

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

FABÍOLA MEDEIROS DA COSTA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIONANOCOMPÓSITOS
À BASE DE BIOPOLÍMEROS REFORÇADOS POR NANOCRISTAIS
DE CELULOSE BACTERIANA**

Ilha Solteira
2023

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

FABÍOLA MEDEIROS DA COSTA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIONANOCOMPÓSITOS
À BASE DE BIOPOLÍMEROS REFORÇADOS POR NANOCRISTAIS
DE CELULOSE BACTERIANA**

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

Marcia Regina de Moura Aouada
Orientadora

Fauze Ahmad Aouada
Co-Orientador

Ilha Solteira
2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C837s Costa, Fabíola Medeiros da.
Síntese e caracterização de filmes bionanocompósitos à base de biopolímeros reforçados por nanocristais de celulose bacteriana / Fabíola Medeiros da Costa. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
128 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Engenharia dos Materiais, 2023

Orientador: Marcia Regina de Moura Aouada

Co-orientador: Fauze Ahmad Aouada

Inclui bibliografia

1. Embalagens. 2. Resíduos. 3. Nanocelulose. 4. Sustentabilidade. 5. Economia circular.


Amanda Sertori dos Santos

Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

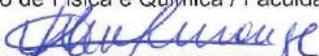
TÍTULO DA TESE: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMPÓSITOS À BASE DE BIOPOLÍMEROS REFORÇADOS POR NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA

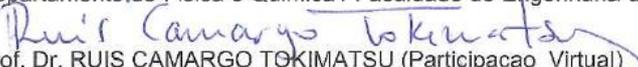
AUTORA: FABÍOLA MEDEIROS DA COSTA

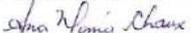
ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciência dos Materiais, área: Ciência e Engenharia dos Materiais pela Comissão Examinadora:


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


Prof. Dr. LUIZ FRANCISCO MALMONGÉ (Participação Virtual)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Prof. Dr. RUIS CAMARGO TOKIMATSU (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Mecânica / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Profa. Dra. ANA MARIA CHAUX GUTIÉRREZ (Participação Virtual)
Facultad de Ciencias Administrativas, Económicas y Contables / Universidad Católica Luis Amigó

Prof. Dr. WARLEY AUGUSTO PEREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Mecânica / Universidade de Rio Verde - UniRV

Documento assinado digitalmente
WARLEY AUGUSTO PEREIRA
Data: 31/08/2023 16:15:54-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Ilha Solteira, 22 de agosto de 2023

Impacto potencial desta pesquisa

Bactérias, como *Komagataeibacter xylinus*, produzem filmes de celulose bacteriana usados em curativos. Aproveitando as aparas desses filmes, este estudo extraiu nanocristais de celulose bacteriana através de tratamentos químicos e mecânicos. Os nanocristais melhoraram as propriedades dos filmes, tornando-os adequados para embalagens de alimentos. Essa abordagem de biorrefinaria reduz resíduos, amplia aplicações e torna os nanocristais mais competitivos em termos de custos de produção.

Potential impact of this research

Bacteria such as *Komagataeibacter xylinus* produce bacterial cellulose films used in dressings. Taking advantage of the shavings of these films, this study extracted bacterial cellulose nanocrystals through chemical and mechanical treatments. Nanocrystals improved the properties of the films, making them suitable for food packaging. This biorefinery approach reduces waste, expands applications and makes nanocrystals more competitive in terms of production costs.

Impacto potencial de esta investigación

Las bacterias como *Komagataeibacter xylinus* producen películas de celulosa bacteriana que se utilizan en apósitos. Aprovechando las virutas de estas películas, este estudio extrajo nanocristales de celulosa bacteriana mediante tratamientos químicos y mecánicos. Los nanocristales mejoraron las propiedades de las películas, haciéndolas adecuadas para el envasado de alimentos. Este enfoque de biorrefinería reduce los desechos, amplía las aplicaciones y hace que los nanocristales sean más competitivos en términos de costos de producción.

DEDICATÓRIA

À Deus, pela dádiva da vida.

Se eu fui capaz de chegar até o doutorado foi graças aos meus pais e irmãos que sempre me incentivaram a me dedicar ao estudo. Minha mãe sempre foi minha base na vida, no estudo e no mundo. Vocês foram exemplos de que eu poderia chegar aonde quisesse e me dediquei especialmente para esse resultado todos os dias da minha vida. A vocês, meu muito obrigada! Dedico essa tese e toda minha jornada à vocês.

Ao meu marido, Marcelo Chagas. Em cada momento que fui rude ou estava sob estresse, você sempre teve paciência.

À professora Dra. Marcia Regina de Moura Aouada, por ter me “resgatado” para que eu pudesse continuar seguindo em busca do meu sonhado título, e principalmente pela paciência e confiança. E fica minha gratidão a você, Márcia. Você possui características admiráveis, e amei ter te conhecido. E minha indicação para quem for entrar no PPGCM, sempre será Márcia ou Fauze.

À Pamela Thais Sousa Melo, sinceramente não sei se conseguiria chegar até aqui sem você. Sempre serei grata a você, Pamela. Obrigada pelos ensinamentos, paciência, força, e sempre dizer que iria conseguir.

À UniRV, por todo apoio.

A cada professor que passou pela minha vida. Essa tese é nossa!

Aos colegas do DFQ que me ajudaram na pesquisa.

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

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM), pela oportunidade do amadurecimento acadêmico e conhecimento adquirido.

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

AGRADECIMENTOS

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

“Deus quer, o homem sonha, a obra nasce”.
(Fernando Pessoa)

RESUMO

Embalagens convencionais na forma de filmes são amplamente utilizadas em alimentos, e a demanda dos consumidores por alternativas mais seguras aumenta constantemente. Materiais alternativos sustentáveis são urgentemente necessários para resolver os problemas de poluição ambiental e esgotamento de recursos naturais causados por materiais plásticos não degradáveis e não renováveis de base petroquímica. Para esse fim, muitos polímeros de base biológica podem ser boa alternativa aos plásticos convencionais. Os principais biopolímeros usados em aplicações de embalagens de alimentos são polissacarídeos, proteínas e lipídios. A celulose é o biopolímero mais abundante na terra e apresenta propriedades promissoras. No entanto, ela é comumente empregada como agente de reforço em matrizes poliméricas, especialmente em forma de nanocristais, devido às suas propriedades físico-químicas satisfatórias, como ampla área de superfície específica, elevada resistência mecânica, atóxica, biodegradável e fácil funcionalidade. Nanocristais derivados de celulose bacteriana podem ser fisicamente incorporados em várias matrizes biopoliméricas para formar bionanocompósitos. O reforço pelo nanomaterial fornece propriedades melhoradas em comparação com o polímero puro, mesmo em frações muito baixas. O objetivo principal deste estudo foi analisar a viabilidade de se usar resíduos de celulose bacteriana na produção de nanocristais para ser incorporados nas soluções filmogênicas para uso em embalagens biodegradáveis. Esses nanocristais de celulose (NCs) foram incorporados nas soluções filmogênicas à base de gelatina, pectina e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), e foi estudada a influência da adição desses nanocristais nas matrizes biopoliméricas, como agente de reforço, a partir de análises de microscopia eletrônica de varredura e por emissão de campo, pH, DRX, viscosidade das soluções filmogênicas, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), ângulo de contato, umidade, FTIR, transparência, TG/DTG e biodegradabilidade. O percentual em massa de nanocristais incorporados nas matrizes foi delimitado através do limiar de percolação. A estrutura resultante dos nanocristais mostrou uma forma semelhante a uma haste com dimensões em nanoescala. O pH das soluções filmogênicas não foi alterado com adição de nanocristais de celulose bacteriana (NCCB). A viscosidade da solução de HPMC é muito superior em relação à solução de gelatina e pectina. A adição de NCCB

alterou significativamente as propriedades mecânicas dos filmes, principalmente nas matrizes à base de gelatina e HPMC. Em todos os bionanocompósitos foi aumentada a resistência mecânica e os NCs influenciaram significativamente nos resultados da tenacidade dos filmes à base de gelatina e HPMC. Porém, a deformação específica apresentou pouca alteração. A PVA mostrou uma tendência decrescente nos bionanocompósitos. Os filmes são hidrofílicos, apresentaram baixa umidade, microestrutura homogênea, transparentes, estáveis termicamente em inúmeras aplicações industriais e sustentáveis. Os difratogramas de raio X mostraram que à medida que vai aumentando o percentual de nanocristais os picos vão ficando mais intensos, representando assim um aumento significativo na cristalinidade. Todas os filmes desintegraram em tempo menor que o indicado pela norma ASTM 2003 e ISO 2012, logo todos são biodegradáveis. Enfim, os nanocristais contribuíram para alteração de forma positiva nas diversas propriedades estudadas e mostrou promissor na aplicação em filmes a base de materiais biopoliméricos.

Palavras-chave: Embalagens; Resíduos; Nanocelulose; Sustentabilidade; Economia circular.

ABSTRACT

Conventional packaging in the form of films is widely used in food, and consumer demand for safer alternatives is constantly increasing. Sustainable alternative materials are urgently needed to solve the problems of environmental pollution and natural resource depletion caused by non-degradable and non-renewable petrochemical-based plastic materials. To this end, many bio-based polymers can be good alternatives to conventional plastics. The main biopolymers used in food packaging applications are polysaccharides, proteins and lipids. Cellulose is the most abundant biopolymer on earth and presents promising properties. However, it is commonly used as a reinforcing agent in polymer matrices, especially in the form of nanocrystals, due to its satisfactory physicochemical properties, such as a large specific surface area, high mechanical resistance, non-toxic, biodegradable and easy functionality. Bacterial cellulose-derived nanocrystals can be physically incorporated into various biopolymeric matrices to form bionanocomposites. Reinforcement by the nanomaterial provides improved properties compared to the pure polymer, even at very low fractions. The main objective of this study was to analyze the feasibility of using bacterial cellulose residues in the production of nanocrystals to be incorporated into film-forming solutions for use in biodegradable packaging. These cellulose nanocrystals (NCs) were incorporated into film-forming solutions based on gelatin, pectin and hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), and the influence of the addition of these nanocrystals to biopolymeric matrices, as a reinforcing agent, was studied based on electron microscopy analyzes of scanning and field emission, pH, XRD, viscosity of film-forming solutions, mechanical properties, water vapor permeability (PVA), contact angle, humidity, FTIR, transparency, TG/DTG and biodegradability. The mass percentage of nanocrystals incorporated into the matrices was delimited using the percolation threshold. The resulting structure of the nanocrystals showed a rod-like shape with nanoscale dimensions. The pH of the film-forming solutions was not changed with the addition of bacterial cellulose nanocrystals (NCCB). The viscosity of the HPMC solution is much higher than that of the gelatin and pectin solution. The addition of NCCB significantly changed the mechanical properties of the films, especially in gelatin and HPMC-based matrices. In all bionanocomposites, mechanical resistance was increased and NCs significantly influenced the tenacity

results of gelatin and HPMC-based films. However, the specific deformation showed little change. PVA showed a decreasing trend in bionanocomposites. The films are hydrophilic, have low humidity, homogeneous microstructure, transparent, thermally stable in numerous industrial and sustainable applications. The X-ray diffractograms showed that as the percentage of nanocrystals increases, the peaks become more intense, thus representing a significant increase in crystallinity. All films disintegrated in less time than indicated by ASTM 2003 and ISO 2012, so they are all biodegradable. Finally, the nanocrystals contributed to a positive change in the various properties studied and showed promise for application in films based on biopolymeric materials.

Keywords: Packaging; Waste; Nanocellulose; Sustainability; Circular economy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Estrutura química representativa da celulose em plantas.....	30
Figura 2	- Representação esquemática da formação de NCs por hidrólise ácida.....	33
Figura 3	- Estrutura química representativa da gelatina.....	39
Figura 4	- Estrutura química representativa da pectina.....	39
Figura 5	- Estrutura química representativa da HPMC.....	42
Figura 6	- Esquema simplificado para produção de biofilmes por <i>casting</i>	48
Figura 7	- Foto ilustrativa do ensaio de PVA.....	51
Figura 8	- Suspensão de NCCB (A) e micrografias dos NCCB obtidas por FESEM (B, C).....	55
Figura 9	- Síntese de NCCB.....	56
Figura 10	- Valores de pH das soluções filmogênicas.....	56
Figura 11	- Esquema mostrando a formação de filmes bionanocompósitos, (A) Gelatina + NCCB, (B) Pectina + NCCB e (C) HPMC + NCCB.....	59
Figura 12	- Valores de espessura dos bionanocompósitos a base de gelatina (A), pectina (B) e HPMC (C).....	60
Figura 13	- Comparação do módulo de Young e resistência à tração com os polímeros sintéticos comuns à base de petróleo e biopolímeros sintetizados em outros trabalhos.....	64
Figura 14	- Gráficos de superfície 3D de fatores de interação e variáveis de resposta mostrando efeito das propriedades mecânica entre as matrizes e percentual de reforço.....	66
Figura 15	- Permeabilidade ao vapor de água dos filmes.....	69
Figura 16	- Ângulo de contato dos filmes e imagens das gotas em 0 s.....	73
Figura 17	- Micrografias das superfícies dos filmes (A) e das regiões de fratura mecânica (B) dos filmes puro e bionanocompósitos (magnificação de 2500 vezes; barra = 10 μm).....	77
Figura 18	- Micrografias de superfície criofraturada dos filmes puro e bionanocompósitos (magnificação de 2500 vezes; barra = 10	

	μm).....	81
Figura 19	- Difractogramas de raio X de filmes de gelatina (A), pectina (B) e HPMC (C).....	83
Figura 20	- Espectros de absorção na região do infravermelho de filmes puros, bionanocompósitos à base de gelatina, pectina e HPMC, e de NCCB.....	88
Figura 21	- Espectros de transmitância UV-vis dos bionanocompósitos.....	92
Figura 22	- Aparência visual de filmes à base de gelatina, pectina, HPMC puros e incorporados com diferentes teores de NCCB	93
Figura 23	- Curvas de TG (A) e DTG (B) de filmes à base de gelatina, pectina e HPMC com incorporação de diferentes teores de NCCB.....	96
Figura 24	- Imagens capturadas para observar o potencial de desintegração de cada amostra de filme na superfície do solo.....	101
Figura 25	- Desintegração por compostagem.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Viscosidade das dispersões filmogênicas puras.....	58
Tabela 2	- Propriedades mecânicas (resistência à tração, módulo de Young, deformação específica e tenacidade de bionanocompósitos.....	62
Tabela 3	- Ângulo de contato dos filmes no tempo inicial.....	71
Tabela 4	- Umidade dos filmes à base gelatina, pectina e HPMC.....	75
Tabela 5	- Índice de cristalinidade dos NCCB e dos filmes.....	84
Tabela 6	- Valores das temperaturas iniciais e finais e percentual de perda mássica dos principais eventos de degradação dos filmes bionanocompósitos.....	97

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CB	Celulose bacteriana
cP	centiPoise
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DRX	Difratometria de raios X
DTG	Curva termogravimétrica derivada
FDA	Food and Drug Administration EUA
FESEM	Microscopia eletrônica de varredura de emissão de campo
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
G ₀	Filme de Gelatina
G _{10%}	Filmes de Gelatina 2 % + NCCB 10 %
G _{15%}	Filmes de Gelatina 2 % + NCCB 15 %
G _{5%}	Filmes de Gelatina 2 % + NCCB 5 %
GRAS	Generally Recognized As Safe
H ⁺	Íon de hidrogênio
H ₀	Filme de HPMC
H _{13,5%}	Filmes de HPMC 2 % + NCCB 13,5 %
H _{3,5%}	Filmes de HPMC 2 % + NCCB 3,5 %
H _{8,5%}	Filmes de HPMC 2 % + NCCB 8,5 %
HCl	Ácido clorídrico
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
KBr	Brometo de potássio
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
m _f	massa final da amostra
m _i	massa inicial da amostra
NCCB	Nanocristais de celulose bacteriana
NCs	Nanocristais de celulose
OH	Hidroxila
P ₀	Filmes de Pectina
P _{4%}	Filmes de Pectina 2 % + NCCB 4 %

P _{9%}	Filmes de Pectina 2 % + NCCB 9 %
P _{14%}	Filmes de Pectina 2 % + NCCB 14 %
PE	Polietileno
PEG	Polietileno Glicol
pH	potencial hidrogeniônico
PP	Polipropileno
PS	Poliéster
PTFE	Politetrafluoretileno
PVA	Permeabilidade de vapor de água
rpm	Rotações por minuto
Span 20	Monolaurato de sorbitano
Span 40	Monopalmitato de sorbitano
Span 60	Monoestearato de sorbitano
Span 80	Monoleato de sorbitano
T ₆₀₀	Transmitância no comprimento de onda em 600 nm
T _{d1}	Temperatura de degradação associada ao primeiro evento térmico
T _{d2}	Temperatura de degradação associada ao segundo evento térmico
T _{d3}	Temperatura de degradação associada ao terceiro evento térmico
T _{d4}	Temperatura de degradação associada ao quarto evento térmico
T _f	Temperatura final de degradação
TG	Análise termogravimétrica
T _i	Temperatura inicial de degradação

LISTA DE SÍMBOLOS

~ (aproximadamente)

® (marca registrada)

°C (graus Celsius)

μ (micro)

c (centi)

G (giga)

g (grama)

h (hora)

J (joule)

L (litro)

M (mega)

m (mili)

min (minuto)

N (Newton)

n (nano)

P (poise)

Pa (pascal)

s (segundo)

V (volts)

α (alfa)

β (beta)

θ (ângulo de difração)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	26
2.1	EMBALAGENS BIOPOLIMÉRICAS NA FORMA DE FILMES.....	26
2.2	CELULOSE.....	29
2.3	NANOTECNOLOGIA.....	31
2.4	NANOCRISTAL DE CELULOSE.....	33
2.5	NANOCELULOSE BACTERIANA.....	35
2.6	BIONANOCOMPÓSITO.....	35
2.7	BIOPOLÍMEROS.....	36
2.7.1	Gelatina.....	37
2.7.2	Pectina.....	39
2.7.3	Hidroxipropilmetilcelulose.....	42
2.8	PROPRIEDADES DOS FILMES PARA EMBALAGENS.....	43
3	OBJETIVOS.....	45
3.1	OBJETIVO GERAL.....	45
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1	MATERIAL.....	46
4.2	MÉTODOS.....	46
4.2.1	Extração de nanocristais de celulose bacteriana (NCCB).....	46
4.2.2	Preparação de filmes bionanocompósitos.....	47
4.2.3	Caracterização de nanocristais de celulose bacteriana.....	48
4.2.3.1	<i>Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FESEM).....</i>	48
4.2.3.2	<i>Difratometria de raio X (DRX).....</i>	49
4.2.4	Viscosidade de soluções filmogênicas.....	49
4.2.5	Caracterização de filmes bionanocompósitos.....	50
4.2.5.1	<i>Espessura e propriedades mecânicas.....</i>	50

4.2.5.2	Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	51
4.2.5.3	Ângulo de contato	51
4.2.5.4	Umidade	52
4.2.5.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	52
4.2.5.6	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	52
4.2.5.7	Propriedade óptica – Transparência	53
4.2.5.8	Termogravimetria (TG)	53
4.2.5.9	Biodegradabilidade	53
4.2.5.9.1	Desintegração na superfície do solo	53
4.2.5.9.2	Desintegração na superfície do sistema de compostagem	54
4.2.5.10	Análise estatística	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1	CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA (NCCB).....	55
5.2	CARACTERIZAÇÃO DE SOLUÇÃO FILMOGÊNICA.....	56
5.2.1	pH da solução filmogênica	56
5.2.2	Viscosidade das soluções filmogênicas	57
5.3	FILMES BIONANOCOMPÓSITOS (GELATINA, PECTINA E HPMC)	59
5.3.1	Espessura e comportamento mecânico	60
5.3.2	Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	68
5.3.3	Ângulo de contato	71
5.3.4	Umidade	74
5.3.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes puro e bionanocompósitos	76
5.3.5.1	Micrografias das superfícies dos filmes e das regiões de fratura dos filmes resultante do ensaio mecânico de tração	76
5.3.5.2	Micrografias de filmes fraturados criogenicamente	81
5.3.6	Difratometria de raio X (DRX)	83
5.3.7	Análise por espectroscopia de infravermelho (FTIR)	88
5.3.8	Propriedade óptica – Transparência	91

5.3.9	Análise termogravimétrica (TG) e análise termogravimétrica diferencial (DTG).....	96
5.3.10	Análise de biodegradabilidade potencial.....	100
5.3.10.1	<i>Desintegração na superfície do solo natural.....</i>	100
5.3.10.2	<i>Desintegração de biopolímeros em compostagem.....</i>	108
6	CONCLUSÃO.....	111
7	IMPACTO/RELEVÂNCIA CIENTÍFICO-SOCIAL.....	112
	REFERÊNCIAS.....	114

1 INTRODUÇÃO

Preservar a qualidade e a segurança dos alimentos desde sua fabricação até o momento do consumo é o objetivo da embalagem. A demanda dos consumidores por alimentos embalados está aumentando a cada dia (DHARINI *et al.*, 2022; VIANNA *et al.*, 2021). As matérias-primas das embalagens, que normalmente são provenientes de produtos petroquímicos, estão gradualmente se tornando menos disponíveis e mais caras devido à rápida diminuição dos recursos de petróleo bruto (BENITO-GONZÁLEZ *et al.*, 2022).

Como consequência da pressão para lidar com os crescentes volumes de resíduos de embalagens gerados pelas sociedades em todo o mundo, estão sendo feitos esforços para analisar por que e como estão sendo usadas embalagens nos produtos, com um foco renovado na redução, reutilização e, em última instância, a valorização de materiais de embalagem de resíduos, com especial enfoque na reciclagem. O foco de reciclagem em torno do uso presente e futuro de embalagens convencionais e novos materiais de embalagem agora é guiado pelas medidas de bioeconomia e economia circular. Há um interesse crescente na adoção de materiais e formatos de embalagem, baseados em materiais convencionais como o plástico, mas modificados de forma que atenda as regras fundamentais necessárias para garantir que a contenção, proteção, preservação, fornecimento de informações, conveniência, requisitos legais, além dos requisitos ambientais, sejam abordados de forma econômica (TYUFTIN; KERRY, 2021).

Adicionalmente, para reduzir o impacto ambiental adverso, os cientistas estão atualmente focando no desenvolvimento de materiais biodegradáveis e que atendam às demandas do mercado (AGARWAL, 2021; OYEKANMI *et al.*, 2021; OYEOKA *et al.*, 2021; USMAN *et al.*, 2022). Os materiais biodegradáveis são polímeros sustentáveis, derivados de fontes naturais e podem ser administrados no setor de embalagens de alimentos devido à sua ampla gama de funcionalidades (DHARINI *et al.*, 2022; SANI *et al.*, 2023). Outro ponto importante é a não toxicidade, multifuncionalidade devido à presença de diferentes grupos funcionais, ampla disponibilidade, que possam ser degradados pela ação enzimática de organismos vivos e biocompatibilidade, especialmente quando comparada com suas

contrapartes sintéticas (JAMRÓZ *et al.*, 2022; OYEKANMI *et al.*, 2021; OYEOKA *et al.*, 2021; REGINA *et al.*, 2022).

As membranas à base de biopolímeros são geralmente derivados de amido, proteínas, celulose e outros polissacarídeos, e são consideradas seguras até mesmo para embalar materiais alimentícios (AGARWAL, 2021). Dentre os materiais utilizados para a produção de bioplásticos, a gelatina, pectina e hidroxipropilmetilcelulose são fortes candidatos a serem utilizados.

A gelatina como componente primário tem grande potencial para formar filmes comestíveis/biodegradáveis, além de ser abundante e de baixo custo. É um polipeptídeo de alto peso molecular composto por aminoácidos, principalmente glicina (27 %), hidroxiprolina e prolina (25 %). A estrutura helicoidal tripla da proteína da gelatina fornece resistência física, e os diferentes aminoácidos presentes na sua estrutura absorvem facilmente a radiação UV e protegem os produtos alimentícios embalados de danos oxidativos (WANG *et al.*, 2009). Embora os filmes à base de gelatina forneçam boas propriedades mecânicas, eles também têm algumas limitações. Os filmes de gelatina nativa tornam-se frágeis sob condições específicas de secagem, tornando-se rígidos, quebradiços e apresentam baixo alongamento na ruptura (< 25 %) (LUO *et al.*, 2022).

A pectina é um heteropolissacarídeo solúvel em água, encontrado principalmente nas paredes celulares das plantas e regiões lunares de plantas e frutos e é rico em ácido D-galacturônico β -(1-4) ligado com uma quantidade significativa de galactose, arabinose e ramnose, e possui excelente capacidade de formação de gel. É um biopolímero aniônico, amorfo, atóxico e facilmente solubilizável em água. Além disso, este biopolímero é amplamente empregado na produção de bionanocompósitos com potenciais aplicações em embalagens ativas (AKHILA *et al.*, 2023).

A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), também conhecida como hipromelose, é um polímero sintético à base de celulose, que é considerada seguro para consumo humano, e tem ampla aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica. A HPMC é preparada por substituição do grupo hidroxil por grupos hidroxipropil e éter metílico na cadeia principal da anidroglicose. Isto dá à estrutura vários graus de substituição (MALIK; MITRA; KAUSHAL, 2023). Como excipiente, a HPMC funciona como espessante, aglutinante, bioadesivo ou intensificador de solubilidade. HPMC

também possui boas propriedades de formação de filme e é uma matéria-prima comum em formulações de filmes farmacêuticos, incluindo comprimidos revestidos por filme (OWUSU-WARE *et al.*, 2019).

Os filmes de biopolímeros têm parâmetros de resistência mecânica pobres e solubilidade muito alta, assim, em aplicações que requerem materiais duráveis, o uso de membranas à base de biopolímeros naturais ainda é dificultado. Logo, a nanotecnologia se uniu à tecnologia de embalagem de alimentos para desenvolver filmes bionanocompósitos, a fim de melhorar as propriedades mecânicas e de barreira, com o uso efetivo de materiais de reforço (DHARINI *et al.*, 2022). Muitas fontes naturais foram encontradas como fontes viáveis de materiais de enchimento, como nanopartículas, nanoplaquetas, nanotubos e nanofibras (LEE; JEONG; KANMANI, 2019).

A nanocelulose, amplamente utilizada como reforço em matrizes biopoliméricas, é extraída da celulose nativa e pode ser dividida em nanocristais de celulose, nanofibras de celulose e celulose bacteriana. Esta última, apresenta estrutura mais cristalina que a celulose extraída das plantas (GOMRI; CRETIN; SEMSARILAR, 2022). Os nanocristais de celulose, com formato de agulha, apresentam não apenas boa sustentabilidade, biodegradabilidade e não toxicidade, mas também alta resistência mecânica, rigidez, maior proporção de aspecto e baixa densidade, o que os tornam bons candidatos em reforço na matriz polimérica (LI *et al.*, 2020). No entanto, é bem conhecido que nanocristais de celulose com grande área superficial e efeito de ligação de hidrogênio (três grupos OH por unidade de anidroglicose), os tornam mais difíceis de dispersar homogeneamente na matriz hidrofóbica (BENITO-GONZÁLEZ *et al.*, 2022; GARS *et al.*, 2020; RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021).

Neste contexto, este estudo estudou a preparação e caracterização de bionanocompósitos a base de gelatina, pectina e HPMC com nanocristais de celulose bacteriana. As suspensões de nanocristais foram obtidas por hidrólise ácida de celulose bacteriana (subprodutos) oriundos de uma biorrefinaria de curativos e introduzidos nas matrizes biopoliméricas.

Com base na introdução acima, o estudo também enfocou o comportamento das propriedades de reforço de nanocristais com frações em torno do limiar de percolação e a interação com as matrizes, para preparar um filme multifuncional

visando obter embalagens de alimentos com propriedades biodegradáveis, transparentes e resistente a tensões aplicadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EMBALAGENS BIOPOLIMÉRICAS NA FORMA DE FILMES

Embalagens plásticas são amplamente utilizadas em embalagens de alimentos, e a demanda dos consumidores por alternativas mais seguras aumenta constantemente (CALLEJAS-QUIJADA *et al.*, 2023; SUN *et al.*, 2020; SUN; WEI; XUE, 2023). Para isso, as embalagens de alimentos são usadas para garantir a segurança do alimento em todo o seu fornecimento. Facilitando o manuseio, melhorar a vida útil do alimento, proteger contra perturbações externas: como radiação UV e umidade, reduzir as alterações físico-químicas de cor, sabor, peso, biodisponibilidade, textura e teor de umidade, além de garantir a segurança contra contaminações químicas e microbiológicas (EZATI *et al.*, 2023).

Materiais alternativos sustentáveis são urgentemente necessários para resolver os problemas de poluição ambiental e esgotamento de recursos naturais causados por materiais plásticos não degradáveis e não renováveis de base petroquímica. Plásticos sintéticos produzidos a partir de recursos petroquímicos são fáceis de usar como embalagens, são difíceis de romper, mas, é um problema sério hoje devido sua natureza não biodegradável, resultando na geração de grandes quantidades de resíduos (CHAWLA *et al.*, 2023; CHEN *et al.*, 2023; DERRAIK, 2002). Além disso, o uso excessivo de plástico para embalagens está aumentando a crise dos recursos naturais (petróleo bruto, gás natural e carvão) (DEBNATH *et al.*, 2022). Polímeros sintéticos, como polipropileno (PP), polietileno (PE), politetrafluoretileno (PTFE), nylon, poliéster (PS) e epóxi são exemplos de componentes plásticos de alta resistência mecânica, inércia química e biológica, flexibilidade e outras propriedades visadas (ABE; BRANCIFORTI; BRIENZO, 2021). De acordo com estudos recentes, aproximadamente 85 % dos resíduos plásticos acabam em aterros sanitários e oceanos, representando uma séria ameaça ao solo, a vida aquática e a biodiversidade. Para esse fim, muitos polímeros de base biológica podem ser boa alternativa aos plásticos convencionais devido às suas excelentes propriedades de barreira a gases, mecânicas e de formação de filme, além de manter as propriedades ambientalmente amigáveis do material (EZATI *et al.*, 2023; ROY *et al.*, 2023).

Os principais biopolímeros usados em aplicações de embalagens de alimentos são polissacarídeos, proteínas e lipídios (EZATI *et al.*, 2023; LIN, X. *et al.*, 2023). Mas, os carboidratos são os biopolímeros mais utilizados na produção de filmes, devido ao seu baixo custo e ampla disponibilidade. Polissacarídeos e proteínas normalmente produzem filmes com fortes qualidades mecânicas, mas devido à sua natureza hidrofílica, são barreiras de umidade fracas. Por outro lado, os lipídios dão origem a propriedades satisfatórias de barreira a umidade, mas apresentam propriedades mecânicas desfavoráveis (MAJEED *et al.*, 2023).

Aditivos funcionais podem ser adicionados nas matrizes biopoliméricas, devido a sua grande importância em ampliar a eficiência aumentando a qualidade dos filmes em termos químicos, mecânicos e microbiológicos. Esses aditivos são adicionados aos limites prescritos para que possam melhorar a funcionalidade desses filmes sem nenhum efeito prejudicial ao consumidor. Os aditivos utilizados podem ser plastificantes, emulsificantes (lecitina, polissorbato 60, lauril sulfato de sódio, etc.), antimicrobianos e antioxidantes (MAJEED *et al.*, 2023).

Os plastificantes, normalmente um solvente, podem ser adicionados para melhorar a flexibilidade e trabalhabilidade dos filmes (MAJEED *et al.*, 2023; ROY *et al.*, 2023; SUN *et al.*, 2020). Os plastificantes diminuem a força de coesão e a energia de ativação para a difusão de gás e vapor através do filme. Pertencem a classe essencial de substâncias não voláteis e de baixo peso molecular amplamente empregadas como aditivos no setor de polímeros (MAJEED *et al.*, 2023). O mesmo tipo de plastificante pode ter efeitos diferentes em diferentes polímeros, e são desejáveis em torno de 10 a 40 % de massa seca, dependendo do grau de rigidez do polímero selecionado (MAJEED *et al.*, 2023; SUN *et al.*, 2020). Plastificantes amplamente aplicados em estruturas de filme incluem monossacarídeos (como glicose), dissacarídeos (como sacarose), oligossacarídeos e polióis (como glicerol, derivados de glicerol, polietileno glicóis, sorbitol e manitol) e derivados lipídicos (como fosfolipídios e ácidos graxos). Mas, o glicerol, polietileno glicol (PEG) e sorbitol, além das moléculas de água já apresentarem um forte efeito plastificante, são frequentemente usados como plastificantes devido à sua boa compatibilidade e solubilidade em água, o que faz com que os biofilmes apresentem flexibilidade desejáveis (BERGO; MORAES; SOBRAL, 2013; MAJEED *et al.*, 2023; ROY *et al.*, 2023).

Os emulsificantes são compostos anfífilos macromoleculares que podem reduzir a tensão superficial na interface de duas fases imiscíveis, fazendo com que elas se tornem miscíveis. Uma vez que mantêm o equilíbrio hidrofílico-lipofílico, o principal objetivo é evitar a separação de fases. Os emulsificantes lipofílicos mais populares usados pela indústria alimentícia são os ésteres de sorbitano, também conhecidos comercialmente como Span 20, 40, 60 e 80. Além disso, proteínas de alto peso molecular ou carboidratos como carragena, pectina, proteína isolada de soja ou várias formas de polissorbatos como Tween 20, 40, 60 e 80 são os surfactantes hidrofílicos mais comumente usados. No entanto, a eficiência emulsificante é governada principalmente pela natureza química do emulsificante e menos por suas propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas (MAJEED *et al.*, 2023).

Embalagens com antimicrobianos podem melhorar a segurança alimentar, retardando ou interrompendo o crescimento de certas bactérias. Os antimicrobianos têm atraído o interesse de inúmeros pesquisadores da área por serem substâncias naturais, os quais podem ser derivados de frutas, especiarias, vegetais, ervas e cereais. A embalagem antimicrobiana interage com os produtos alimentícios para diminuir, inibir ou retardar o crescimento de qualquer bactéria que possa existir nas superfícies dos alimentos. Para criar esse tipo de embalagem ativa, vários antimicrobianos são integrados em misturas poliméricas que geralmente é reconhecida como segura (GRAS) pelo FDA (Food and Drug Administration EUA). A FDA considera vários polifenóis e óleos essenciais, ácidos orgânicos (ácido sórbico, benzóico), enzimas (lisozima), bacteriocinas (nisina), nanopartículas metálicas (ouro, prata) e células probióticas como sendo GRAS (MAJEED *et al.*, 2023).

Além dos aditivos mencionados, nanoestruturas, como os nanocristais de celulose (NCs), têm sido adicionados às matrizes poliméricas para melhorar as propriedades dos filmes, principalmente as mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água, formando assim um filme bionanocompósito (MELO *et al.*, 2020).

Os métodos utilizados para a fabricação de filmes à base de biopolímeros são vários, dentre os quais o *casting*, pulverização e extrusão são as técnicas mais comuns (KUMAR *et al.*, 2023).

O *casting* envolve três etapas principais: dissolução, evaporação e secagem (EZATI *et al.*, 2023). A solução filmogênica é preparada pela dissolução do biopolímero em um solvente adequado, seguida pela adição de plastificantes e

outros componentes ativos funcionais. A solução filmogênica é então moldada em um molde pré-definido, e as bolhas de ar são evitadas para desenvolver o filme com uma superfície lisa. Por fim, a solução é seca, o que aumenta as interações moleculares entre as cadeias poliméricas enquanto o solvente é evaporado. A temperatura e o tempo de secagem geralmente variam de 25 a 70 °C e 10 h a 2 dias, respectivamente. A secagem é considerada o elemento de influência mais crítico neste método de fabricação de filme. A parte mais vantajosa do método de *casting* é o baixo custo, interação molecular mais forte e microestrutura mais compacta, no entanto, o tempo de secagem prolongado as vezes limita sua aplicação em larga escala (KUMAR *et al.*, 2023).

A pulverização é outro processo úmido, como o *casting*, que envolve três etapas: dissolução de materiais formadores de filme em solvente, pulverização de soluções formadoras de filme sobre uma superfície uniforme particular e, evaporação e secagem do solvente. Os parâmetros de pulverização, como temperatura e velocidade afetam significativamente o processo e as características do filme preparado (KUMAR *et al.*, 2023).

A extrusão é um processo a seco que pode alterar as características e estruturas originais dos materiais formadores de filme. A extrusora possui 3 zonas de processamento: zona de alimentação, onde a mistura dos polímeros é realizada por meio de roscas rotativas sob pressão; zona de amassamento, onde os ingredientes são mecanicamente comprimidos e plastificados; zona de aquecimento, onde ocorrerá o aquecimento e a plastificação acima da temperatura de transição vítrea. Os fatores críticos que influenciam esse processo são temperatura, pressão, rosca e alimentação, configuração da matriz, etc. (KUMAR *et al.*, 2023).

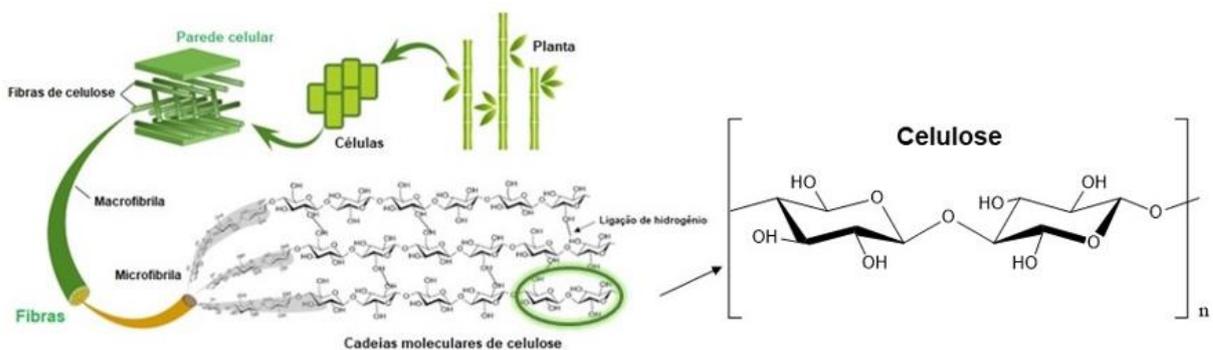
2.2 CELULOSE

A celulose é o principal constituinte e o biopolímero mais abundante na terra que existe nas células vegetais e em uma ampla variedade de espécies vivas, incluindo bactérias, algas e fungos e alguns animais como tunicados (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; BURUAGA-RAMIRO *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2022). É um tipo de macromolécula biológica que é insolúvel em água e solventes orgânicos em geral (CHEN *et al.*, 2020). A celulose foi descoberta e separada da biomassa

lignocelulósica por Anselme Payen em 1838, após tratamento com ácido nítrico, e foi descrita como um composto de fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$. O termo “celulose” foi criado pela primeira vez na sociedade científica em 1939. É usada em várias aplicações, como na fabricação de papel, área biomédica, cosmética, construção civil e compósitos poliméricos. As propriedades como alto rendimento, curto ciclo de crescimento, não tóxica, fácil disponibilidade e degradabilidade, biocompatibilidade, boas propriedades mecânicas, químicas e térmicas, os classificam como materiais de classe superior desejados pelos pesquisadores para as várias aplicações (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2020; RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021).

A celulose em biomassa lignocelulósica existe como um agente de reforço natural, em que as hemiceluloses e a lignina se comportam como uma matriz e fornecem alta coesão mecânica para manter sua estrutura. A celulose é um homopolímero de unidades β -D-glucopiranosose ($C_6H_{12}O_6$), interligadas por ligações glicosídicas β -(1-4), representada na Figura 1 (GOMRI; CRETIN; SEMSARILAR, 2022). Cada unidade, que contém três grupos hidroxila equatoriais e existe na conformação de cadeira, sofre torção a 180° em relação às unidades vizinhas. A combinação de duas unidades β -D-glicopiranosose forma a celobiose ($C_{12}H_{22}O_{11}$). A celobiose possui três grupos de hidroxila em sua estrutura, formando fortes pontes de hidrogênio intramoleculares entre os segmentos adjacentes de glicose na cadeia, bem como pontes de hidrogênio intermoleculares com várias outras cadeias circundantes. Essas interações são fundamentais para o alto empacotamento nas regiões cristalinas das fibrilas de celulose (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021).

Figura 1 – Estrutura química representativa da celulose em plantas



Fonte: Adaptada de Gomri, Cretin e Semsarilar (2022).

Com a existência de ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, a celulose geralmente não é fácil de ser dissolvida diretamente para uso (CHEN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2022). A presença de vários grupos hidroxila na cadeia da celulose permite várias reações para a obtenção de derivados de celulose.

A extensa orientação da rede de pontes de hidrogênio e as diferentes direções possíveis das unidades de glicose trazem várias formas cristalinas para a celulose, chamados de alomorfos. Suas variedades dependem de fontes de celulose e técnicas de extração. A celulose cristalina foi categorizada em quatro tipos (celulose I, II, III e IV). A celulose I é a forma cristalina típica da celulose nativa e tem um empacotamento paralelo na rede celulósica ligada por hidrogênio. A celulose II, que origina após a recuperação química da celulose I por solvatação ou por tratamento com ácido ou base, possui vários grupamentos possíveis de empacotamento antiparalelo da rede celulósica ligada por hidrogênio. Além disso, a modificação da celulose I e II pela amônia leva à celulose III, enquanto a celulose IV pode ser derivada após o aquecimento da celulose III em glicerol à temperatura de 260 °C (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021).

Segundo Chawla *et al.* (2023), entre todos os polímeros naturais, devido à sua presença em abundância, os materiais à base de celulose são alternativas potenciais aos materiais poliméricos à base de petróleo. Devido a várias vantagens, incluindo alinhamento estrutural da celulose, natureza biodegradável, alta biocompatibilidade com outros componentes, ampla capacidade de modificação e adaptabilidade. Portanto, os materiais à base de celulose são considerados adequados para o desenvolvimento de materiais de embalagem biodegradáveis.

Entre os materiais à base de celulose, a nanocelulose emergiu como um candidato promissor para materiais de embalagem sustentáveis devido à alta resistência, biodegradabilidade e não toxicidade, tornando-se um candidato ideal para uso em materiais de embalagem (GOMRI; CRETIN; SEMSARILAR, 2022).

2.3 NANOTECNOLOGIA

A nanotecnologia está evoluindo continuamente para uma área inovadora de pesquisa e desenvolvimento, uma vez que oferece um potencial de nanomateriais avançados para investigações em várias áreas (GUPTA; GUHA; SRIVASTAV,

2022). No centro da pesquisa está o desenvolvimento, caracterizações e aplicações de estruturas que variam em tamanho de 1 a 100 nm (FLETCHER; BARTHOLOMAEUS, 2011). Devido às suas propriedades físico-químicas satisfatórias, como ampla área de superfície específica e fácil funcionalidade, os nanomateriais têm atraído enorme atenção. Além disso, suas aplicações em indústrias de embalagens administram explorações distintas em torno de características avançadas de filmes de embalagens. No entanto, a otimização de nanomateriais na indústria de alimentos pode aumentar os valores nutricionais e a vida útil, garantindo a segurança e a integridade dos produtos alimentícios (AHMAD; QURASHI; SHEEHAN, 2023).

A nanotecnologia oferece vários benefícios em termos de qualidade e segurança alimentar. Segundo a *Food and Drug Administration* (2007), produtos que contêm materiais em nanoescala não apresentam preocupações de segurança adicionais em comparação com àqueles sem nanoescala (FLETCHER; BARTHOLOMAEUS, 2011).

Atualmente, uma atenção considerável tem sido voltada para as estruturas de nanocelulose e nanofibras devido às suas propriedades peculiares, como baixo peso molecular, biodegradabilidade e natureza renovável, resistência mecânica e disponibilidade (OYEOKA *et al.*, 2021).

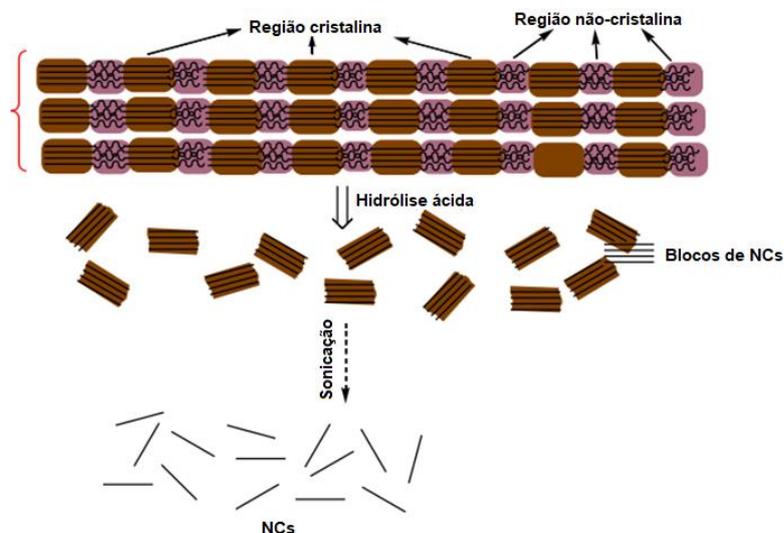
As propriedades fundamentais da nanocelulose, como morfologia de superfície, química, cristalinidade e dimensões (comprimento ou largura), dependem muito da metodologia utilizada para sua extração e da origem das matérias-primas. Assim, a nanocelulose pode ser diferenciada em três categorias principais: nanocristais de celulose, nanofibras de celulose e nanocelulose bacteriana (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021). No entanto, a celulose bacteriana é mais preferida em relação à celulose vegetal para obtenção de nanocristais, pois está disponível em forma relativamente pura, o que lhe oferece melhores propriedades físico-químicas do que a celulose vegetal (BURUAGA-RAMIRO *et al.*, 2022).

2.4 NANOCRISTAL DE CELULOSE

Tratamentos enzimáticos, mecânicos e químicos podem isolar as microfibrilas, que ao serem tratadas com ácido, geralmente em alta temperatura, provocam os nanocristais de celulose (NCs) (BURUAGA-RAMIRO *et al.*, 2022; FENG *et al.*, 2023). As microfibrilas consistem em regiões amorfas e cristalinas de celulose cristalina (Figura 2).

A hidrólise ácida é o método mais comumente usado para produzir nanocristais de celulose (FERNÁNDEZ-SANTOS *et al.*, 2022; OYEOKA *et al.*, 2021). Com esta abordagem, os íons de hidrogênio (H^+) penetram nas moléculas de celulose amorfa promovendo a quebra das ligações glicosídicas, liberando assim cristaltos individuais, como pode ser observado na Figura 2. As regiões cristalinas (nanocristais semelhantes a bastões) são menos acessíveis à degradação ácida (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; LEITE *et al.*, 2020). Ácidos inorgânicos fortes, como ácido clorídrico (HCl), são usados para a hidrólise da celulose. O HCl gera cargas superficiais de baixa densidade no nanocristal de celulose, com dispersão limitada do nanocristal, o que tende a promover a floculação em suspensões aquosas. Em contraste, quando o H_2SO_4 é usado, uma suspensão coloidal altamente estável é produzida devido à alta carga superficial negativa promovida pela sulfonação da superfície do nanocristal de celulose (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021).

Figura 2 – Representação esquemática da formação de NCs por hidrólise ácida



Fonte: Adaptada de Rana, Frollini e Thakur (2021).

O desafio associado à extração de nanocristais de celulose é que o material resultante varia em dimensões, carga superficial, cristalinidade, estabilidade térmica e rendimento dos cristais de celulose produzidos. Esse processo depende da fonte de celulose, condições de hidrólise (tipo e concentração de ácido, tempo de reação e temperatura), proporção de polpa, tempo e temperatura de reação, e pré e pós-tratamento, e não apenas dos métodos de isolamento utilizados (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; OYEOKA *et al.*, 2021).

Os NCs possuem alta resistência mecânica e área de superfície, diâmetro 5–20 nm, comprimento 100–200 nm (FENG *et al.*, 2023), e é uma estrutura altamente cristalina (índice cristalino pode chegar até 90 %) (YANG *et al.*, 2023). Os NCs podem ser derivados de resíduos de biomassa, sendo possível usar esses materiais baratos sustentáveis e ecologicamente corretos para diversas aplicações, incluindo em nanocompósitos. Os NCs também são isentos de imperfeições, têm resistência à tração, módulo de elasticidade e densidade semelhante à celulose e possuem propriedades físico-químicas melhores do que outros reforços sintéticos, como vidro, aço, alumínio, nanotubos de carbono, fibra de Kevlar etc. (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021). Além disso, os NCs possuem uma característica anfifílica inerente devido à presença de grupos de hidroxila em suas estruturas periféricas. Isso torna possível funcionalizá-los com diversas técnicas, tanto covalentes quanto não covalentes, para atender às atuais demandas desafiadoras no desenvolvimento de bionanocompósitos poliméricos. Esses materiais encontram aplicação em uma variedade de setores, incluindo filmes de barreira, filmes com propriedades antibacterianas e antimicrobianas, componentes eletrônicos, têxteis, membranas de separação, baterias, supercondutores, entre outros. Os métodos covalentes incluem acetilação, benzoilação, amidação, silanização, isocianação, eterificação, esterificação e outros enxertos de polímeros bio/sintéticos. Já o método não covalente inclui a introdução de agentes compatibilizantes, surfactantes, polímeros e sais de íons na superfície da fibra (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021; RAZAVI *et al.*, 2020).

2.5 NANOCELULOSE BACTERIANA

A celulose bacteriana é produzida extracelularmente por cepas de *Acetobacter*, como *Gluconacetobacter xylinus*, que têm sido amplamente utilizadas como microrganismos modelo e recentemente renomeadas para *Komagataeibacter xylinus* (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021). Embora em termos de estrutura química a celulose bacteriana seja idêntica ao vegetal, ela é sintetizada quimicamente pura, pois é livre de pectina, hemiceluloses e lignina (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; GEDARAWATTE *et al.*, 2022). Por conseguinte, não necessita de purificação, o que diminui tanto o impacto econômico quanto o ambiental. Além disso, a celulose bacteriana tem sido um dos polímeros mais promissores em inovações científicas devido às boas propriedades como: flexibilidade, alto grau de cristalinidade, alta área superficial, alta resistência à tração, grande capacidade de retenção de água e baixa densidade (GEDARAWATTE *et al.*, 2022) e uma rede de nanofibras tridimensional mais fina.

Celulose bacteriana é um biomaterial versátil com inúmeras aplicações biotecnológicas, bem como para a solução de questões ambientais. Além disso, sabe-se que sua adição a outras celulosas diminui a porosidade, melhorando as propriedades de barreira, o que é interessante em aplicações de embalagens. Nanocristais derivados de celulose bacteriana podem ser fisicamente incorporados em várias matrizes poliméricas para formar bionanocompósitos poliméricos (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; BURUAGA-RAMIRO *et al.*, 2022).

2.6 BIONANOCOMPÓSITO

O filme classificado como bionanocompósito é composto por duas fases, fase contínua e fase dispersa, sendo pelo menos um de dimensão nanométrica (BURUAGA-RAMIRO *et al.*, 2022). A fase contínua (matriz) liga às fibras protegendo-as de danos mecânicos e químicos. Em contraste, a fase dispersa é distribuída na fase contínua e, portanto, referida como a fase de reforço. Devido a essa combinação, as características gerais do compósito são determinadas pelas propriedades da matriz, fase dispersa e dos efeitos sinérgicos entre as fases. A proporção, orientação e geometria da fase dispersa deve ser avaliada

critérios, pois está fortemente ligada às propriedades finais do material compósito. O reforço fornecido pelo nanomaterial pode fornecer propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e físico-químicas melhoradas em comparação com o polímero puro, mesmo em frações muito baixas. A combinação de diferentes biopolímeros ajuda a melhorar as características estruturais e mecânicas e as qualidades de barreira (KUMAR *et al.*, 2023).

Bionanocompósitos à base de celulose podem ser intercalados nesses sistemas de embalagem para fornecer alternativas ecologicamente corretas e promover os objetivos do desenvolvimento sustentável. As novas estratégias de embalagem visam abordar quatro princípios da embalagem convencional de alimentos: contenção, proteção, comunicação e conveniência (OYEOKA *et al.*, 2021).

2.7 BIOPOLÍMEROS

A comunidade científica moderna e os pesquisadores reconheceram que os polissacarídeos são os biopolímeros mais adequados para aplicações em embalagens de alimentos, porque tendem a formar estruturas semelhantes a redes fortes e contínuas, tornando-os adequados para a formação de filmes ou materiais de revestimento. No entanto, os polissacarídeos não possuem necessariamente todas as propriedades desejadas ao mesmo tempo, portanto, sintetizar filmes bionanocompósitos com várias propriedades desejadas pode criar materiais alternativos que podem atender a diferentes requisitos de embalagem (AKHILA *et al.*, 2023).

Os biopolímeros podem ser caracterizados em três tipos, dependendo da fonte de onde são derivados: (1) os extraídos diretamente de recursos naturais, como polissacarídeos, proteínas e lipídeos, (2) os obtidos por meio de microrganismos, como hidroxibutirato e hidroxivalerato, e (3) os sintetizados por meio de reações químicas a partir de unidades monoméricas bioderivadas. As características mais pertinentes dos biopolímeros (como pectina, quitosana, celulose, amido, gelatina, carragena, ágar, ácido algínico, etc.) são sua não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (EZATI *et al.*, 2023; LUO; WANG; ZHANG, 2020).

Os nomes de produtos biodegradáveis relatados na literatura, quando elaborados de forma equivocada, podem levar a mal-entendidos. No entanto, um material biodegradável não vem necessariamente de uma fonte biológica. Assim, segue algumas definições:

- Plásticos são matrizes poliméricas compostas por polímeros orgânicos de alto peso molecular e outras substâncias, como cargas, corantes e aditivos. Em geral, a rota sintética é predominante na síntese do material;
- Bioplásticos refere-se a materiais biodegradáveis, de base biológica e/ou sintética. Embora o termo bioplástico seja geralmente usado para distinguir de polímeros derivados de recursos fósseis, vale ressaltar que os bioplásticos podem vir do petróleo;
- Biomassa é uma fonte de carbono orgânico natural que pode ter origem em animais ou vegetais criados/cultivados pelo homem ou que surgem em ambientes terrestres e marinhos (ABE; BRANCIFORTI; BRIENZO, 2021).

2.7.1 Gelatina

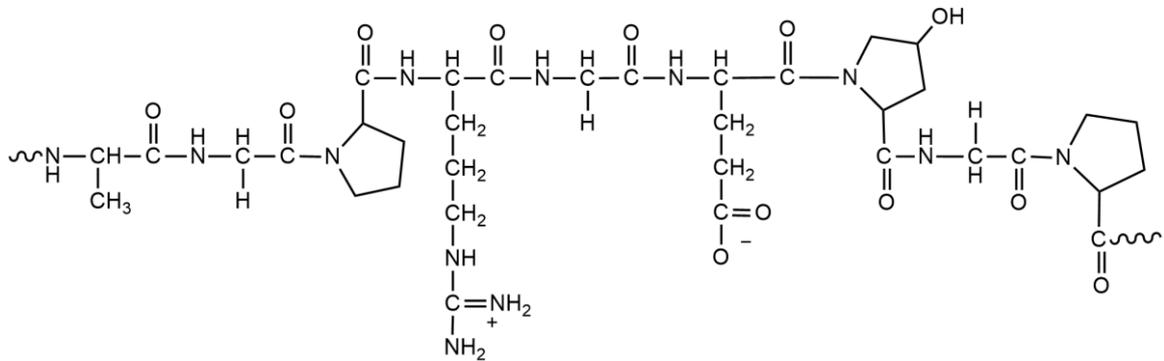
O colágeno é derivado de fontes animais e normalmente é encontrado como um componente do tecido conjuntivo em animais maiores. O colágeno é uma proteína fibrosa formada por moléculas de tripla hélice estabilizadas por ligações de hidrogênio e hidrofóbicas. A organização física do colágeno é aquela em que parece ser em forma de tubo ou barra, e essa estrutura é permitida pela presença de muitas sequências de glicina-prolina-hidroxiprolina que caracterizam a estrutura primária do colágeno. A adição de mais moléculas semelhantes a barras forma uma fibra que é mantida em estrutura por ligação covalente (TYUFTIN; KERRY, 2021).

A produção de gelatina resulta da hidrólise parcial do colágeno, que causa a quebra da estrutura secundária e terciária do colágeno e, conseqüentemente a perda da organização em forma de barra e da maioria das estruturas helicoidais (CHEN *et al.*, 2023; NUVOLI *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2019; ZHONG *et al.*, 2023). A qualidade final da gelatina produzida depende de vários fatores, como o colágeno inicial usado, as etapas de pré-tratamento trabalhadas (base ácida (gelatina tipo A) ou base alcalina (gelatina tipo B)), temperaturas empregadas, flutuações de pH e tempo de extração (LUO *et al.*, 2022; TAN *et al.*, 2023). A gelatina tipo A tem um alto

ponto isoelétrico (pI 7–9) com uma carga líquida positiva e a gelatina tipo B tem um baixo ponto isoelétrico (pI 4,7–5,2) com uma carga líquida negativa (TAN *et al.*, 2023). A gelatina com maior força de gel é obtida quando mais cadeias α estão presentes na estrutura da gelatina e isso só é possível controlando estritamente os parâmetros mencionados acima. Logo, a gelatina pode ser definida como uma mistura de cadeias α , β e, simples e duplas desdobradas. A gelatina pode ser produzida como granulada ou em pó, é solúvel em água, insípido e inodoro (TYUFTIN; KERRY, 2021). Suas propriedades notáveis incluem formação de filme, não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (CANDRA *et al.*, 2023; YEDDES *et al.*, 2020). A maior parte da gelatina é extraída de pele de porco (46 %), couro bovino (29,4 %), ossos de porco e bovinos (23,1 %) e pele de peixe (1,5 %) (LUO *et al.*, 2022; TAN *et al.*, 2023). No entanto, a gelatina possui alta disponibilidade e biocompatibilidade, tornando-a adequada para aplicações em embalagens de alimentos e outras indústrias.

As cadeias moleculares da gelatina contêm muitos grupos hidrofílicos, como os grupos carboxila, hidroxila e amida, como pode ser observado na Figura 3, o que confere baixa resistência à água aos filmes a base de gelatina. Porém, a gelatina é um polianfólito (com cargas positivas e negativas) e é uma molécula anfifílica, pois apresenta grupos hidrofílicos e hidrofóbicos (ZHANG *et al.*, 2020). Assim, a gelatina tem a capacidade de interagir com os biopolímeros de carga oposta ou adsorver na interface óleo-água (TAN *et al.*, 2023). Filmes a base de gelatina sempre sofrem de falha de resistência mecânica em ambientes úmidos, o que limita muito sua aplicação como filmes substitutos de plásticos (CHEN *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2023). Alternativamente, reticuladores também têm sido usados para melhorar a resistência à água do filme de gelatina (CHEN *et al.*, 2023).

Figura 3 - Estrutura química representativa da gelatina

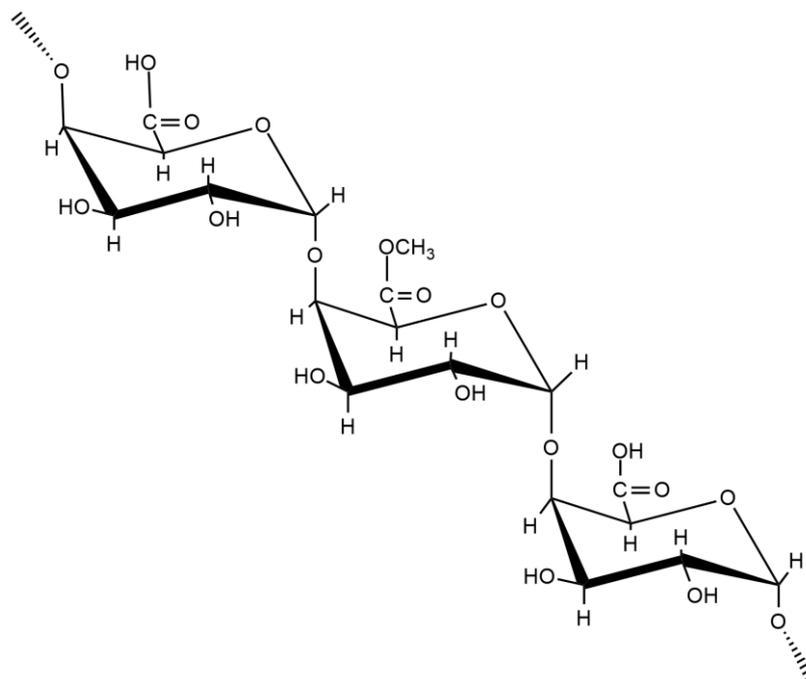


Fonte: autoria própria.

2.7.2 Pectina

A pectina é um heteropolissacarídeo composto principalmente por cadeias de ácido D-galacturônico ligadas $\alpha(1-4)$ com galactose e ramnose (AKHILA *et al.*, 2023; DOS SANTOS *et al.*, 2023; EZATI *et al.*, 2023; JOVANOVIC *et al.*, 2023). A estrutura química da pectina está ilustrada na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura química representativa da pectina



Fonte: autoria própria.

A estrutura molecular da pectina é complexa, apresenta alto peso molecular, é derivada da parede celular e lamelas de todas as plantas, e atua como um agente de ligação para a celulose ajudando a manter a estrutura celular (CANDIDO *et al.*, 2022; CANDRA *et al.*, 2023). A pectina pode ser extraída de resíduos, como cascas de frutas cítricas e vegetais, e subprodutos agrícolas (ROY *et al.*, 2023). Embora a pectina esteja presente em todas as plantas, as fontes comerciais de pectina são limitadas a cascas de frutas cítricas e bagaço de maçã, o que dificulta severamente sua produção (GUO *et al.*, 2023). Estudos mostram que a extração de pectina de materiais vegetais é uma alternativa economicamente viável e sustentável para enfrentar os desafios ambientais. O teor de pectina difere com base nas espécies de plantas e a pectina extraída de diferentes espécies de plantas tem diferentes propriedades físico-químicas, que depende da cadeia lateral em sua estrutura.

A pectina é classificada em dois grupos de acordo com seu grau de esterificação, ou seja, a porcentagem dos grupos carboxila esterificados pelo metanol. Pectina de alta metoxilação (≥ 50 % dos grupos carboxila são esterificados) enquanto a pectina de baixa metoxilação (< 50 % dos grupos carboxila são esterificados) (CHEN *et al.*, 2022; DOS SANTOS, *et al.*, 2023; REN; QIANG; CHEN, 2022). No entanto, a pectina comumente usada refere-se a pectina com alto teor de metoxila (ROY *et al.*, 2023, KUMAR *et al.*, 2023).

Na estrutura da pectina, o grupo carboxila da porção de açúcar pode ser parcialmente esterificado com um grupo metil e parcialmente ou totalmente neutralizado com uma ou mais bases. O ácido poligalacturônico coloidal com muitos grupos éster metílico é conhecido como ácido pectínico. Em contraste, a completa ausência de grupos éster metílico no ácido poligalacturônico coloidal é conhecida como ácido péctico. Assim, a pectina é o nome dado aos ácidos pectínicos solúveis em água com graus variados de neutralização e teor de éster metílico capazes de formar géis com açúcares e ácidos em condições adequadas. A pectina com alto teor de metoxila tem baixa capacidade de formar um gel e requer um teor relativamente alto de açúcar e ácido para a gelificação. Por outro lado, a pectina com baixo teor de metoxila pode facilmente formar um gel na presença de certos íons metálicos sem açúcar (KUMAR *et al.*, 2023).

As pectinas são amplamente utilizadas como espessantes na indústria de alimentos para aumentar a viscosidade de vários alimentos devido a sua capacidade

de formar redes para reter água e formar géis, mesmo em baixas concentrações (< 1%) (WANG *et al.*, 2022). As propriedades de formação de gel da pectina estão sujeitas a muitos fatores, como estrutura, teor de açúcar, pH, temperatura e reticulador. As habilidades de ligação da pectina com alto teor de metoxil são amplamente utilizadas no desenvolvimento de produtos que possuem estabilidade a longo prazo, mesmo em ambientes de alta temperatura. Isso se deve principalmente às ligações de hidrogênio e as forças hidrofóbicas que desempenham um papel notável na construção do gel. A pectina exibe comportamento newtoniano em baixas taxas de cisalhamento e comportamento pseudoelástico quando as taxas de cisalhamento são aumentadas (ROY *et al.*, 2023).

O método de extração a quente mediado por ácido é o método convencionalmente usado para extração de pectina, porém, apresenta várias implicações ambientais e é substituído por métodos relativamente mais ecológicos e ecologicamente corretos, como a extração mediada por ultrassom, assistida por micro-ondas e enzimas e extração com água supercrítica (KUMAR *et al.*, 2023; ROY *et al.*, 2023).

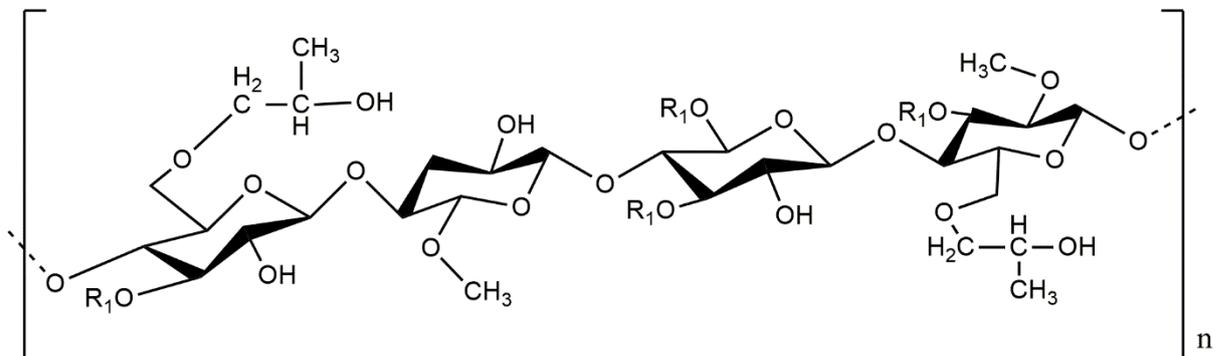
A pectina é uma excelente matriz sólida para preparar filmes de embalagens devido à sua alta biodegradabilidade, biocompatibilidade, naturalmente abundante, não tóxica, e possui boa compatibilidade com outros biopolímeros, incluindo proteínas, lipídios e outros polissacarídeos (CANDRA *et al.*, 2023; GUO *et al.*, 2023). Além de filmes e revestimentos, a pectina também foi preparada em hidrogéis, aerogéis e emulsões para embalagens de alimentos (WANG *et al.*, 2022).

Além disso, a incorporação de vários materiais funcionais, como nanocargas e compostos bioativos naturais, aumenta a atividade antioxidante e confere propriedades antimicrobianas nos filmes de pectina contra patógenos de origem alimentar. Assim, o filme de embalagem ou solução de revestimento à base de pectina tem recebido interesse substancial devido às suas propriedades interessantes, como ser um excelente emulsificante de grau alimentício, estabilizador e agente espessante/gelificante (ROY *et al.*, 2023).

2.7.3 Hidroxipropilmetilcelulose

A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) é um material derivado da celulose (éter de celulose não iônico), insípido e os principais grupos funcionais na cadeia de HPMC são hidroxil, hidroxipropil e metoxil, indicando que HPMC é anfifílico, e a água ligada a traços, que se acredita ser um iniciador de polimerização *in-situ* eficaz, permanece inevitavelmente mesmo após a secagem (JAYARAMUDU *et al.*, 2021; REN *et al.*, 2023). Sua estrutura molecular está representada na Figura 5. Normalmente, a ligação de hidrogênio entre os grupos polares (grupos hidroxipropil e hidroxila) e a interação hidrofóbica entre o grupo apolar (metil) permite que a estrutura da HPMC gere interações intermoleculares e intramoleculares. No entanto, os filmes de HPMC apresentam grau limitado de intumescimento, retenção de umidade e troca gasosa com o meio ambiente (DHARMALINGAM; ANANDALAKSHMI, 2019; PITPISUTKUL; PRACHAYAWARAKORN, 2022).

Figura 5 – Estrutura química representativa da HPMC



Fonte: autoria própria.

As principais características dos filmes de HPMC incluem transparência, flexibilidade, excelente biocompatibilidade e, é um polímero biodegradável amplamente utilizado na fabricação de formulações com sistemas de liberação controlada, aprovado pela *Food and Drug Administration* (ALI *et al.*, 2022). Em virtude das excelentes características, está aumentando cada vez mais a atenção no campo de filmes à base desse biopolímero. No entanto, sua fraca propriedade de

barreira ao vapor de água limita muito as aplicações práticas para embalagens de alimentos (YAO *et al.*, 2023).

2.8 PROPRIEDADES DOS FILMES PARA EMBALAGENS

Várias propriedades são visadas para a obtenção de filmes para embalagens. No entanto, as mais importantes dependem onde e como o filme será aplicado. Porém, a permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas e a biodegradabilidade são análises cruciais para as mais variadas aplicabilidades.

A permeabilidade ao vapor de água do filme varia dependendo do tipo de produto alimentício, com alguns tipos de alimentos um ambiente relativamente seco, enquanto outros requerem proteção contra a desidratação. A embalagem também deve regular a composição da atmosfera interna para evitar a deterioração dos alimentos (XUE *et al.*, 2023). Segundo Candra *et al.*, 2023, os filmes à base de polissacarídeos são geralmente pobres barreiras à umidade, mas têm excelentes propriedades de barreira a lipídios. Filmes de polissacarídeos com propriedades inadequadas de barreira ao vapor de água não podem ser efetivamente empregados como filmes funcionais para armazenar produtos alimentícios. Além disso, a propriedade de barreira ao vapor de água está relacionada às suas propriedades químicas, mecânicas e antimicrobianas. No entanto, melhorar a propriedade de barreira requer a incorporação de outros materiais, como por exemplo nanocristais de celulose, que pode ser atribuído à alta cristalinidade, interações eletrostáticas entre camadas e ligações de hidrogênio dos nanocristais (XUE *et al.*, 2023).

Em geral, os filmes biopoliméricos apresentam valores de propriedades mecânicas limitadas, e podem variar dependendo do tipo de biopolímero utilizado, da sua estrutura molecular e do método de processamento. Em geral, a resistência à tração e o alongamento são parâmetros que representam as propriedades mecânicas dos compósitos e são afetados por sua microestrutura. Essas propriedades podem ser ajustadas e otimizadas, por exemplo, adicionando nanoestruturas aos biopolímeros. Essa técnica pode permitir a obtenção de filmes com estas propriedades mecânicas adaptadas para atender às necessidades específicas de diferentes aplicações como filmes (REN *et al.*, 2023).

Filmes aprimorados ecologicamente corretos são uma alternativa para a redução de plásticos menos biodegradáveis usando biopolímeros que fornecem evidências de biodegradação em vários tipos de solos (HADIMANI *et al.*, 2023).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Extrair nanocristais de celulose bacteriana residual provenientes de curativos industriais e aplicar em filmes à base de gelatina, pectina e hidroxipropilmetilcelulose, com o propósito de desenvolver filmes bionanocompósitos que apresentem propriedades mecânicas adequadas e uma permeabilidade ao vapor de água satisfatória.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair os nanocristais de celulose bacteriana;
- Calcular o limiar de percolação e definir os teores ideais de nanocristais de celulose bacteriana a serem incorporados nas matrizes biopoliméricas;
- Analisar o comportamento dos nanocristais de celulose bacteriana em diferentes matrizes poliméricas, incluindo polímeros catiônico (gelatina), aniônico (pectina) e neutro (HPMC).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Gelatina (CAS 9000-70-8; Dinâmica Química Contemporânea, Brasil), HPMC Methocel® K4M (CAS 9004-65-3; doação pela Danisco Brasil Ltda; razão média de metoxil/hidroxipropil: 2,26), pectina (CAS 9000-69-5; gentilmente doada pela CP Kelco, Brasil; grau de metoxilação > 50%), ácido sulfúrico 64% (CAS 7664-93-9; Êxodo Científica, Brasil) e brometo de potássio (CAS 7758-02-3; Sigma-Aldrich, EUA) foram usados sem purificação adicional. Sobras de celulose bacteriana resultantes das operações de corte de filmes usados para produção comercial de curativos foram cedidos pela Nexfill® (Brasil) e utilizados na obtenção de NCCB. Água Milli-Q deionizada (Millipore Corp., EUA; resistividade de 18,2 M Ω) foi usada em todas as análises. Os materiais de formulação da compostagem (húmus de minhoca, ração para coelhos, serragem e óleo de semente) e o papel celulose foram adquiridos em uma loja de jardinagem, e o solo foi coletado de jardins da Universidade Estadual Paulista (UNESP) em Rio Claro/SP (coordenadas: 22°23'45.18"S 47°32'49.18"W).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Extração de nanocristais de celulose bacteriana (NCCB)

O método de extração foi baseado no estudo realizado por Melo (2021) e realizado no Laboratório de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH) da Unesp, campus Ilha Solteira/SP. Subprodutos de celulose bacteriana (CB) foram triturados. As fibras em pó foram hidrolisadas em ácido sulfúrico 64 % a 50 °C sob agitação forte e constante por 50 min. A cada grama de CB foi adicionado 17,5 mL de ácido. Após decorrido o tempo, a reação de hidrólise foi cessada diluindo-se a mistura em dez vezes com água gelada. A suspensão foi centrifugada a 600 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi colocado em membrana de celulose para diálise contra água mili-Q até pH próximo de 6. Assim,

foi determinado o teor de NCCB através da quantidade de sólidos totais obtidos após secagem em estufa a 70 °C por 24 h.

4.2.2 Preparação de filmes bionanocompósitos

Primeiramente foi calculado o volume razão de aspecto, de acordo com a equação 1 (SANCHES *et al.*, 2014):

$$V_{RC} = 0,7 / (L/D) \quad \text{equação (1)}$$

onde V_{RC} é o volume razão de aspecto e, L e D são o comprimento médio e o diâmetro dos nanocristais, respectivamente.

Desta forma, o volume razão de aspecto encontrado foi de ~ 7,58 % vol. Com a massa específica dos nanocristais de celulose, 1,6 g/cm³ (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021), foi convertido o volume razão de aspecto em % massa, e o valor encontrado foi de 12,13 % massa.

As densidades das matrizes trabalhadas são: gelatina, 1,2 g/cm³; pectina, 1,35 g/cm³; e HPMC, 1,39 g/cm³. Logo, a razão mássica dos nanocristais com as matrizes gelatina, pectina e HPMC foram 10 % (m/m), 9 % (m/m) e 8,5 % (m/m), respectivamente. Estes valores representam o limiar de percolação dos NCCB em cada matriz. Portanto, foi trabalhado com os teores calculados no limiar de percolação e variações de +/- 5 %. Já, o percentual de biopolímeros foram fixados em 2 % massa, e a massa seca de nanocristais foi calculada a partir da massa seca do biopolímero.

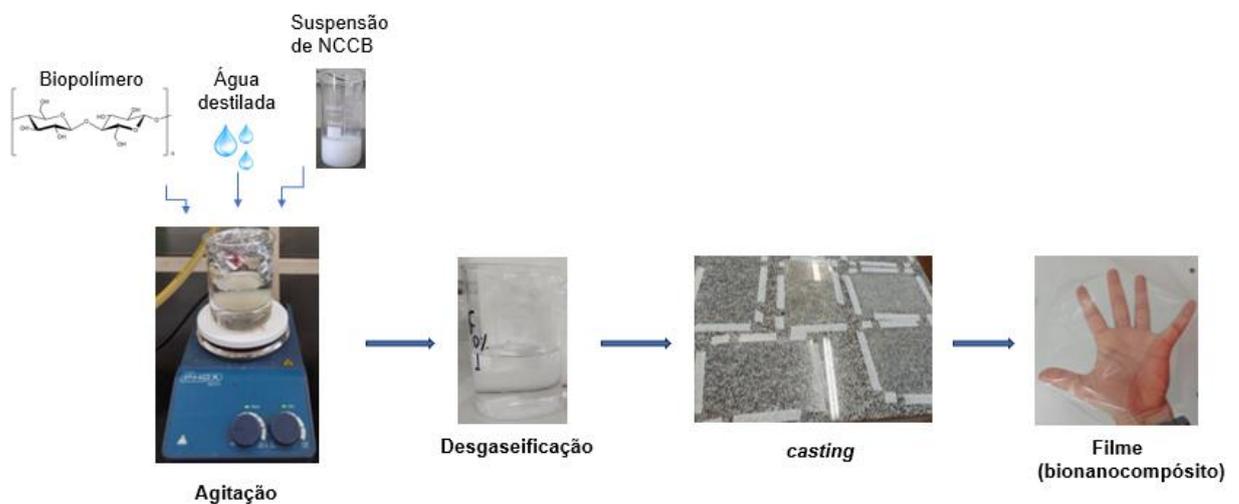
Assim, foram obtidos vários filmes bionanocompósitos contendo 5, 10 e 15 % em massa de solução de nanocristais na gelatina e designados G_{5%}, G_{10%} e G_{15%}; 4, 9 e 14 % em massa de solução de nanocristais na pectina e denominados P_{4%}, P_{9%} e P_{14%}; 3,5, 8,5 e 13,5 % em massa de solução de nanocristais na HPMC e nominados H_{3,5%}, H_{8,5%} e H_{13,5%}. Os filmes controle, sem dispersão de nanocristais, foram denominados G₀, P₀ e H₀ (gelatina, pectina e HPMC, respectivamente).

O preparo das matrizes ocorreu da seguinte maneira: o pó de pectina e HPMC foram pesados, em sequência foi acrescentando a quantidade calculada de

água deionizada e colocados sob agitação magnética por 6 e 24 h, respectivamente, a temperatura ambiente, até dissolução completa do biopolímero. Em seguida, a solução de nanocristais foi adicionada e a mistura permaneceu em agitação por mais 30 min. Já a gelatina, foi primeiramente intumescida por 1 h em água e em sequência aquecida em banho maria até atingir a temperatura de 50 °C. Após atingir esta temperatura, o aquecimento foi cessado e a solução foi colocada em agitação magnética por 10 min. Durante este tempo, a solução foi resfriada até 30 °C, após foi adicionada a solução de nanocristais sob agitação por mais 30 min.

Todas as soluções filmogênicas contendo os nanocristais foram degasadas e depois vertidas em suporte (poli(tereftalato) de etileno), como pode ser observada na Figura 6, permanecendo até a secagem total à temperatura ambiente (método de *casting*). Em seguida, os filmes foram então retirados do suporte e equilibrados a umidade relativa de 50 % por no mínimo 48 h antes de todas as caracterizações.

Figura 6 – Esquema simplificado para produção de filmes por *casting*



Fonte: própria autora.

4.2.3 Caracterização de nanocristais de celulose bacteriana

4.2.3.1 Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FESEM)

A morfologia dos nanocristais de celulose bacteriana foi caracterizada por um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo, Supra 35 Zeiss (FESEM). A solução de NCCB foi diluída em álcool isopropílico na proporção 5:1, e uma alíquota de 3 mL da solução resultante foi adicionada em substrato de silício, o qual foi previamente seco em vácuo dinâmico por 1 h à temperatura ambiente e revestido com carbono. As micrografias foram obtidas através do software *ImageJ*.

4.2.3.2 Difratometria de raio X (DRX)

As medições de DRX dos NCCB e bionanocompósitos foram realizadas em um difratômetro DRX-6000 (Shimadzu, Japão) com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$). A configuração do equipamento foi com ângulos de Bragg 2θ , e as amostras foram examinadas na faixa angular de $5\text{--}50^\circ$ com passo de $2^\circ.\text{min}^{-1}$. O índice de cristalinidade C (%) foi determinado a partir dos resultados obtidos aplicando a equação 2 (BENITO-GONZÁLEZ *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2023):

$$C (\%) = (A_{\text{Cristalina}} / A_{\text{Total}}) \times 100 \quad \text{equação (2)}$$

onde A_{Total} é a área total sob toda a difração e $A_{\text{Cristalina}}$ área correspondentes aos picos cristalinos.

4.2.4 Viscosidade de soluções filmogênicas

As medições de viscosidade das soluções filmogênicas controle (G_0 , P_0 , H_0) foram efetuadas no viscosímetro (Brookfield, Brasil). O viscosímetro mede o torque, e o sistema de medição consiste em uma mola espiral calibrada com torque específico, relativa ao modelo do instrumento, confeccionada em liga de cobre-berílio. O torque é medido em escala de 0 a 100 % e convertido em viscosidade através de fatores de multiplicação levando-se em consideração a área superficial do sensor de cisalhamento (SDC), a velocidade rotacional (rpm) e o torque específico de cada mola. Os valores de viscosidade foram lidos no torque no meio da faixa, entre 40 e 85 %, para evitar erros. O erro relativo da leitura de viscosidade depende da porcentagem de torque exibida no display do viscosímetro digital. A exatidão é igual

a ± 1 % do fundo de escala, ou seja, é a viscosidade máxima encontrada numa determinada condição SDC / velocidade. A equação 3 demonstra o modelo matemático utilizado para o cálculo da viscosidade.

$$\text{Torque (\%)} \times \text{Fator exatidão} = \text{Viscosidade (cP)} \quad \text{equação (3)}$$

4.2.5 Caracterização de filmes bionanocompósitos

4.2.5.1 *Espessura e propriedades mecânicas*

A espessura dos filmes controle (G_0 , P_0 , H_0), gelatina/NCCB, pectina/NCCB e HPMC/NCCB foram medidos fazendo uso de um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japão) com precisão de 0,001 mm. As medidas foram feitas em cinco posições aleatórias ao redor de cada filme e os valores médios foram apresentados como espessura dos filmes.

As propriedades mecânicas, resistência à tração (MPa), módulo de Young (GPa), deformação específica (%) e tenacidade (J/m^3), dos filmes foram determinadas a partir da curva tensão-deformação resultante do ensaio de tração. O ensaio foi realizado na máquina de ensaio universal (modelo 3369, Instron Corp., Canton-MA, EUA), operando com célula de carga de 50 N, de acordo com o padrão ASTM International D1708-18. Os filmes foram submetidos ao teste de tração uniaxial a uma taxa de deformação de 10 mm/min. Os filmes foram cortados em uma largura e comprimento de 5 mm e 22 mm, respectivamente, e cada amostra foi testada no mínimo 9 vezes à temperatura de 25 °C e umidade relativa 50 %.

A resistência à tração do material foi representada pelo ponto de maior valor de tensão de tração. O módulo de Young foi representado pela inclinação da curva na região elástica. A deformação específica foi determinada pelos valores do eixo das abscissas. A tenacidade foi representada pela área total da curva tensão-deformação.

Todas as amostras foram deixadas em dessecador por 48 h antes dos testes.

4.2.5.2 *Permeabilidade ao vapor de água (PVA)*

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada de acordo com a ASTM E96 – 95, com modificação (MCHUGH; AVENA-BUSTILLOS; KROCHTA, 1993).

A amostra de filme circular (6 cm de diâmetro) foi firmemente fixada numa célula padrão contendo 6 mL de água destilada. A umidade relativa e a temperatura do ambiente do teste (no interior da estufa), foram controladas em $50 \pm 5 \%$ e $25 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. A Figura 7 ilustra o ensaio de PVA. O tempo total do teste foi de 25 h. A amostra foi pesada no início do teste e após 1 h, 2 h, 23 h, 24 h e 25 h. Foram realizadas cinco repetições para cada grupo de amostra.

Figura 7 – Foto ilustrativa do ensaio de PVA



Fonte: própria autora.

4.2.5.3 *Ângulo de contato*

O ângulo de contato dos filmes foi medido por meio de um analisador de ângulo de contato com água, KSV Instruments (Helsinki, Finlândia). Amostras do filme (2,5 cm x 2,5 cm) foram fixadas no local do teste. Uma gota de água destilada (6 μL), com auxílio de uma seringa de precisão, foi depositada na superfície do filme. Após, os

ângulos de contato da água da amostra foram monitorados por 60 s. O teste foi realizado em quintuplicata. O ângulo de contato médio corresponde à média aritmética dos ângulos determinados nas extremidades direita e esquerda da gota. As amostras foram deixadas em dessecador por 48 h, antes dos testes.

4.2.5.4 Umidade

O teor de umidade dos filmes foi avaliado pelo método gravimétrico, em que os filmes foram secos em estufa a 105 °C por 24 h (tempo necessário para atingir peso constante). Os valores percentuais de umidade foram determinados como a fração de peso perdido durante a secagem em comparação com o peso inicial, e foram relatados em base úmida (ASTM, 1994). A equação 5 foi usada para o cálculo do U (%):

$$U (\%) = ((m_i - m_f) / m_i) \times 100 \quad \text{equação (4)}$$

onde U (%) é a porcentagem de umidade, m_i e m_f são as massas inicial e final do filme, respectivamente.

4.2.5.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da superfície de filmes foi realizada usando um Microscópio Eletrônico de Varredura EVO LS15 (Zeiss, Alemanha) equipado com sistema de detecção de EDS (espectro dispersivo de energia). As amostras de teste foram previamente revestidas com uma fina camada de liga de ouro / paládio por pulverização catódica em um Quorum Q150T E. Foram utilizadas ampliações de 1.000 a 10.000 x e tensão de aceleração de 10 kV.

4.2.5.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram registrados em um espectrofotômetro (Nicolet NEXUS 670 FTIT), operando em 128 varreduras, faixa de frequência de 400–4000 cm^{-1} e

2 cm⁻¹ de resolução. Amostras de filmes foram maceradas com KBr e prensadas em formato de pastilhas.

4.2.5.7 Propriedade óptica – Transparência

A transparência dos filmes, à temperatura ambiente em passos de 1 nm na faixa de comprimento de onda de 200–800 nm, foi determinada usando um espectrofotômetro UV 2600 (Shimadzu, Japão) equipado com um acessório de esfera integradora. A amostra de filme (tamanho de 40 × 30 mm) foi colocada verticalmente em célula, uma célula vazia foi usada como referência.

4.2.5.8 Termogravimetria (TG)

As análises foram feitas no aparelho SDT Q600 (TA Instruments) utilizando cerca de 5–6 mg de amostra. Os experimentos foram realizados com programação de rampa de aquecimento de 20 até 600 °C, com razão taxa de aquecimento de 10 °C/min. A vazão de nitrogênio foi mantida em 100 mL.min⁻¹. Todas as amostras, antes do teste, foram deixadas em dessecador por 48 h para controle de umidade.

4.2.5.9 Biodegradabilidade

4.2.5.9.1 Desintegração na superfície do solo

Teste de desintegração foi simulado em escala de laboratório para examinar a biodegradabilidade dos bioplásticos sintetizados. O teste foi realizado no Laboratório de Caracterização e Conversão de Biomassa do Instituto de pesquisa em bioenergia (Ipbem/Unesp), Rio Claro-SP.

O método de biodegradação/desintegração consistiu em colocar as amostras na superfície de um solo e a biodegradação foi analisada por 30 dias somente por inspeção visual, pois medições de biodegradação de perda de massa foram provadas ser extremamente difícil (ABE *et al.*, 2022).

O solo foi coletado nos jardins do próprio Instituto de pesquisa. Na sequência, o solo foi peneirado para retirada de material sintético e vegetal.

Os filmes foram cortados em quadrados de 3,5 x 3,5 cm, secos e pesados, e então colocados sobre o solo peneirado, 200 g, em um recipiente de polipropileno, de aproximadamente 64 mm de comprimento, 330 mm de largura e 85 mm de profundidade. Os recipientes foram fechados hermeticamente.

O solo foi mantido a 35 % de umidade e 30 °C (incubação em DBO). Os testes foram realizados em duplicata. Os controles no teste foram: filme controle – filme sem contato com o solo e incubado a 30 °C; controle do solo – solo sem exposição ao filme e incubado a 30 °C.

4.2.5.9.2 Desintegração na superfície do sistema de compostagem

As medidas de desintegração do filme, na superfície do sistema de compostagem, foram baseadas no estudo realizado por Sánchez-Safont et al. (2016), ajustado para escala laboratorial, alterando a temperatura para 55 °C e sem adição de amido na formulação da compostagem. Esta análise foi realizada com os filmes mais resistentes à desintegração no solo, em duplicata.

As dimensões do filme foram as mesmas do teste anterior (desintegração no solo). O processo de desintegração foi acompanhado por meio dos registros das imagens. O papel de celulose, como controle positivo, foi avaliado na mesma condição descrita anteriormente para o filme. Os filmes controle foram expostos às mesmas condições de temperatura e tempo de compostagem, mas não em contato com o composto, para que qualquer desintegração e efeito de compostagem pudessem ser descartados.

4.2.5.10 Análise estatística

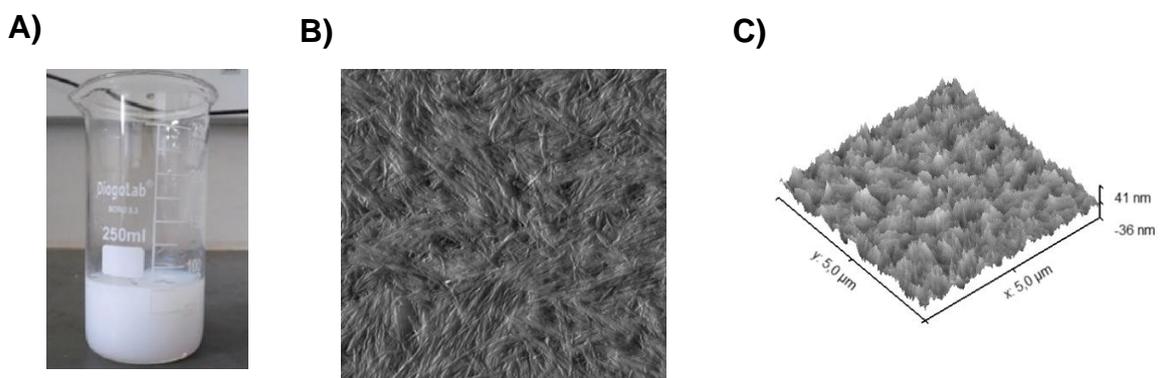
Análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida de teste de Tukey-b foi utilizada na comparação de mais de dois conjuntos de dados, após confirmação da homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene utilizando o software Origin, versão 6.0 (Origin Lab, Northampton, MA, EUA). Todos os dados foram representados como média \pm desvio padrão. Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) são denotadas mostrando os dados fornecidos em tabelas com letras diferentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA (NCCB)

A Figura 8 apresenta a micrografia (por microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo) dos nanocristais. A estrutura resultante mostrou uma forma semelhante a uma haste com dimensões em nanoescala, com diâmetro e comprimento médios de $D = 13 \pm 3$ nm e $L = 120 \pm 31$ nm (Melo *et al.*, 2020). Portanto, a razão de aspecto média (L/D) dos NCCB foi de ~ 9 . Segundo o trabalho de Feng *et al.* (2023), nanocristais de celulose apresentam diâmetro de 5–20 nm e comprimento 100–200 nm.

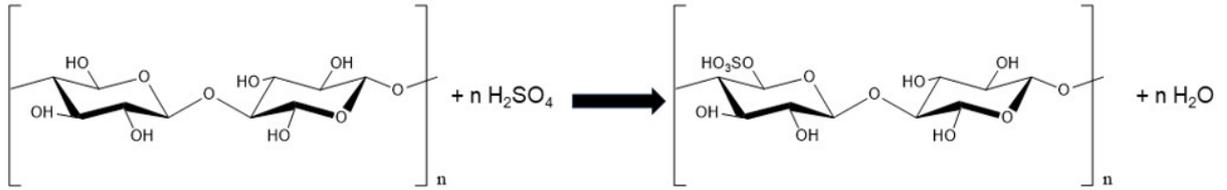
Figura 8 – Suspensão de NCCB (A) e micrografias dos NCCB obtidas por FESEM (B, C)



Fonte: própria autora.

Com o método de hidrólise ácida, utilizando o ácido sulfúrico na concentração de 64 % (v/v), foram alcançadas suspensões de nanocristais de celulose bacteriana estáveis (potencial zeta acima de 15 mV) (MELO, 2021). A concentração de nanocristais na solução foi 1,62 % (m/m). Segundo o estudo de Melo (2021), os NCCB ficaram carregados negativamente na suspensão coloidal em virtude da ligação de grupos sulfatos, proveniente do ácido sulfúrico através da reação de hidrólise (Figura 9), e isso foi comprovado por valores conseguidos do potencial zeta, $-44,84 \pm 4,50$ mV.

Figura 9 – Síntese de NCCB



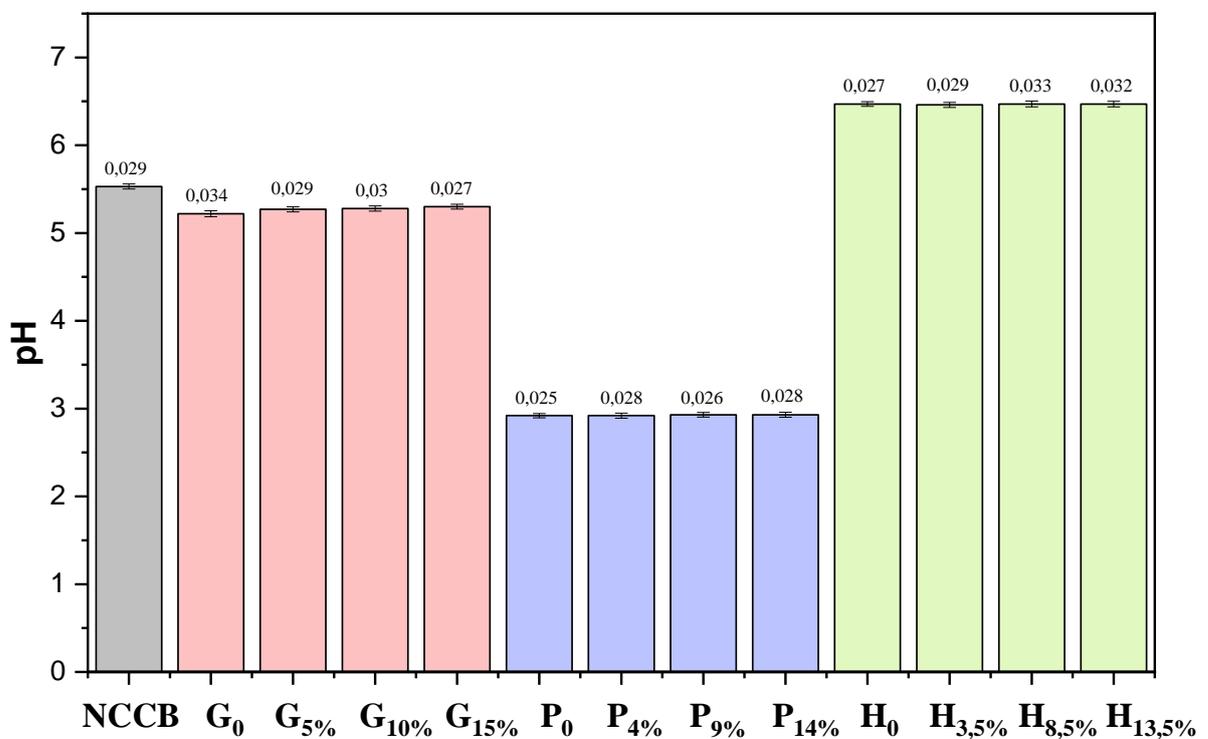
Fonte: própria autora.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DE SOLUÇÃO FILMOGÊNICA

5.2.1 pH da solução filmogênica

A Figura 10 exhibe o pH das soluções filmogênicas.

Figura 10 – Valores de pH das soluções filmogênicas



O erro padrão é representado pela barra de erro das análises realizadas em triplicata.

Fonte: própria autora.

Verifica-se que o pH não altera com a adição de NCCB. Portanto, a suspensão aquosa de nanocristais de celulose bacteriana, pH ~ 5,5, não influenciou no pH de nenhuma das formulações analisadas, gelatina ~ 5,3, pectina ~ 2,9 e HPMC ~ 6,5.

Hanani *et al.* (2014) descreveram que além da temperatura de processamento, o valor do pH das formulações de filmes também é um dos fatores importantes que pode afetar as propriedades funcionais dos filmes de biopolímeros. Isso ocorre porque o pH afeta a carga, o grau de desnaturação e agregação do biopolímero. O processo de desnaturação é uma alteração molecular envolvendo a destruição da ordem interna e o desdobramento das cadeias biopoliméricas. Em valores extremos de pH, por exemplo 2 e 11, os filmes são extensivamente desnaturados e as associações da cadeia estabelecidas não enoveladas são mais fortes e podem ser fabricadas mais facilmente do que aquelas formadas enoveladas corretamente.

Diferentes valores de pH da solução filmogênica foram também investigados em outros trabalhos na possível influência na permeabilidade de vapores nos filmes. Porém, não relataram influência. Como por exemplo, Kowalczyk e Baraniak (2011) mostraram que quando filmes isolados de proteína de ervilha foram ajustados para pH 7, 9 e 11, nenhum efeito sobre a permeabilidade ao vapor de água foi observado.

Já, Wang *et al.* (2009) descreveram que os filmes de gelatina sintetizados se tornaram muito elásticos com ajuste de pH em condições alcalinas extremas, de 9,0 a 10,54. É geralmente aceito que em pH alcalino acima do ponto isoelétrico da gelatina, a desnaturação é promovida e resulta em desdobramento e solubilização do biopolímero. Durante a solubilização, as forças coesivas entre as macromoléculas são neutralizadas por complexação com as moléculas do solvente. Logo, os grupos do biopolímero carregados se repelem e esticam a cadeia polimérica. Este fenômeno facilita a orientação das moléculas e a formação de uma rede de fitas finas (WANG *et al.*, 2009).

5.2.2 Viscosidade das soluções filmogênicas

O comportamento reológico da solução filmogênica pode afetar a espessura, uniformidade e propriedades mecânicas do filme (SUN *et al.*, 2020). A viscosidade é

uma característica interessante dos biopolímeros, porque mantém a textura suave de um produto a base dele. A viscosidade da solução biopolimérica depende muito de parâmetros como as condições de extração (pH e temperatura), força do gel, distribuição do peso molecular e características gerais das matérias-primas (LUO *et al.*, 2022).

As viscosidades das soluções filmogênicas à base de gelatina, pectina e HPMC foram avaliadas e os valores encontrados foram 8,0 cP, 20,51 cP e 609,6 cP, respectivamente, conforme descritos na Tabela 1. Nota-se que a viscosidade da HPMC é muito superior em relação à solução de gelatina e pectina.

Tabela 1 – Viscosidade das dispersões filmogênicas puras

Dispersões	Viscosidade (cP)	Torque (%)	Velocidade (rpm)	Exatidão (± cP)
Gelatina	8,00	78,6	250	0,26
Pectina	20,51	66,7	230	0,12
HPMC	609,60	81,3	4	7,50

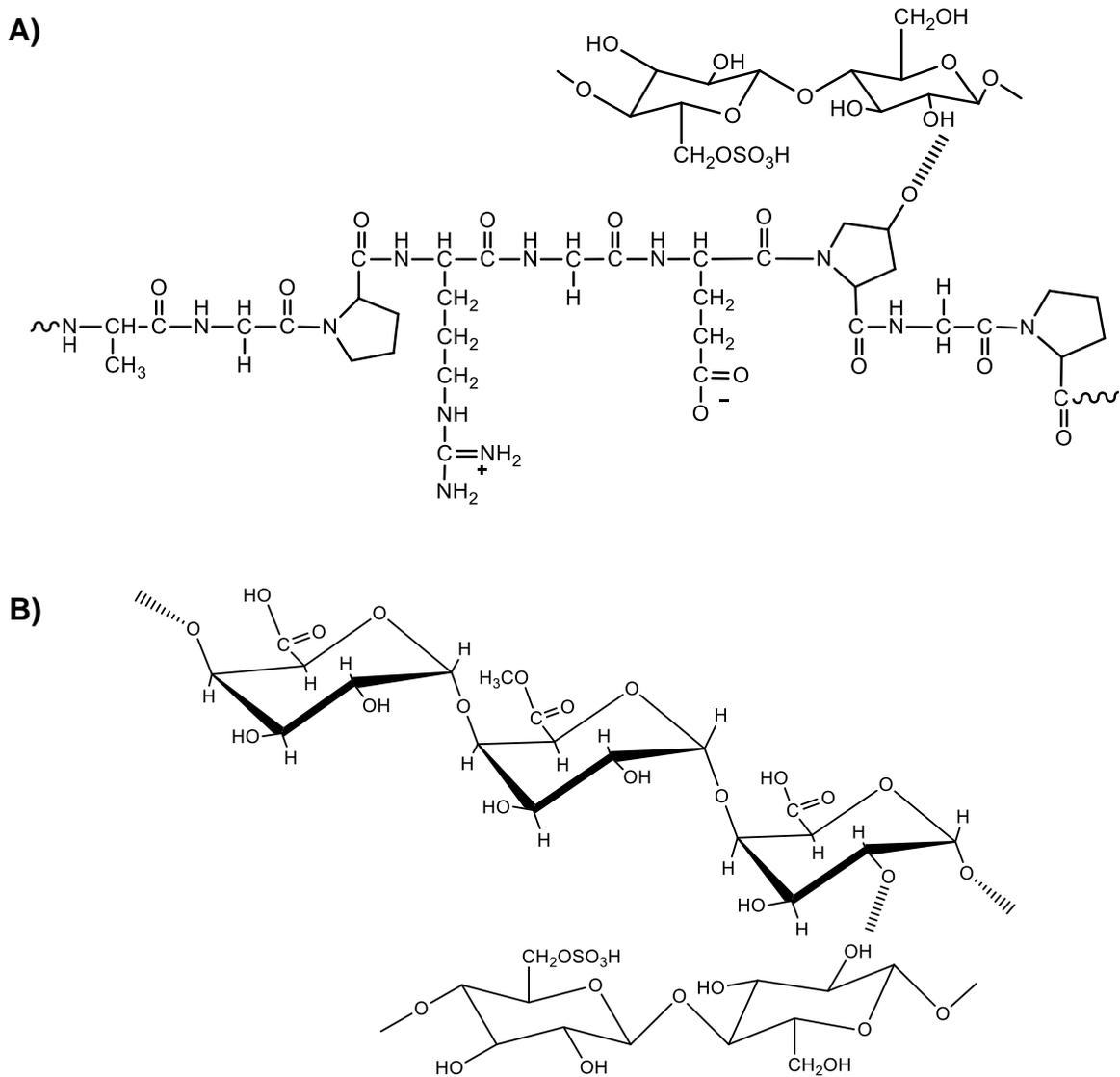
Fonte: própria autoria.

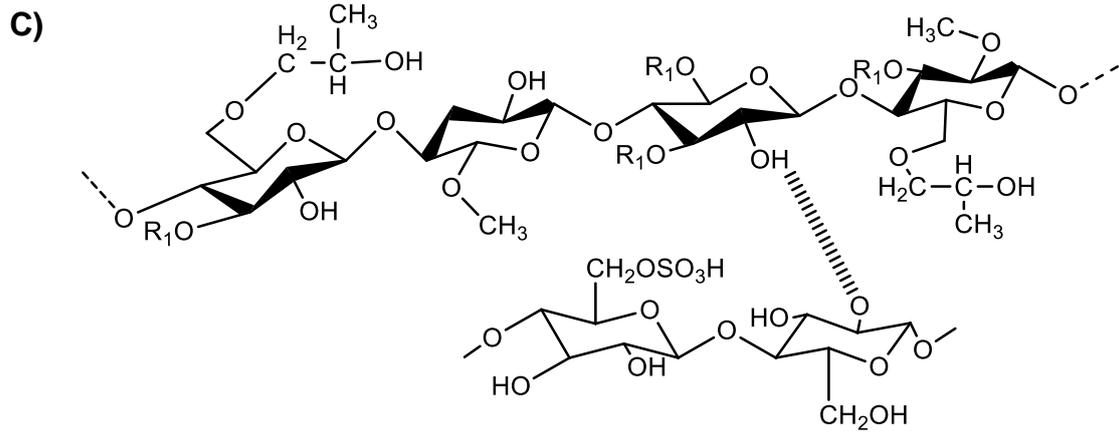
A viscosidade das soluções filmogênicas não alterou com o agente de reforço. Neste estudo não trabalhou com variação de massa do biopolímero e o pH das soluções biopoliméricas não alterou com a incorporação de nanocristais nas matrizes (Figura 10). Foi relatado em estudo anterior que a viscosidade aumenta com o aumento da concentração do biopolímero da matriz devido ao aumento do grau de emaranhamento da cadeia molecular. Além disso, em pH mais alto os grupos funcionais se ionizam e induzem repulsão eletrostática que expande a dimensão molecular levando a um aumento da viscosidade. Geralmente, a viscosidade dos polissacarídeos iônicos em solução de pH mais alto é maior do que em uma solução de pH mais baixo (SA; MUKHERJEE; ROY, 2019).

5.3 FILMES BIONANOCOMPÓSITOS (GELATINA, PECTINA E HPMC)

A Figura 11 é um modelo representativo da incorporação de nanocristais nas matrizes biopoliméricas para formação dos filmes bionanocompósitos.

Figura 11 – Esquema mostrando a formação de filmes bionanocompósitos, (A) Gelatina + NCCB, (B) Pectina + NCCB e (C) HPMC + NCCB





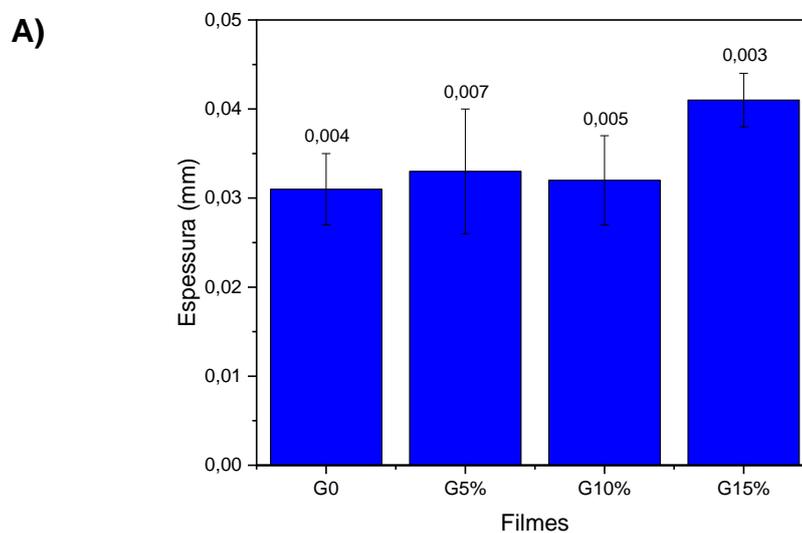
Fonte: própria autoria.

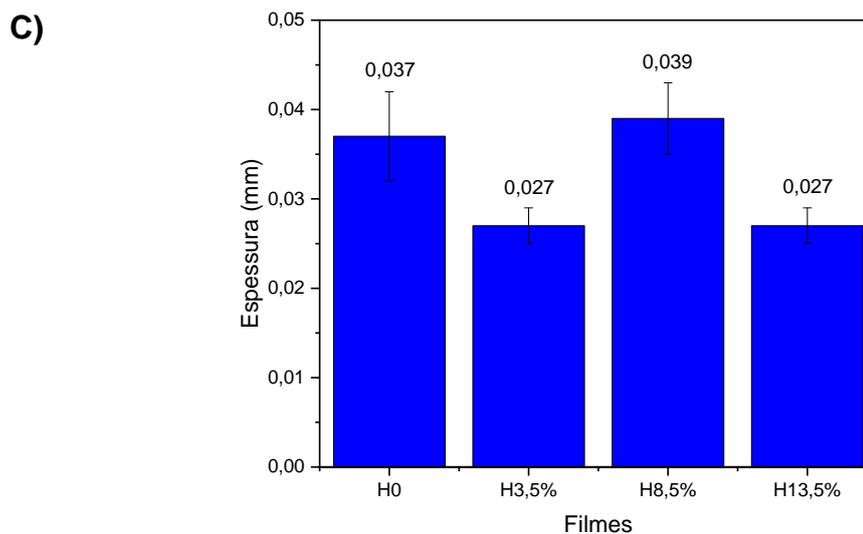
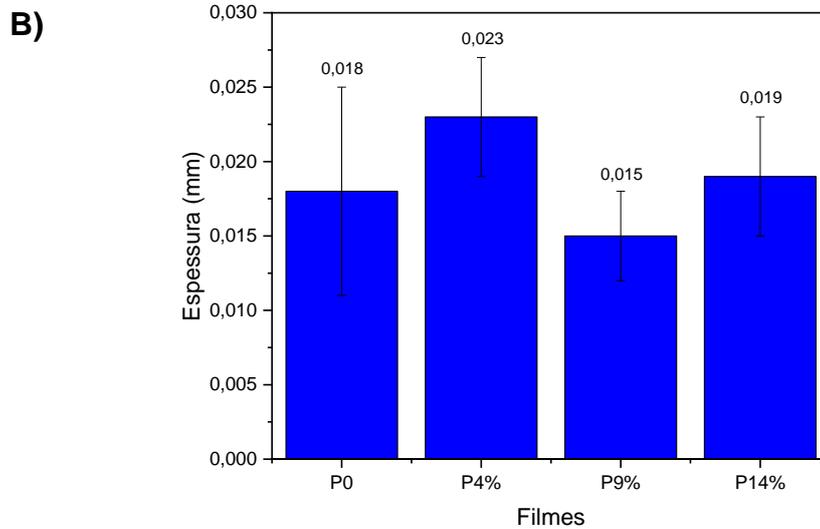
Nota-se que as cadeias formadas, biopolímeros e nanocristais de celulose, foram por ponte química e não mecânica.

5.3.1 Espessura e comportamento mecânico

Um dos parâmetros que influenciam nas propriedades dos filmes é a espessura. Na Figura 12 estão os valores das espessuras dos filmes controle e bionanocompósitos.

Figura 12 – Valores de espessura dos bionanocompósitos a base de gelatina (A), pectina (B) e HPMC (C)





Fonte: própria autoria.

A espessura dos filmes ficou na faixa de 0,036 a 0,040 mm. Os filmes a base de gelatina tiveram um valor médio de 0,034 mm, os de pectina 0,019 mm e os de HPMC 0,032 mm. Um dos desafios na preparação de filmes biodegradáveis é o controle da espessura, principalmente em processos de produção como o *casting*. A solução filmogênica muito viscosa não escoava com facilidade sob a força do próprio peso (BOEIRA *et al.*, 2022).

As propriedades mecânicas dos filmes à base de gelatina (G₀, G_{5%}, G_{10%} e G_{15%}), pectina (P₀, P_{4%}, P_{9%} e P_{14%}) e HPMC (H₀, H_{3,5%}, H_{8,5%} e H_{13,5%}) também

foram investigadas. Os resultados são mostrados na Tabela 2. A maioria dos estudos que são realizados principalmente para avaliar as propriedades mecânicas de filmes de biopolímeros incluem resistência à tração, deformação específica e o módulo de Young. Além destas propriedades, a tenacidade também foi estudada neste trabalho. Todas estas propriedades foram obtidas a partir de curvas tensão-deformação do ensaio de tração. Segundo Yang *et al.* (2023) a resistência mecânica e a extensibilidade adequada são requisitos básicos de um filme para suportar estresse externo e manter a integridade.

Tabela 2 – Propriedades mecânicas (resistência à tração, módulo de Young, deformação específica e tenacidade) de bionanocompósitos

	Resistência à tração (MPa)	Módulo de Young (MPa)	Deformação específica (%)	Tenacidade ($\times 10^6$ J/m ³)
G₀	89,06 ^a ± 8,15	3919,61 ^a ± 167,40	3,15 ^a ± 0,52	150,96 ^a ± 34,11
G_{5%}	109,31 ^b ± 7,33	5594,19 ^b ± 585,42	2,89 ^a ± 0,31	165,80 ^a ± 29,73
G_{10%}	117,92 ^{b,c} ± 8,91	6333,53 ^{b,c} ± 245,19	2,83 ^a ± 0,47	190,90 ^a ± 65,49
G_{15%}	122,83 ^c ± 3,54	6660,29 ^c ± 725,88	3,05 ^a ± 0,53	205,80 ^a ± 50,99
P₀	72,00 ^a ± 17,01	8723,88 ^{a,d} ± 1059,63	1,20 ^a ± 0,18	34,20 ^a ± 14,48
P_{4%}	54,85 ^{b,a} ± 8,51	6588,65 ^b ± 799,94	1,24 ^a ± 0,14	25,96 ^a ± 6,29
P_{9%}	81,11 ^{c,a} ± 12,39	11055,89 ^{c,d} ± 1240,40	1,11 ^a ± 0,11	34,31 ^a ± 11,30
P_{14%}	77,79 ^{c,a} ± 8,85	10400,91 ^d ± 1040,79	1,12 ^a ± 0,09	34,22 ^a ± 10,06
H₀	53,19 ^a ± 1,50	2321,74 ^a ± 101,53	4,96 ^a ± 1,18	172,40 ^a ± 61,88
H_{3,5%}	60,90 ^b ± 1,83	2524,56 ^a ± 196,08	7,06 ^a ± 1,60	316,29 ^a ± 84,66
H_{8,5%}	70,35 ^c ± 5,68	3540,68 ^b ± 117,51	4,59 ^a ± 1,05	209,24 ^a ± 122,27
H_{13,5%}	71,73 ^c ± 3,24	3791,85 ^b ± 348,75	5,98 ^a ± 0,52	344,01 ^a ± 180,43

^{abc} Letras diferentes indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: própria autora.

O maior valor de resistência à tração para a matriz de gelatina foi obtido para o bionanocompósito carregado com 15 % em massa de nanocristais, aumentando de 89,06 MPa para G₀ para 122,83 MPa, um aumento de ~ 38 %. Portanto, a adição de NCCB alterou significativamente esta propriedade mecânica dos bionanocompósitos.

Para a matriz pectina, foi o compósito carregado com 9 % em massa, aumentando de 72 MPa para P_0 para 81,11 MPa, um aumento de ~ 13 %. No estudo de Yang *et al.* (2023) foi relatado que uma interface de alta resistência pode transferir com eficiência a tensão entre a matriz e os nanocristais de celulose. Portanto, presume-se, de acordo com os resultados obtidos das propriedades mecânicas, que os filmes obtidos com a matriz biopolimérica de pectina apresentaram valores de resistência mecânica superiores. Isso ocorreu também com o filme controle e os respectivos bionanocompósitos, e possivelmente foi devido a natureza química, pH em torno de 2, que provavelmente a cadeia molecular não está emaranhada.

O maior valor de resistência à tração dos bionanocompósitos à base de HPMC foi o filme incorporado com teor de 13,5 % em massa de NCCB, apresentando variação de 18,54 MPa, e aumento de ~ 35 %.

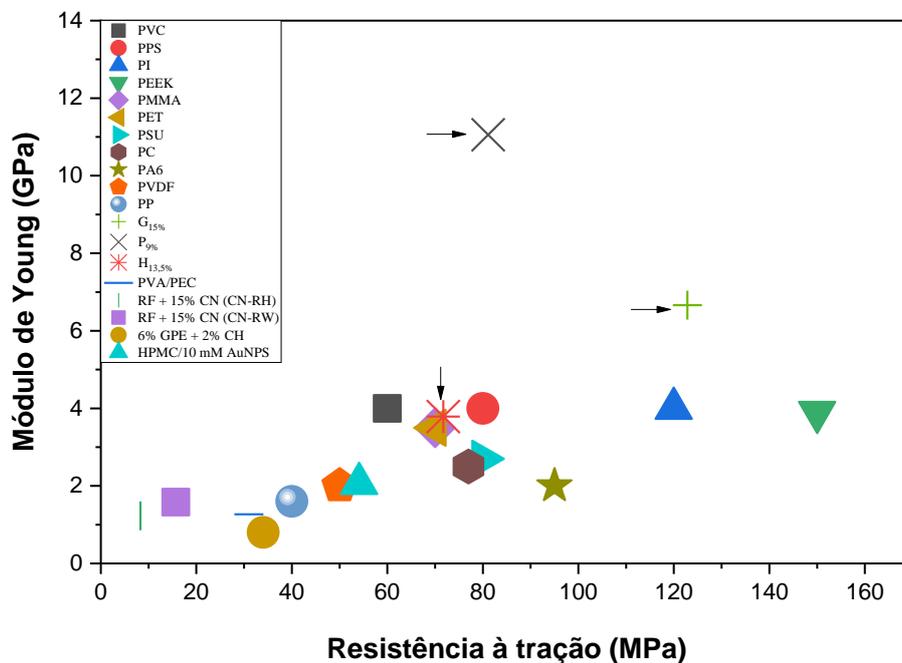
As matrizes trabalhadas têm uma resistência à tração muito alta, portanto, muita força é necessária para romper o filme. Mas devido a baixa deformação específica, a média de porcentagem para a matriz gelatina, pectina e HPMC foi de 2,98, 1,17 e 5,65 %, respectivamente. A possível razão para a alta resistência a tração com baixo teor de NCCB no filme é devido às fortes ligações de hidrogênio produzidas pelas interações intermoleculares matriz/NCCB (RANA; FROLLINI; THAKUR, 2021).

O aumento do módulo de Young, propriedade que representa a intensidade das forças de ligação interatômicas, retrata a dispersão homogênea dos NCCB nos filmes, apresentando, portanto, uma boa estabilidade mecânica (SUMA; SANGAPPA, 2022). Ao reforçar com 15 % em massa de NCCB na matriz de gelatina teve um aumento de ~ 72 %, variando de 3,9 – 6,7 GPa. Com adição de 9 % em massa de NCCB na pectina aumentou ~ 27 %, valores na faixa de 8,7 – 11 GPa e para a matriz HPMC carregada com 13,5 % em massa aumentou ~ 65 %, com valores entre 2,3 a 3,8 GPa. Mabrouk, Dufresne e Boufi (2020) descreveram na literatura que a forma rígida do nanocristal juntamente com sua forma cristalina elementar, dá origem a propriedades mecânicas notáveis com um módulo de elasticidade axial na faixa de 110–180 GPa e resistência em torno de 2–3 GPa. Razavi *et al.* (2020) relataram no estudo que partículas anisotrópicas, como as NCs, permitem diminuir o limiar de percolação, o que é de grande importância ao

proporcionar uma interface com rigidez mecânica para evitar a coalescência. Estas excelentes propriedades mecânicas dos NCs justificam o foco na incorporação dos NCs em um biopolímero para reforçar as propriedades mecânicas do material. Foi também discutido no trabalho de Rana, Frollini e Thakur (2021) que os nanocristais são livres de imperfeições, têm resistência à tração, módulo de Young e densidade semelhante à celulose e possuem propriedades físico-químicas melhores do que outros reforços sintéticos, como vidro, aço, alumínio, nanotubos de carbono, fibra de Kevlar etc.

A Figura 13 mostra uma comparação do módulo de Young e resistência à tração de 1 (um) bionanocompósito de cada matriz deste estudo, bionanocompósitos sintetizados de trabalhos da literatura e de alguns polímeros convencionais.

Figura 13 – Comparação do módulo de Young e resistência à tração com os polímeros sintéticos comuns à base de petróleo e biopolímeros sintetizados em outros trabalhos



Fonte: própria autora.

Conforme mostrado na Figura 13, o módulo de Young dos biopolímeros P_{9%} e G_{15%} são maiores que os polímeros sintéticos à base de petróleo, como o cloreto de

polivinila (PVC), sulfeto de polifenileno (PPS), poliimida (PI), polieteretercetona (PEEK), polimetilmetacrilato/acrílico (PMMA), tereftalato de polietileno (PET), polisulfona (PSU), policarbonato (PC), poliamida (PA), poliamida nylon 6 (PA6), fluoreto de polivinilideno (PVDF), polipropileno (PP), que são comumente usados na fabricação de membranas duráveis de última geração (REGINA *et al.*, 2022). E o módulo de Young de H_{13,5%} assemelha com a maioria dos polímeros sintéticos. Em comparação com outros biopolímeros, o módulo de Young e a resistência à tração dos bionanocompósitos G_{15%}, P_{9%} e H_{13,5%} foram bem superiores ao do álcool polivinílico com pectina (PVA/PEC 1:1) (REGINA *et al.*, 2022), CN–RH RF + 15% CN e CN–RW RF + 15 % CN (amido de arroz reforçado com 15 % de nanocristais, extraído da casca e palha de arroz, respectivamente) (BENITO–GONZÁLEZ *et al.*, 2022), 6 % GPE/ 2 % CH (extrato de casca de alho residual com quitosana) (CHAUDHARY *et al.*, 2021) e HPMC/10mM AuNPs (HPMC com nanopartículas de ouro) (SUMA; SANGAPPA, 2022). Os resultados indicam que a pectina atua como um reticulante bem eficiente, conferindo resistência mecânica e rigidez muito altas.

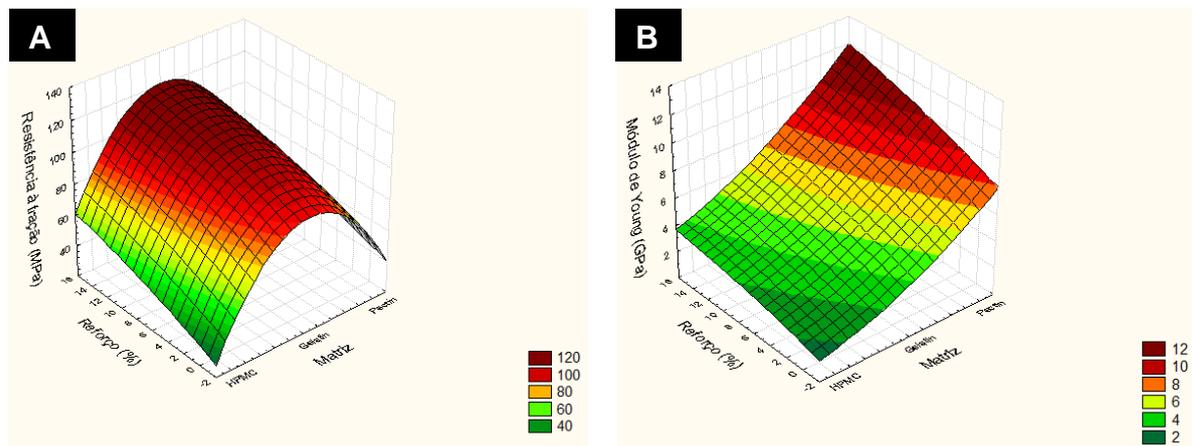
É necessário focar no ajuste da fragilidade do material, pois pode ser uma desvantagem para a aplicação do filme (REGINA *et al.*, 2022). Por isso, a tenacidade, densidade de energia de deformação do material, dos filmes é uma propriedade de muita importância a ser examinada. A alta resistência mecânica em materiais puros, normalmente, proporciona tenacidade baixa. Mas, o incremento de nanomateriais, como fase dispersa, pode aumentar a tenacidade do material sem diminuir a resistência mecânica dele. E isso pode ser confirmado neste trabalho, pois o incremento de NCCB na fase contínua dos biopolímeros (gelatina e HPMC) fez com que aumentasse consideravelmente a tenacidade dos bionanocompósitos, 36,33 % para G/NCCB e 99,54 % H/NCCB. Já para a pectina teve um pequeno aumento de 0,32 % na tenacidade.

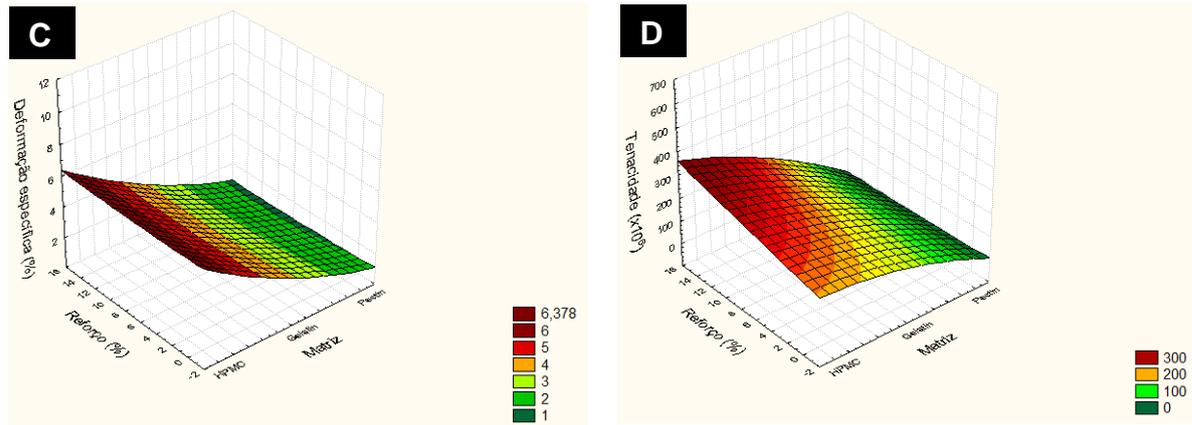
Foi observado que para os teores acima de 10 % em massa de NCCB para a matriz gelatina, 9 % para a pectina e 8,5 % para HPMC, os valores das propriedades mecânicas não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), portanto, não convém acrescentar teores superiores de nanocristais. Este comportamento pode estar relacionado aos processos de percolação e de autoaglomeração de NCCB que foram avaliados.

Vários estudos mostraram que a introdução de nanocristais ou nanofibras de celulose reforçam significativamente uma série de polímeros devido à formação de uma rede tridimensional de ligações de hidrogênio dentro das matrizes poliméricas (GOMRI; CRETIN; SEMSARILAR, 2022). Essa interação pode ser fortemente afetada pela exposição do material à água. Em alguns casos a absorção de água pode ser governada pela matriz polimérica, em outros é transportado pela rede celulósica do reforço.

A Figura 14 apresenta efeitos combinados das variáveis independentes (matriz e percentual em massa de reforço) sobre a resistência à tração (A), módulo de Young (B), deformação específica (C) e tenacidade (D) dos dados experimentais apresentados na Tabela 2. Posteriormente, estão apresentadas o modelo final, conforme as equações (5) resistência à tração, (6) módulo de Young, (7) deformação específica e (8) tenacidade, para prever as respostas para um determinado nível de cada fator.

Figura 14 – Gráficos de superfície 3D de fatores de interação e variáveis de resposta mostrando efeito das propriedades mecânica entre as matrizes e percentual de reforço





Fonte: própria autora.

$$\text{Resistência à tração (MPa)} = -4,4064E10^5 + 8470,8324x + 23,9424y - 40,7021x^2 - 0,2095xy - 0,0411y^2 \quad \text{equação (5)}$$

$$\text{Módulo de Young (MPa)} = 6534,5398 - 128,3255x - 4,5423y + 0,6301x^2 + 0,0457xy - 0,003y^2 \quad \text{equação (6)}$$

$$\text{Deformação específica (\%)} = 4864,6535 - 91,2923x + 0,632y + 0,4283x^2 - 0,0063xy + 0,0011y^2 \quad \text{equação (7)}$$

$$\text{Tenacidade (x10}^6 \text{ J/m}^3\text{)} = -2,8021x10^5 + 5479,1021x + 435,9748y - 26,7634x^2 - 4,1565xy + 0,0342y^2 \quad \text{equação (8)}$$

onde x (matriz biopolimérica), y (% de reforço) e xy (interação entre matriz biopolimérica e % de reforço).

Os coeficientes positivos mostram os efeitos positivos dos fatores nas respostas enquanto os sinais negativos indicam efeitos opostos nas respostas.

O tipo de biopolímero e os NCCB contribuíram para a obtenção de bionanocompósitos com alta resistência à tração, e em cada matriz os NCCB apresentaram efeito positivo. Isso se dá devido a sua configuração estrutural que em rede inibe a mobilidade molecular (OYEOKA *et al.*, 2021). Portanto, os bionanocompósitos à base de gelatina apresentaram maiores valores de resistência à tração. O efeito combinado dos NCCB com cada matriz mostrou positivo para o módulo de Young. Os valores desta propriedade foram superiores para os filmes a

base de pectina. Os filmes de HPMC deformaram mais, além de apresentarem uma ótima tenacidade. Assim, os filmes de gelatina e pectina podem ser aplicáveis em embalagens que se faz necessário maiores cargas, porém deve-se atentar para não chegar na máxima pois a tensão última é a tensão de ruptura, e os bionanocompósitos de HPMC em embalagens que exigem boa tenacidade.

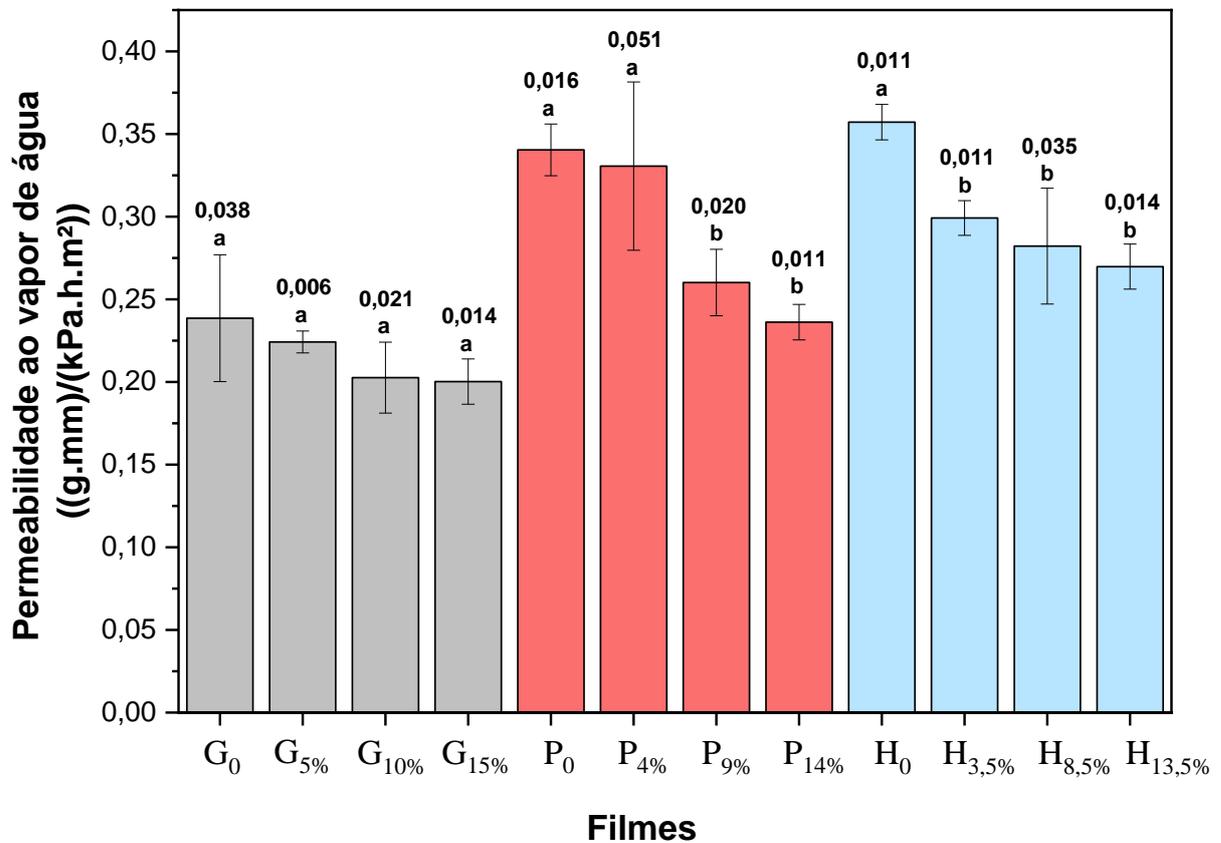
5.3.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água de um filme é uma propriedade de estado estacionário que descreve a taxa de passagem (transmissão) de vapor d'água por unidade de área através do filme submetido a uma dada diferença de umidade relativa, a uma determinada temperatura. A permeabilidade depende da difusão (fator cinético) e da sorção (fator termodinâmico) do penetrante, sendo a água a molécula difusora mais comum. A transferência de vapor de água através de filmes hidrofílicos depende também do gradiente de pressão parcial, porém, a permeabilidade não é uma propriedade inerente dos filmes hidrofílicos (OYEOKA *et al.*, 2021; TIEN *et al.*, 2023).

A regulação da transferência de vapor de água entre o alimento e o ambiente externo é uma das condições mais importantes que afetam a qualidade dos materiais de embalagem (REN; QIANG; CHEN, 2022). Além disso, um valor mais alto de PVA aumentará a atividade de água nos alimentos, levando à contaminação e deterioração (GUO *et al.*, 2023; OYEOKA *et al.*, 2021). Quando esses filmes atuam como fortes barreiras contra vapor de água, isso pode melhorar significativamente a vida útil, a qualidade e a boa aceitação do alimento (YANG *et al.*, 2023). Portanto, é necessário manter o PVA tão baixo o quanto que possível (LUO *et al.*, 2022; TIEN *et al.*, 2023; TYUFTIN; KERRY, 2021; YAO *et al.*, 2023).

Os valores de PVA de diferentes filmes de gelatina, pectina e HPMC foram avaliados e os resultados são mostrados na Figura 15.

Figura 15 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes



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

Fonte: própria autora.

Comparando com o valor de PVA do filme controle de gelatina, com concentrações crescentes de NCCB, a PVA dos filmes nanocompósitos correspondentes mostrou uma tendência decrescente. A PVA do filme de gelatina não reforçado foi de $0,2386 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, enquanto a de filmes reforçados com NCs com 5 %, 10 % e 15 % em massa diminuiu para $0,2242 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, $0,2026 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ e $0,2002 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, respectivamente. Estes resultados mostram uma indicação de que a adição de NCs na gelatina apresentou um efeito positivo na PVA dos filmes bionanocompósitos resultantes, e isso pode estar associado que menos grupos hidrofílicos estavam disponíveis no filme de gelatina, reduzindo a afinidade do filme com as moléculas de água (RIAHI *et al.*, 2023). Nos filmes G₀ as moléculas de água permeiam diretamente ao longo da

direção perpendicular à superfície do filme, mas, em filmes bionanocompósitos as regiões cristalinas nos nanocristais os tornam barreiras e as moléculas de água são forçadas a se mover em torno dos NCs em um percurso aleatório, conseqüentemente, o caminho de difusão percorrido aumenta e o processo de difusão diminui (RIAHI *et al.*, 2023; YANG *et al.*, 2023; YAO *et al.*, 2023). Os valores de PVA obtido neste estudo são inferiores aos relatados no trabalho de Oyeoka *et al.* (2021), que trabalharam com filmes à base de gelatina e álcool polivinílico reforçados com nanocristais de celulose isolados de fibra de aguapé.

A PVA do filme controle de pectina (P_0) foi de $0,3404 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. Após a adição de 4 %, 9 % e 14 % em massa de nanocristais, a permeabilidade foi para $0,3306 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, $0,2602 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ e $0,2362 \text{ g.mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, respectivamente. Esses resultados podem estar atribuídos ao aumento das densidades nos filmes com a pectina e a presença de domínios cristalinos, tornando a estrutura do filme à base de pectina mais compacta, levando assim a um aumento da resistência à permeabilidade de vapor de água (REN; QIANG; CHEN, 2022).

Os valores de PVA dos filmes de HPMC também podem ser visualizados na Figura 15. A adição de NCs diminuiu significativamente (considerando $p < 0,05$ em relação ao controle) a PVA dos filmes nas diferentes concentrações trabalhadas. Os resultados encontrados foram: H_0 $0,3572 \text{ .mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, $H_{3,5\%}$ $0,2992 \text{ .mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, $H_{8,5\%}$ $0,2822 \text{ .mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ e $H_{13,5\%}$ $0,2698 \text{ .mm.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$.

Afinal, a PVA reduzida pode ser devido aos NCs impermeáveis que foram bem dispersos na matriz e ao efeito de um caminho tortuoso produzido pelos mesmos (DOS SANTOS *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2022). Portanto, as propriedades de barreira melhoradas observadas para a adição de nanocristais de celulose estão associadas a um aumento da densidade (densificação) dos filmes (NASCIMENTO *et al.*, 2021). Esses resultados estão de acordo com as propriedades de resistência mecânica aumentada dos filmes bionanocompósitos.

Em relação às matrizes estudadas, os resultados encontrados mostram que o comportamento dos filmes à permeabilidade de vapor de água foi semelhante, a pequena diferença foi devido a espessura dos filmes. Pesquisas anteriores relataram que o aumento da espessura de filmes hidrofílicos aprimora a permeabilidade ao vapor de água (OYEOKA *et al.*, 2021; TIEN *et al.*, 2023). E o controle da espessura

pelo método *casting* é bem difícil, principalmente para as soluções filmogênicas muito viscosas.

5.3.3 Ângulo de contato

A molhabilidade e a característica hidrofílica/hidrofóbica da superfície do filme foi investigada pela medição do ângulo de contato com a água.

Nas interações líquido-sólido, um alto ângulo ($> 90^\circ$) indica que o líquido tem dificuldade em se mover na superfície sólida e pode ser preso por barreiras de energia de superfície, entretanto, a superfície do material é geralmente considerada hidrofóbica. Em contraste, um baixo ângulo ($< 90^\circ$) permite que os líquidos deslizem facilmente para fora da superfície devido às forças coesivas serem superiores as de adesão do fluido portanto, o material de contato possui natureza hidrofílica (WANG *et al.*, 2021; HSIEH; CHIEN, 2023).

A Tabela 3 mostra os resultados médios de ângulo de contato, da extremidade esquerda e direita da gota, para diferentes amostras em $t = 0$ s (tempo inicial).

Tabela 3 – Ângulo de contato dos filmes no tempo inicial

Filmes	Ângulo de contato ($^\circ$)
G₀	54,46 ± 1,61 ^a
G_{5%}	55,26 ± 3,10 ^a
G_{10%}	63,19 ± 3,09 ^{a,b}
G_{15%}	68,08 ± 7,91 ^b
P₀	56,88 ± 6,80 ^a
P_{4%}	58,39 ± 7,65 ^a
P_{9%}	61,26 ± 9,98 ^a
P_{14%}	63,94 ± 6,49 ^a
H₀	60,34 ± 0,12 ^a
H_{3,5%}	65,63 ± 7,68 ^a
H_{8,5%}	71,43 ± 2,04 ^a

H_{13,5%}	70,02 ± 7,14^a
--------------------------	---------------------------------

Os valores são expressos como a média ± DP (n = 9). Sobrescritos diferentes dentro de uma coluna indicam diferenças significativas entre os filmes (p < 0,05).

Fonte: autoria própria.

O ângulo de contato médio com a água da superfície do filme G₀ foi de 54,46° (< 90°), logo, a superfície é hidrofílica. Após a adição de 10 % em massa de NCCB, aumentou o ângulo de contato médio para 63,19° e com 15 % em massa de nanocristais o valor subiu para 68,08°, assim sendo, o reforço de NCCB diminuiu a molhabilidade e a hidrofiliabilidade dos filmes à base de gelatina. Porém, o ângulo de contato médio intrínseco é menor que 90°, o qual pode-se deduzir ao estado de molhamento (HSIEH; CHIEN, 2023).

Para P₀, o ângulo de contato médio com a água da superfície do filme foi de 56,88° e nos filmes bionanocompósitos o reforço cristalino possibilitou que os valores dos ângulos de contato com a água da superfície aumentassem moderadamente, todavia, a alteração não foi significativa. Todos os valores de ângulo de contato obtidos indicam que a superfície do filme é hidrofílica, em virtude da abundância de grupos OH presente na estrutura da pectina (WANG *et al.*, 2021).

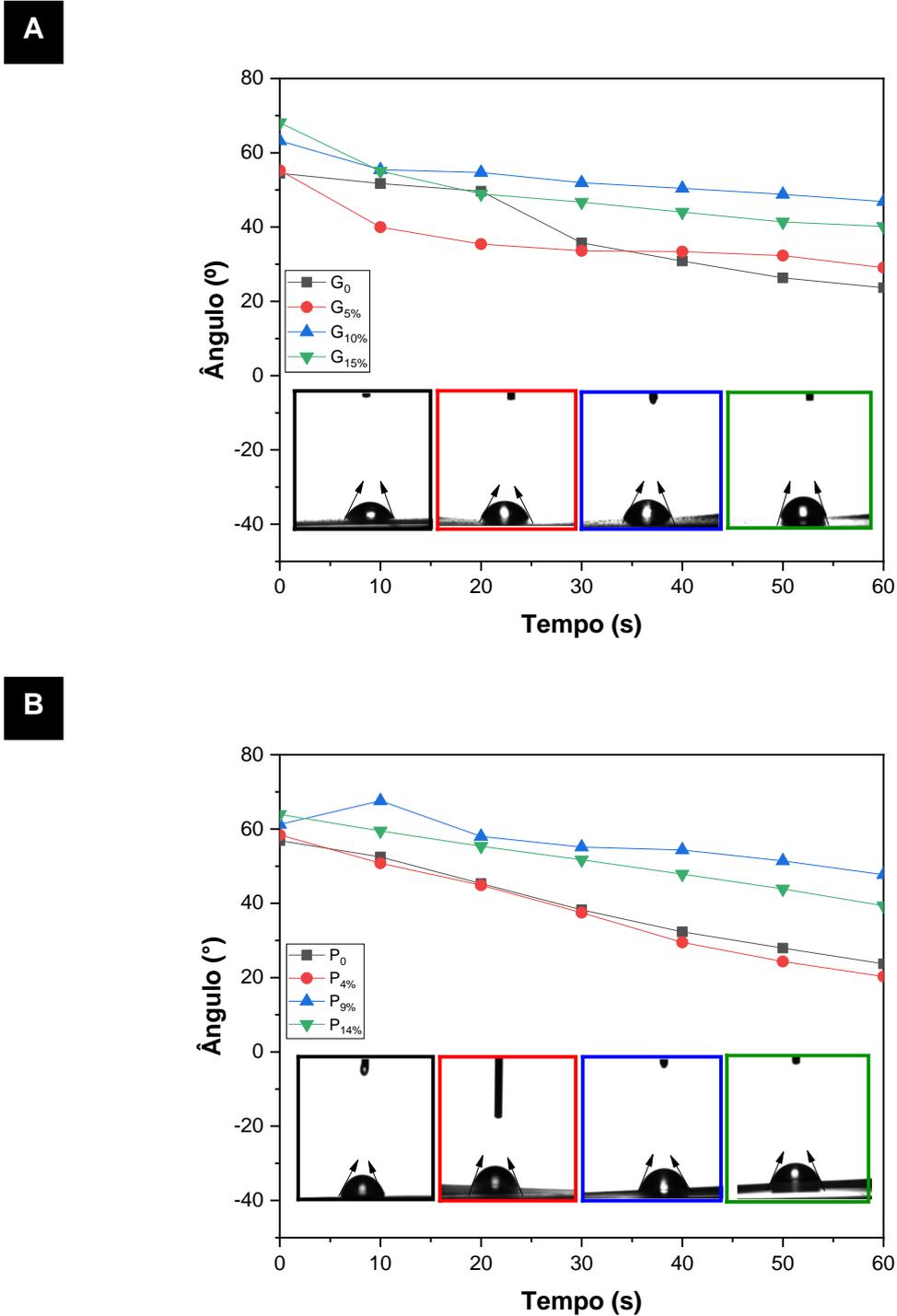
Em H₀ o ângulo de contato médio encontrado foi 60,34°, ao adicionar 8,5 % (71,43° ± 2,04) e 13,5 % (70,02° ± 7,14) em massa de NCCB na matriz HPMC, notou-se um aumento moderado dos ângulos. O maior valor do ângulo de contato com a água dos filmes HPMC ocorreu porque as interações de ligação de hidrogênio entre HPMC e NCCB aumentou a capacidade da HPMC de formar pontes de hidrogênio com a água. Yan *et al.* (2023) relataram que ao adicionar nanocristais de celulose na matriz à base de alginato de sódio, diminuiu a hidrofiliabilidade dos filmes, uma vez que os cristais de celulose eram altamente cristalinos.

Dentre as matrizes gelatina, pectina e HPMC, os bionanocompósitos à base de HPMC mostraram valores melhores de ângulo de contato médio, o que pode ser considerado um material potencial para aplicação em filmes.

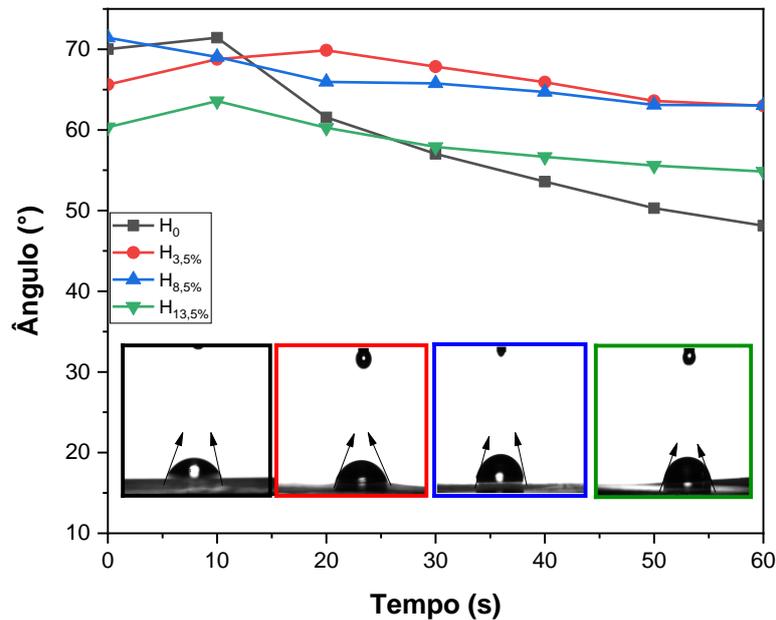
Na Figura 16 é possível verificar a alteração da medida dos ângulos de contato médio durante 60 segundos (tempo de duração do ensaio), as imagens das

gotas formadas sobre cada tipo de filme e os ângulos formados entre a gota e o filme no tempo inicial registrado no teste.

Figura 16 – Ângulo de contato dos filmes e imagens das gotas em 0 s



C



Fonte: autoria própria.

5.3.4 Umidade

A capacidade de um filme de ser resistente à umidade é uma propriedade imprescindível na aplicação de embalagens, especialmente itens alimentícios para armazenamento, portanto, a determinação qualitativa e/ou quantitativa em filmes é sempre interessante.

As moléculas de água em filmes podem propiciar um problema quando afetam as propriedades físicas do material, isso ocorre devido aos seus fortes efeitos plastificantes. Entretanto, quando o teor de umidade no filme aumenta, a coesão e a adesão entre as moléculas diminuem, levando assim ao declínio dos valores de resistência mecânica do filme (BERGO; MORAES; SOBRAL, 2013; WANG *et al.*, 2021). A gelatina, pectina e HPMC são materiais altamente hidrofílicos e essa é uma de suas principais desvantagens na embalagem. No entanto, essa desvantagem é de grande importância para facilitar a degradação dos materiais de maneira ambientalmente correta. Sua hidrofiliicidade se deve a numerosos grupos hidroxila que os tornam altamente polares e, portanto, sensíveis às moléculas de água (OYEOKA *et al.*, 2021).

Os resultados de umidade de água do filme de gelatina não reforçado (G₀) e dos filmes de gelatina reforçados com 5 %, 10 % e 15 % em massa de NCCB foram investigados e estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Umidade dos filmes à base gelatina, pectina e HPMC

Filmes	Umidade (%)
G₀	17,54 ^a ± 0,70
G_{5%}	15,50 ^b ± 0,57
G_{10%}	14,65 ^b ± 0,60
G_{15%}	14,00 ^b ± 0,64
P₀	13,99 ^a ± 0,23
P_{4%}	13,06 ^a ± 0,75
P_{9%}	12,51 ^a ± 0,25
P_{14%}	12,77 ^a ± 0,47
H₀	6,65 ^a ± 0,31
H_{3,5%}	6,48 ^a ± 0,34
H_{8,5%}	6,05 ^a ± 0,32
H_{13,5%}	5,83 ^a ± 0,35

Os valores são expressos como a média ± DP (n = 9). Sobrescritos diferentes dentro de uma coluna indicam diferenças significativas entre os filmes (p < 0,05).

Fonte: autoria própria.

Os filmes G₀, G_{5%}, G_{10%} e G_{15%} apresentaram umidade de 17,54 %, 15,5 %, 14,65 % e 14,0 %, respectivamente. Enquanto para os filmes P₀ foi de 13,99 %, e ao adicionar 4 %, 9 % e 14 % em massa de NCCB os resultados de umidade diminuiram para 13,06 %, 12,51 % e 12,77 %, respectivamente. Observa-se que a adição de nanocristais de celulose diminuiu a umidade dos filmes. Esse decréscimo na umidade também foi encontrado no estudo de Oyeoka *et al.* (2021) com adição de NCs em gelatina/álcool polivinílico. A incorporação de NCs normalmente apresenta resultados melhores pois, a formação de estrutura tridimensional compacta por pontes de hidrogênio entre a matriz polimérica e as moléculas de NCs

limita a absorção de água, seja por sorção química, adsorção e condensação multicamadas, logo diminui a possibilidade de retenção de moléculas de água na estrutura (ABE; BRANCIFORTI; BRIENZO, 2021; OYEOKA *et al.*, 2021). Esse fenômeno restringe a mobilidade da cadeia, reduz a quantidade de grupos hidroxila livres da matriz e não permite a penetração de água pelo sistema molecular.

Os filmes de HPMC apresentaram valores de umidade inferiores em relação aos filmes de gelatina e pectina. Os valores de umidade obtidos foram 6,65 %, 6,48 %, 6,05 % e 5,83 % para os filmes H₀, H_{3,5%}, H_{8,5%} e H_{13,5%}, respectivamente. Portanto, constata-se que os valores de umidade diminuíram ao adicionar os nanocristais. Ao inserir 3,5 % em massa de NCs a umidade diminuiu (~ 2,56 %) já, ao adicionar 8,5 % de massa de nanocristais a umidade do filme diminuiu 9,02 % e com 13,5 % de nanocristais a umidade reduziu 12,33 %, em relação ao filme controle. Segundo Dharmalingam e Anandalakshmi (2019), os filmes à base de HPMC apresentam níveis razoáveis de umidade. Pitpisutkul e Prachayawarakorn (2022) relataram que a umidade de filmes à base de HPMC é aumentada quando está associado a outro polímero natural hidrofílico, já que apresenta excelente biocompatibilidade com uma gama de biopolímeros naturais.

Contudo, no geral a umidade dos bionanocompósitos diminuíram em relação aos respectivos filmes controle. Esta resposta, mediante a adição de NCs, prova que a formação da rede de percolação evita o inchamento do filme que é acompanhado pela redução do aprisionamento de moléculas de água (OYEOKA *et al.*, 2021). Assim sendo, a incorporação de nanocristais de celulose tem como objetivo não apenas aprimorar as propriedades mecânicas dos filmes, mas também elevar a resistência à umidade e garantir estabilidade em ambientes de alta umidade.

5.3.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes puro e bionanocompósitos

5.3.5.1 Micrografias das superfícies dos filmes e das regiões de fratura dos filmes resultante do ensaio mecânico de tração

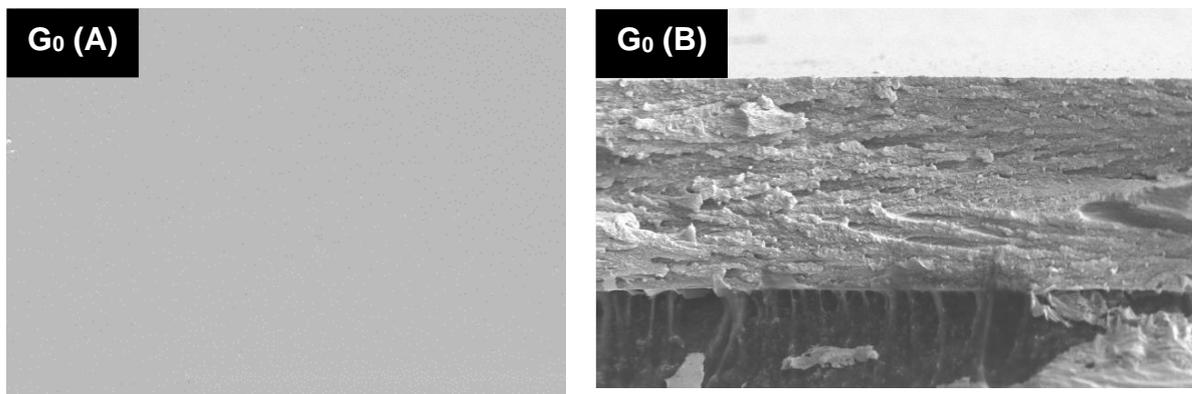
A estrutura final do filme é influenciada tanto pelas interações dos componentes presentes nele quanto pelas condições de secagem da dispersão utilizada para sua formação. Essa estrutura exerce um impacto significativo sobre as

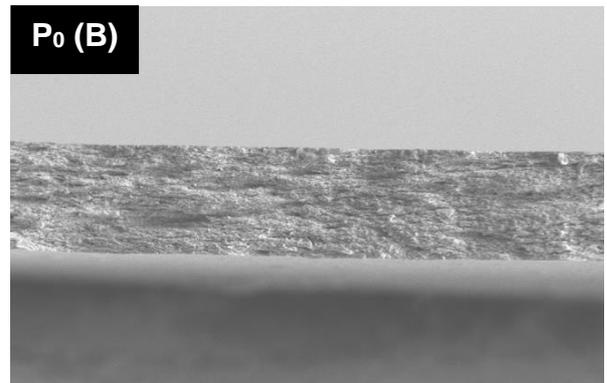
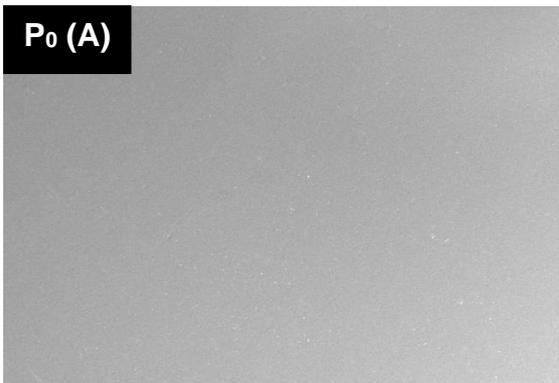
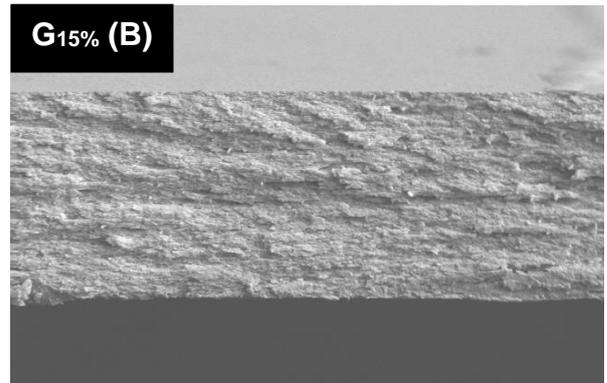
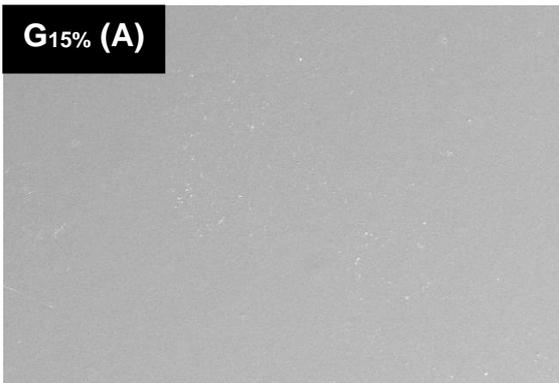
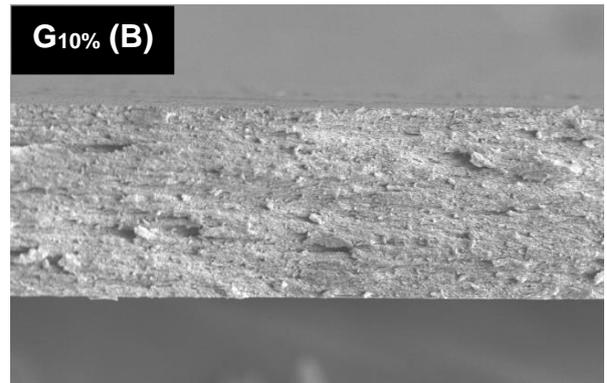
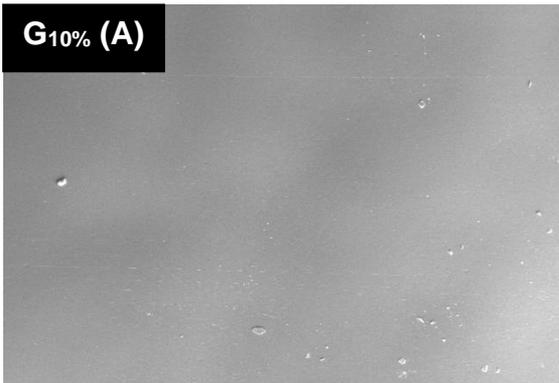
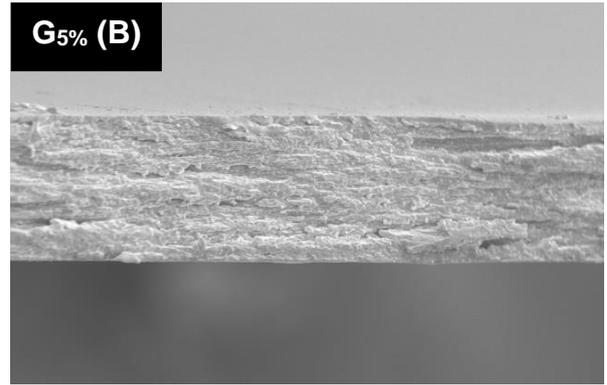
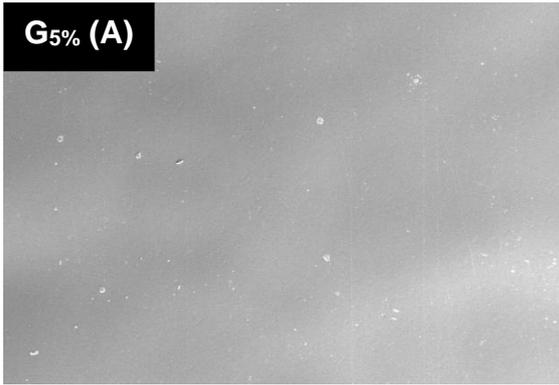
diversas propriedades do filme. Nesse sentido, a análise microestrutural dos filmes fornece informações relevantes sobre o arranjo dos componentes, que por sua vez, permite que os valores obtidos para a resistência a permeabilidade de água ou propriedades ópticas possam ser compreendidas com mais facilidade (JIMÉNEZ *et al.*, 2012).

As Figuras 17 (A) mostram as micrografias das superfícies dos filmes. Para as amostras puras, as superfícies dos filmes são uniformes e lisas sem qualquer aglomeração. Após a inserção de nanopartículas de celulose, nota-se o aparecimento de grânulos brancos dispersos aleatoriamente nas superfícies das amostras. O número de grânulos, aparentemente, aumentou com a concentração de NCCB, o que indica que os grânulos poderiam ser de NCCB. Porém, as micrografias não mostram nanopartículas aglomeradas.

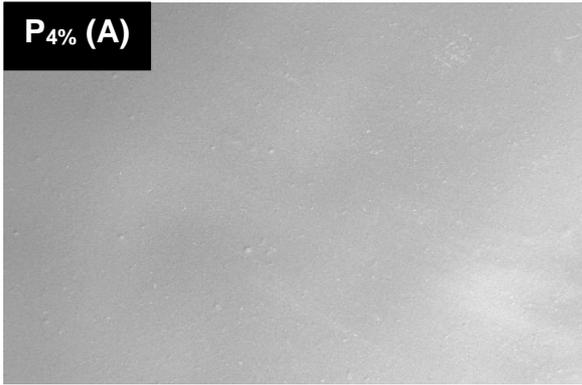
Foram também avaliadas as superfícies em corte transversal das amostras, na fratura, que foram submetidas ao ensaio mecânico de tração, ilustrada na Figura 17 (B). As micrografias apresentam a morfologia dos filmes formados de gelatina, pectina e HPMC com teores variados NCCB em cada matriz. Nota-se que as regiões são homogêneas, sem presença de pontos residuais, ou seja, pontos de entalhe.

Figura 17 – Micrografias das superfícies dos filmes (A) e das regiões de fratura mecânica (B) dos filmes puro e bionanocompósitos (magnificação de 2500 vezes; barra = 10 μm)

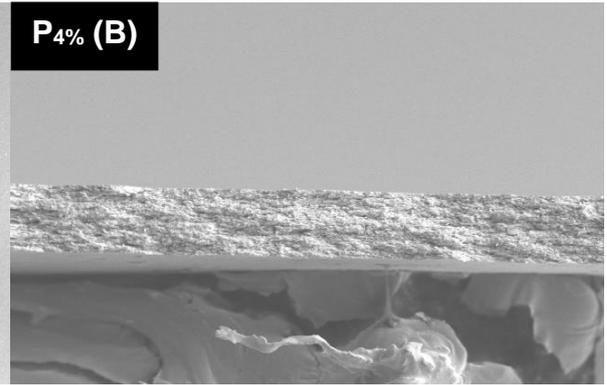




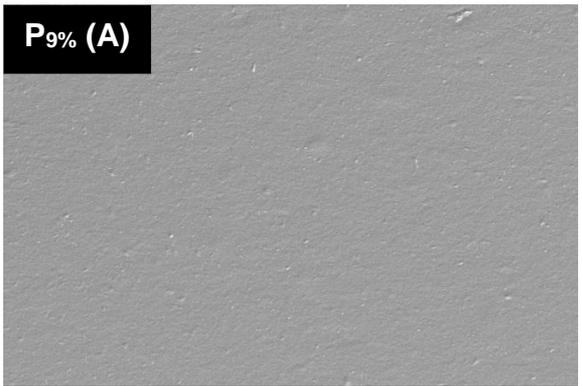
P_{4%} (A)



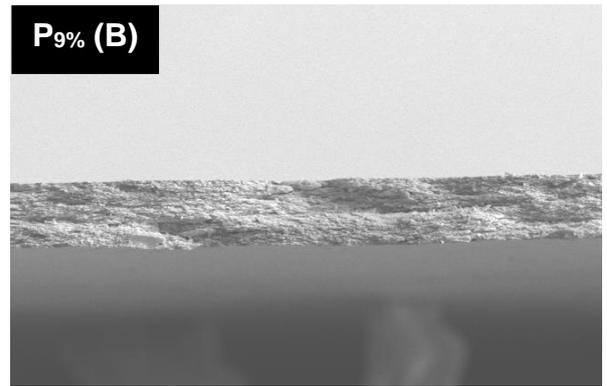
P_{4%} (B)



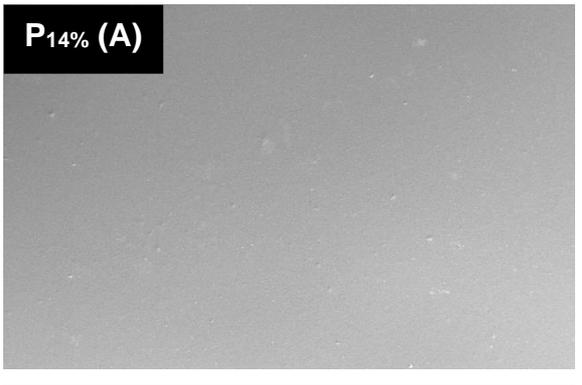
P_{9%} (A)



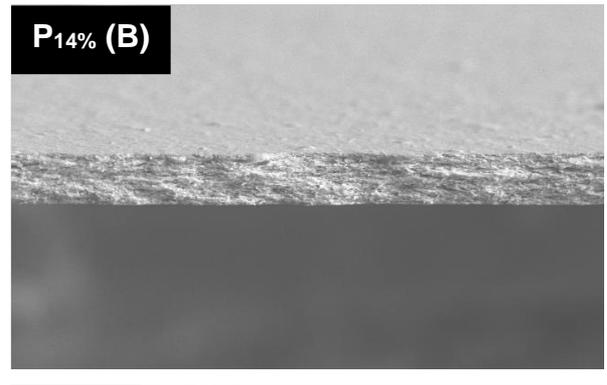
P_{9%} (B)



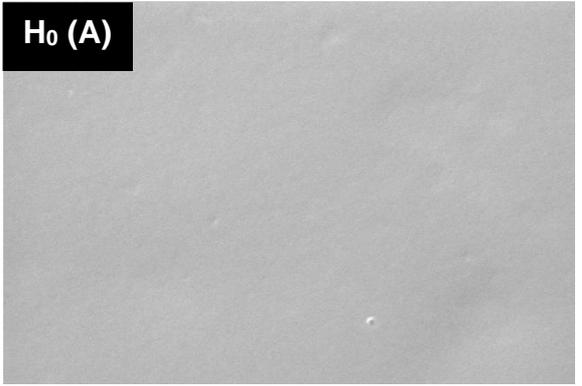
P_{14%} (A)



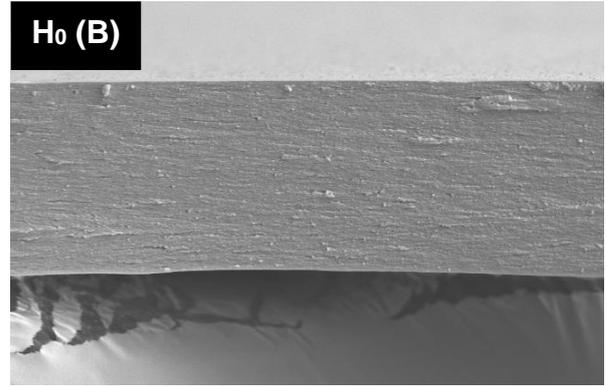
P_{14%} (B)

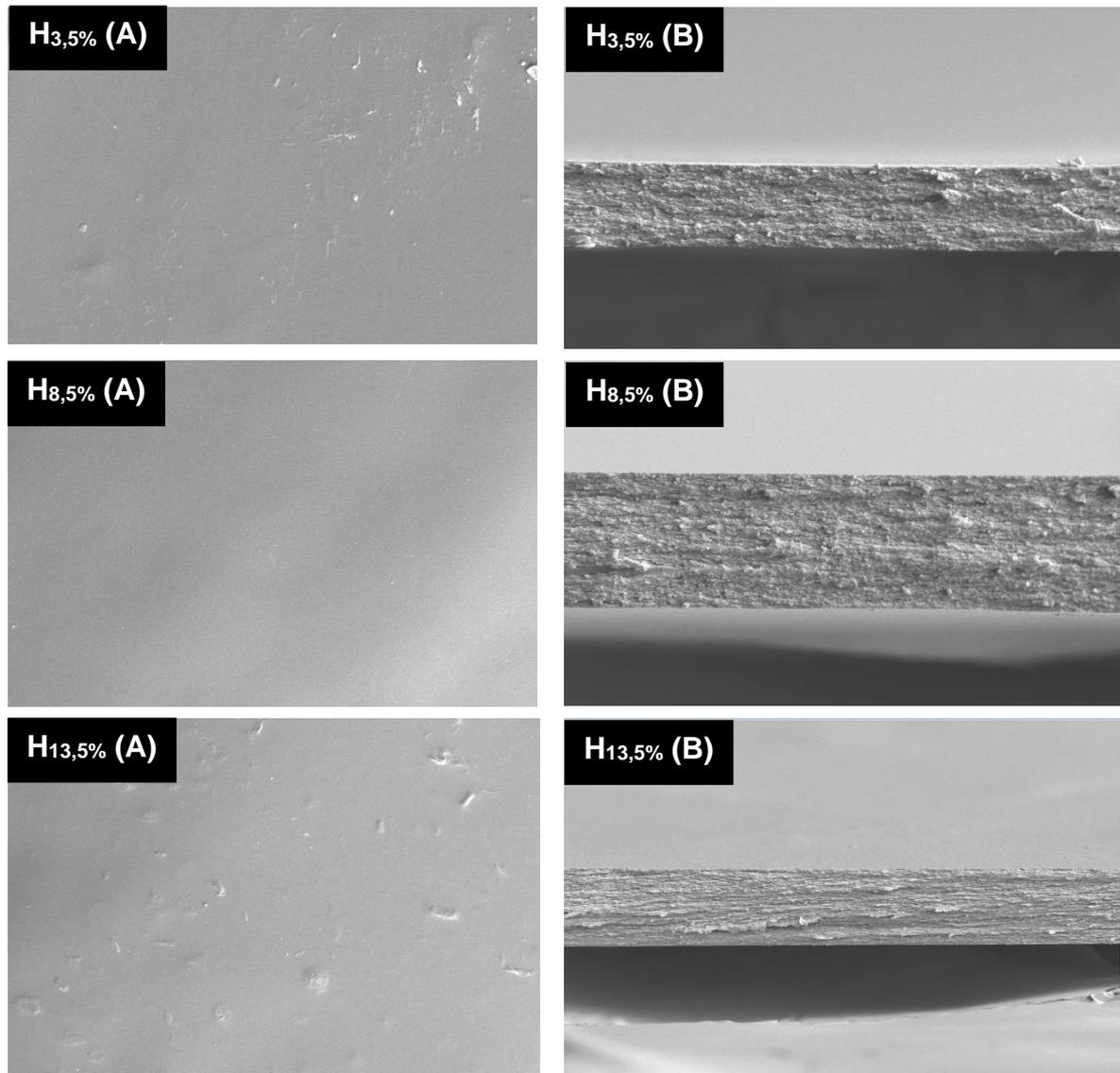


H₀ (A)



H₀ (B)





Fonte: própria autora.

O filme de gelatina formado sem adição de NCCB, G_0 (B), apresentou uma aparência grosseira e estruturada aberta. Esta estrutura morfológica de filme proporcionou menores valores nas propriedades mecânicas em comparação com estruturas de filme que foram formados com adição de NCCB. A presença de NCCB proporcionou aos filmes estruturas mais compactas. Assim, os NCCB nos filmes também serviram para atuar como uma substância de enchimento dentro da rede intersticial.

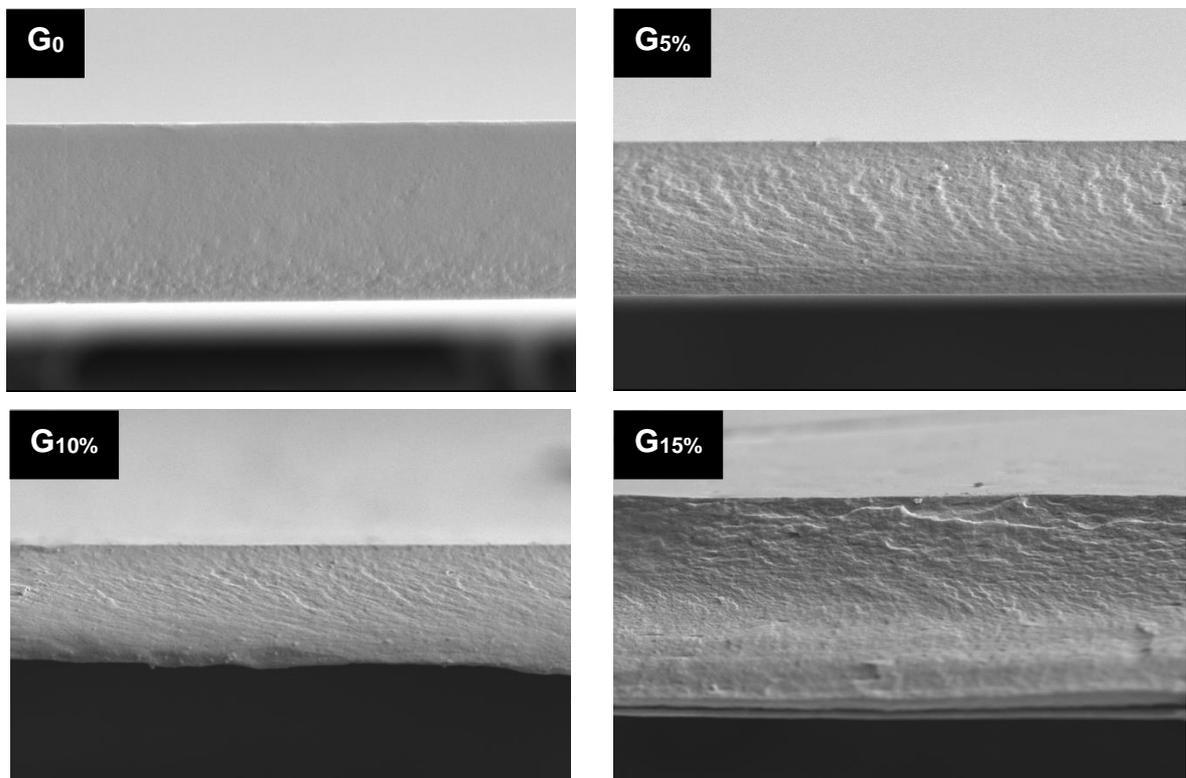
Níveis mais altos de adição de NCCB em nas soluções filmogênicas resultaram em filmes mais resistentes mecanicamente. No entanto, a elasticidade diminuiu à medida que o nível de NCCB aumentou. Essa observação também pode

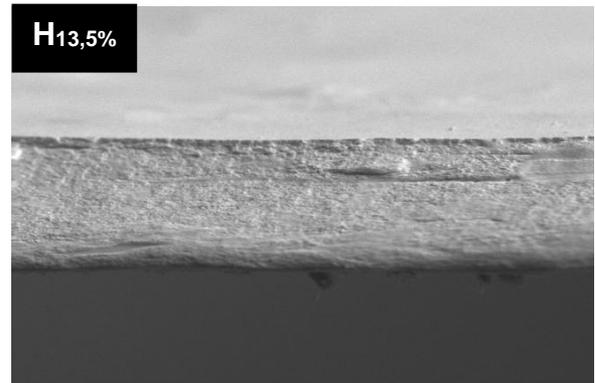
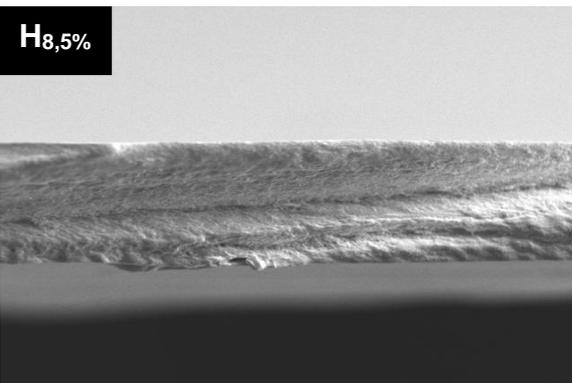
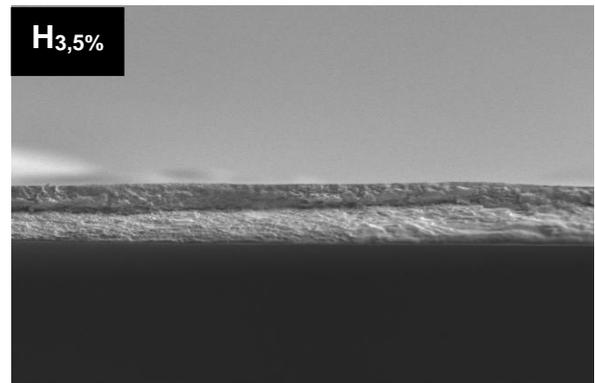
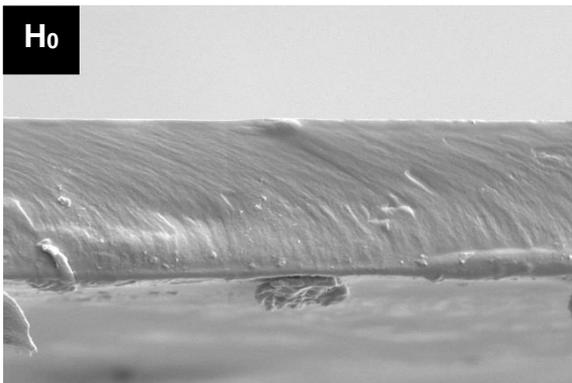
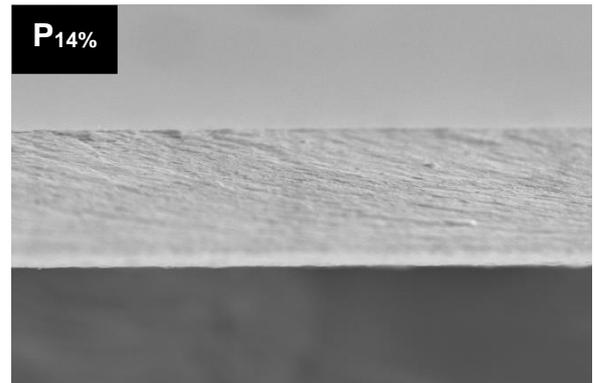
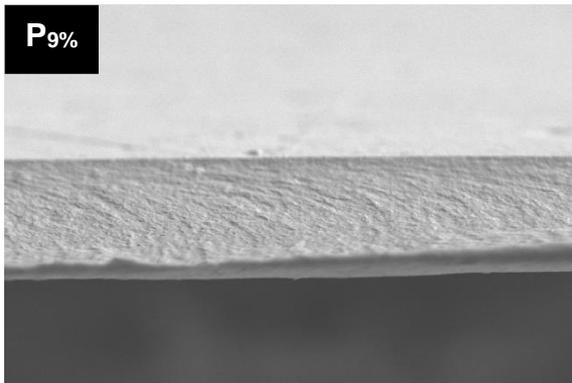
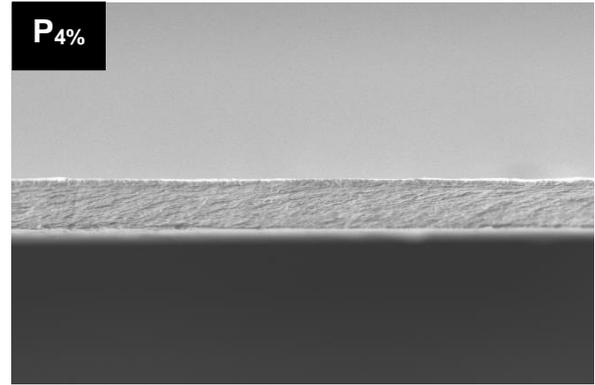
ser explicada pelos NCCB ocupando os espaços dentro da rede dos polímeros, limitando a capacidade de estiramento e mobilidade das cadeias.

5.3.5.2 Micrografias de filmes fraturados criogenicamente

As morfologias das superfícies das seções transversais crio-fraturadas dos filmes são mostradas nas Figuras 18. As imagens MEV indicaram que todas as superfícies das amostras de filme estão compactas e homogêneas. Malik, Mitra e Kaushal (2023) descreveram em seus trabalhos que geralmente a suspensão de biopolímeros impede a interação eletrostática de nanopartículas por estabilização estérica, mas, em maior concentração de nanopartículas a interação eletrostática se torna mais dominante e a aglomeração das nanopartículas podem ocorrer.

Figura 18 – Micrografias de superfície crio-fraturada dos filmes puro e bionanocompósitos (magnificação de 2500 vezes; barra = 10 μm)





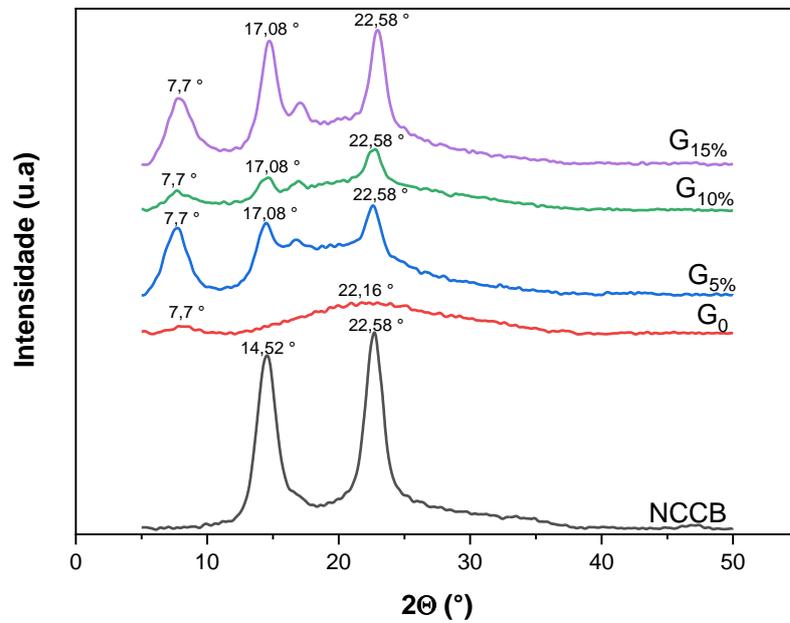
Fonte: própria autora.

5.3.6 Difractometria de raio X (DRX)

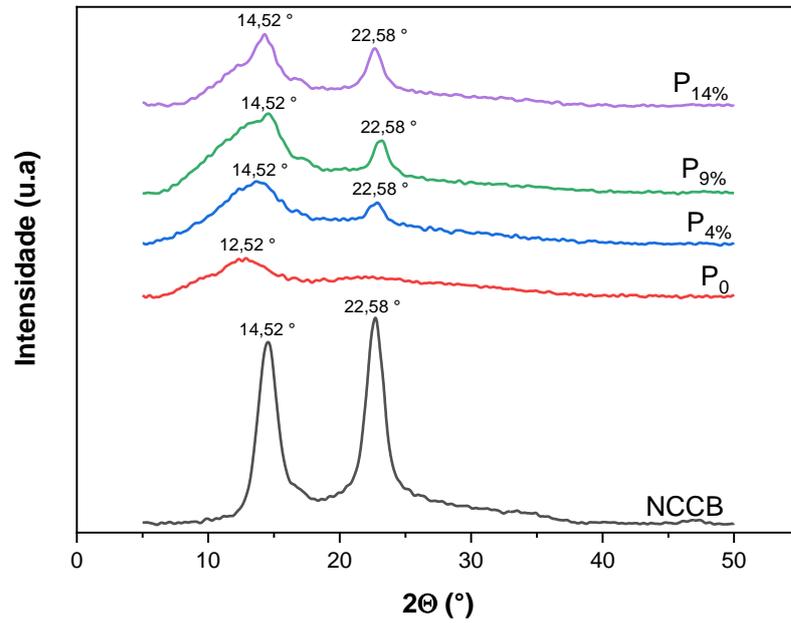
A cristalinidade é um fator importante que influencia especificamente as propriedades mecânicas dos materiais. Os difratogramas de raio X e índice de cristalinidade, dos nanocristais de celulose bacteriana e dos filmes estão apresentados na Figura 19 e Tabela 5, respectivamente.

Figura 19 – Difractogramas de raio X de filmes de gelatina (A), pectina (B) e HPMC (C)

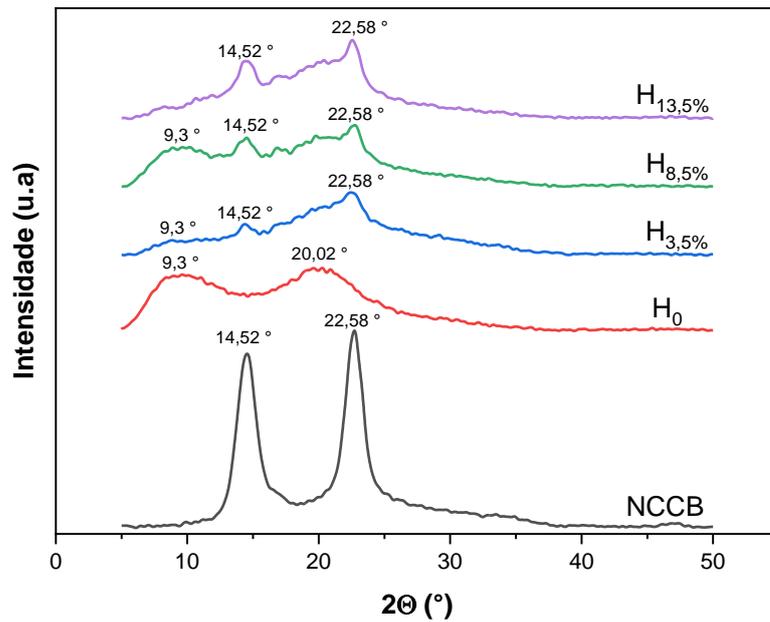
A



B



C



Fonte: autoria própria.

Tabela 5 – Índice de cristalinidade dos NCCB e dos filmes

Filmes	Área _{cristalina}	Área _{Total}	Cristalinidade (%)
NCCB	2985,96	4346,89	68,69

G₀	185,70	1811,28	10,25
G_{5%}	1236,15	3893,72	31,75
G_{10%}	834,35	2414,21	34,56
G_{15%}	2008,24	4502,23	44,61
P₀	607,38	2038,92	29,79
P_{4%}	1140,08	2890,47	39,44
P_{9%}	1668,05	3161,98	52,75
P_{14%}	1272,21	2398,65	53,04
H₀	717,85	3815,74	18,81
H_{3,5%}	1019,78	2565,78	35,19
H_{8,5%}	1140,29	3174,10	38,78
H_{13,5%}	1158,21	2904,37	39,88

Fonte: autoria própria

O padrão DRX dos nanocristais de celulose, intensidade de pico no ângulo de Bragg 2θ aproximadamente $14,52^\circ$ e $22,58^\circ$, correspondendo ao plano de rede (1 0 -1) e (2 0 0) respectivamente, mostram picos típicos de celulose I (ARSERIM-UÇARA *et al.*, 2021; BENITO-GONZÁLEZ *et al.*, 2022; OYEOKA *et al.*, 2021). Estes valores estão de acordo com o trabalho de Vasconcelos *et al.* (2017) que citam que os picos típicos de celulose bacteriana cristalina são três, $2\theta = 14,5^\circ$, $16,4^\circ$ e $22,5^\circ$. Buruaga-Ramiro *et al.* (2023) encontraram picos em ângulos de difração $2\theta = 16,5^\circ$ e $22,7^\circ$ para a celulose bacteriana na forma cristalina tratada com enzimas, e com grau estimado de índice de cristalinidade de 85 %. Pode-se notar também nas Figuras 19 ausência de outros picos largos e achatados nos difratogramas dos NCCB, que poderiam estar associados à estrutura amorfa ou semicristalina da celulose (XUE *et al.*, 2023), denotando assim que extração dos nanocristais da celulose bacteriana foi extremamente eficiente.

O grau de cristalinidade das fibras naturais é melhorado pela remoção dos constituintes não cristalinos das fibras através da hidrólise ácida. No processo da hidrólise, os íons hidrônio penetram nas zonas amorfas, promovendo a clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas liberando cristalitos individuais, enquanto as zonas cristalinas são mais resistentes ao ataque químico (OYEOKA *et al.*, 2021).

O índice de cristalinidade dos nanocristais extraídos da celulose bacteriana neste estudo foi 68,69 % (calculado de acordo com a Equação 2) e pode ser observado na Tabela 5. Nascimento *et al.* (2021) relataram que o arranjo espacial da celulose bacteriana fornece alta cristalinidade, até 80–90 %, significativamente maior do que 40–60 % associado à celulose derivada de plantas. Vasconcelos *et al.* (2017) sintetizaram nanocristais de celulose bacteriana em hidrólise ácida, modos variados de concentração de ácido sulfúrico e tempo de hidrólise (H_2SO_4 a 65 % (v/v) no tempo de 120 min). Em condições similares em que foi executada a extração de nanocristais bacteriana neste trabalho, o índice de cristalinidade dos nanocristais obtidos foi somente 22 %, e as melhores condições encontradas foi na concentração do ácido 50 % (v/v) por 60 e 120 min, com índice de 91 e 92 %, respectivamente. Portanto, a diferença no índice de cristalinidade pode ser decorrente das condições de hidrólise utilizadas na extração dos NCs, condições severas podem resultar em uma provável mudança na orientação das cadeias de celulose (OYEOKA *et al.*, 2021; VASCONCELOS *et al.*, 2017).

Os padrões de difração de raios X (Figura 19 (A)) refletem a variação estrutural de agregação das cadeias de gelatina nos diferentes filmes. A estrutura de hélice tripla estável presente no colágeno é composta por três cadeias peptídicas de colágeno independentes que são acopladas entre si por meio de pontes de hidrogênio, mantendo a estrutura de hélice tripla entrelaçada (CHEN *et al.*, 2023). A gelatina é o produto da desnaturação térmica do colágeno, que preserva certas sequências de aminoácidos para se automontar em estruturas de hélice tripla semelhantes ao colágeno durante a formação do filme. Como mostrado na Figura 19 A, o difratograma DRX do filme gelatina tem dois picos de difração em $2\theta \approx 7,7^\circ$ e $2\theta \approx 22,16^\circ$, representando o colágeno como estrutura de hélice tripla e a fase amorfa de cadeias de hélice simples livres, respectivamente, indicando a cristalização parcial do biopolímero (10,25 %) (CHEN *et al.*, 2023). A presença destes picos está consoante com a literatura (CANDRA *et al.*, 2023). Conforme ilustrado na Figura 19 (A), o pico 2θ de $7,7^\circ$ da gelatina se intensificou na presença de NCCB, formando uma estrutura semicristalina em vez de uma estrutura amorfa que ocorreu naturalmente no biopolímero puro. Os bionanocompósitos se mostram mais cristalinos o que pode ser observado pela presença dos picos em 2θ de $7,7^\circ$, $17,08^\circ$ e $22,58^\circ$. Logo, os percentuais de cristalinidade dos bionanocompósitos

$G_{5\%}$, $G_{10\%}$ e $G_{15\%}$ foram 31,75 %, 34,56 % e 44,61 %, respectivamente. Bradbury e Martin (1952) *apud* Wang *et al.* (2009) relataram que valores mais altos de resistência à tração associados a filmes de gelatina podem ser atribuídos à maior cristalinidade e ao grau de orientação dessa cristalinidade em tais filmes.

Os filmes de pectina exibem estruturas amorfas e semicristalinas que podem incorporar partículas, aditivos, água ou cargas para melhorar a capacidade de retenção de compostos hidrofílicos (CANDRA *et al.*, 2023). Os difratogramas de DRX da pectina e dos seus bionanocompósitos mostraram a mudança estrutural e a diferença na cristalinidade entre os filmes (Figura 19 (B) e Tabela 5). O espectro de DRX sugeriu que o filme P_0 tem uma estrutura amorfa, de acordo com o pico largo e achatado apresentado no difratograma (CANDRA *et al.*, 2023; XUE *et al.*, 2023). Com a adição de NCCB, os filmes bionanocompósitos de pectina apresentaram alterações na estrutura cristalina com base no surgimento de um pico intenso em 2θ de $22,58^\circ$ atribuído do NCCB. Esse pico indicou a alta cristalinidade dos filmes bionanocompósitos de pectina causada pelo arranjo intrinsecamente ordenado da cadeia de NCCB. O percentual de cristalinidade dos filmes bionanocompósitos foram 39,44 % ($P_{4\%}$), 52,75 % ($P_{9\%}$) e 53,04 % ($P_{14\%}$). Entretanto, o aumento da cristalinidade incorporou uma estrutura de rede mais ordenada nos filmes compostos de pectina (XUE *et al.*, 2023). Os dados de DRX correlacionaram-se bem com a resistência à tração aumentada nos filmes compósitos de pectina.

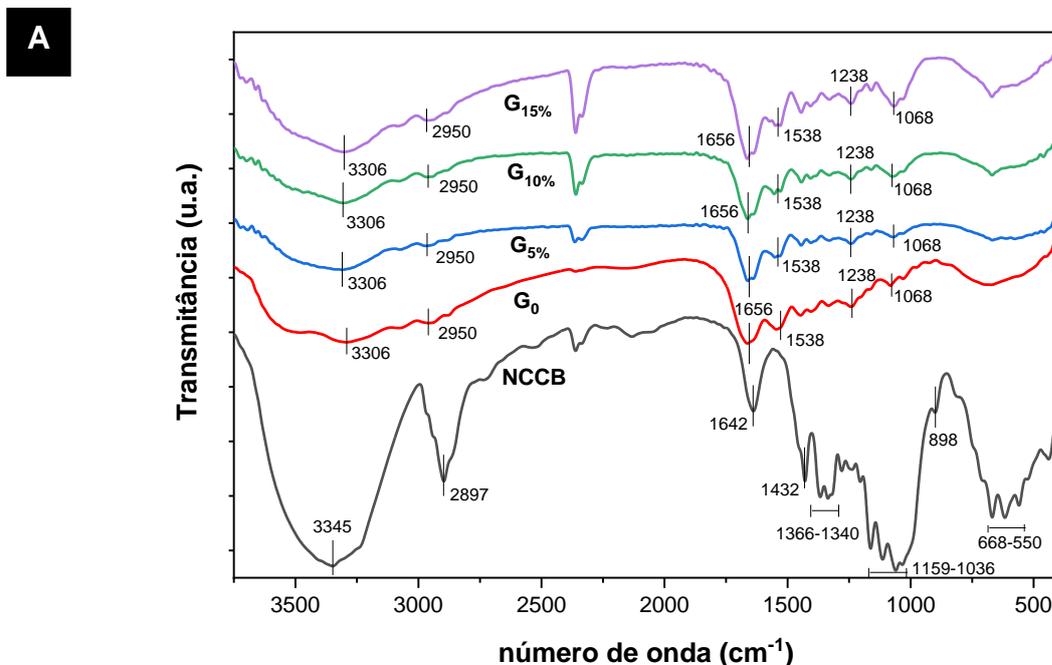
Os padrões de DRX dos diferentes filmes de HPMC/NCCB são mostrados na Figura 19 (C). A estrutura semicristalina de HPMC mostrou os picos em 2θ igual a $9,3^\circ$ e $20,02^\circ$, e o índice de cristalinidade foi de 18,81 % (Tabela 5), o que está consistente com os resultados relatados em pesquisas da literatura (PITPISUTKUL; PRACHAYAWARAKORN, 2022). Nos filmes bionanocompósitos, $H_{3,5\%}$, $H_{8,5\%}$ e $H_{13,5\%}$, os picos foram em $2\theta = 14,52^\circ$ e $22,58^\circ$, porém, com maior intensidade no filme reforçado com 13,5 % em massa de nanocristais. Os picos em $2\theta = 14,52^\circ$ e $22,58^\circ$ são provenientes dos nanocristais, já que a banda larga em 2θ de $9,3^\circ$ na HPMC está associada a regiões semicristalinas, e a incorporação dos NCs levou a formação de regiões organizadas. O aumento da cristalinidade em filmes de HPMC/NCCB foi causada pela interação intermolecular entre HPMC e NCCB. O percentual de cristalinidade para os bionanocompósitos foram 35,19 % ($H_{3,5\%}$), 38,79 % ($H_{8,5\%}$) e 39,88 % ($H_{13,5\%}$).

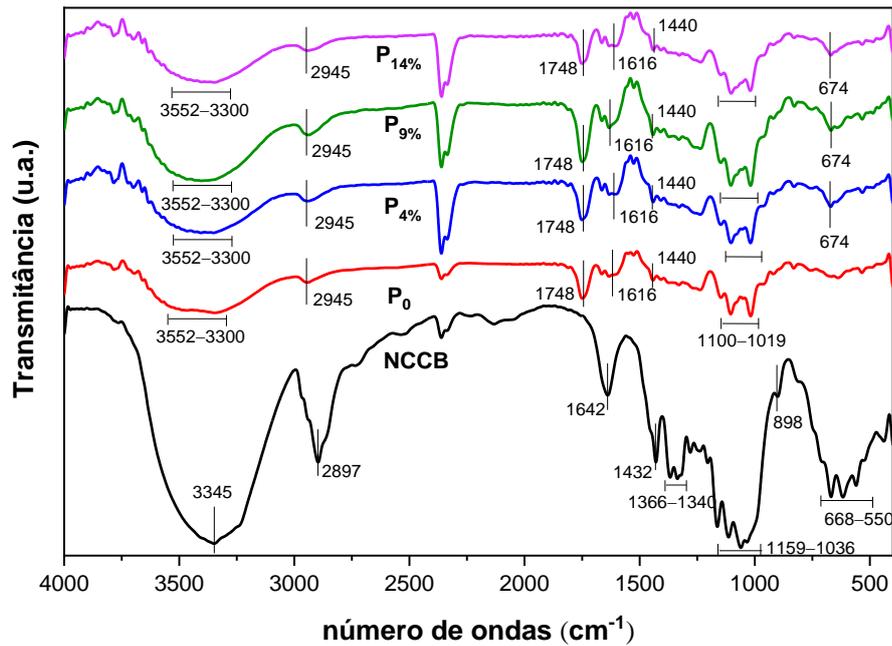
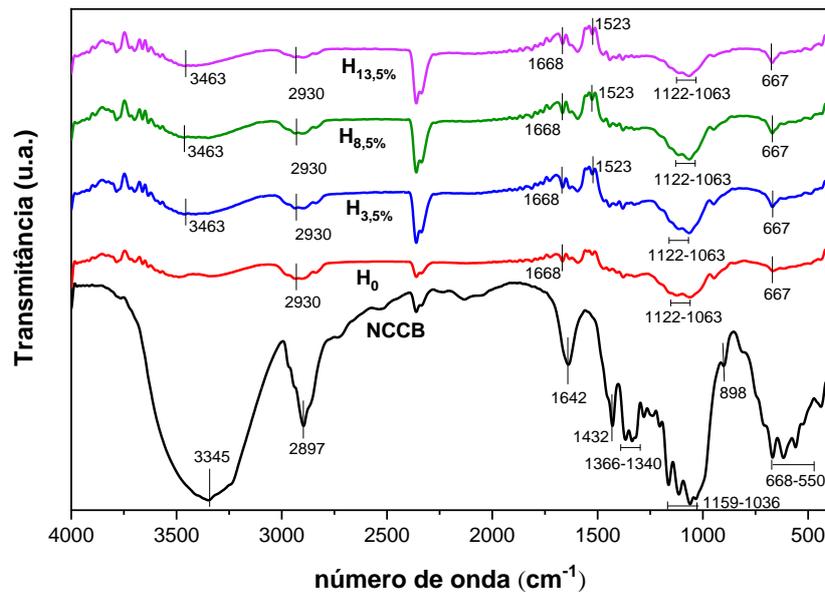
Por fim, os resultados de DRX mostraram que à medida que vai aumentando o percentual de nanocristais os picos vão ficando mais intensos, representando assim um aumento da cristalinidade.

5.3.7 Análise por espectroscopia de infravermelho (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica importante para determinar as mudanças estruturais químicas entre e dentro das moléculas, que podem ser determinadas pela intensidade e deslocamento das bandas de absorção. Portanto, a FTIR foi aplicada com intuito de detectar interações químicas entre as matrizes e o agente de reforço, na faixa de 400 para 4000 cm^{-1} . Os espectros de absorção na região do infravermelho dos filmes a base de gelatina, pectina, HPMC, os respectivos bionanocompósitos de cada matriz e dos NCCB estão apresentadas na Figura 20.

Figura 20 – Espectros de absorção na região do infravermelho de filmes puros, bionanocompósitos à base de gelatina, pectina e HPMC, e de NCCB



B**C**

Fonte: autoria própria.

Em relação ao espectro dos NCCB, pode-se observar uma banda larga em torno de $3000\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$ atribuída às vibrações de estiramento O-H, presente nos NCCB e moléculas de água, e vibrações de flexão de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (AKHILA *et al.*, 2023; MOURA *et al.*, 2011; OYEOKA *et al.*, 2021). A absorção referente ao estiramento da ligação do C-H pode ser observada em 2897

cm^{-1} (OYEOKA *et al.*, 2021), vibrações de flexão O–H da água absorvida em 1642 cm^{-1} , vibrações de flexão no plano H–C–H e O–C–H em 1432 cm^{-1} (FENG *et al.*, 2023), deformação angular simétrica de ligações C–H entre 1366 e 1340 cm^{-1} (VASCONCELOS *et al.*, 2017), vibrações de estiramento C–O entre 1159 e 1036 cm^{-1} , flexão de O–H em ligações β -glicosídicas entre as unidades de anidroglicose em 898 cm^{-1} e flexão fora do plano de C–OH entre 668 e 550 cm^{-1} (FENG *et al.*, 2023).

Nos espectros de filmes puro e bionanocompósitos preparados com gelatina e NCCB foi verificado banda de amida em 3306 cm^{-1} correspondente ao alongamento de N–H e O–H. Banda em 2950 cm^{-1} , associada com os modos simétricos e assimétricos de C–H (ZHONG *et al.*, 2023). O pico em 1656 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento de C=O do grupo amida I, enquanto o pico em 1538 cm^{-1} é devido ao acoplamento da ligação N–H e ao alongamento da ligação C–N do grupo amida II (LIN, L. *et al.*, 2023; OYEOKA *et al.*, 2021). A banda em 1238 cm^{-1} pertence à amida III (flexão N–H e alongamento C–N) (LEITE *et al.*, 2020; LIN, L. *et al.*, 2023). Alongamento de C–O e N–H, que correspondem às bandas de amida III, exibidas pelo pico designado em 1068 cm^{-1} . E a adição de NCCB dificilmente afeta os picos no espectro FTIR do filme composto.

Em todos os espectros de filmes à base de pectina, tanto o puro quanto o bionanocompósito, uma banda larga característica das vibrações de estiramento de grupos hidroxila (–OH) está presente na faixa de 3552 – 3300 cm^{-1} (REN *et al.*, 2023). Os picos observados em 2946 cm^{-1} estão relacionados às vibrações C–H de ésteres metílicos de ácidos galacturônicos tanto na pectina quanto nos bionanocompósitos (SUN; WEI; XUE, 2023). A banda de absorção em 1748 cm^{-1} está atribuída a vibrações de estiramento $\text{C}=\text{O}$ de éster (–COOCH₃) e íon carboxilato (–COO[–]) (AKHILA *et al.*, 2023; MOREIRA *et al.*, 2013). Além disso, duas bandas de vibração adicionais relacionadas a grupos carboxílicos (COO[–]) em sua forma carboxilato foram observadas nos espectros dos filmes de biopolímero puro: estiramento assimétrico em 1616 cm^{-1} e estiramento simétrico em 1440 cm^{-1} . A região espectral abaixo de 1400 cm^{-1} abrange a região que contém sobreposição altamente complexa de bandas de vibração esqueléticas de C–O e C–C de ligações glicosídicas e anéis piranóides de polissacarídeos (MOREIRA *et al.*, 2013).

A partir dos espectros dos bionanocompósitos à base de HPMC, o pico de vibração de alongamento de O–H está em 3463 cm^{-1} (DU *et al.*, 2020) e o pico de vibração de estiramento de C–H nos grupos $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2$ está em 2930 cm^{-1} (REN *et al.*, 2023). Para o grupo metoxi (CH_3O) a banda de absorção é exibida em 1523 cm^{-1} (RANIA *et al.*, 2018). A vibração referente à deformação axial da ligação C–O–C pode ser analisada na região entre 1063 e 1122 cm^{-1} e flexão C–OH fora do plano em 667 cm^{-1} (FENG *et al.*, 2023; PITPISUTKUL; PRACHAYAWARAKORN, 2022).

A obtenção de informações sobre a presença dos NCCB no nanocompósito via análises FTIR é especialmente difícil, uma vez que ambos os componentes são polissacarídeos e, portanto, exibem bandas no mesmo intervalo de número de onda (MOURA *et al.*, 2011).

5.3.8 Propriedade óptica – Transparência

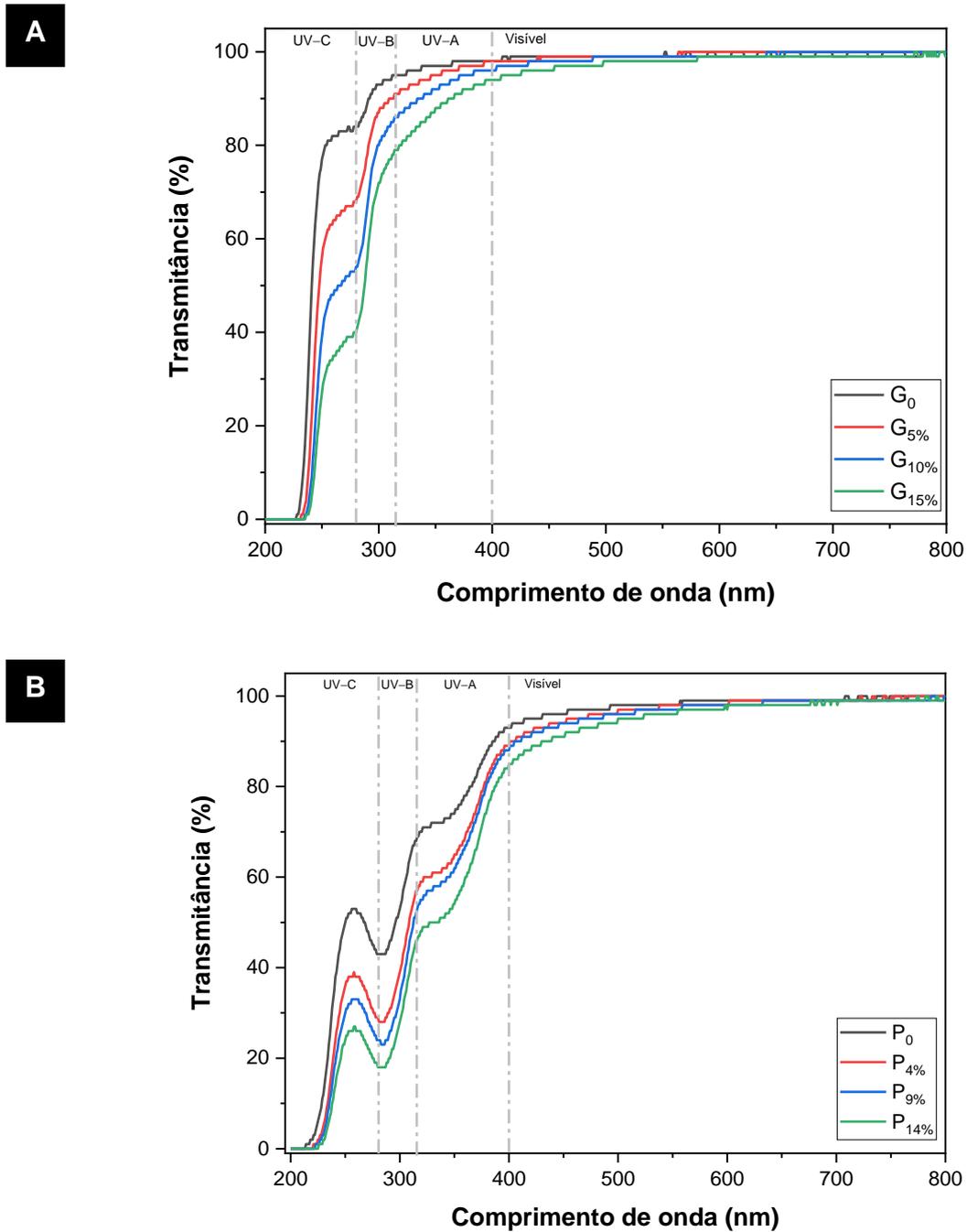
A propriedade óptica, transparência, dos filmes é um dos aspectos mais importantes que afetam a aceitação do cliente, pois permite a visualização pelo consumidor do alimento que está sendo vendido (GUO *et al.*, 2023; LIN, X. *et al.*, 2023). Em contrapartida, a luz excessiva pode promover a oxidação e degradação dos alimentos, reduzindo assim a sua qualidade. Portanto, a propriedade de barreira à luz adequada é uma característica desejada para filmes de embalagem de alimentos (LI *et al.*, 2023).

A luz UV direta pode prejudicar a qualidade nutricional, produzir sabores pútridos inesperados e tem uma atividade peroxidante significativa em lipídios, incluindo ácidos graxos insaturados e colesterol (EZATI *et al.*, 2023; GUO *et al.*, 2023; LEITE *et al.*, 2020; SUN; WEI; XUE, 2023). Além disso, uma propriedade importante da luz ultravioleta que a distingue da luz visível é que ela pode ionizar moléculas e estimular reações químicas (EZATI *et al.*, 2023). Portanto, é necessário desenvolver filmes que tenham boas propriedades de proteção UV, boa aparência e transparência. Assim, a vida de prateleira e a aceitação do consumidor em alimentos revestidos com filmes podem ser aumentadas (LUO *et al.*, 2023).

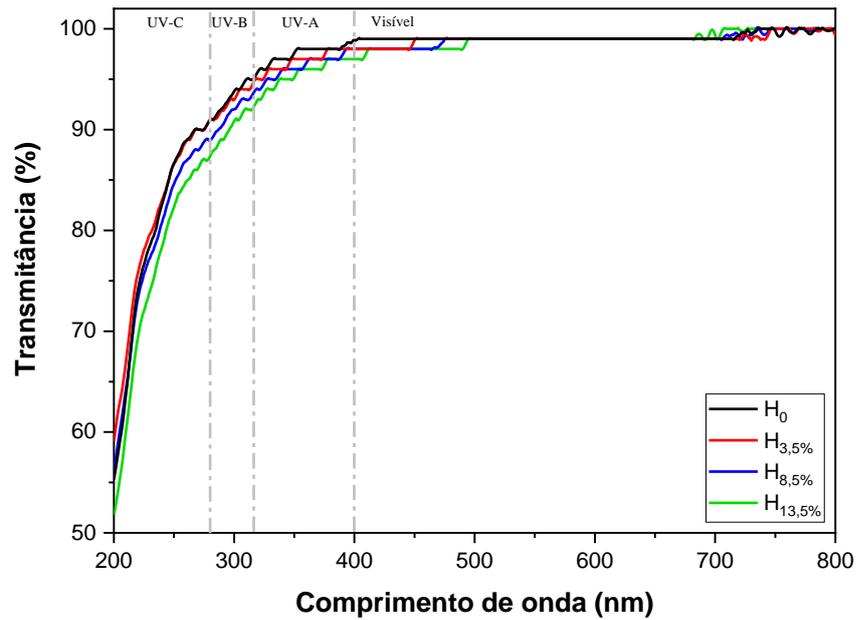
A transmitância de luz dos filmes em 200–800 nm foi medida para investigar sua transparência e propriedades de barreira à luz. A Figura 21 ilustra o

comportamento dos feixes de luz ultravioleta e visível ao incidir nas amostras dos bionanocompósitos, e a Figura 22 mostra a aparência visual dos filmes puros e dos bionanocompósitos com maior teor de NCCB.

Figura 21 – Espectros de transmitância UV-vis dos bionanocompósitos



C



Fonte: autoria própria.

Figura 22 – Aparência visual de filmes à base de gelatina, pectina, HPMC puros e incorporados com diferentes teores de NCCB



Fonte: autoria própria.

A radiação UV, faixa de 200–400 nm, subdivide-se em UV-A (315–400 nm), UV-B (280–315 nm) e UV-C (200–280 nm), como pode ser observada nas Figuras 21 (EZATI *et al.*, 2023; LI *et al.*, 2023). Os filmes têm baixa proteção a radiação UV-A, pois apresentam valores altos de transmitância, e os NCCB fizeram com que os valores das transmitâncias nesta faixa (315–400 nm) diminuíssem. Em 400 nm na Figura 21 (A), constata-se que os filmes G_0 e $G_{5\%}$ apresentaram transmitância de 98 %, $G_{10\%}$ 96 % e $G_{15\%}$ 94 %; pode-se identificar na Figura 21 (B) que a transmitância em P_0 é de 93 %, $P_{4\%}$ 89 %, $P_{9\%}$ 88 % e $P_{14\%}$ 85 %; e a partir da Figura 21 (C) constata-se a transmitância em H_0 de 98,9 %, $H_{3,5\%}$ e $H_{8,5\%}$ 98 %, e $H_{13,5\%}$ 97 %. Porém, nas faixas de 280–315 nm (UV-B) e 200–280 nm (UV-C), nos bionanocompósitos a base de gelatina e pectina, o aumento da concentração de NCCB levou à redução da transmitância de luz nos filmes. Em 278 nm a transmitância para o filme puro de gelatina foi de 84 %, $G_{5\%}$ 68 %, $G_{10\%}$ 53 % e $G_{15\%}$ 40 %. Em 280 nm o percentual de luz transmitida pelo filme controle de pectina foi de 43 %, para $P_{4\%}$ 29 %, $P_{9\%}$ 24 % e $P_{14\%}$ 18 %. Nestas faixas, esses valores sugerem propriedades de barreira à luz aprimoradas. Isso ocorreu porque a estrutura altamente cristalina dos NCCB poderia impedir que a luz passasse pelos filmes (YANG *et al.*, 2023). Além disso, Leite *et al.* (2020) relataram que o estado de dispersão dos NCs afetou a transmitância de luz dos filmes, pois a existência de agregações micrométricas de NCs em filmes poderia dispersar a luz, reduzindo assim a transmitância luminosa.

Sendo assim, os bionanocompósitos de pectina analisados exibiram boas propriedades de barreira contra a luz UV. Os bionanocompósitos a base de gelatina são mais eficientes em bloquear a radiação UV-C, logo sugere-se que esses tipos de filmes poderiam ser usados para proteger produtos fotossensíveis, incluindo alimentos e produtos farmacêuticos. Sabe-se que a propriedade de barreira à luz UV-C pode ser atribuída aos grupos cromóforos sensíveis presentes nos blocos de aminoácidos aromáticos da gelatina (glicina, prolina, alanina, hidroxiprolina, tirosina, fenilalanina e triptofano) que possuem ligações insaturadas capazes de absorver a radiação UV (LEITE *et al.*, 2020; LIN, L. *et al.*, 2023).

Segundo Ezati *et al.* (2023) a pectina polissacarídica vegetal possui propriedades de proteção UV adequadas, pois bloqueia cerca de 70 % da radiação UV devido à presença de grupos carbonila em sua estrutura. Assim, a pectina tem

sido usada com polímeros sintéticos comerciais para conferir propriedades de bloqueio de UV. Os biopolímeros à base de proteínas, como a gelatina, também apresentam um notável efeito de proteção UV. A capacidade de proteção UV da gelatina é comparável à da pectina, absorvendo 70–75 % da radiação incidente, por ser um biopolímero proteico composto por vários aminoácidos, o efeito de proteção UV também é presumido devido ao grupo amina.

O filme puro e os bionanocompósitos a base de HPMC têm pouca capacidade de proteção à luz UV-C, porém em comprimento de onda inferior à 250 nm. São permissíveis a passagem das luzes UV-B e UV-A e visível. Os NCs não diminuíram a passagem das luzes nos filmes, no comprimento de onda analisado.

A transparência dos filmes ainda pode ser confirmada conforme indicado as transmitâncias de 97 a 100 % em T_{600} (transmitância da luz visível) na Figura 21. Portanto, a diferença na transmitância dos filmes composto em 600 nm pode ser insignificante, e tanto os filmes puros quanto os compostos têm baixa opacidade, este achado também foi encontrado no trabalho de Li *et al.* (2023) para os filmes de gelatina extraída de peixe. Devido à transmitância de luz superior a 70 % em todos os filmes, é possível inferir que esses materiais são aceitáveis para aplicações práticas e não interferem na observação dos alimentos pelos consumidores durante a venda (GUO *et al.*, 2023). Além disso, é amplamente reconhecido que o brilho e a transparência do filme têm um impacto perceptível na aparência dos alimentos embalados, tornando todos os filmes adequados como materiais de embalagem direta para produtos alimentícios.

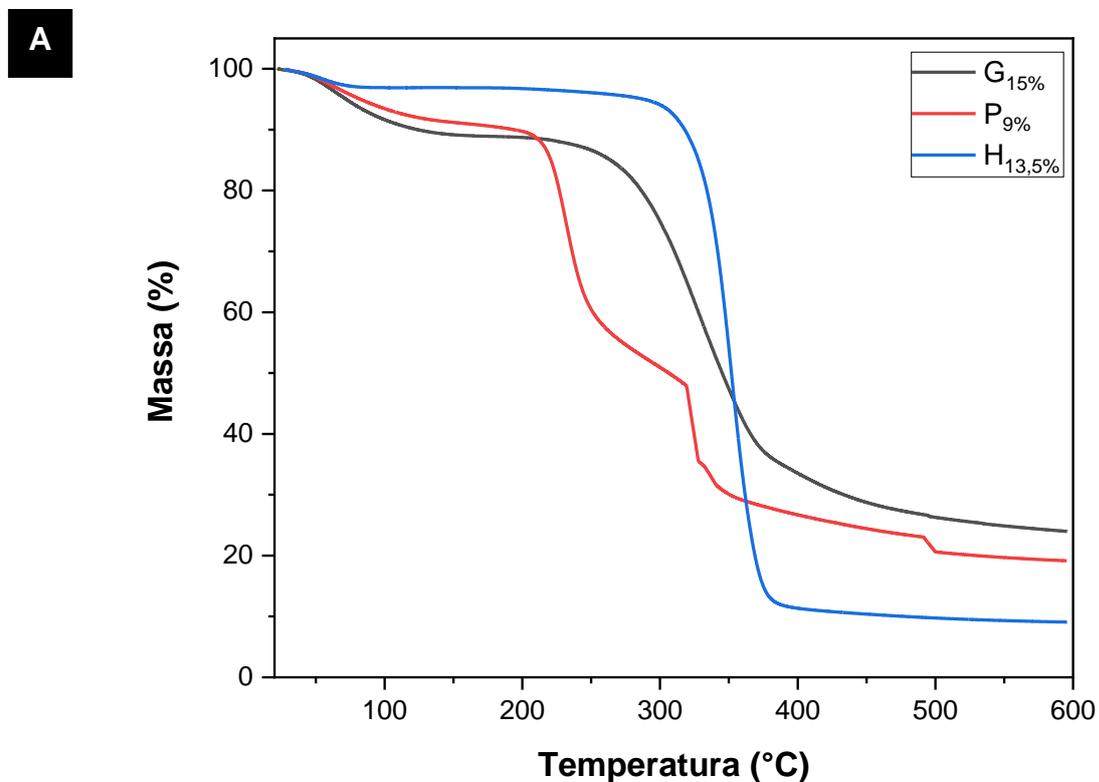
Quanto a aparência visual dos filmes preparados (Figura 22), todos os filmes têm boa transparência e superfície lisa. Os resultados demonstraram que os NCCB não tiveram impacto negativo na cor do filme composto e confirmaram que os nanocristais se dispersaram de forma adequada dentro das matrizes biopoliméricas. Isso é essencial, pois agregados de nanopartículas poderiam prejudicar a transmissão de luz (MELO *et al.*, 2020).

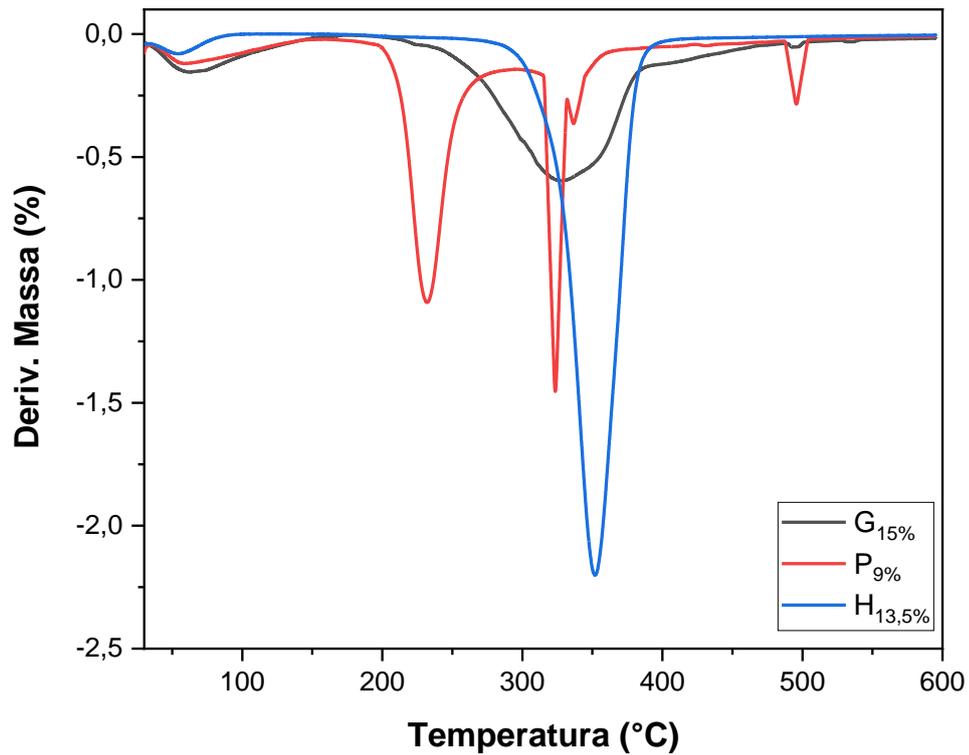
5.3.9 Análise termogravimétrica (TG) e análise termogravimétrica diferencial (DTG)

A estabilidade térmica, que reflete a capacidade do material em resistir à decomposição em altas temperaturas, dos filmes para foram investigadas por TG e DTG. O entendimento da estabilidade térmica é relevante, pois as interações entre as matérias-primas dos filmes também podem ser determinadas a partir desta caracterização (SUN; WEI; XUE, 2023). Esta propriedade foi avaliada nos bionanocompósitos (um de cada matriz) que foram mais resistentes mecanicamente no ensaio de tração.

Os termogramas DTG (Figura 23 (B)) foram obtidos pela derivada de primeira ordem das curvas TG (Figura 23 (A)), que refletem a taxa de degradação.

Figura 23 – Curvas de TG (A) e DTG (B) de filmes à base de gelatina, pectina e HPMC com incorporação de diferentes teores de NCCB



B

Fonte: autoria própria.

Todos os filmes exibiram perda de massa em várias etapas entre a decomposição térmica de 20 a 600 °C e, especificamente, podem ser divididos em eventos. Os valores das temperaturas iniciais (T_i) e finais (T_f) de degradação e perda mássica associados a cada evento térmico para os bionanocompósitos estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores das temperaturas iniciais e finais e percentual de perda mássica dos principais eventos de degradação dos bionanocompósitos

(A)

Filmes	Td ₁ (°C)		Td ₂ (°C)		Td ₃ (°C)		Td ₄ (°C)	
	T _i	T _f						
G_{15%}	31,1	138,3	244,3	392,3	488,6	500,1	-	-
P_{9%}	36,5	146,5	210,3	255,2	316,3	343,4	490,1	500,5

H_{13,5%}	35,2	84,1	295,9	389,5	-	-	-	-
--------------------------	------	------	-------	-------	---	---	---	---

T_i, T_f – temperatura inicial e final de degradação para cada evento. T_d - temperatura de degradação de cada evento.

(B)

Filmes	PM₁ (%)	PM₂ (%)	PM₃ (%)	PM₄ (%)
G_{15%}	11,1	54,0	10,8	-
P_{9%}	8,7	32,7	27,6	11,8
H_{13,5%}	3,1	87,8	-	-

P_M - Perda mássica

Fonte: autoria própria

É possível identificar, a partir das curvas representadas na Figura 23 (B), 3, 4 e 2 eventos de degradação para os filmes G_{15%}, P_{9%} e H_{13,5%}, respectivamente.

A perda de massa gradativa no primeiro evento, com temperatura inicial em torno de 31,1 °C para G_{15%}, 36,5 °C para P_{9%} e 35,2 °C para H_{13,5%}, foi causada pela volatilização de água livre, ou seja, moléculas de água não ligadas a matriz (OYEOKA *et al.*, 2021; ZHONG *et al.*, 2023). Observa-se que o percentual de moléculas de água que estavam aprisionadas nos filmes de HPMC (média de 3,1 %) é menor em relação aos filmes a base de gelatina (11,1 %) e pectina (8,7 %), e isso pode ser confirmado a partir da Tabela 4, a qual representa a umidade dos filmes. Portanto, a matriz de gelatina retém em sua rede um maior percentual de moléculas de água, seguida da pectina e HPMC.

Os resultados apresentados na Figura 23 (A) mostraram que os bionanocompósitos a base de gelatina e pectina são termicamente estáveis na região abaixo de 200 °C, e para os bionanocompósitos a base de HPMC abaixo de 300 °C, quando um novo estágio de perda de massa iniciou. Logo, no segundo evento o percentual de perda de massa para o filme G_{15%} foi de 54,0 %, P_{9%} 32,7 % e H_{13,5%} 87,8 %. Conforme os resultados apresentados na Tabela 6 e nas Figuras 23, o HPMC, nesse estágio, foi o que apresentou maior perda mássica, o qual está associado a faixa de temperatura de degradação de materiais celulósicos (perfil de degradação típico de celulose hidrolisada com ácido sulfúrico) dos NCCB e da

própria matriz que a contém. Além desse evento está atribuído a degradação dos éteres de celulose, reações paralelas de desidratação e desmetilação das cadeias de HPMC estão ocorrendo juntamente (Freitas *et al.*, 2020). Para o bionanocompósito a base de gelatina, o segundo evento, faixa de temperatura 244,3–392,3 °C, está associado à quebra das cadeias poliméricas da gelatina (ZHONG *et al.*, 2023; LI *et al.*, 2023). E para o bionanocompósito a base de pectina, foi relatado por Sun, Wei e Xue (2023) que na faixa de temperatura de 120–280 °C ocorreu a degradação térmica de eliminação β do esqueleto da cadeia de pectina, decomposição do esqueleto da pectina resultante da descarboxilação primária e secundária dos grupos ácidos pendentes e dos anéis de carbono, e reações de despolimerização envolvendo desmetoxilação e clivagem hidrolítica.

No terceiro evento, a perda de massa de apenas 10,8 % para o filme G_{15%} foi com temperatura inicial em torno de 488,6 °C e para o filme P_{9%} foi 27,6 % de massa degradada em T_i em torno de 316,3 °C. Para o filme à base de gelatina, esse evento térmico (faixa de temperatura 488,6–500,1 °C) está associado à eliminação de carbono (CHEN *et al.*, 2022). E para o filme de pectina, este evento está associado à degradação (despolimerização, desidratação e decomposição de unidades de glicosil) do agente de reforço (NCCB) (OYEOKA *et al.*, 2021).

E o quarto evento para o filme P_{9%}, que apresentou perda mássica de 11,8 % na temperatura inicial em torno de 490,1 °C, está associado também de carbono (CHEN *et al.*, 2022).

Foram relatados em vários trabalhos que os filmes biopoliméricos reforçados com NCs tornaram mais estáveis termicamente. Por exemplo, Leite *et al.* (2020) reforçaram filmes de gelatina com NCCB, e a partir dos resultados encontrados relataram que os filmes de gelatina com maior teor de NCs tornaram-se mais estáveis termicamente, pois a formação de ligações de hidrogênio entre NCs e cadeias de gelatina pode influenciar no processo de desnaturação de proteínas e formação de estruturas cristalinas de hélice tripla e, portanto, levar a um aumento na estabilidade térmica dos filmes de gelatina.

No geral os filmes exibiram alta temperatura de decomposição térmica, o que permite que ele permaneça estável em ambientes comuns da indústria de alimentos e onde o processo de mistura de polímeros requer alta temperatura (CHEN *et al.*, 2022).

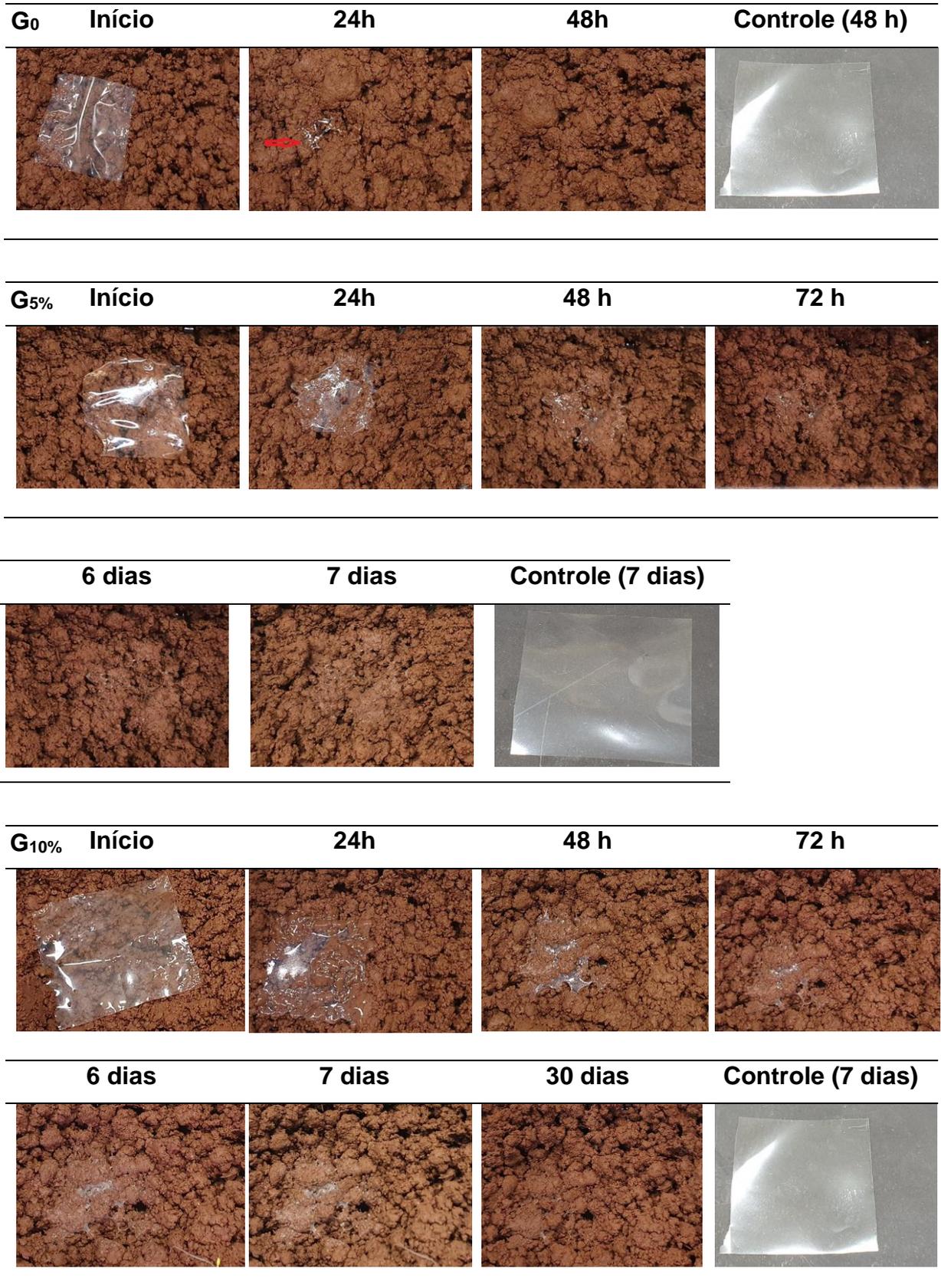
5.3.10 Análise de biodegradabilidade potencial

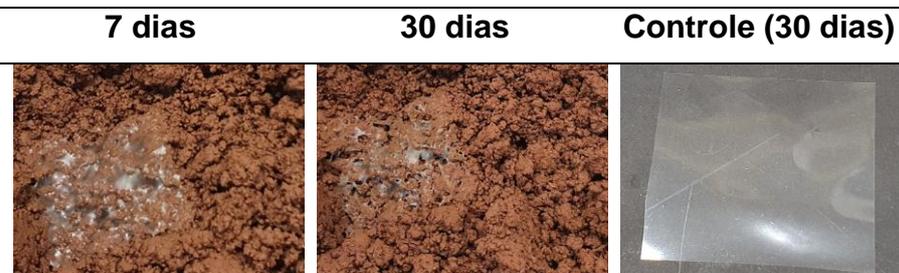
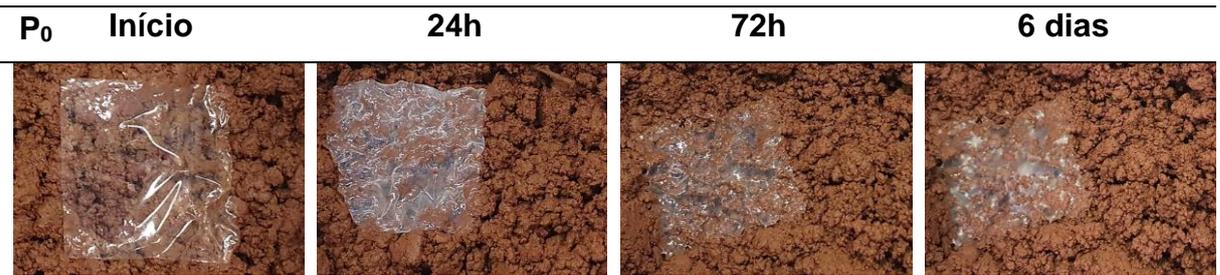
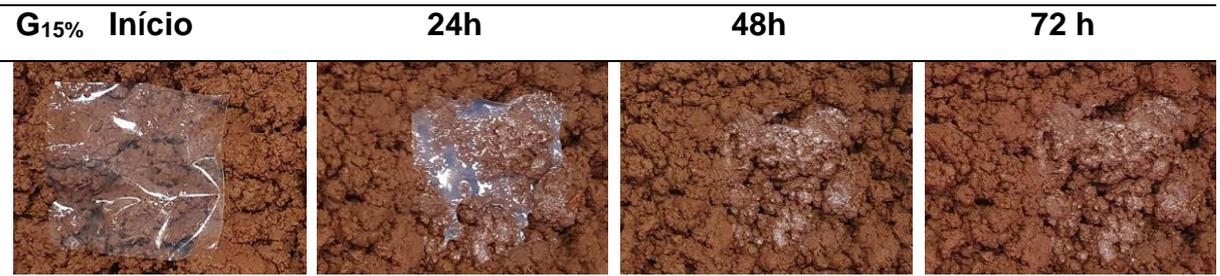
5.3.10.1 *Desintegração na superfície do solo natural*

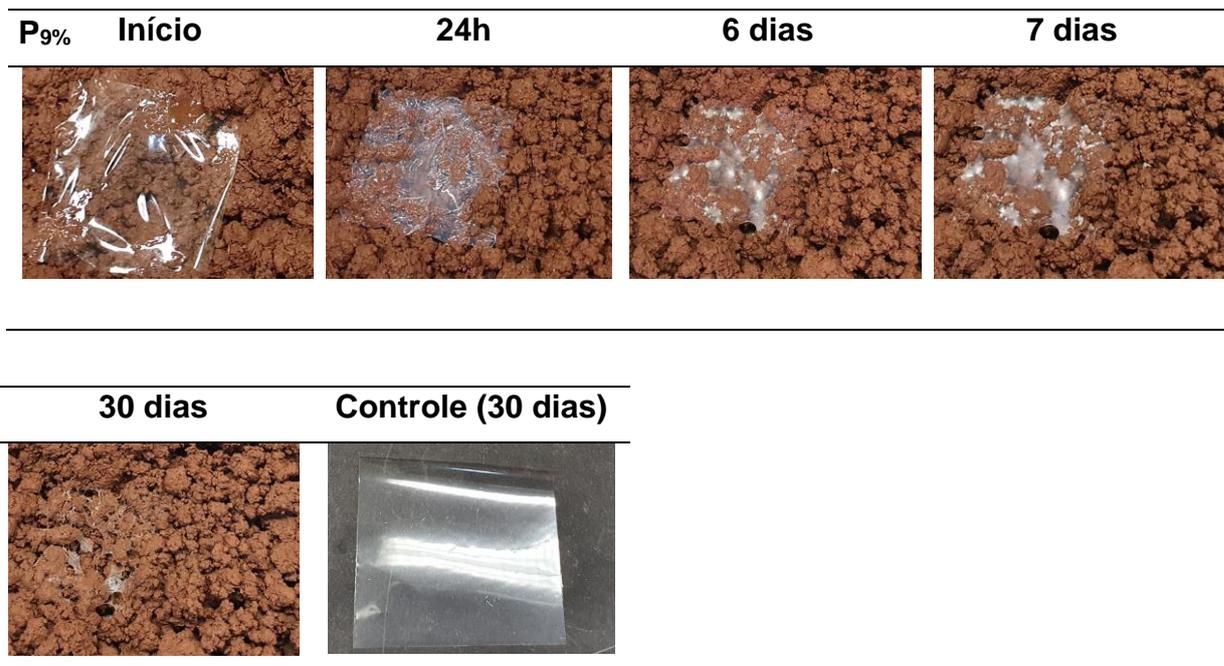
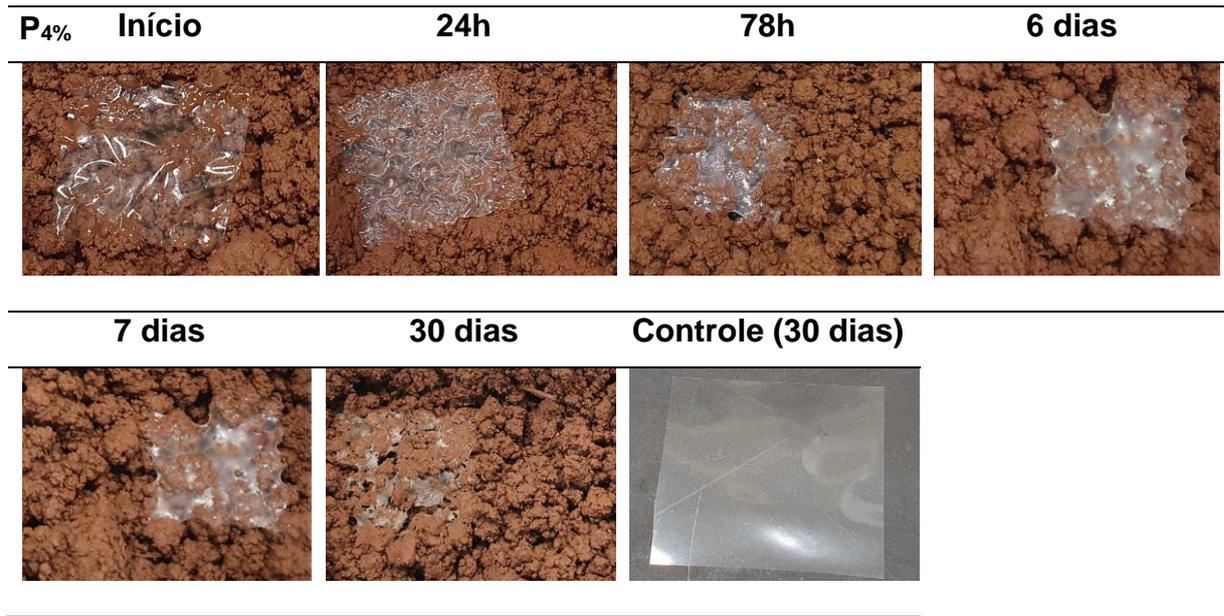
A biodegradação ocorre como resultado da ação de enzimas e/ou deterioração química associada a organismos vivos, bactérias ou fungos (OYEOKA *et al.*, 2021; USMAN *et al.*, 2022). Isso geralmente é seguido pela assimilação dos fragmentos de polímero por microrganismos e sua mineralização, durante a qual eles formam dióxido de carbono, água, metano, biomassa e sais minerais (Ghasemlou *et al.*, 2022). Porém, a *International Standard Organization* (ISO) e a *American Standard for Testing Materials* (ASTM) a designam de forma diferente. De acordo a ISO, qualquer substância é considerada biodegradável se sua massa inicial for reduzida em 90 % após seis meses sob condições de compostagem a 58 °C, porém, a ASTM descreve redução de 60 % para homopolímeros e redução de 90 % para misturas no período de 180 dias (ASTM, 2003; ISO, 2012; USMAN *et al.*, 2022).

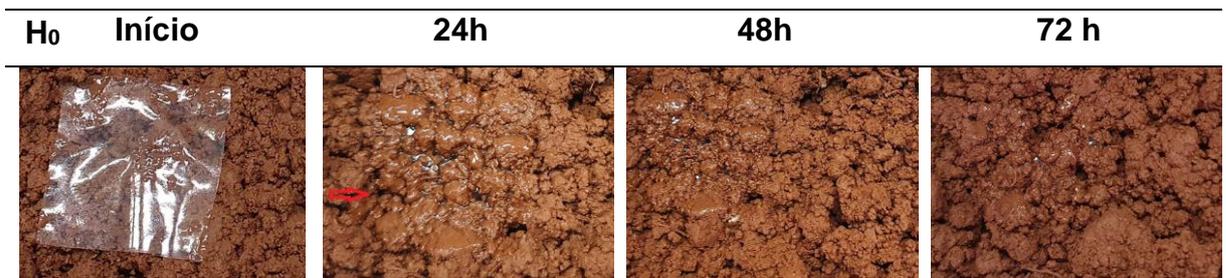
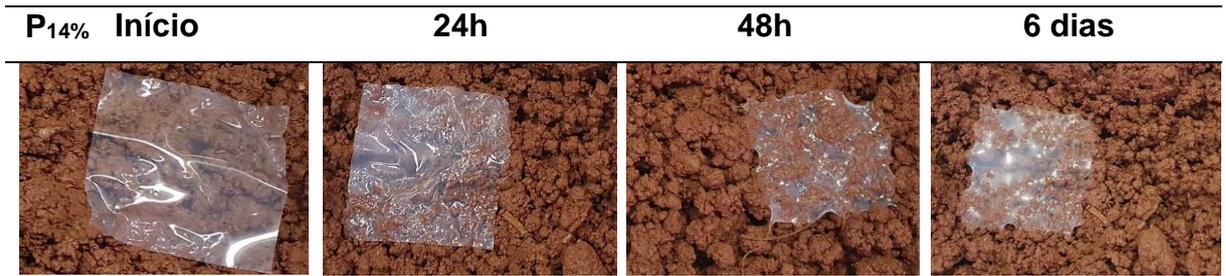
A biodegradabilidade do filme de embalagem é sempre desejável, sendo um processo natural de importância para nutrientes e reciclagem de energia. Para investigar a biodegradabilidade dos resíduos de filmes à base de gelatina, pectina e HPMC, primeiramente foram colocados sobre o solo natural, com umidade e temperatura controlados, e suas alterações foram registradas para avaliar o potencial de desintegração de cada amostra de filme. A umidade do solo foi mantida a 35 %, próxima às condições reais de campo, pois representa melhor a umidade do solo em diferentes ambientes onde a maioria dos resíduos plásticos se acumulam. As amostras foram observadas e fotografadas diariamente, mas as imagens representadas na Figura 24 foram as que apresentaram diferença significativa na aparência.

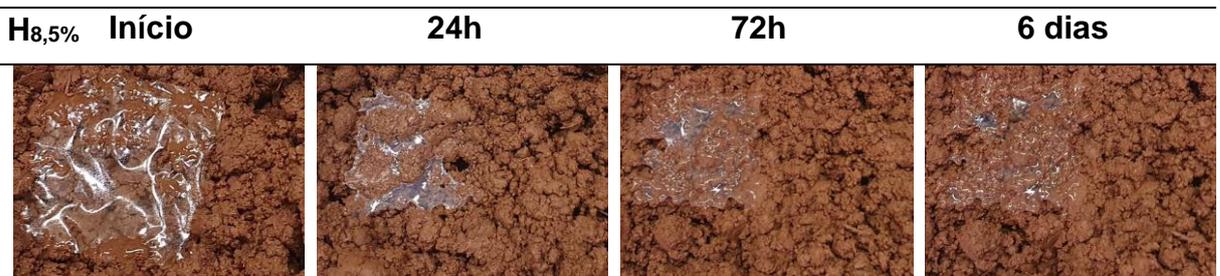
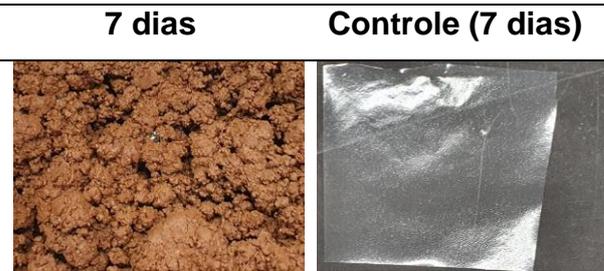
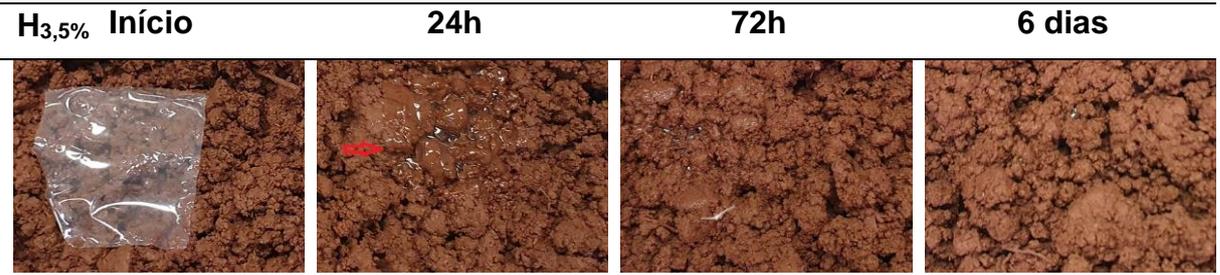
Figura 24 – Imagens capturadas para observar o potencial de desintegração de cada amostra de filme na superfície do solo

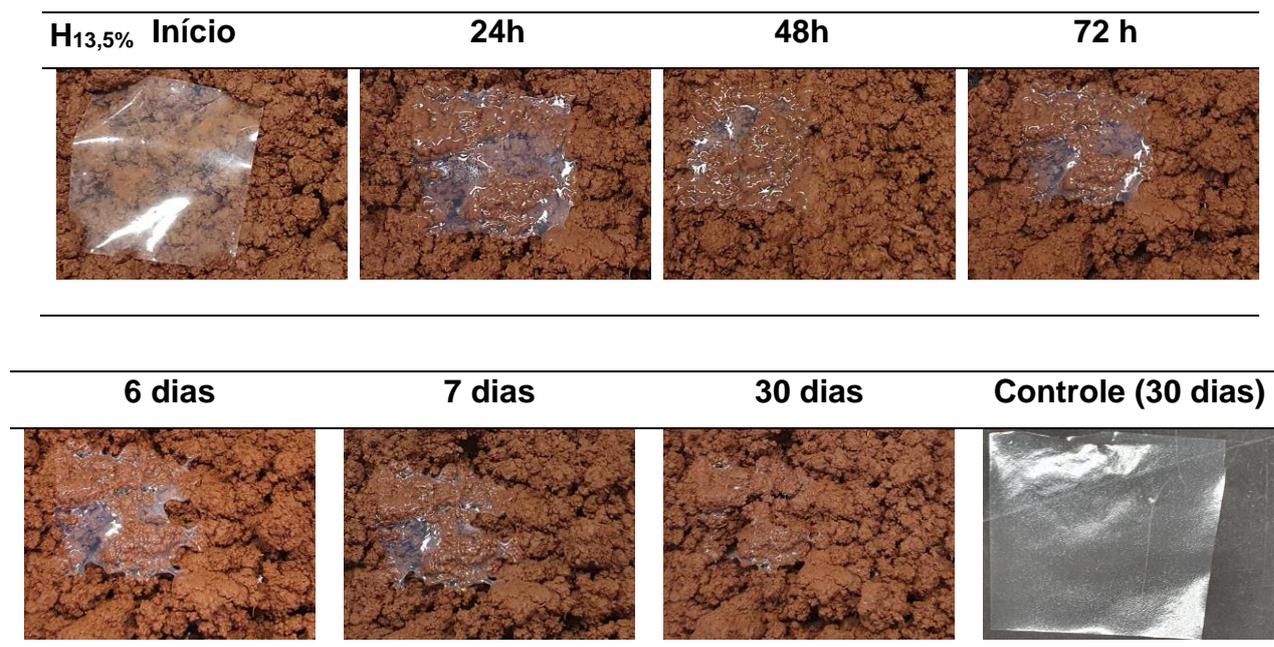












Fonte: autoria própria.

Os testes de desintegração na superfície do solo foram estudados por 30 dias, e as amostras que não desintegraram por completo neste teste foram também submetidas à análise de desintegração em compostagem, para assim avaliar o método de desintegração mais satisfatório. Todos os filmes sintetizados neste trabalho foram caracterizados quanto ao potencial de biodegradação em solo natural.

O filme G₀ foi desintegrado completamente em 48 h, enquanto os resíduos de filmes bionanocompósitos à base de gelatina perduraram dias para a completa decomposição. Os filmes G_{5%} e G_{15%} desintegraram em 7 dias, enquanto G_{10%} foi por 30 dias. Todas as amostras à base de gelatina mostraram-se biodegradáveis. No estágio inicial do processo de biodegradação, os filmes residuais à base de gelatina gradualmente absorvem água do solo natural e a ponte de hidrogênio da matriz é parcialmente destruída, resultando em um estado de intumescimento. A microflora mista presente no solo natural adere gradativamente à superfície desses filmes. Por fim, a microflora mista aderida realiza um processo de ataque lento nos filmes até que sejam completamente consumidos (CHEN *et al.*, 2022).

Já os filmes à base de pectina foram mais resistentes ao processo de desintegração no solo natural. Pode ser facilmente visualizado, na Figura 24, que todas as amostras, após 30 dias, não foram desintegradas completamente. A

amostra P_{14%} foi ainda mais resistente aos ataques dos microrganismos presentes no solo, em relação à P₀, P_{4%} e P_{9%}, devido a permanência de fragmentos residuais.

Os filmes à base de HPMC são mais biodegradáveis em solo natural em relação aos filmes de pectina e assemelham-se aos de gelatina. As amostras H₀ e H_{3,5%} foram completamente desintegradas em 7 dias, enquanto as amostras de HPMC com incorporação de 8,5 % e 13,5 % em massa de NCCB desintegraram quase em sua totalidade em 30 dias, apresentando pouquíssimos resquícios de resíduos.

Vários fatores podem dificultar o processo de biodegradação dos materiais poliméricos. Dentre eles, pode-se citar a cristalinidade, polaridade, polarização interfacial, fatores bióticos e abióticos, etc. Regiões de polímeros mais organizadas (cristalinas) tendem a dificultar a hidrólise enzimática, pois as moléculas de água espalham com mais fluência entre as regiões amorfas, assim as proteínas catalíticas têm dificuldade em difundir nessas regiões (USMAN *et al.*, 2022). Os microrganismos degradadores dependem de uma superfície hidrofílica para aderir e catalisar a reação de despolimerização por meio de enzimas hidrolíticas (ABE; BRANCIFORTI; BRIENZO, 2021). A polarização interfacial também pode ocorrer devido ao acúmulo de portadores de carga produzidos, como íons, elétrons livres e prótons, na junção entre vários componentes nos bioplásticos, portanto, a instabilidade nas interações intermoleculares causa a fragmentação do bioplástico (ROHADI *et al.*, 2022). A população microbiana (fator biótico), bem como a degradação térmica, mecânica e química (fator abiótico) contribuem para os diferentes processos de degradação (ABE; BRANCIFORTI; BRIENZO, 2021).

Dentre as matrizes trabalhadas, a pectina é a matriz que apresentou estrutura molecular mais organizada, e à medida que foi inserindo NCCB, aumentou-se ainda mais a cristalinidade da estrutura do material composto, conforme o exposto na Tabela 5. Por isso, os bionanocompósitos à base de pectina foram os que exibiram maior resistência a desintegração.

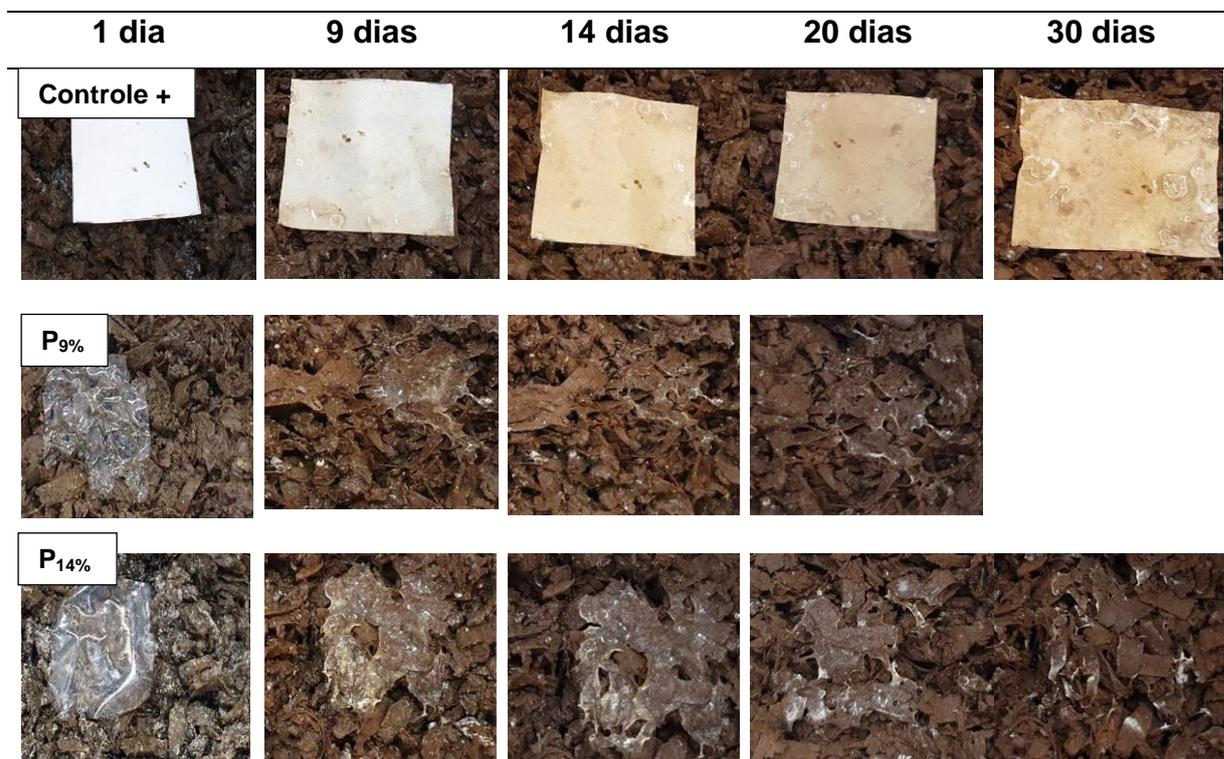
Embora a perda de massa, aparentemente, por degradação em 30 dias seja baixa para alguns bionanocompósitos, sua alta probabilidade de biodegradação completa é um excelente atributo para materiais de embalagem, especialmente para embalagens de alimentos para viagem, que escorregam facilmente dos pontos de descarte e sujam as ruas (OYEOKA *et al.*, 2021).

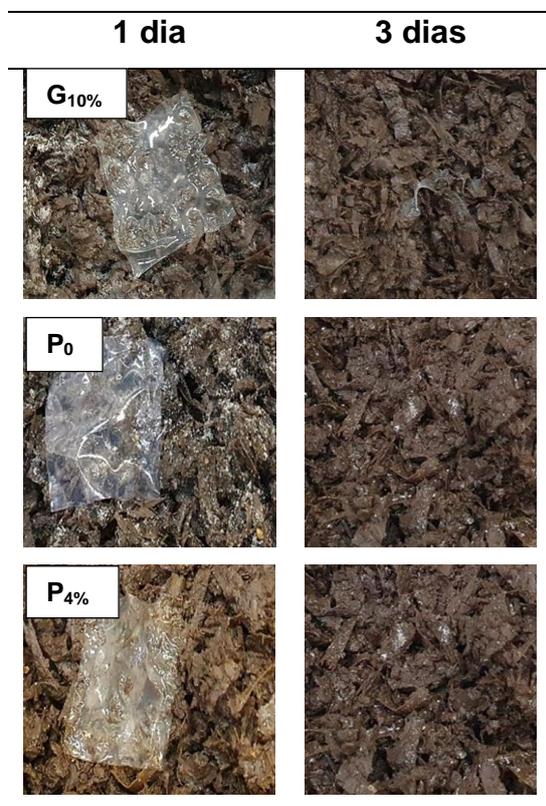
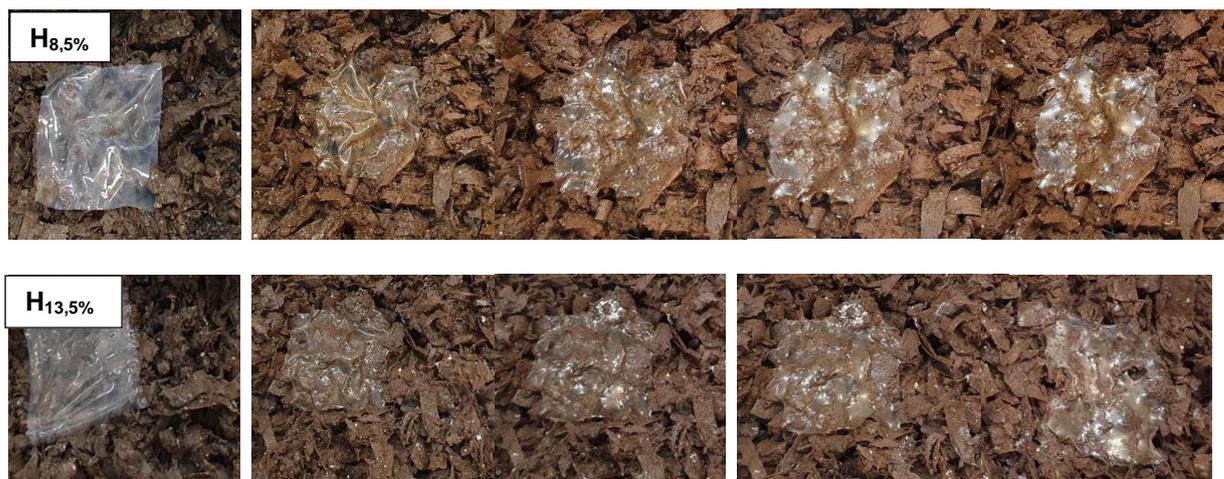
5.3.10.2 Desintegração de biopolímeros em compostagem

A biodegradação de biopolímeros em condições de compostagem segue duas etapas simultâneas, degradação hidrolítica seguida de biodegradação (assimilação microbiana) (KALITA *et al.*, 2021). E segundo Sánchez-Safont *et al.* (2016), compostagem de embalagens plásticas biodegradáveis parece ser uma das soluções mais promissoras para o gerenciamento de resíduos, dada a dificuldade de separar a fração orgânica dos resíduos urbanos.

As amostras de bionanocompósitos G_{10%}, P₀, P_{4%}, P_{9%}, P_{14%}, H_{8,5%} e H_{13,5%} também foram submetidas à desintegração em condições de compostagem, pois este procedimento pode ser mais eficiente devido à alteração de fatores bióticos e abióticos (temperatura 55 °C). A Figura 25 ilustra as imagens registradas nos tempos de 1, 3, 9, 14, 20 e 30 dias. Estas amostras foram escolhidas para tal análise devido ao tempo de desintegração ter ocorrido no tempo limite ou superior (30 dias) ao do estudo de desintegração dos bionanocompósitos na superfície do solo natural, nas seguintes condições: umidade 35 % a 30 °C.

Figura 25 – Desintegração por compostagem





Fonte: autoria própria.

As amostras G_{10%}, P₀, e P_{4%} desintegraram em apenas 3 dias de compostagem, enquanto a P_{9%} em 20 dias e P_{14%} em 30 dias com pouquíssimos resíduos. Para estas amostras, o método de desintegração em compostagem foi mais eficiente em relação ao solo natural. Portanto, o tempo de desintegração acelerada dos bionanocompósitos podem ser justificados pelo aumento da

população microbiana e temperatura do composto (que favorece o processo de desintegração) (ABE *et al.*, 2022).

Este método não foi vantajoso para as amostras H_{8,5%} e H_{13,5%}, pois os 30 dias não foram suficientes para completa desintegração. Logo, a desintegração no solo natural foi mais eficiente, pois em 30 dias restaram poucos fragmentos de filmes.

E após decorrido os 30 dias de compostagem, o controle positivo (papel sulfite) não apresentou perda de massa, apenas mudança de cor (amarelamento).

Todas as formulações de bionanocompósitos se desintegraram em tempo menor que o indicado pela norma ASTM 2003 e ISO 2012, adotando a técnica de compostagem, logo todos os bionanocompósitos são biodegradáveis. A técnica a adotar é a que apresenta ser mais conveniente para o material. Mas, normalmente a desintegração em compostagem é a mais efetiva.

Afinal, o desenvolvimento de filmes de baixo tempo de biodegradação/desintegração encurta o ciclo de vida dos materiais plásticos em aterros sanitários, minimizando assim seus impactos ambientais (ABE *et al.*, 2022).

6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que os NCCB foram distribuídos uniformemente nas soluções filmogênicas, corroborado principalmente pelas micrografias de superfície. O pH das soluções filmogênicas não foi alterado com incremento de NCs, porém devido à natureza química das matrizes os valores de pH foram distintos entre as soluções biopoliméricas, e isso possivelmente interferiu na resistência mecânica dos filmes. A viscosidade da solução de HPMC é muito superior em relação a solução da gelatina e pectina, e esse fator possivelmente propiciou aos biofilmes maior tenacidade. A adição de NCCB, no geral, alterou as propriedades mecânicas dos bionanocompósitos. A partir do valor da tenacidade obtido, constata-se que o percentual em massa de NCs calculado foi no limiar de percolação, logo os percentuais 10 %, 9 % e 8,5 % em massa são ideais para adicionar nas matrizes gelatina, pectina e HPMC, respectivamente. Valor superior de percentual em massa de NCs não altera significativamente as propriedades de forma geral, principalmente as mecânicas. É importante destacar que os nanocristais foram obtidos a partir de biomassa residual, seguindo as tendências da bioeconomia circular, e esse método pode potencialmente reduzir os custos de produção de embalagens. Os resultados obtidos têm implicações significativas nos esforços recentes da comunidade científica para progredir nos estudos, como um todo, e analisar se os plásticos convencionais podem ser substituídos por compósitos biodegradáveis, no ponto de vista econômico, já que no contexto ambiental é expressamente viável. E uma possível aplicabilidade, tomando como base os resultados das propriedades analisadas, seria usar os bionanocompósitos à base de HPMC, pois apresentaram respostas superiores nas caracterizações. Esses materiais poderiam ser utilizados como embalagens de produtos naturais liofilizados (condimentos, especiarias, grãos, frutos, etc.) a granel. Em sua grande maioria, os estabelecimentos fornecem aos clientes sacos plásticos transparentes para acondicionar seus produtos. Estes sacos podem ser substituídos pelas embalagens produzidas por nós nesse trabalho, uma vez que os filmes bionanocompósitos preparados com HPMC e NCs se mostraram bons em relação a barreira e apresentaram excelentes propriedades mecânicas e transparência.

7 IMPACTO/RELEVÂNCIA CIENTÍFICO-SOCIAL

Atualmente, existe a necessidade premente de produzir embalagens biodegradáveis para substituir as embalagens plásticas convencionais, a fim de reduzir os danos ambientais decorrentes do descarte desgovernado. A proposta aqui apresentada tem como objetivo estabelecer um método otimizado para desenvolver uma embalagem baseada em princípios sustentáveis, mantendo características semelhantes às tradicionais.

Não se espera eliminar completamente o uso de plástico no planeta, mas sim proporcionar aos consumidores opções conscientes ao adquirir produtos embalados de forma ecologicamente responsável. O projeto está alinhado com a demanda por novas embalagens destinadas a alimentos, visto que estimula pesquisas no campo das embalagens biodegradáveis, buscando atributos específicos e funcionais.

Adicionalmente, o projeto emprega resíduos provenientes da indústria farmacêutica como matéria-prima, o que também representa uma abordagem inovadora neste contexto. O projeto visa atender às necessidades e exigências dos mercados, concentrando-se na preocupação ambiental e na sustentabilidade.

É válido ressaltar que essa iniciativa contribuiu significativamente para o aprimoramento de minha formação acadêmica. Isso foi possível por meio da participação ativa no grupo de pesquisa GCNH – Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos – e no programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), localizada no Brasil.

POSSÍVEIS PUBLICAÇÕES

Artigo científico

Bacterial cellulose nanocrystals as reinforcement of biopolymers for films.

Anais de eventos científicos

COSTA, F. M. da; MOURA, M. R. de. Mechanical behavior of bionanocomposite films for packaging. *IV Brazilian Nanocellulose*, 2023, São Carlos/SP.

REFERÊNCIAS

Abe, M. M.; Branciforti, M. C.; Brienzo, M. (2021). Biodegradation of Hemicellulose-Cellulose-Starch-Based Bioplastics and Microbial Polyesters. *Recycling*, 6 (1), 22.

Abe, M. M.; Branciforti, M. C.; Montagnolli, R. N.; Morales, M. A. M.; Jacobus, A.P.; Brienzo, M. (2022). Production and assessment of the biodegradation and ecotoxicity of xylanand starch-based bioplastics. *Chemosphere*, 287, 132290.

Agarwal, S. (2021). Major factors affecting the characteristics of starch based biopolymer films. *European Polymer Journal*, 160, 110788.

Ahmad, A.; Qurashi, A. Q.; Sheehan, D. (2023). Nano packaging – Progress and future perspectives for food safety, and Sustainability. *Food Packaging and Shelf Life*, 35, 100997.

Akhila, K.; Ramakanth, D.; Rao, L. L.; Gaikwad, K. K. (2023). UV-blocking biodegradable film based on flaxseed mucilage/pectin impregnated with titanium dioxide and calcium chloride for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 239, 124335.

Ali, H. U.; Iqbal, D. N.; Iqbal, M.; Ezzine, S.; Arshad, A.; Zeeshan, R.; Chaudhry, A. A.; Alshawwa, S. Z.; Nazir, A.; Khan, A. F. (2022). HPMC crosslinked chitosan/hydroxyapatite scaffolds containing Lemongrass oil for potential bone tissue engineering applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 15,103850.

Arserim-Uçara, D. K.; Korel, F.; Liu, LS.; Yam, K. T. (2021). Characterization of bacterial cellulose nanocrystals: Effect of acid treatments and neutralization. *Food Chemistry*, 336, 127597.

ASTM. (2003). D5338 - Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions. <https://compass.astm.org/document/?contentCode=ASTM%7CD5338-98R03%7Cen->

US&proxycl=https%3A%2F%2Fsecure.astm.org&fromLogin=true. Acessado
01/07/23.

ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96–95).
Journal of Testing and Evaluation, 26(2), 83–88.

Benito-González, I.; Ortiz-Gimeno, M. del M.; López-Rubio, A.; Martínez-Abad, A.; Garrido-Fernández, A.; Martínez-Sanz, M. (2022). Sustainable starch biocomposite films fully-based on white rice (*Oryza sativa*) agroindustrial byproducts. *Food and Bioproducts Processing*, 136, 47–58.

Bergo, P.; Moraes, I. C. F.; Sobral, P. J. A. (2013). Effects of plasticizer concentration and type on moisture content in gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 32, 412–415.

Boeira, C. P.; Flores, D. C. B., Alves, J. dos S.; Moura, M. R. de; Melo, P. T. S.; Rolim, C. M. B.; Nogueira-Librelo, D. R.; Rosa, C. S. da. (2022). Effect of corn stigma extract on physical and antioxidant properties of biodegradable and edible gelatin and corn starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 208, 698–706.

Buruaga-Ramiro, C.; Fernández-Gándara, N.; Cabañas-Romero, L. V.; Valenzuela, S. V.; Pastor, F. I. J.; Diaz, P.; Martinez, J. (2022). Lytic polysaccharide monooxygenases and cellulases on the production of bacterial cellulose nanocrystals. *European Polymer Journal*, 163, 110939.

Callejas-Quijada, G.; Chavarría-Hernández, N.; López-Cuellar, M.-d-R.; Zepeda-Bastida, A.; Rodríguez-Hernández, A.-I. (2023). Films of biopolymers, pectin and gellan, enriched with natamycin and clove essential oils for the packaging of Corn tortilla: Protection against *Staphylococcus aureus* and *Candida parapsilosis*. *Food Microbiology*, 110, 104156.

Candido, G. S.; Natarelli, C. V. L.; Carvalho, E. E. N.; Oliveira, J. E. (2022). Bionanocomposites of pectin and pracaxi oil nanoemulsion as active packaging for butter. *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100862.

Candra, A.; Tsai, H-C.; Saragi, I. R.; Hu, C-C.; Yu, W-T.; Krishnamoorthi, R.; Hong, Z-X.; Lai, J-Y. (2023). Fabrication and characterization of hybrid eco-friendly high methoxyl pectin/gelatin/TiO₂/curcumin (PGTC) nanocomposite biofilms for salmon fillet packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 232, 123423.

Chaudhary, B. U.; Lingayat, S.; Banerjee, A. N.; Kale, R. D. (2021). Development of multifunctional food packaging films based on waste Garlic peel extract and Chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 479–490.

Chawla, P.; Sridhar, K.; Kumar, A.; Sarangi, P.K.; Bains, A.; Sharma, M. (2023). Production of nanocellulose from corn husk for the development of antimicrobial biodegradable packaging film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 124805.

Chen, L.; Qiang, T.; Chen, X.; Ren, W.; Zhang, H. J. (2022). Gelatin from leather waste to tough biodegradable packaging film: One valuable recycling solution for waste gelatin from leather industry. *Waste Management*, 145, 10–19.

Chen, L.; Qiang, T.; Ren, W.; Tian, Q.; Zhang, X.; Zhang, H. J. (2023). Strong, water-repellent, and recyclable gelatin-based bioplastic film as sustainable express packaging film. *Journal of Cleaner Production*, 385, 135705.

Chen, Q.; Xiong, J.; Chen, G.; Tan, T. (2020). Preparation and characterization of highly transparent hydrophobic nanocellulose film using corn husks as main material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 781-789.

Debnath, B.; Duarah, P.; Haldar, D.; Purkait, M. K. (2022). Improving the properties of corn starch films for application as packaging material via reinforcement with

microcrystalline cellulose synthesized from elephant grass. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100937.

Derraik, J. G. B. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 44(9), 842–852.

Dharini, V.; Selvam, S. P.; Jayaramudu, J.; Emmanuel, R. S. (2022). Functional properties of clay nanofillers used in the biopolymer-based composite films for active food packaging applications – Review. *Applied Clay Science* 226, 106555.

Dharmalingam, K.; Anandalakshmi, R. (2019). Fabrication, characterization and drug loading efficiency of citric acid crosslinked NaCMC-HPMC hydrogel films for wound healing drug delivery applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 815–829.

Dos Santos, V. S.; Lorevice, M.V.; Baccarin, G. S.; Da Costa, F. M.; Fernandes, R. da S.; Aouada, F. A.; De Moura, M. R. (2023). Combining Chitosan Nanoparticles and Garlic Essential Oil as Additive Fillers to Produce Pectin-Based Nanocomposite Edible Films. *Polymers*, 15, 2244.

Du, Y.; Hou, X.; Zhao, J.; Yuan, X. (2020). Effect of neutralization on physicochemical/mechanical properties of hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate. *Materials Chemistry and Physics*, 249, 122963.

Ezati, P.; Khan, A.; Priyadarshi, R.; Bhattacharya, T.; Tammina, S. K.; Rhim, J-W. (2023). Biopolymer-based UV protection functional films for food packaging. *Food Hydrocolloids*, 142, 108771.

FDA. (2012). Part 184 – direct food substances affirmed as generally recognized as safe. Washington, D. C.: Food and Drug Administration.

Feng, L.; Zhang, M.; Hua, Y.; Zhu, P.; Tang, Y. (2023). Enhanced mechanical and thermal properties while maintaining transparency of epoxy resin film by introducing shear-oriented cellulose nanocrystals. *Progress in Organic Coatings*, 182, 107683.

Fernández-Santos, J.; Valls, C.; Cusola, O.; Roncero, M. B. (2022). Composites of cellulose nanocrystals in combination with either cellulose nanofibril or carboxymethylcellulose as functional packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 211, 218–29.

Fletcher, N.; Bartholomaeus, A. (2011). Regulation of Nanotechnologies in Food in Australia and New Zealand. *International Food Risk Analysis Journal*, 1 (2), 33–40.

Freitas, P. A. V.; Oliveira, T. V. de; Silva, R. R. A.; Moraes, A. R. F.; Pires, A. C. dos S.; Soares, R. R. A.; Junior, N. S.; Soares, N. F. F. (2020). Effect of pH on the intelligent film-forming solutions produced with red cabbage extract and hydroxypropylmethylcellulose. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100604.

Gars, M. L.; Bras, J.; Salmi-Mani, H.; Ji, M.; Dragoe, D.; Faraj, H.; Domenek, S.; Belgacem, N.; Roger, P. (2020). Polymerization of glycidyl methacrylate from the surface of cellulose nanocrystals for the elaboration of PLA-based nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 234, 115899.

Gedarawatte, S. T. G.; Ravensdale, J. T.; Johns, M. L.; Li, M.; Al-Salami, H.; Dykes, G. A.; Ranil, C. (2022). Evaluation of the water-holding and anti-spoilage effect of a bacterial cellulose nanocrystal coating for the storage of vacuum-packaged beef. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, 100818.

Ghasemlou, M.; Daver, F.; Murdoch, B. J.; Ball, A. S.; Ivanova, E. P.; Adhikari, B. (2022). Biodegradation of novel bioplastics made of starch, polyhydroxyurethanes and cellulose nanocrystals in soil environment. *Science of the Total Environment*, 815, 152684.

Gomri, C.; Cretin, M.; Semsarilar, M. (2022). Recent progress on chemical modification of cellulose nanocrystal (CNC) and its application in nanocomposite films and membranes – A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers*, 294,119790.

Guo, Z.; Wu, S.; Lin, J.; Zheng, H.; Lei, H.; Yu, Q.; Jiang, W. (2023). Active film preparation using pectin and polyphenols of watermelon peel and its applications for super-chilled storage of chilled mutton. *Food Chemistry*, 417, 135838.

Gupta, R. K.; Guha, P.; Srivastav, P. P. (2022). Natural polymers in biodegradable/edible film: A review on environmental concerns, cold plasma technology and nanotechnology application on food packaging- A recent trends. *Food Chemistry Advances*, 1, 100135.

Hadimani, S.; Supriya, D.; Roopa, K.; Soujanya, S. K.; Rakshata, V.; Netravati, A.; Akshayakumar, V.; De Britto, S.; Jogaiah, S. (2023). Biodegradable hybrid biopolymer film based on carboxy methyl cellulose and selenium nanoparticles with antifungal properties to enhance grapes shelf life. *International Journal of Biological Macromolecules*, 237, 124076.

Hanani, Z. A. N.; O'Mahony, J. A.; Roos, Y. H.; Oliveira, P. M.; Kerry, J.P. (2014). Extrusion of gelatin-based composite films: Effects of processing temperature and pH of film forming solution on mechanical and barrier properties of manufactured films. *Food packaging and shelf life*, 2, 91–101.

Hsieh, P-C.; Chien, H-W. (2023). Biomimetic surfaces: Insights on the role of surface topography and wetting properties in bacterial attachment and biofilm formation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 228, 113389.

ISO. (2012). ISO 14855–1:2012 Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions - Method by analysis of evolved carbon dioxide - Part 1: General method.

Jamróz, E.; Tkaczewska, J.; Juszczyk, L.; Zimowska, M.; Kawecka, A.; Krzysciak, P.; Skóra, M. (2022). The influence of lingonberry extract on the properties of novel, double-layered biopolymer films based on furcellaran, CMC and a gelatin hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 124, 107334.

Jayaramudu, T.; Varaprasad, K.; Pyarasani, R. D.; Reddy, K. K.; Akbari-Fakhrabadi, A.; Carrasco-Sanchez, V.; Amalraj, J. (2021). Hydroxypropyl methylcellulose-copper nanoparticle and its nanocomposite hydrogel films for antibacterial application. *Carbohydrate Polymers*, 254, 117302.

Jiménez, A.; Fabra, M. J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012). Influence of hydroxypropylmethylcellulose addition and homogenization conditions on properties and ageing of corn starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 89, 676–686.

Jovanovic, J.; Cirkovic, J.; Radojkovic, A.; Mutavdzic, D.; Tanasijevic, G.; Joksimovic, K.; Bakic, G.; Brankovic, G.; Brankovic, Z. (2021). Chitosan and pectin-based films and coatings with active components for application in antimicrobial food packaging. *Progress in Organic Coatings*, 106349.

Kalita, N. K.; Damare, N. A.; Hazarika, D.; Bhagabati, P.; Kalamdhad, A.; Katiyar, V. (2021). Biodegradation and characterization study of compostable PLA bioplastic containing algae biomass as potential degradation accelerator. *Environmental Challenges*, 3, 100067.

Kowalczyk, D.; Baraniak, B. (2011). Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. *Journal of Food Engineering*, 105, 295–305.

Kumar, S.; Reddy, A. R. L.; Basumatary, I. B.; Nayak, A.; Dutta, D.; Konwar, J.; Purkayastha, M. D.; Mukherjee, A. (2023). Recent progress in pectin extraction and their applications in developing films and coatings for sustainable food packaging: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 239, 124281.

Lee, J. H.; Jeong, D.; Kanmani, P. (2019). Study on physical and mechanical properties of the biopolymer/silver based active nanocomposite films with antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 224, 115159.

Leite, L. S. F.; Ferreira, C. M.; Correa, A. C.; Moreira, F. K. V.; Mattoso, L. H. C. (2020). Scaled-up production of gelatin-cellulose nanocrystal bionanocomposite films by continuous casting. *Carbohydrate Polymers*, 238.

Li, H.; Zhou, J.; Zhao, J.; Li, Y.; Lu, K. (2020). Synthesis of cellulose nanocrystals- armored fluorinated polyacrylate latexes via Pickering emulsion polymerization and their film properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 192, 111071.

Li, Y.; Shan, P.; Yu, F.; Li, H.; Peng, L. (2023). Fabrication and characterization of waste fish scale-derived gelatin/sodium alginate/carvacrol loaded ZIF-8 nanoparticles composite films with sustained antibacterial activity for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. 230, 123192.

Lin, L.; Mei, C.; Shi, C.; Li, C.; Abdel-Samie, M.A.; Cui, H. (2023). Preparation and characterization of gelatin active packaging film loaded with eugenol nanoparticles and its application in chicken preservation. *Food Bioscience*, 53, 102778.

Lin, X.; Chen, S.; Wang, R.; Li, C.; Wang, L. (2023). Fabrication, characterization and biological properties of pectin and/or chitosan-based films incorporated with noni (*Morinda citrifolia*) fruit extract. *Food Hydrocolloids*, 134, 108025.

Luo, Q., Hossen, M. A., Zeng, Y., Dai, J., Li, S., Qin, W., Liu, Y. (2022). Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review. *Journal of Food Engineering*, 313, 110762.

Luo, Y.; Wang, Q.; Zhang, Y. (2020). Biopolymer-based nanotechnology approaches to deliver bioactive compounds for food applications: A perspective on the past, present, and future. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68 (46), 12993–13000.

Mabrouk, A. B.; Dufresne, A.; Boufi, S. (2020). Cellulose nanocrystal as ecofriendly stabilizer for emulsion polymerization and its application for waterborne adhesive. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115504.

Majeed, T.; Dar, A. H.; Pandey, V. K.; Dash, K. K.; Srivastava, S.; Shams, R.; Jeevarathinam, G.; Singh, P.; Echegaray, N.; Pandiselvam, R. (2023). Role of additives in starch-based edible films and coating: A review with current knowledge. *Progress in Organic Coatings*, 181, 107597.

Malik, G. K.; Mitra, J.; Kaushal, M. (2023). Rheology of nano ZnO - Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) based suspensions and structural properties of resulting films. *Journal of Food Engineering*, 337, 111187.

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

MELO, P. T. S. **Nanocristais obtidos de resíduos industriais de celulose bacteriana aplicados como agente de reforço em filmes biopoliméricos**. 2021. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais). Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual de São Paulo, Ilha Solteira, 2021.

Melo, P. T. S.; Otoni, C. G.; Barud, H. S.; Aouada, F. A.; De Moura, M. R. (2020). Upcycling Microbial Cellulose Scraps into Nanowhiskers with Engineered Performance as Fillers in All-Cellulose Composites. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12, 46661–46666.

Moreira, F. K. V.; De Camargo, L. A.; Marconcini, J. M.; Mattoso, L. H. C. (2013). Nutraceutically Inspired Pectin–Mg(OH)₂ Nanocomposites for Bioactive Packaging Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 7110–7119.

Moura, M. R. de; Lorevice, M. V.; Mattoso, L. H. C.; Zucolotto, V. (2011). Highly Stable, Edible Cellulose Films Incorporating Chitosan Nanoparticles. *Journal of food Science*, 76, 25–29.

Nascimento, E. S.; Barros, M. O.; Cerqueira, M. A.; Lima, H. L.; Borges, M. de F.; Pastrana, L. M.; Gama, F. M.; Rosa, M. F.; Azeredo, H. M. C.; Gonçalves, C. (2021). All-cellulose nanocomposite films based on bacterial cellulose nanofibrils and nanocrystals. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100715.

Nuvoli, L.; Conte, P.; Fadda, C.; Ruiz, J. A. R.; García, J. M.; Baldino, S.; Mannu, A. (2021). Structural, thermal, and mechanical properties of gelatin-based films integrated with tara gum. *Polymer*, 214, 123244.

Owusu-Ware, S. K.; Boateng, J. S.; Chowdhry, B. Z.; Antonijevic, M. D. (2019). Glassy state molecular mobility and its relationship to the physicomechanical properties of plasticized hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) films. *International Journal of Pharmaceutics: X*, 1, 100033.

Oyekanmi, A. A.; Abdul Khalil, H. P. S.; Rahman, A. A.; Mistar, E. M.; Olaiya, N.G.; Alfatah, T.; Yahya, E. B.; Mariana, M.; Hazwan, C.M.; Abdullah, C. K. (2021). Extracted supercritical CO₂ cinnamon oil functional properties enhancement in cellulose nanofibre reinforced Eucheima cottoni biopolymer films. *Journal of Materials research and technology*, 15, 4293–4308.

Oyeoka, H. C.; Ewulonu, C. M.; Nwuzor, I. C.; Obele, C. M.; Nwabanne, J. T. (2021). Packaging and degradability properties of polyvinyl alcohol/gelatin nanocomposite films filled water hyacinth cellulose nanocrystals. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6, 168–185.

Pitpisutkul, V.; Prachayawarakorn, J. (2022). Hydroxypropyl methylcellulose/carboxymethyl starch/zinc oxide porous nanocomposite films for wound dressing application. *Carbohydrate Polymers*, 298, 120082.

Rana, A. K.; Frollini, E.; Thakur, V. K. (2021). Cellulose nanocrystals: Pretreatments, preparation strategies, and surface functionalization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1554 – 1581.

Rania, N. S.; Manjunatha, M. S.; Sannappa, J.; Demappa, T. (2018). Studies of Hydrogen Bond between HPMC Doped CdCl₂ Polymer using FTIR Technique. *Materials Today: Proceedings*, 5, 22543–22546.

Razavi, M. S.; Golmohammadi, A.; Nematollahzadeh, A.; Fiori, F.; Rovera, C.; Farris, S. (2020). Preparation of cinnamon essential oil emulsion by bacterial cellulose nanocrystals and fish gelatin. *Food Hydrocolloid*, 109, 106111.

Regina, S.; Poerio, T.; Mazzei, R.; Sabia, C.; Iseppi, R.; Giorno, L. (2022). Pectin as a non-toxic crosslinker for durable and water-resistant biopolymer-based membranes with improved mechanical and functional properties. *European Polymer Journal*, 72, 111193.

Ren, W.; Luo, C.; Huang, Y.; Li, S.; Xu, X.; Gan, J.; Liu, J.; Zhao, Z.; Zou, C.; Ling Zhao, L.; Liu, B.; Qiu, F.; Li, X.; Wang, M.; Guo, B. (2023). Hydroxypropylmethylcellulose: Functional material carrier for in-situ solid electrolyte engineering of advanced lithium metal batteries. *Energy Storage Materials*, 59, 102777.

Ren, W.; Qiang, T.; Chen, L. (2022). Recyclable and biodegradable pectin-based film with high mechanical strength. *Food Hydrocolloids*, 129, 107643.

Riahi, Z.; Hong, S. J.; Rhim, J-W.; Shin, G. H.; Kim, J. T. (2023) High-performance multifunctional gelatin-based films engineered with metal-organic frameworks for active food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 144, 108984.

Rohadi, T. N. T.; Ridzuan, M. J. M.; Majid, M. S. A.; Sulaiman, M. H. (2022). Biodegradability of bioplastic film using diferent regions of *Pennisetum purpureum*

incorporated with gelatine and chitosan. *International Journal of Environmental Science and Technology*.

Roy, S.; Priyadarshi, R.; Łopusiewicz, Ł.; Biswas, D.; Chandel, V.; Rhim, J-W. (2023). Recent progress in pectin extraction, characterization, and pectin-based films for active food packaging applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 239, 124248.

Sa, B.; Mukherjee, S.; Roy, S. K. (2019). Effect of polymer concentration and solution pH on viscosity affecting integrity of a polysaccharide coat of compression coated tablets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 922–930.

Sanches, A. O.; Ricco, L. H. S.; Malmonge, L. F.; Silva, M. J. da; Sakamoto, W. K.; Malmonge, J. A. (2014). Influence of cellulose nanofibrils on soft and hard segments of polyurethane/cellulose nanocomposites and effect of humidity on their mechanical properties. *Polymer Testing*, 40, 99–105.

Sánchez-Safont, E. L.; González-Ausejo, J.; Gámez-Pérez, J.; Lagarón, J. M.; Cabedo, L. (2016). Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate)/ Purified Cellulose Fiber Composites by Melt Blending: Characterization and Degradation in Composting Conditions. *Journal of Renewable Materials*, 4 (2), 123–132.

Sani, I. K.; Masoudpour-Behabadi, M.; Sani, M. A.; Motalebinejad, H.; Juma, A. S. M.; Asdagh, A.; Eghbaljoo, H.; Khodaei, S. M.; Rhim, J-W.; Mohammadi, F. (2023). Value-added utilization of fruit and vegetable processing by-products for the manufacture of biodegradable food packaging films, Review. *Food Chemistry*, 405, 134964.

Souza, Sérgio Augusto de. Ensaio mecânicos de materiais metálicos - Fundamentos teóricos e práticos. São Paulo, Edgard Blucher, 1982.

Suma, S. B.; Sangappa, Y. (2022). Optical, mechanical and electrical properties of HPMC-AuNPs nanocomposite films. *Materials Today: Proceedings*, 66, 2075 – 2079.

Sun, J.; Wei, Z.; Xue, C. (2023). Preparation and characterization of multifunctional films based on pectin and carboxymethyl chitosan: Forming microchambers for high-moisture fruit preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 37, 101073.

Sun, Y.; Liu, Z.; Zhang, L.; Wang, X.; Li, L. (2020). Effects of plasticizer type and concentration on rheological, physico-mechanical and structural properties of chitosan/zein film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 334–340.

Tan, Y.; Zi, Y.; Peng, J.; Shi, C.; Zheng, Y.; Zhong, J. (2023). Gelatin as a bioactive nanodelivery system for functional food applications. *Food Chemistry*, 423, 136265.

Tien, N. N. T.; Nguyen, H. T.; Le, N. L.; Khoi, T. T.; Richel, A. (2023). Biodegradable films from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel pectin and potato starches crosslinked with glutaraldehyde. *Food Packaging and Shelf Life*, 37, 101084.

Tyuffin, A. A.; Kerry, J. P. (2021). Gelatin films: Study review of barrier properties and implications for future studies employing biopolymer films. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100688.

Usman, A.; Khan, M. K. I.; Maan, A. A.; Nazir, A.; Riaz, S.; Khan, M. U.; Sultan, M.; Munekeata, P. E. S.; Lorenzo, J. M. (2022). Biodegradable active, intelligent, and smart packaging materials for food applications - Review. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100903.

Vasconcelos, N. F.; Feitosa, J. P. A.; Da Gama, F. M. P.; Morais, J. P. S.; Andrade, F. K. A.; Souza Filho, M. de S. M.; Rosa, M. de F. (2017). Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features. *Carbohydrate Polymers*, 155, 425–431.

Vianna, T. C.; Marinho, C. O.; Júnior, L. M.; Ibrahim, S. A.; Vieira, R. P. (2021). Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1803–1819.

Wang, J.; Euring, M.; Ostendorf, K.; Zhang, K. (2022). Biobased materials for food packaging. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 7, 1–13.

Wang, L.; Auty, M. A. E.; Rau, A.; Kerry, J. F.; Kerry, J. P. (2009). Effect of pH and addition of corn oil on the properties of gelatin-based biopolymer films. *Journal of Food Engineering*, 90, 11–19.

Wang, P.; Fei, P.; Zhou, C.; Hong, P. (2021). Stearic acid esterified pectin: Preparation, characterization, and application in edible hydrophobic pectin/chitosan composite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186, 528–534.

Wang, Q.; Cao, J.; Yu, H.; Zhang, J.; Yuan, Y.; Shen, X.; Li, C. (2019). The effects of EGCG on the mechanical, bioactivities, cross-linking and release properties of gelatin film. *Food Chemistry*, 271, 204–210.

Xue, W.; Zhu, J.; Sun, P.; Yang, F.; Wu, H.; Li, W. (2023). Permeability of biodegradable film comprising biopolymers derived from marine origin for food packaging application: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 136, 295–307.

Yang, J.; Saqib, M. N.; Liu, F.; Zhong, F. (2023). Bacterial cellulose nanocrystals with a great difference in aspect ratios: A comparison study of their reinforcing effects on properties of the sodium alginate film. *Food Hydrocolloids*, 141, 108676.

Yao, L.; Man, T.; Xiong, X.; Wang, Y.; Duan, X.; Xiong, X. (2023) HPMC films functionalized by zein/carboxymethyl tamarind gum stabilized Pickering emulsions: Influence of carboxymethylation degree. *International Journal of Biological Macromolecules*, 238, 124053.

Yeddes, W.; Djebali, K.; Wannas, W. A.; Horchani-Naifer, K.; Hammami, M.; Younes, I.; Tounsi, M. S. (2020). Gelatin-chitosan-pectin films incorporated with rosemary

essential oil: Optimized formulation using mixture design and response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 92–103.

Zhang, T.; Xu, J.; Zhang, Y.; Wang, X.; Lorenzo, J. M.; Zhong, J. (2020). Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. *Trends in Food Science & Technology*, 160, 113–131.

Zhong, Y.; Zhang, T.; Zhang, W.; Wang, G.; Zhang, Z.; Zhao, P.; Liu, X.; Li, H. (2023). Antibacterial castor oil-based waterborne polyurethane/gelatin films for packaging of strawberries. *Food Packaging and Shelf Life*, 36, 101055.