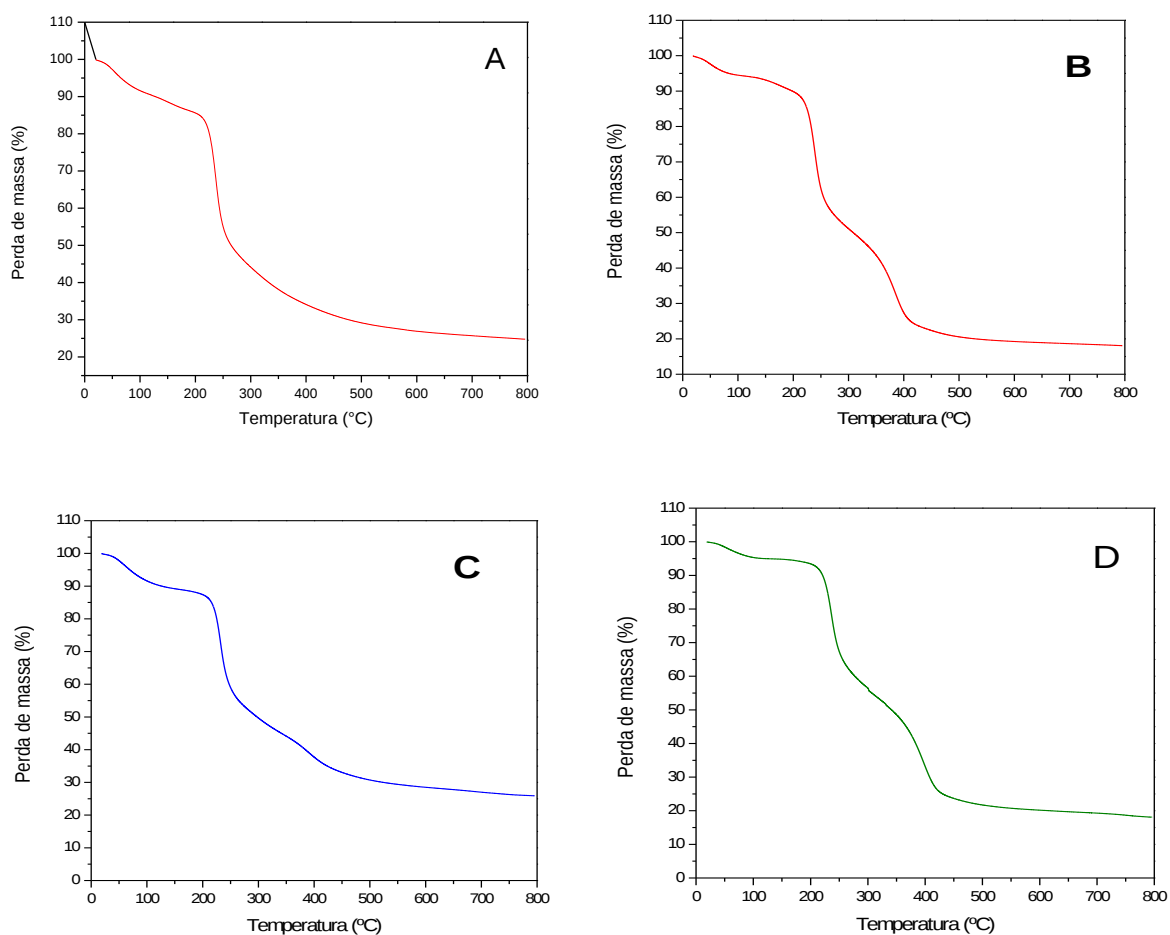


Fonte: Dados do autor

5.2.9 Termogravimetria (TGA)

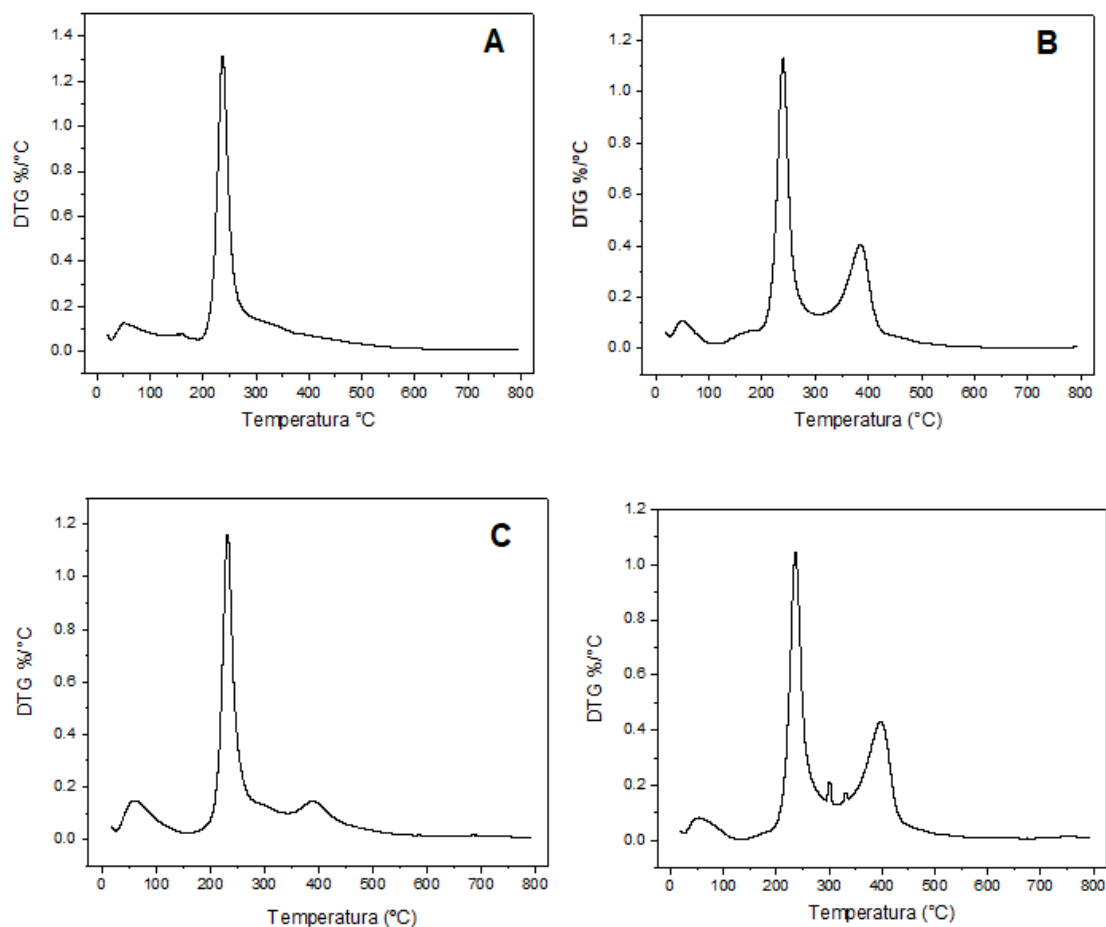
A análise de TGA é uma técnica eficiente para avaliar a estabilidade térmica dos filmes. Os termogramas dos filmes de pectina, pectina+ OE de alho, pectina+ OE de alho+ Tween 80, pectina + OE de alho+ NPQs, pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs e as DTG para cada termogramas são mostrados nas Figuras 24 e 25 A, B, C e D respectivamente.

Figura 24: Curva de TG para: petina (A), pectina+ OE de alho+ Tween80 (B), pectina + OE de alho+ NPQs (C), pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs (D).



Fonte: Dados do autor

Figura 25: DTG para: pectina + OE de alho (A), pectina+ OE de alho+ Tween80 (B), pectina + OE de alho+ NPQs (C), pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs (D).



Fonte: próprio autor

O estágio inicial comum em todas as curvas de TG na região 100 °C pode ser atribuído ao processo de volatilização da água (umidade) e a eliminação de compostos voláteis (MONFREGOLA et al., 2011; ESPITIA et al., 2014; YANG et al. 2019). O termograma da Figura 25 A é referente a degradação da matriz pectina. Geralmente a degradação destes materiais pode ser separada em três estágios: desidratação do material (até 100 °C), degradação térmica dos sacarídeos (230°C) e, por fim, degradação do restante da amostra em CO₂ e H₂O acima de 230°C. (MARTELLI et al., 2013; ESPITIA et al., 2014).

Para os filmes contendo o surfactante (Figura 24 B e D) a temperatura de início da degradação (Td) diminuiu para 87,73°C e 100°C respectivamente, quando comparados com o termograma da matriz PEC (Figura 24 A). Isso sugere que a adição do surfactante diminuiu as interações moleculares entre as cadeias adjacentes

da pectina fortalecendo as ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila da PEC e os compostos polares (polifenóis) encontrados no OE de alho interações essas que podem ser observadas nos espectros de FTIR.

Resultados semelhantes foram mencionados por NORCINO et al., (2020) que relatou uma diminuição na temperatura de início da degradação (Td) para os filmes contendo óleo de copaíba emulsionados com Tween 80 quando comparados com dá pectina. Tais resultados também foram relatados com a adição de extratos na composição do filme conforme relatados na literatura (CERRUTI et al., 2011; JARAMILLO et al., 2016).

Para os filmes contendo as NPQs, acontece uma perda de massa lenta a partir de 140 °C a 200 °C referente à decomposição de polímero com baixa massa molar como NH_3^+ . (GOMATHI et al., 2017). Em aproximadamente 243 e 325 °C ocorre o início da degradação (TD), este evento corresponde ao processo de desidratação do anel anidro glucosídico presente na molécula de quitosana, despolimerização e decomposição de cadeia lateral (REJINOLD et al., 2011; FENG e XIA, 2011).

Em todas as amostras observou-se uma quantidade de resíduo ao final das análises (Tabela 5). Esses resíduos são as cinzas proveniente da queima, que neste caso, podem ser constituídas de substâncias inorgânicas são termicamente estáveis a essa faixa de temperatura.

Tabela 5: Valores da temperatura inicial (Ti), temperatura máxima (T_{máx}), temperatura final (T_f), perda de massa e resíduos para análises de TG pectina + OE de alho (A), pectina+ OE de alho+ Tween80 (B), pectina + OE de alho+ NPQs (C), pectina + OE de alho + Tween80 + NPQs (D).

Eventos térmicos									
Amostra	1º evento			2º evento			3º evento		
	T _i	T _{max}	T _f	T _i	T _{max}	T _f	T _i	T _{max}	T _f
	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)
Pectina/Alho	26,60	52,17	111,13	191,41	236,87	543,67	-	-	-
Pectina/Alho/ Tween	25,17	49,33	103,32	191,60	239,72	297,26	310,76	385,35	514,64
Pectina/Alho/ NPQs	25,89	60,69	140,26	173,75	232,61	325,67	352,69	391,03	541,67
Pectina/Alho/ Tween/NPQs	25,87	53,59	119,66	161,67	236,16	306,49	326,38	398,14	535,95

Perda de massa (%)

Amostra	1º evento	2º evento	3º evento	Resíduo (%)
Pectina/Alho	8,65	58,04	-	24,76
Pectina/Alho/ Tween	5,15	38,99	29,55	18,08
Pectina/Alho/ NPQs	10,18	41,96	14,28	25,91
Pectina/Alho/ Tween/NPQs	4,78	39,59	31,43	18,10

Fonte: próprio autor

CAPÍTULO VI: Possíveis aplicações

6.1 EMBALAGENS PRIMÁRIAS PARA ARROZ

Com base nos resultados obtidos nesse trabalho, uma das aplicações sugerida para o filme final é a utilização como embalagens primárias para arroz integral.

No mercado já é possível encontrar porções de arroz integral embalados individualmente na qual a embalagem é cozida juntamente com o alimento. Para a comparação das embalagens utilizou-se o arroz integral da marca Tio João conforme ilustra a imagem da Figura 26.

Figura 26: Arroz integral comercial cozido diretamente com a embalagem: A e B) arroz antes do cozimento, C) arroz após o cozimento.



Fonte: Próprio autor

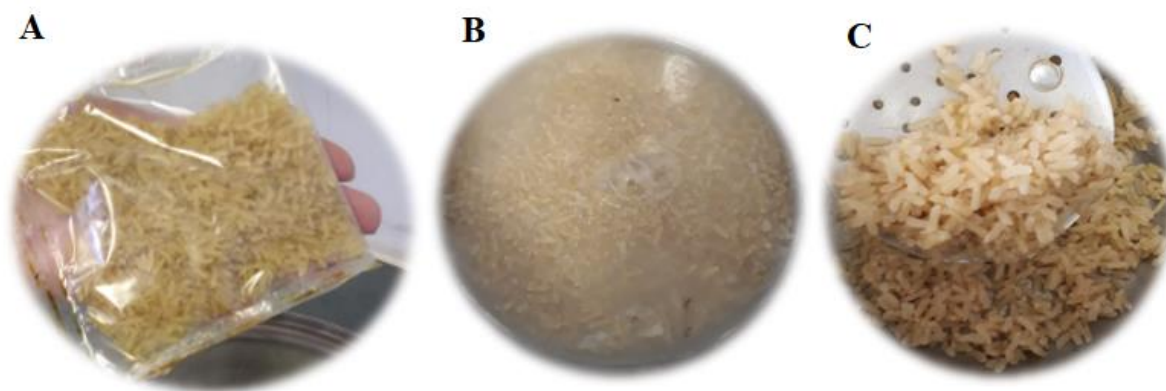
A preparação do arroz segundo o fabricante, consiste em cozinhar a embalagem juntamente com o conteúdo em 1,5L de água fervendo durante 20 min. Após esse período, a embalagem é retirada do cozimento e descartada, e o seu conteúdo interno pode ser temperado e consumido.

A sugestão desse trabalho é substituir essas embalagens comerciais a base de polietileno que é um polímero convencional a base de petróleo e não biodegradável, por uma embalagem que apresente as mesmas condições de armazenamento, porém confeccionada pelos filmes preparados nesse trabalho.

Foram realizados testes com todas as 4 formulações de filmes, em que preparou-se a embalagem acondicionando o arroz e cozinhando-o na mesma

proporção da embalagem comercial, segundo as instruções do comerciante, o resultado pode ser observado na Figura 27.

Figura 27: Arroz integral na embalagem preparada a partir desse trabalho, cozido diretamente com a embalagem: A) arroz antes do cozimento, B) arroz durante o cozimento C) arroz após o cozimento.



Fonte: Próprio autor

A ideia principal da aplicação é a substituição de uma embalagem que seria descartada ao meio ambiente, pela embalagem desenvolvida no trabalho, que é totalmente degradável e pode ser consumida juntamente com o alimento após o seu cozimento.

Nesse contexto, resultado do cozimento do arroz com a nova embalagem foi satisfatória quando comparado com os obtidos pela embalagem comercial. É possível observar (Figura 27 C) que o filme utilizado para confeccionar a embalagem foi totalmente solubilizado, após o cozimento com um tempo médio de 20 min, alcançando assim o principal objetivo do trabalho que é diminuir o descarte de invólucros no meio ambiente, como é feito com a embalagem convencional, além de agregar sabor ao alimento devido a presença do OE de alho.

Esse teste precisa ser confirmado com análises sensoriais, que até o momento não foram realizadas devido a complicações de locais para que isso ocorra. Mas os processos para a realização, já estão em andamento.

CAPÍTULO VII: Considerações Finais

7.1 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que:

- A preparação das NPQs se mostrou eficaz, uma vez que o sistema se apresenta estáveis conforme demonstra os dados de potencial Zeta.

- A presença das NPQs na composição dos filmes, ocasionou um aumento na espessura dos filmes, sendo assim essa, uma característica influenciada pela quantidade e tipo de componentes da matriz. A presença das NPQs ainda, ocasionou a diminuição da afinidade superficial do filme pela água, aumentando assim sua hidrofobicidade, resultados esses, comprovados através das imagens de microscopia eletrônica de varredura.

- Os resultados decorrentes da atividade antimicrobiana, demonstraram que todos os filmes contendo o OE de alho apresentaram inibição apenas por contato para bactérias do tipo Gram-positiva (*S.aureus*), isso demonstra que os compostos ativos do OE de alho, não estão sendo efetivamente imobilizados na estrutura dos filmes, sendo assim, esses são eficazes a apenas bactérias com estruturas mais simples e sensíveis ao contato do filme. Enquanto que, para as Gram- negativas (*E.coli*), a inibição ocorreu apenas pelos filmes contendo as NPQs, e por contato direto na cultura.

- De forma geral, todas as formulações apresentaram tempo de solubilidade relativamente baixo, devido aos filmes a base de pectina naturalmente apresentarem solubilidade alta, quando comparados com outros biopolímeros naturais.

- A permeabilidade ao vapor de água dos filmes estudados variou de acordo com a composição de cada filme, assim, o aumento da permeabilidade está relacionado com a presença de surfactante na composição dos filmes.

- Os filmes contendo Tween 80 em sua composição apresentaram alta hidrofiliabilidade, sendo comprovado através de valores do ângulo de contato, enquanto que os filmes contendo as NPQs e o OE de alho apresentaram um ângulo de contato maior, indicando que esses filmes possuem uma menor afinidade superficial pela

água em relação ao filme controle (sem presença de NPQS) e a aqueles contendo em sua formulação surfactante.

- Todas as 4 formulações de filmes mostraram-se de certa forma satisfatórias para a confecção de embalagens a fim de posterior testes do cozimento do arroz. Todos os filmes obtiveram solubilidade total na água quente mostrando-se capazes de associar-se ao arroz após o final do cozimento, porém os filmes contendo Tween 80, apresentaram-se com melhor manuseio e resistência mecânica para acondicionamento do produto.

De modo geral, os filmes apresentaram propriedades consideradas satisfatórias para aplicação como filmes comestíveis, demonstrando aparência homogênea e contínua, além de leve transparência e maleabilidade, sendo assim, esse trabalho permitiu o desenvolvimento com sucesso de filmes para aplicação em potencial embalagens primárias no setor de alimentos.

CAPÍTULO VIII: Referências bibliográficas

ABID, M. *et al.* Effect of substituted gelling agents from pomegranate peel on colour, textural and sensory properties of pomegranate jam, **Food Chemistry**, v. 239, n. 1, p. 1047-1054, 2018.

ABNT. **NBR 9198**. Disponível em: <http://www.abnt.org.br/noticias/3948-embalagem-e-acondicionamento> . Acesso em: 21 fev. 2017.

ABNT NBR 15448-1. Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis Parte 1: Terminologia.

ABRE- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGEM- (2017). **Tipos de embalagens**. Disponível em: <http://www.abre.org.br/setor/apresentacao-do-setor/a-embalagem/tipos-de-embalagens/>. Acesso em: 21 fev. 2017.

ABRE- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGENS. **Estudo macroeconômico da embalagem**. Disponível em: <https://www.abre.org.br/dados-do-setor/ano2019/>. Acesso em: 6 nov. 2019.

ALMEIDA, A. C. S. et al. Aplicação de nanotecnologia em embalagens de alimentos. **Polímeros**, v. 25, p. 89-97, 2015

AITBOULAHSEN, H *et al.* Effect of plasticizer type and essential oils on mechanical, physicochemical, and antimicrobial characteristics of gelatin, starch, and pectin-based films. **Journal of Food Processing and Preservation**.v 44, n. 6, p. 14480, 2020.

ANDREUCCETTI, C et al. Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 129-136, 2011.

ARFA. B et al. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure Letters in **Applied Microbiology**, v.43, n.2, p. 149-154, 2006.

ARTS, J. H. *et al.* A critical evaluation of existing concepts for the group nanomaterials. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 70, n. 2, p. 492-506, 2014.

ASSIS, O. B. G; BRITTO, Douglas De. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Journal Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014

ASTM E96-80, American Society for Testing and Materials; Standard test method for water vapor transmission of materials, 1980.

ASTM - Standard Test Method for Surface Wettability and Absorbency of Sheeted Materials Using an Automated Contact Angle Tester (2008). Standards Designation: D5725-99. In Annual book of ASTM International, West Conshohocken, PA.

ASTM Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, 1997. D882-97. In Annual Book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, USA, PA: ASTM.

ASTM D6400-19, Standard Specification for Labeling of Plastics Designed to be Aerobically Composted in Municipal or Industrial Facilities, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2019

AXELOS, M.A.V.; THIBAUT, J.F. The Chemistry of Low-Methoxyl Pectin Gelation. In **The Chemistry and Technology of Pectin**; Walter, R.H., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 1991; p. 109–118.

BARROS, F. F. C. *et al.* Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 409-414, 2007.

BASIAK, E; DEBEAUFORT, F; LENART, A. Effect of oil lamination between plasticized starch layers on film properties. **Food Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 56-63, 2016.

BRANDELERO, R. P. H; YAMASHITA, F; GROSSMANN, M. V. E. The effect of surfactant Tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films, **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1102-1109, 2010.

BRAVIN, B; PERESSINI, D; SENSIDONI, A. Influence of Emulsifier Type and Content on Functional Properties of Polysaccharide Lipid-Based Edible Films. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6448-6455, 2004.

CANTERI, M. H. G. Caracterização comparativa entre pectinas extraídas do pericarpo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. *flavicarpa*). UFPA, 2010. 135 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2010.

CAROCHO, M; MORALES, P; FERREIRA I. C. F. R Natural food additives: Quo vadis?: Review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 284-295, 2015.

CASANOVA, M. C. R. Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Analítica, Instituto de Química, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2010.

CAZÓN, P. *et al.* Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, n. 1, p. 136-148, 2017.

CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2563-2583, 1995.

CHEN, Y. *et al.* TEMPO-oxidized Konjac glucomannan as appliance for the preparation of hard capsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, n. 1, p. 262-269, 2016.

CIRIMINNA, R. *et al.* **Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint:** Biofuels, Bioproducts And Biorefining. 4. ed. [S.l.]: Wiley, 2015. p. 368-377.

CRESPILHO, F. N. A nanociência em Parceria com o meio Ambiente: In: Rubens Pantano Filho, Derval dos Santos Rosa. (Org). **Meio Ambiente - Múltiplos Olhares**, v. 1, n. 1, p. 1-277, 2009.

CRINI, G. Historical review on chitin and chitosan biopolymers. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 1, p. 1623-1643, 2019.

DALMAS, F.; CAVAILLÉ, J. Y.; GAUTHIER, c: CHAZEAU, L.; DENDIEVEL, R. Viscoelastic behavior and electrical properties of flexible nanofiber filled polymer nanocomposites. Influence of processing conditions. **Composites Science and Technology**, v. 67, p. 829-839, 2007.

DE CORATO, U. Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 6, p. 940-975, 2019.

DEBEAUFORT; F; QUEZADA-GALLO, J. A; VOILLEY, A. Edible Films and Coatings: Tomorrow Packaging: A Review. **Critical Reviews In Food Science**, v. 38, n. 4, p.299-313, 1998.

DEL RÉ, P.V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, [s.l.], v. 14, n. 2, p.389-399, 2012.

DIVYA, K. *et al.* Antimicrobial Properties of Chitosan Nanoparticles: Mode of Action and Factors Affecting Activity. **Fibers and Polymers**, v. 18, n. 2, p. 221-230, 2017.

DONSÍ, F.; ANNUNZIATA, M.; SESSA, M. FERRARI., G. noencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.1908–1914. 2011.

DOS SANTOS, V. S. Preparação, caracterização e aplicação eletroanalítica de nanopartículas de Hexacianoferrato (III) de Zinco. 2016. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência dos materiais, Departamento de Física e Química, Unesp de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2016.

DUNCAN, T. V.; Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal Of Colloid And Interface Science**, p. 1-24, 2011.

EMBUSCADO, M. E; HUBER, K. C. (2009). Edible films and coatings for food applications. Dordrecht: Springer Inc.2009.

ESPINOZA, C. L. *et al.* Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 942-942, 2018.

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

ETOH, T. S. P. W. **Diversity, fertility and seed production of garlic**: In: Rabinowitch HD CL. 57. ed. EUA: Cabi, 2002. p. 1-512.

FENG, Y. & XIA, W. Preparation, characterization and antibacterial activity of watersoluble O-fumaryl-chitosan. **Carbohydrate Polymer**, v. 83, p. 1169, 2011.

FILIPOV, M. P. **Food Hydrocoll**, v. 115, n. 1, p. 343, 1999.

FRAEYE, I. *et al.* Influence of intrinsic and extrinsic factors on rheology of pectin-calcium gels. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 8, p. 2069-2077, 2009.

FRÁGUAS R. M *et al.* Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polímeros**, v. 25, p.48-53, 2015.

GEERKENS, C.H. *et al.* Mango Pectin Quality as Influenced by Cultivar, Ripeness, Peel Particle Size, Blanching, Drying, and Irradiation. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 241–251, 2015.

GENNADIOS, A. & WELLER, C. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, p. 63-69. 1990.

GHANBARZADEH, B; ALMASI, H. Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 1, p. 44-49, 2011.

GIANCONE T. *et al.* Effect of Surface Density on the Engineering Properties of High Methoxyl Pectin-Based Edible Films. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p 1228- 1236, 2011.

GOMATHI, T.; PRASAD, P. S.; SUDHA, P. N.; ANIL, S. “Size optimization and in vitro biocompatibility studies of chitosan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.104, p.1794, 2017.

GOMES, R. D. V; MELO, B. N. D; VELLOSO., M. H. R. Síntese e caracterização de bioplásticos a partir de glicerol e óleo de mamona. **Latin American Journal of Energy Research**,vv. 4, n. 1, p. 41-51, 2017.

GONTARD, N; DUCHEZ, C; CUQ, J; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p.39-50, 1994.

GONTARD, N; GUILBERT, S; CUQ, J. L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**. v. 57, p. 190-195, 1992.

GONZÁLEZ, L. S. *et al.* Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 8, p. 2102-2109, 2009.

GOY, Rejane C.; BRITTO, Douglas De; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros**, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.

GUSTAFSSON, J. *et al.* Development of Bio-Based Films and 3D Objects From Apple Pomace. **Polymers**, vv. 11, n. 2, p. 288-289, 2019.

HAMMAN, J. H. Chitosan Based Polyelectrolyte Complexes as Potential Carrier Materials in Drug Delivery Systems. **Marine Drugs** , v. 8, n. 4, p. 1305-1322, 2010.

HECKERT, W. W (1937) Textile. Patent US 2.099.363

HOSSEINI, S. F *et al.* Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. **Food Chemistry**, v. 136, p.1490-1495, 2013.

ISO- International Standart Organization. Nanotechnologies - Terminology and definitions for nano-objects -Nanoparticle, nanofibre and nanoplate ISO/TS 27687:2008.

JAMRÓZ, *et. al.* Intelligent and active furcellaran-gelatin films containing green or pu-erh tea extracts: Characterization, antioxidant and antimicrobial potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, n. 1, p. 745-757, 2019.

JAYAKUMAR, R. *et al.* Novel carboxymethyl derivatives of chitin and chitosan materials and their biomedical applications. **Progress In Materials Science**, p. 675-709, 2010.

JIAN, JU *et al.* Aplicação de revestimento comestível com óleo essencial na preservação de alimentos, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.59, n. 15, p. 2467-2480, 2019.

JÖNSSON, B.; LINDMAN, B.; HOLMBERG, K.; KRONBERG, B. Em Surfactants and Polymers in Aqueous Solutioneds; Jönsson, B.; Lindman, B.; Holmberg, K.; Kronberg, B., eds.; Wiley: New York, 1998, cap. 1.

JUNG, D *et al.* Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk. **Journal Of Dairy Science**, p. 387-393. fev. 1992.

KACHHOLZ, T.; SCHINGMANN, M. **In Biosurfactants and Biotechnology**; Kosaric, N.; Cairns, W. L.; Gray, N. C. C., eds.; Marcel Dekker: New York, 1987, cap. 7

KESTER, J. J; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**. v 40 n. 12. p. 47-59, 1986.

KOKOSZKA, S *et al.* Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films Innovative. **Food Science & Emerging Technologies**. v.11, p.503-51, 2010.

KOWALCZYK, D *et al.* The effect of potassium sorbate on the physicochemical properties of edible films based on pullulan, gelatin and their blends. **Food Hydrocolloids**. v. 105, 2020.

KROCHTA, JM., Y DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymerfilms: challenges and opportunities. **Food Technology**. v.51, n. 2, p. 61-74, 1997.

LAWTON, J.W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 29, n. 3, p.203-208, mar. 1996

LI, Z. *et al.* Fabrication of Nanoparticles Using Partially Purified Pomegranate Ellagitannins and Gelatin and Their Apoptotic Effects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, n. 7, p. 1096-1103, 2011.

LI, Z; GU, L. Effects of Mass Ratio, pH, Temperature, and reaction time on fabrication of partially purified pomegranate ellagitannin gelatin nanoparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 8, p. 4225-4231, 2011.

LIANG, J; YAN, H; PULIGUNDLA, P. Applications of chitosan nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of tea polyphenols: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 69, n. 1, p. 286-292, 2017.

LIANG, P *et al.* The effect of carboxymethyl chitosan on the precipitation of calcium carbonate. **Journal Of Crystal Growth**, [s.l.], v. 261, n. 4, p.571-576, 2004.

LIU, B *et al.* Preparation and characterization of intelligent starch/PVA films for simultaneous colorimetric indication and antimicrobial activity for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, 157, pp. 842–849, 2017.

LIU, J; WILLFÖR, S; XU, C. A Review of Bioactive Plant Polysaccharides: Biological Activities, Functionalization, and Biomedical Applications. *Bioact.* **Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, n. 1, p. 31–61, 2015.

LIUA, Q *et al.* Effects of nanoemulsion-based active coatings with composite mixture of star anise essential oil, polylysine, and nisin on the quality and shelf life of ready-to-eat Yao meat products. **Food Control, China**, v.107; n.1; 2020.

LÖFGREN, C; WALKENSTRÖM, P; HERMANSSON, A. M. Microstructure and Rheological Behavior of Pure and Mixed Pectin Gels. **Bio Macromolecules**, v. 3, n. 6, p. 1144-1153, 2002.

LOREVICE, M. V. Desenvolvimento de filmes nanocompósitos para aplicação como embalagem comestível. São Carlos, Programa de PósGraduação em Química – UFSCar, 2015. Dissertação de mestrado.

LOREVICE, Marcos V.; MOURA, M. R. D; MATTOSO, L. H. C. Nanocomposite of papaya puree and chitosan nanoparticles for application in packaging. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 931-936, 2014.

LUBS, H. A. (1937) Paper. Patente US 2.085.163.

MA, Z; MAESTU, A. G; JEONG, K. C. Application, mode of action, and in vivo activity of chitosan and its micro- and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, n. 1, p. 257-265, 2017.

MANIVASAGAN, P; SENTHILKUMAR, K; VENKATESAN, J. Chapter 13. Biological applications of chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives. S.K. Kim (Ed.), **Chitin and chitosan Derivatives: Advances in drug discovery and developments**, CRC Press (2013), p. 223-242.

MANRICH, A. *et al.* Hydrophobic Edible Films Made Up of Tomato Cutin and Pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, n. 183, p. 91, 2017.

MARASCO, M (1939) Photographic film. Patent US 2.182.814

MARCOMBE, Romain; CAI, Sherngqiang; HONG, Wei. A theory of constrained swelling of a pH-sensitive hydrogel. **Soft Matter**, v. 6, n. 4, p. 784-793, 2010.

MARTELLI, M. D. R; BARROS, T. T. D; ASSIS, O. B. G. Produção de Filmes Plásticos a Partir de Polpa de Frutas Sobremaduras. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 3, p. 301-308, 2015.

MARTELLI, M. R. *et al.* Effect of Chitosan Nanoparticles and Pectin Content on Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Banana Puree Films. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 1, p. 98-104, 2013.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 1, p.5-18, 2000.

MAXWELL, RW (1939) Adhesive. Patent US 2.182.524

MAY, C. D. Industrial pectins: Sources, production and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, n. 1, p. 79-99, 1990.

MCHUGH, T. Habig; BUSTILLOS, R. Avena; KROCHTA, Jm. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 4, p. 899-903, 1993.

MIRANDA, M. E. S. Caracterização físico-química, bioquímica, microscópica e sensorial da Ncarboximetilquitosana em solução e filme. 2004. 151 f. Tese (Doutorado) - Curso de Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MOGHIMI, R. *et al.* Superior antibacterial activity of nanoemulsion of Thymus daenensis essential oil against E. coli. **Food Chemistry**, Iran, v. 194, n. 1, p. 410-4151, mar./2016.

MOHAMED, S. A. A; EL-SAKHAWY, MOHAMED; SAKHAY, M. A. E. Polysaccharides, Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 238, n. 1, p. 116-178, 2020.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current Opinion In Plant Biology**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.266-277, 2008.

MONTERREY, E. S; SOBRAL, P. J. A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n. 2, p.294-301, 1999.

MORADI, M. *et al.* Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.i], v. 46, n. 2, p.477-484, 2012.

MOREIRA, F. K. V; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends. **Polymer Bulletin**, v. 69, n. 1, p. 561-577, 2012.

MORILLÓN, V. *et al.* Factors Affecting the Moisture Permeability of Lipid-Based Edible Films: A Review. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 1, p. 67-89, 2010

MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A; MATTOSO, L.H.C. Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. **Journal Of Colloid And Interface Science**, v. 321, n. 2, p.477-483, 2008.

MOURA, M. R. De *et al.* Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 4, p. 448-453, 2009.

MOURA, M. R. de *et al.* Preparação de Novos Nanobiocompósitos Comestíveis Ativos Contendo Nanoemulsão de Canela e Pectina. **Polímeros**, v. 24, n. 4, p. 486-490, 2014.

MUSCAT, D. *et al.* Understanding the distribution of natural wax in starch–wax films using synchrotron-based FTIR (S-FTIR). **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 125-135, 2014.

MYLLÄRINEN, P. *et al.* Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymer**, v. 50, n. 4, p. 355-361, 2002.

NAGY, A. *et al.* Silver Nanoparticles Embedded in Zeolite Membranes: Release of Silver Ions and Mechanism of Antibacterial Action. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, n. 1, p. 1833-1852, 2011.

NAYIK, G. A; MAJID, I; KUMAR, V. Developments in Edible films and Coatings for the extension of Shelf Life of Fresh Fruits: **American Journal of Nutrition and Food Science**, v. 2, n. 116, p. 20, 2015.

NAZARI, M. *et al.* Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. **Colloid and Interface Science Communications**. v.30, p.100-176, 2019.

OAKENFULL, D; SCOTT, A. Interação hidrofóbica na gelificação de pectinas com alto metoxilo. **Journal of Food Science**, v. 4, p. 91093-1098, 1984.

OJAGH, S. M *et al.* Efeito de revestimentos de quitosana enriquecidos com óleo de canela na qualidade da truta arco-íris refrigerada. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 193-198, 2010.

OLIVEIRA, L. M. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, **CETEA**, v. 103, p. 219, 1996.

ORTEGA-TORO, R *et al.* "Effect of the incorporation of surfactants on the physical properties of corn starch films". **Food Hydrocolloids**. 38: 66, 2014.

OTONI, C. G *et al.* Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables -A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v .16, 2017.

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

HIEMENZ, P.C. R. Rajagopalan Surface tension and contact angle. (Ed.), Principles of colloid and surface chemistry, Marcel Dekker, New York, p. 248-255, 1997.

PARK, H. J; CHINNAN, M. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**, v. 25 n. 4, p. 497-507, 1995.

PEREIRA, C. J *et al.* Estudo de Novos Polímeros Biodegradáveis para a Aplicação no Segmento de Utilidades Domésticas. In: Congresso de Pesquisa e Extensão da Faculdade da Serra Gaúcha. 2013.

PEREIRA, V. A; ARRUDA, I. N. Q. D; STEFANI, R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time–Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 180–188, 2015.

PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A. & DOCO, A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. **A structure in quest of a function**, **Biochimie**, v. 85, In.1–2, p.109-121, 2003.

PHAN, D *et al.* Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends. **Journal Food Engineering**, v. 90, p.548–558, 2009z

POKORNY, J. Are natural antioxidants better - and safer - than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.109, n.6, p. 629-42, 2007.

PRANOTO, Y; SALOKHE, V. M; RAKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, v.38, n. 3, p. 267-272, 2005.

REJINOLD, N. S *et al.* Saponin-loaded chitosan nanoparticles and their cytotoxicity to cancer cell lines in vitro. **Carbohydrate Polymer**, v. 84, p. 407, 2011

RIGBY, G. W (1936c) Process for the preparation of films and filaments and products thereof. US Patent 2,040,880.

RIGBY, G. W.(1936b) Substantially undegraded deacetylated chitin and process for producing the same. US Patent 2,040,879.

RIGBY, G.W. (1936a) Carbohydrate derivatives and process of making the same. US Patent 2,033,787.

RODRÍGUEZ, M; OSÉS, J; ZIANI, K; MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films, **Food Research International**, v.39, n. 8, p. 840-846, 2006.

ROSS, Z. M *et al.* Applied and environmental microbiology. Antimicrobial properties of garlic oil against Human Enteric Bacteria: Evaluation of Methodologies and Comparisons with Garlic Oil Sulfides and Garlic Powder. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 475–480, 2001.

ROSSMAN J. M. 2009. Commercial manufacture of edible films. In: Huber CK, Embuscado EM, editors. Edible films and coatings for food applications. New York, NY: Springer New York. p 367–90.

RUBILAR, J. F *et al.* Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose/whey protein isolate (HPMC/WPI) edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p.27-38, 2015.

SALAZAR, A. S. S *et al.* External factors and nanoparticles effect on water vapor permeability of pectin-based films, **Journal of Food Engineering**, v. 245, p. 73-79, 2019.

SANTOS, R. R *et al.* Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p. 132–140, 2017.

SANTOS, V. S; AOUADA, F. A; MOURA, M. R. Preparação e caracterização de biofilmes comestíveis a base de nanoestruturas poliméricas em matriz de pectina. **Journal of experimental Techniques and Instrumentation**, v.2, n.1, 2019.

SEIBEL, F; LIMA, L. O. A revolução das embalagens. Revista EXAME, 2005.

SHARMA, R *et al.* An Overview on Pectins. **Times Food Process Journal**. 2006, 44–51.

SILVA, H. S. R. C; DOS SANTOS, K. S. C. R; FERREIRA, E. I. Quitosana: Derivados Hidrossolúveis, Aplicações Farmacêuticas E Avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p 776-785, 2006.

SOBRAL, P.J. A Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

SONG, X; ZUO, G; CHEN, F. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films, **International Journal of Biological Macromolecules**, v.107, (parte A), p. 1302-1309, 2018.

SOUZA, B. W. S. *et al.* The use of electric fields for edible coatings and films development and production: a review. **Food Engineering Reviews**, v. 2, p. 244-255, 2010.

SUNDAR, A *et al.* A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses. **International Journal of Scientific Reports**, v. 1, p. 1–4, 2012.

TABOADA, O.M; CARVALHO, R.A.; SOBRAL, P.J. Análise dinâmico-mecânica: aplicações em filmes comestíveis. **Química Nova**, v.31, n.2, p.384-393, 2008.

THAKUR, B. R, *et al.* Chemistry and uses of pectin -A review. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.37, n. 1, p. 47-73, 1997.

THOGERSEN, J. Wasteful food consumption: Trends in food and packaging waste. **Scandinavian Journal of Management**, v.12, n. 3, p. 291–304, 1996.

VALENZUELA, C; ABUGOCH, L; TAPIA, C. Quinoa protein-chitosan/sunflower oil edible film: mechanical, barrier and structural properties, LWT , **Food Science and Technology**, v. 50, p. 531, 2013.

VILLADIEGO, A. M. D. *et al.* Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v.300, n 57, p. 221-244, 2005.

VORAGEN, G. J *et al.* Pectins, in: **Food polysaccharides and their applications**, cap. 10, Stephen A. M. (ed.), Marcel Dekker Inc., New York (1995).

WANG, L. N; LIU, F; JIANG, Y; CHAI, Z; LI, P ; CHENG, Y. Q; LENG, J. X. Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n.3, p. 12411-12419, 2011.

WATERS, J. Em Recent Developments in the Analysis of Surfactants; Porter, M. R., ed.; Crown House: UK, 1991, cap. 6.

WEISS, J et al. Nanostructured Encapsulation Systems: Food Antimicrobials: CHAPTER 24 -. In: BARBOSA-CÁNOVAS, Gustavo et al. Global Issues in Food Science and Technology. [s.i]: Science Direct, 2009. Cap. 24. p. 425-479.

WHITE, G. W; KATONA, T; ZODDA, J, P. The use of high-performance size exclusion chromatography (HPSEC) as a molecular weight screening technique for polygalacturonic acid for use in pharmaceutical applications. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.20, n. 6, p. 905-912, 1999.

WU, H; LEI, Y; ZHU, R; ZHAO, M; LU, J; XIAO, D; JIAO, C; ZHANG, Z; SHEN, G; LI, S. Preparation and characterization of bioactive edible packaging films based on pomelo peel flours incorporating tea polyphenol. **Food Hydrocolloids** v. 90, p. 41-49, 2019.

YANG, M; WANG, L; XIA, Y. Ammonium persulphate induced synthesis of polymethyl methacrylate grafted sodium alginate composite films with high strength for food packaging. International. **Journal of Biological Macromolecules**. v. 124, p. 1238–1245, 2019.

YEO, M. K; NAM, D. H. Influence of different types of nanomaterials on their bioaccumulation in a paddy microcosm: A comparison of TiO₂ nanoparticles and nanotubes, **Environmental Pollution**, v 178, p 166-172, 2013.

YOUNG, D. H; KAUSS, H. Release of calcium from suspension-cultured glycine-max cells by chitosan, other polycations, and polyamines in relation to effects on membrane-permeability. **Plant Physiology**, v. 73, n.3, p. 698-702, 1983.

YUAN, G; CHEN, X; LI, D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. **Food Research International**. v. 89, n.1, 117-128, 2016.

ZHENG, K; *et al.* Chitosan-acorn starch-eugenol edible film: Physico-chemical, barrier, antimicrobial, antioxidant and structural properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 344-352, 2019.

ZHONG, Y; LI, Y. Effects of surfactants on the functional and structural properties of kudzu (*Pueraria lobata*) starch/ascorbic acid films. **Carbohydrate Polymers**. v.85, n. 3, p. 622-628, 2011.