



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



**Desenvolvimento de revestimentos bioativos comestíveis a base de
quitosana /nanoZnO para aplicação em indústria de alimentos**

Alinne Araujo Demetrio

Recife
2015

Alinne Araujo Demetrio

Desenvolvimento de revestimentos bioativos comestíveis a base de quitosana/nanoZnO para aplicação em indústria de alimentos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR/A: Dra. Andrelina Maria Pinheiro Santos

CO-ORIENTADOR/A: Dra. Enayde de Almeida Melo

Recife
2015

Ficha Catalográfica

D377d Demetrio, Alinne Araujo
Desenvolvimento de revestimentos bioativos comestíveis a base de quitosana/nanoZnO para aplicação em indústria de alimentos / Alinne Araujo Demetrio. – Recife, 2015.
47 f.: il.

Orientador(a): Andreolina Maria Pinheiro Santos.
Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Ciências Domésticas, Recife, 2015.

Inclui apêndice(s) e referências.

1. NanoZnO 2. Revestimento comestível 3. Quitosana
4. Conservação I. Santos, Andreolina Maria Pinheiro, orientador
II. Título

CDD 664

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

**Desenvolvimento de revestimentos bioativos comestíveis a base de
quitosana/nanoZno para aplicação em indústria de alimentos**

ALINNE ARAUJO DEMETRIO

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 25/08/2015 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Vera Lúcia Arroxelas Galvão de Lima
UFRPE/DE

Profa Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade
UFPE/DEQ

Prof^a Dr^a. Silvana Salgado
UFPE/ Departamento de Nutrição

A meus pais, pois sem eles não teria e não seria nada. Por acreditarem em mim e principalmente por sempre estarem ao meu lado independentemente de qualquer coisa. Obrigada pelo apoio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Minha família que sempre esteve ao meu lado e principalmente meus pais Geovani Demetrio, Valderéz Demetrio e meu irmão Hugo Demetrio;

Minhas primas Elaine Alves e Natália Araújo as quais sempre poderei contar;

Às Prof.^a Andreлина Pinheiro e Enayde Melo, por acreditarem em mim e me incentivarem, mesmo que às vezes fosse difícil fazê-lo.

A banca composta pelas professoras Samara Alvachian, Vera Arroxelas, Silvana Salgado, pela gentileza e oportunidade de recomeçar;

A professora Luciana Lima pelo apoio, sou muito grata;

As minhas amigas de sempre Ana Caroline Monteiro, Juliana Silva e Raissa Cristina, amizade cultivada desde a infância;

As minhas amigas de graduação e especialização que mesmo longe fisicamente sempre me apoiaram independentemente de qualquer situação Evanir Santos, Flora Fernandes, Gerlane Dantas e Juliane Cunha;

As amigas que fiz durante o mestrado: Samara Macedo, Karlla Karinne, Rafaella Bastos, Rita Cristina, Vera Arroxelas, Gabriela, Roseli, Wallace Batista. Obrigada por serem tão importantes pra mim;

As amigas Andressa Leite e Patrícia Farias que nesses últimos meses se tornaram indispensáveis. Agradeço a paciência, a parceria, as risadas. Amizade que com certeza levarei pra vida;

Agradeço a todos que direta ou indiretamente me ajudaram a realizar esta dissertação

Obrigada!

Resumo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver revestimentos comestíveis à base de quitosana aditivado com nanoZnO e avaliar sua eficiência na conservação de frutos, no caso goiaba. As melhores condições para obtenção do revestimento foi avaliada utilizando a técnica do planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} . As variáveis independentes foram concentração da quitosana (0,5% – 1,5%), tempo de imersão da fruta no revestimento (2min-5min), temperatura de imersão (30-40°C), concentração de nanoZnO (0-0,2%) e como variáveis resposta a ausência/presença de podridão e cor (interna e externa) dos frutos armazenados em temperatura ambiente (22°C \pm 1,0). As condições experimentais que geraram as melhores respostas foram repetidas, os frutos revestidos armazenados por 21 dias em temperatura ambiente (22°C \pm 1,0) e, a cada 2 dias, submetidos as determinações de acidez total (AT); sólidos solúveis (SS); relação SS/AT, pH, atividade de água (aW) e perda de massa. Os resultados demonstraram que os revestimentos contendo quitosana (0,5%) e quitosana (0,5%) + nanoZnO (0,2%) foram eficientes contra o aparecimento de podridão nos frutos. Estes revestimentos foram selecionados para a segunda etapa do trabalho, pois além de terem demonstrado maior eficiência contra contaminação, possui menores porcentagem de biopolímero, proporcionando maior fluidez do gel, maior facilidade de aplicação e revestimento mais homogêneo. Os frutos com os revestimentos de quitosana (0,5%) e quitosana (0,5%) + nanoZnO (0,2%), quando comparados com os controles (frutos sem revestimentos), após 21 dias de armazenamento, apresentaram maiores teores de SS e de AT/SS, com destaque para os frutos com revestimento contendo nanoZnO, cujos valores foram mais elevados. Estes dados demonstram que o nanoZnO não impede o amadurecimento do fruto, mas inibi o aparecimento da podridão que está relacionada a ação antimicrobiana do nanoZnO, indicando sua potenciabilidade/viabilidade em revestimentos comestíveis à base de quitosana. Entretanto, embora o ZnO seja reconhecido como seguro (GRAS) e aprovado pela FAO para uso industrial, por ser um material na escala nanométrica poderá apresentar propriedades diferenciadas. Assim é necessário desenvolver estudos mais sistemáticos para avaliar os mecanismos de ação do nanoZnO no organismo visando futura aplicação industrial.

Palavras-chave: nanoZnO, revestimento comestível, quitosana, conservação.

Abstract

This study aimed to develop edible coatings using as biopolymer chitosan additive with nanoZnO and evaluate their effectiveness in preserving of fruit, the guava case. To evaluate the best conditions for obtaining and application the coating was used the fractional factorial 2^{4-1} experiment design technique. The independent variables were concentration of chitosan (0.5% - 1.5%), immersion time (2min-5min); the gel temperature of coating (30-40°C); nanoZnO concentration (0-0.2 %) and variable response: absence / presence of rot and color (internal and external) of the fruits. All assays was conducted at room temperature ($22 \pm 1.0^\circ\text{C}$) and samples were taken which 48 hours to determinations of total acidity (TA); soluble solids (SS); SS / TA ratio, pH, water activity (aw) and weight loss. The results demonstrate that the coatings containing chitosan pure (0.5%) and chitosan (0.5%) + nanoZnO (0.2%) were effective against the onset of rot in the fruit. These coatings were selected for the second stage of this study, because results demonstrated , as well as having shown greater efficiency from contamination; the lower percentage of biopolymer, produce an gel with low viscosity, easier application and more homogeneous coating. The fruits with chitosan coatings (0.5%) and chitosan (0.5%) + nanoZnO (0.2%) compared with controls (fruits without coating), after 21 days of storage, showed higher levels SS and AT / SS, especially fruit coating containing nanoZnO. These data show that the nanoZnO not only prevent the ripening of the fruit, but inhibit the onset of rot due to the nanoZnO antimicrobial activity, indicating the potentiality/viability in edible coatings chitosan base. However, despite ZnO is recognized as safe (GRAS) and approved by the FAO for industrial application, the ZnO use in this studied is a material at the nanoscale has different properties. So it needs to develop more systematic studies to assess the nanoZnO the mechanisms of action in the body aiming future industrial application.

Key Words: NanoZnO, edible coating, chitosan, conservation.

Lista de tabelas

Artigo

Avaliação da aplicação de revestimentos comestíveis bioativos a base de quitosana/nanoZnO para indústria de alimentos.

TABELA 1 Matriz do planejamento fracionário 2^{4-1} para obtenção dos revestimentos comestíveis 32

TABELA 2 Efeito dos filmes comestíveis encapsulados com nanoZnO na cor, rugosidade e podridão da goiaba após dez dias de armazenamento a temperatura ambiente
..... 34

Lista de figuras

FIGURA 1 Mecanismo de toxicidade de nanopartículas contra bactérias 17

FIGURA 2 Estrutura química da quitosana..... 18

Artigo

Avaliação da aplicação de revestimentos comestíveis bioativos a base de quitosana/nanoZnO para indústria de alimentos.

FIGURA 1 Perda de massa de goiabas com revestimento a base quitosana com nanoZnO durante 21 dias de armazenamento. Controle: frutos sem revestimento; ensaios E7 (quitosana :0,5%, nanoZnO: 0,2%), ensaio E4 (quitosana: 0,5%, nanoZnO: 0%) 36

FIGURA 2 Caracterização físico-química de frutos dos ensaios E7 (0,5% de quitosana e 0,2% de nanoZnO) e do ensaio E4 (0,5% de quitosana e 0% de nanoZnO) e seus respectivos controles (fruto sem revestimento) relativa a acidez titulável (AT) (A), sólidos solúveis (SS) (B), pH (C) e atividade de água (Aw) (D) pelo tempo de armazenamento 37

FIGURA 3 Caracterização físico-química de frutos dos ensaios E7 (0,5% de quitosana e 0,2% de nanoZnO) e do ensaio E4 (0,5% de quitosana e 0% de nanoZnO) relativa a relação SST/ATT 38

Sumário

1 Introdução.....	11
2 Objetivos	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3 Revisão de literatura	13
3.1 Revestimentos comestíveis	13
3.2 Óxido de zinco nanoestruturado (nanoZnO)	15
3.3 Quitosana	18
3.4 Revestimento de quitosana/ nanoZnO	19
3.5 Nanotecnologia aplicada na indústria de alimentos	21
Referências	23
Artigo	
Avaliação da aplicação de revestimentos comestíveis bioativos a base de quitosana/nanoZnO para indústria de alimentos	28
1 Introdução	29
2 Material e métodos	31
2.1 Material	31
2.2 Planejamento experimental fatorial	31
2.2.1 Preparação do gel de quitosana/nanoZnO	32
2.2.2 Aplicação do revestimento em goiabas	33
2.3 Tratamento estatístico	33
3 Resultados e discussão	33
3.1 Seleção das melhores condições do revestimento	33
3.2 Caracterização físico-química	36
4 Conclusão	40
Referências	40

1 Introdução

As coberturas comestíveis são soluções filmogênicas aplicadas ou formadas diretamente sobre a superfície dos alimentos. A utilidade dos filmes comestíveis reside em sua capacidade de atuar na melhoria da qualidade de alimentos em geral, aumentando a vida de prateleira (GORDON, 2012). As matérias-primas empregadas na formação das coberturas e revestimentos comestíveis podem ter origem animal ou vegetal, ou formarem um composto com a combinação de ambas. Podem ser usados polissacarídeos, ceras (lipídios) e proteínas, porém a escolha depende fundamentalmente das características do produto a ser revestido e do principal objetivo almejado com o revestimento aplicado (ASSIS; BRITO, 2014).

A quitosana é um polissacarídeo amino, derivado do processo de desacetilação da quitina que está presente no exoesqueleto de insetos e crustáceos. É um produto natural, renovável e biodegradável além de ser atóxico. A quitosana também é muito utilizada por seu potencial fator antimicrobiano (AZEVEDO et al., 2007; KONG et al., 2010). Além disso, sua versatilidade possibilita o blend de materiais (NOWZARI et al., 2013) e adição de vários compostos como por exemplo compostos antimicrobianos que potencializam sua ação (BROEK et al., 2015).

O óxido de zinco (ZnO) é um composto inorgânico amplamente utilizado em aplicações cotidianas. O óxido de zinco é um dos cinco compostos de zinco, que é listado como seguro (GRAS) pela United States Food and Drug Administration (USFDA, 21CFR182.8991) e é usado como aditivo alimentar. O advento da nanotecnologia tem levado ao desenvolvimento de materiais com novas propriedades para uso como agentes antimicrobianos. Assim, ZnO em nanoescala mostrou propriedades antimicrobianas e potenciais aplicações em conservação de alimentos (ESPITIA et al., 2012; AKBAR; ANAL, 2014).

Assim, considerando a alta perecibilidade das frutas e que revestimentos biodegradáveis a base de quitosana possuem barreiras físicas e mecânicas adequadas que favorecem a conservação de alimentos e o Óxido de Zinco possui grande ação antimicrobiana, este trabalho teve como objetivo desenvolver revestimentos comestíveis a base de quitosana adicionando ZnO nanoestruturado com o intuito de aumentar a vida de prateleira de frutas.

2 Objetivos

2.2 Objetivo geral

Desenvolver revestimentos bioativos comestíveis a base de quitosana aditivado com nanoZnO para aplicação na indústria de alimentos.

2.3 Objetivos específicos

- Definir as melhores condições para os revestimentos bioativos comestíveis a base de quitosana aditivado nanoZnO em pó;
- Avaliar a eficiência dos revestimentos sobre os parâmetros físico-químicos de frutos.

3 Revisão de literatura

3.1 Revestimentos comestíveis

As embalagens, elo de comunicação entre o produtor e o consumidor, são de grande importância para a indústria de alimentos em função do mercado que se encontra em expansão. A inovação na área das embalagens é uma constante e envolve criação de embalagens visando redução de custos; aumento da vida de prateleira com consequente manutenção do frescor dos produtos; aumento da proteção e da segurança dos alimentos; além da utilização de novas tecnologias e da nanotecnologia na produção de novos produtos e embalagem recicláveis (CAMILO et al, 2009). Dentro deste contexto encontram-se as películas comestíveis, que embora sejam resultantes de um processo antigo de conservação de alimentos, a sua versatilidade, tanto em composição quanto em textura, proporciona a criação de novas estruturas mais complexas e funcionais (GORDON, 2012)

De acordo com Villadiego et al., (2005), as películas comestíveis se apresentam de duas formas, como revestimentos ou como filmes. Na primeira, o gel de fluidez variada em função da concentração do biopolímero é aplicado diretamente na superfície dos alimentos, por imersão ou por aspersão (spray), enquanto que na elaboração de filmes o gel é aplicado em placas, e após a secagem a película é retirada e aplicada no alimento, possuindo, portanto a capacidade de formar estruturas próprias independentes.

Os revestimentos, fina camada contínua e homogênea formada sobre o alimento, são preparados a partir de materiais biológicos, que agem como barreira física para conter elementos externos (umidade, óleos e gases), e proteger o alimento, aumentando a sua vida de prateleira. Devem, portanto, possuir adesividade, coesividade e durabilidade apropriadas para desempenhar a função de proteção (VILLADIEGO et al., 2005). Tanto os revestimentos como os filmes devem atender as especificidades de cada produto, a exemplo das frutas que necessitam de um controle na respiração para reduzir a velocidade do amadurecimento, além de serem elaborados com material de custo acessível e terem aceitabilidade sensorial (FALGUEIRA et al., 2011).

Neste sentido, vários estudos realizados sobre revestimentos comestíveis vem sendo desenvolvidos ao longo dos anos. Bonilla et al., (2012) em estudo de revisão analisaram

estudos recentes sobre o efeito antioxidante das películas comestíveis em alimentos (nozes, carne, peixe, frutas e legumes) que citam como exemplo, que as películas provenientes de carboidratos e proteínas possuem uma excelente barreira física contra o oxigênio. Azeredo e Leoni (2003) relataram que películas comestíveis de quitosana aplicadas, principalmente na conservação de frutas, promovem redução da perda de umidade, melhoria da aparência das frutas e redução do crescimento microbiano. Estas películas além de aumentar a estabilidade dos produtos podem melhorar a sua qualidade sensorial.

Fan et al., (2009) aplicaram em morangos revestimento de alginato combinado com levedura e observaram redução significativa na decomposição do fruto, redução da perda de peso, sem alteração da firmeza. E concluíram que de uma forma geral, a aplicação do revestimento de alginato melhorou a qualidade do fruto. Olivas et al., (2007) e Olivas e Barbosa-Cánovas, (2008) também observaram que filmes de alginato auxiliam na diminuição da perda de peso de frutos, como a maçã Gala.

Han e colaboradores, (2010), evidenciaram ação antimicrobiana de filmes de quitosana, potencializados com nanocompósitos, que mostraram efeito sinérgico contra a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Botrel et al., (2010) aplicando revestimento de amido adicionado de lactato de cálcio e L-cisteína (2,0% lactato de cálcio e 1,0% L-cisteína e 2,0% lactato de cálcio e 1,5% L-cisteína.) em peras fatiadas observaram que os frutos se apresentaram significativamente mais firmes e que houve inibição do escurecimento enzimático e do crescimento microbiano. Constatou-se, portanto, que a vida de prateleira de pera minimamente processada pode ser mantida por mais tempo com o uso desse revestimento

Hua et al. (2015) relatam a eficácia de revestimentos comestíveis elaborados com pectina de baixa metoxilação, em reduzir a absorção de gordura em batatas fritas. Embora os atributos sensoriais tenham sido inferiores aos das batatas fritas não revestidas, as batatas revestidas foram considerados sensorialmente aceitáveis. O revestimento constitui, assim, mais uma opção para indústria de alimentos.

A quitosana, biopolímero derivado de fontes naturais renováveis, possui numerosas aplicações em vários campos, dentre elas na área de alimentos como películas comestíveis e revestimentos. A quitosana apresenta propriedades antibacteriana e antifúngica que aumentam a proteção de alimentos, entretanto, possui baixa propriedade de barreira à gases, à água; a permeabilidade destas pode limitar o seu uso (ELSABEE; ABDU, 2013). No entanto, novas

alternativas para a melhoria da propriedade de barreira podem ser aplicadas, como a nanotecnologia que além de melhorar esta propriedade amplia os benefícios relacionados ao custo e eficiência (SORRENTINO et al., 2007).

Vários estudos têm empregado a quitosana em cobertura de alimentos, principalmente, como revestimento em frutas (ASSIS; LEONI, 2009; ASSIS et al., 2009; PINHO, 2011; PRASHANTH; THARANATHAN, 2007, AZEVEDO et al., 2007). Vásquez e colaboradores, (2009), Muzzarellia e colaboradores, (2012), Fernández-Saiz e colaboradores, (2013), Cissé e colaboradores (2013), também, estudaram a capacidade antimicrobiana dos filmes e revestimentos à base de quitosana

3.2 Óxido de zinco nanoestruturado (nanoZnO)

As propriedades antimicrobianas de determinados metais e óxidos metálicos (por exemplo, Ag e ZnO) são bem conhecida na literatura. O avanço da nanotecnologia tem aumentado o interesse na utilização de metais e óxidos de metais como agentes antimicrobianos em aplicações de processamento e envase de alimentos, já que com o processo de nanotecnologia, sua superfície de ação é ampliada, utilizando menos material e melhorando assim suas funções. Estes nanocompostos em sua maioria, atuam como antimicrobianos e podem ser associados com outras matérias primas (como a quitosana) para ampliar sua função antimicrobiana. Alguns desses materiais já são comumente utilizados na indústria de alimentos, podendo ser adicionado ao alimento ou no material de contato (embalagem) em sua forma macroescala. A segurança da utilização de ZnO em macroescala está bem estabelecida pela FAO (FAO\WHO, 2010).

Conhecido como um semicondutor versátil, o ZnO vem atraindo a atenção por sua ampla gama de aplicações em muitas áreas, incluindo diversas combinações com outros óxidos para a aplicação em sensores de gás (HUANG et al., 2010) dispositivos elétricos e ópticos (SCHMITT et al., 2011; WANG; GAO, 2003) e filmes nanoestruturados (SANTOS; SANTOS, 2008)

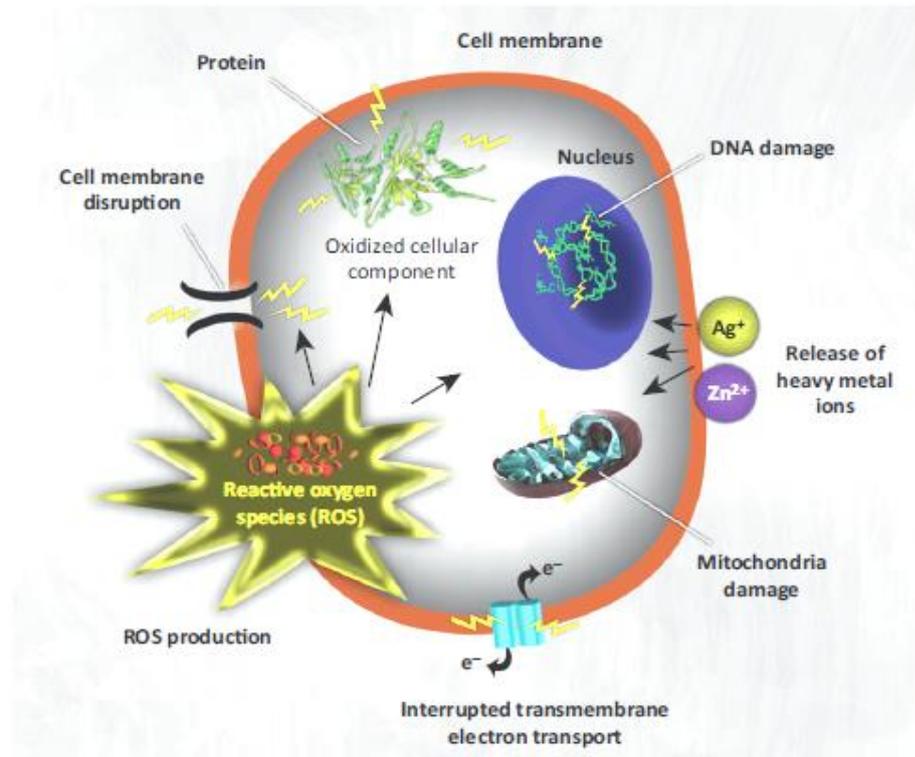
O óxido de zinco (ZnO) aparece como um conservante promissor para formulações cosméticas e farmacêuticas (PASQUET et al., 2015). Está listado como *General Recognized*

as *Safe* (GRAS) sendo um composto reconhecido como seguro pela *Food and Drug Administration* (FDA) para ser usado como aditivo alimentar. E com o advento da nanotecnologia tem levado ao desenvolvimento de materiais com novas propriedades diferenciadas, como por exemplo, agentes antimicrobianos (ADAMS et al., 2006; LI et al., 2008; SAWAI, 2003; FRANKLIN et al., 2007; BRAYNER et al., 2006). O mecanismo antibacteriano do ZnO ainda está sob investigação. A geração fotocatalítica de peróxido de hidrogénio foi sugerida como um dos mecanismos principais (SAWAI, 2003). Além disso, a penetração na membrana da célula e a desorganização da membrana bacteriana após contato com nanopartículas de ZnO, também foram indicados como causadores da inibição do crescimento bacteriano (HUANG et al., 2010; BRAYNER et al., 2006). No entanto, o papel dos íons Zn^{2+} liberado na dissolução do ZnO não é claro (FRANKLIN et al., 2007). Foi sugerido que os íons Zn^{2+} ligados às membranas dos microrganismos podem prolongar a fase de retardamento do ciclo de crescimento microbiano (ATMARCA; CLCEK, 1998)

Hajipour e colaboradores (2012), ao revisarem as propriedades dos materiais inorgânicos e sua atuação como antimicrobiano (Figura 1), relataram que a ação antimicrobiana das nanopartículas, entre eles o ZnO nano, age diretamente nas células bacterianas sem interferir nos tecidos ao redor, ou seja, os nanocompósitos agem diretamente na célula danosa sem danificar os tecidos adjacentes. Segundo o mesmo artigo, vários fatores podem influenciar na suscetibilidade ou tolerância das bactérias frente aos nanocompósitos. Um desses fatores é a velocidade de crescimento das bactérias. Bactérias com crescimento mais lento são mais susceptíveis a danos causados por nanocompósitos, provavelmente por aumentar o tempo de ação contra essas bactérias.

De acordo com os autores citados acima, ainda não se sabe exatamente como os nanocompósitos agem nas membranas das bactérias para terem efeito deletério. O efeito deletério dos nanocompósitos depende da composição, superfície e propriedades intrínsecas além da espécie da bactéria. Apesar de não ser bem esclarecido este mecanismo de ação, acredita-se que os nanomateriais geralmente induzem ao estresse oxidativo pela formação de radicais livres.

FIGURA 1. Mecanismo de toxicidade de nanopartículas contra bactérias



Fonte: HAJIPOUR et al.,2012.

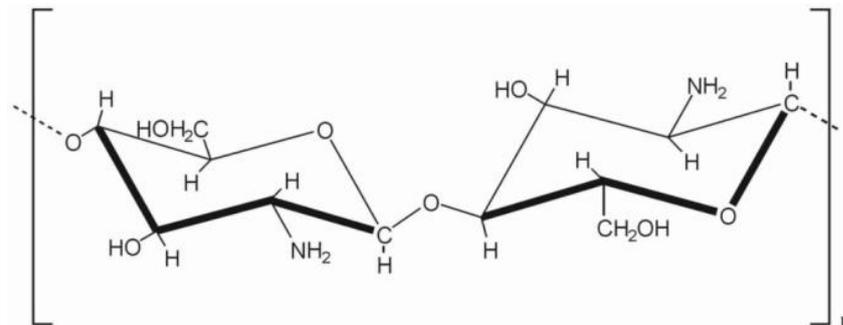
A Figura 1 representa o mecanismo de toxicidade das nanopartículas frente às bactérias, neste caso, nanopartículas de prata. Os íons dos nanocompósitos podem produzir radicais livres, resultando no estresse oxidativo e a produção de oxigênio ativo causam danos irreversíveis à bactéria e suas membranas, DNA e mitocôndrias, resultando na morte da bactéria (HAJIPOUR et al., 2012)

Em termos de utilização em revestimentos, poucos estudos foram efetuados até o presente momento. Um exemplo dele é o estudo de Li et al., (2010), que estudaram a dispersão de nanoZnO em filmes à base de quitosana. Foram estudadas as propriedades mecânicas e antimicrobianas dos filmes. Os resultados foram bastante satisfatórios, mostrando que o ZnOnano apresenta uma boa barreira antimicrobiana contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

3.3 Quitosana

A quitosana é um biopolímero derivado de fontes naturais renováveis. Versátil, pode ser utilizada desde material para embalagens a componente da indústria farmacêutica. Vem sendo utilizada também na área de alimentos como base para películas comestíveis (KURITA et al., 1995; HIRANO, 1996; KUMAR et al., 2014). Principalmente por possuir propriedades antibacterianas e antifúngicas que aumentam a proteção de alimentos. Sua versatilidade permite o uso de compostos que funcionam como aditivos. Estes podem ser por exemplo antioxidantes, que diminuem a oxidação dos alimentos. Podem ser utilizados também aditivos como nanopartículas para potencializar suas propriedades antimicrobianas, além de benefícios quanto ao custo e eficiência. (SORRENTINO et al., 2007; ELSABEE; ABDU, 2013).

FIGURA 2. Estrutura química da quitosana.



Fonte: <https://www.google.com.br/seach>

Esse polímero natural é derivado do processo de desacetilação da quitina, segundo polissacarídeo mais abundante na natureza encontrado nas carapaças de crustáceos. Em termos de disponibilidade, a quitosana está atrás apenas da celulose. O potencial de aplicação da quitosana é multidimensional, podendo ser utilizado tanto na área alimentícia como em produtos farmacêuticos, e também na terapia genética (ASSIS; LEONI, 2009; AZEVEDO et al., 2007)

O processo de desacetilação da quitina é composto por várias etapas, inicialmente a quitina é separada de outros componentes da carapaça por um processo químico que envolve a desmineralização e desproteinização das carapaças e em seguida a descoloração com KMnO₄ e ácido oxálico. A quitina então obtida por conter grupos acetil (NHCOCH₃), é

submetida a desacetilada com solução concentrada de NaOH, dando origem a quitosana (AZEVEDO et al., 2007).

As quitosanas disponíveis comercialmente apresentam diversas origens e características diferenciadas como grau de pureza e diversidade molar. Isto torna as matérias comerciais consideravelmente diferentes entre si em virtude de não haver um procedimento comum de desacetilação industrial interferindo assim na formação do gel. (ASSIS; ALVES, 2002).

De acordo com Costa (2009), a quitosana é um polímero não tóxico que apresenta tanto propriedades mecânicas necessárias à formação de películas, quanto às propriedades antimicrobianas. Sua utilização pode ser limitada na preservação da qualidade dos frutos por possuir natureza hidrofílica, ou seja, possui alta permeabilidade ao vapor de água. Porém a incorporação de ácidos graxos na cobertura pode aumentar a hidrofobicidade, reduzindo, assim, permeabilidade ao vapor de água.

Vários estudos têm empregado a quitosana em cobertura de alimentos, principalmente como revestimento em frutas (ASSIS; LEONI, 2009; ASSIS et al., 2009; PINHO, 2011; PRASHANTH; THARANATHAN, 2007, AZEVEDO et al., 2007). Alguns deles têm demonstrando sua propriedade antifungia e antibacteriana. Han et al. (2010), evidenciaram atuação anti-microbiana dos filmes de quitosana potencializados com nanocompósitos, que mostraram efeito sinérgico contra a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Vásquez et al., (2009), Muzzarellia et al. (2012),

3.4 Revestimento de quitosana/nanoZnO

Películas provenientes de biopolímeros são excelentes veículos para incorporação de uma infinidade de aditivos, como agentes antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos. Os aditivos são uma alternativa no melhoramento das funções dos biopolímeros (YASIR et al., 2015).

Por ser um material versátil a quitosana é um desses biomateriais utilizados como base na formação de películas (filmes e revestimentos). Por sua combinação única de propriedades como a biocompatibilidade, biodegradabilidade, fácil complexação com metais e atividade antimicrobiana, vem sendo recorrente os estudos com esse biopolímero (DU et al., 2009; SHAFIQ et al., 2014). Alguns estudos mostram essa interação entre a quitosana e diferentes

tipos de metais para complementar sua ação antimicrobianas, metais como por exemplo Ag (CHEN et al., 2005).

De acordo com Espitita et al. (2013), o nanoZnO é listado e reconhecido como material seguro (GRAS) de acordo com a Food na Drug Administration e vem mostrando um alto poder antimicrobiano contra a atividade microbiana.

Alguns estudos demonstraram o sucesso na interação entre quitosana e ZnO e o melhoramento da ação microbiana comparado a utilização de um único material (ABDEHADY, 2012; PATALE; PATRAVALE, 2011; HIGAZY et al., 2010).

O aumento nas propriedades antibacterianas da quitosana decorre do fortalecimento do grupo amina (positivo) da quitosana facilitando a complexação com os componentes aniônicos da superfície celular. A melhoria nas propriedades antimicrobianas com a inclusão do ZnO é atribuída ao seu mecanismo de fotocatalise, o que resulta na formação de radicais livres altamente ativos, que podem causar danos a célula das bactérias podendo levar a total destruição da mesma (HANSHEM et al., 2013)

Wang et al. (2012), estudaram a interação das propriedades antimicrobianas da quitosana e do nanoZnO na formação de membranas compostas de nanofibras, utilizando polivinil como suporte. A interação entre dois compostos demonstrou que a quitosana foi capaz de incorporar o nanoZnO na composição das nanofibras. Para testar a eficácia antimicrobiana do novo composto quitosana/nanoZnO foi utilizado a *Candida albicans*. A interação entre quitosana e nanoZnO se mostrou satisfatória, além de comprovar que a adição de nanoZnO potencializa a ação antimicrobiana da quitosana.

Du et al. (2009), estudaram a interação entre a quitosana e diversos íons metálicos com alta atividade antimicrobiana, tais como : Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^+ , Mn^+ e Fe^{2+} . A capacidade antimicrobiana foi avaliada utilizando a concentração mínima de inibição (CMI) e a concentração mínima bactericida (CMB), testada contra *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* e *Staphylococcus aureus* in vitro. Os resultados demonstraram que houve uma inibição de crescimento bacteriano significativa, com exceção do Fe^{2+} .

Bhadra et al. (2012), estudaram a capacidade antimicrobiana do nanoZnO encapsulado com quitosana frente a *Escherichia coli*. Para tal, foi estudado o mecanismo de ação deste na membrana celular da bactéria. A interação ocorre no grupo NH_2 da célula, facilitando a permeabilidade da quitosana e a destruição da membrana pela quebra do citoplasma. As

características antibióticas do encapsulado entre quitosana e ZnO foi comparada com a atividade da amoxicilina.

3.5 Nanotecnologia aplicada na indústria de alimentos.

A nanotecnologia pode ser definida como a aplicação do conhecimento científico em trabalhos associados à nanoescala (1 nm a 100 nm), para se entender, criar, caracterizar e manipular estruturas e sistemas que apresentem novas propriedades derivadas de suas nanoestruturas (ROCO, 2001).

A nanotecnologia oferece oportunidades consideráveis para o desenvolvimento de empresas inovadoras de produtos. Seu uso pode trazer benefícios potenciais para agronomia, indústria de alimentos e para os consumidores finais. Na indústria de alimentos pode ser aplicado em vários processos desde a produção à preservação dos alimentos, como por exemplo a utilização de embalagens (com nanocompositos), tais produtos já estão disponíveis para venda em alguns países, porém ainda há muito o que ser estudado e desenvolvido; principalmente em relação a adição de nanocomposito para consumo direto em alimentos. Em vista de tal progresso, espera-se que produtos alimentícios derivados de nanotecnologia será cada vez mais disponíveis para os consumidores em todo o mundo nos próximos anos (FAO/WHO, 2010).

A incorporação de nanopartículas em polímeros como nanoaditivos tem sido investigada, buscando-se a melhoria de propriedades de degradação e estabilização de polímeros. Entretanto, o sucesso desses nanocompósitos dependerá da natureza química e das interações com os polímeros escolhidos (AZEREDO, 2012).

As técnicas empregadas na nanotecnologia permitem imitar a natureza tanto na montagem de moléculas (bottom-up) para formar novos compostos químicos ou nanoestruturas, quanto na desmontagem de produtos macro ou microscópicos (top-down) até o nível nanométrico (ROCO, 2001).

Na área de embalagens de alimentos, existe uma vasta gama de aplicações da nanotecnologia. Entre essas aplicações, muitas favorecem, diretamente, a estabilidade dos

alimentos acondicionados, como as que envolvem sistemas de embalagens ativas (AZEREDO, 2012)

Nanotecnologia pode aprimorar, ampliar e implementar as principais funções da embalagem - contenção, proteção e conservação, de marketing e de comunicação. As aplicações da nanotecnologia em polímero na verdade pode fornecer novos materiais de embalagem para alimentos com melhores propriedades mecânicas, de barreira e antimicrobiana, juntamente com nano-sensores para rastrear e monitorar o estado dos alimentos durante o transporte e armazenamento (SILVESTRE et. al, 2011)

Outra aplicação de nanotecnologia em embalagens envolvem materiais de reforço nanométricos, especialmente indicados para melhorar o desempenho físico-mecânico de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis, contribuindo para a utilização de materiais de embalagem ambientalmente corretos (AZEREDO, 2012).

4 Referências

- ADAMS, L.K.; LYON, D.Y.; ALVAREZ, P.J.J. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. **Water Research**, vol 19, n 40, p. 3527-3532, nov., 2006.
- ASSIS, O.B.G., ALVES, H.C., **Comunicado Técnico: metodologia mínima para a produção de filmes comestíveis de quitosana e avaliação preliminar do seu uso como revestimento protetor em maçãs cortadas**. São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2002.
- ASSIS, O.B.G.; BRITTO, D.; FORATO, L.A. **Comunicado Técnico: o uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009, 23 p.
- ASSIS, O. B. G. e BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, abr./jun. 2014
- ASSIS, O.B.G.; LEONI, A.M. Filmes comestíveis de Quitosana: ação fungicida sobre os frutos fatiados. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, 30ed, São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009.
- AKBAR, A.; ANAL, A. K. Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat poultry meat. **Food Control**, n 38, p 88 -95, 2014
- ATMARCA, S., GUL, K. CLCEK, R., The effect of zinc on microbial growth. **Turkish Journal of Medicine and Science**. vol 28, p. 595-597, 1998.
- AZEVEDO, CHAVES, V. V. C.; BEZERRA, S. A.; LIA FOOK, D. C., M. V.; COSTA, A. C. F. M. **Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais**. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.2.3, p. 27-34, 2007.
- AZEREDO, H. M. C. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **Boletim CEPPA**, v.21, p.267-278, 2003
- BHRADA, P.; MITRA, M.K.; DAS, G.C.; DEY, R.; MUKHERJEE, S. Interaction os chitosan capped ZnO nanorods whit *Escherichia coli*. **Materials Science and Engineering C**. n31, p 929- 937, 2011
- BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; FERNANDES. R. V. B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p.1814-1820, 2010
- BONILLA, J.; ATARES, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 208–213, 2012.

BRAYNER R, F.-I.R., Brivois N, Djediat S, Beneditti MF, Fiévet F., Toxicological impact studies based on Escherichia coli bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. **Nano Lett.**, v. 4, n 6, p. 866-870, 2006.

BROEK A.M., RUTGER J.I. KNOOP, FRANS H.J. KAPPEN, CARMEN G. BOERIUWAGENINGEN. Chitosan films and blends for packaging material Lambertus **Carbohydrate Polymers**, n 116, p 237–242, 2015.

CAMILO, A. N. *et al.* **Embalagens: design, materiais, processos e máquinas.** – Barueri, SP: Instituto de Embalagens, 2009.

CHEN, S.P., WU, G.Z., ZENG, H.Y. Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan-Ag+complex, **Carbohydrate Polymer**, n 60, p 33–38, 2005.

CISSÉ M.; KOUAKOU A. C.; MONTET D.; LOISEAU G.; DUCAMP-COLLIN M. N. Antimicrobial and physical properties of edible chitosan films enhanced by lactoperoxidase system. **Food Hydrocolloids**. v. 30, p. 576- 580, 2013.

COSTA, C. S. **Prolongamento da vida útil e qualidade pós-colheita de morangos pelo emprego de cobertura comestível:** Coberturas à base de quitosana na qualidade pós-colheita de morangos cv. Pelotas-RS, 2009. TESE (Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas.

DU, W-L.; NIU, S-S; XU, Y-L; XU, Z-R; FAN, C-L. Antibacterial activity os chitosan tripolyphosphate nanoparticles ioaded with varius metal ions. **Carbohydrate Polymers**, v 75, p 385-389, 2009.

ELSABEE, M. Z.; ABDU, E. S.; Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering**. v.33, p. 1819–1841, 2013.

ESPITIA, P.J.P.; SOARES, N.F.F.; TEÓFILO, R.F.; COIMBRA, J.S.R; VITOR, D.M.; BATISTA, R.A.; FERREIRA, S.O.; ANDRADE, N.J.; MEDEIROS, E.A.A. Physicalmechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films whit pediocin and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v 94, n 1, 2013.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMENEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZA, A. et al., Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use, **Trends in Food Science & Technology**, v.22, n6, jun 2011.

FAN, Y.; XU ,Y.; WANG, D.; ZHANG , L.; SUN, J.; SUN, L.; ZHANG ,B. Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (Fragaria×ananassa) preservation quality. **Postharvest Biology and Technology** . v.53, p. 84–90, 2009.

FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. 2010. FAO/WHO Expert Meeting on the Application of Nanotechnologies in the Food and Agriculture Sectors: Potential Food Safety Implications: Meeting Report.Rome. 130 pp

FERNÁNDEZ-SAIZ, P.; Sánchez, G. ; Soler C. ; Lagaron, J.M. ; Ocio, M.J. Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets. **Food Control**, v 34, n 1, p. 61–68, 2013.

- FRANKLIN, N.M, R.N.; APTE, S.C.;BATLEY, G.E.; GADD, G.E.;CASEY, P.S.
Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (Pseudokirchneriella subcapitata): the importance of particle solubility. **Environ Sci Technol**, v.26, n 41 , p. 8484-8490, 2007.
- GORDON L. R. Food Packaging: Principles and Practice. **Taylor and Francis, New York**, 3 3d, 2012.
- HAIPOUR, M.J.; FROMM, K.M.; ASHKARRAN, A.A.; ABERASTURI, D.J.; LARRAMENDI, I.R.; ROJO, T.; SERPOOSHAN, V.; PARAK, J. W.; MAHMOUDI,M.
Antibacterial properties of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v 30, n 10, outubro 2012.
- HAN, Y-S., LEE, S-H, CHOI, K.H.; PARK, I . Preparation and characterization of chitosan–clay nanocomposites with antimicrobial activity. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v.71, p. 464–467, 2010
- HIRANO, S. Chitin biotechnology applications. **Biotechnology annual review**, v. 2, p. 237-258, 1996.
- HUA-LI, L.; DENG, J-C.; DENG, H-R, LIU, Z-L.; XIN,. Synthesis na characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes. **Carbohydrate research**, n 345, p 994-998, 2010.
- HUANG, J., et al., Large-scale synthesis of flowerlike ZnO nanostructure by a simple chemical solution route and its gas-sensing property. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.146, n.1, p. 206-212, 2010.
- KONG, M.; CHEN, X.G.; XING, K.; PARK, H.J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, n 144, p 51–63, 2010
- KUMAR MN, MUZZARELLI RA, MUZZARELLI C, SASHIWA H, DOMB AJ.
Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chem Rev** N 104, p 6017–84, 2004
- KURITA, K. Chemistry and application of chitin and chitosan. **Polymer Degradation and stability**, v. 59, n. 1, p. 117-120, 1998.
- LI, Q., et al., Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. **Water Research**, v.28, n.42, p. 4591-4602, 2008.
- LUVIELMO, M. M. Revestimentos comestíveis em frutas: Edible coating in fruits **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8(1), p. 8-15, janeiro-junho 2012.
- MUZZARELLIA, R.A.A.; BOUDRANT , J.; MEYERC , D.; MANNOD, N.; DEMARCHISD, M. Review :Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation,glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial . **Carbohydrate Polymers**. v. 87,p. 995– 1012, 2012

NOWZARI, F.; SHÁBANPOUR, B.; SEY' ED MAHDI OJAGH. Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, n 141, p 1667–1672, 2013.

OLIVAS, G. I.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Alginate–calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. **LWT** . v.41, p. 359–366, 2008

OLIVEIRA, C. S.; GRDEN, L.; RIBEIRO, M. C. O. Utilização de filmes comestíveis em alimentos. **Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimentos em Tecnologia de Alimentos**, v.01, p.52-57, 2007.

PASQUET, J.; CHEVALIER, Y.; COUVAL, E.; BOUVIER, D.; BOLZINGER, M-A . Zinc oxide as a new antimicrobial preservative of topical products: Interactions with common formulation ingredients. **International Journal of Pharmaceutics**, n 479, p 88–95, 2015.

PRASHANTH, K.V. H.; THARANATHAN, R.N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential dan overview. **Trends in Food Science e Technology**, v. 18, p. 117- 131, 2007.

PINHO, M.V. E. R. **Aplicação de biofilmes de quitosano e de atmosfera modificada na conservação de pêra Rocha de 4ª Gama**. Lisboa, 2011. Dissertação (Tecnologia e Segurança Alimentar), área de especialização de Qualidade Alimentar, Faculdade de Ciências e tecnologia. Universidade nova de Lisboa.

SAWAI, J., Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. **Journal of Microbiological Methods**, v.2, n,54, p. 177-182, 2003

ROCO, Mihail. “International Strategy for Nanotechnology Research and Development.” **Journal of Nanotechnology Research**, v.3, n 5-6, , p.353-360, 2001

SANTOS, A.M.P.; SANTOS, EDVAL J.P. Pre-heating temperature dependence of the c-axis orientation of ZnO thin films. **Thin Solid Films**, p 6210–6214, 2008.

SHAFIQ, M.; YASIN, T.; RAQUIF, SHAISTA, M.A.R. Structural, thermal, an antibacterial properties of chitosan/ZnO composites. **Polymers composites**, 2014.

SCHMITT, P., et al., Polyol-Mediated Synthesis and Properties of Nanoscale Molybdates/Tungstates: Color, Luminescence, Catalysis. **Advanced Functional Materials**, v. 16, n.21, p. 3037-3046, 2011.

SILVESTRE, C.; DURACCIO, D.; CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, n 36, p 1766–1782, 2011.

SORRENTINO, A., GORRASI, G., & VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v 2, n 18, p 84–95, 2007.

VÁSCONEZ, M. B.; FLORES, S. K., CAMPOS, C. A.; ALVARADO, J.; GERSCHENSON, L. N.. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. **Food Research International**, v.42, p. 762–769, 2009

VILLADIEGO, A.M.D.; SOARES, N.F.F.S.; ANDRADE, N.J.; PUSCHMANN, R.; MINIM, V.P.R.; CRUZ, R. . Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v.52, p. 221-224, 2005.

WANG, J.; GAO, L. Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles assembled in one-dimensional order. **Inorganic Chemistry Communications**, v.7, n.6, p. 877-881, 2003

YASIR, A.A.; SOOTTWART, B.; KITIYA, V.; PUNNANEE, S.; SUTHASINEE, Y. Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish protein isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil. **Food Scientists e technologists**, 2015.

Aplicação de revestimentos comestíveis bioativos a base de quitosana/nanoZnO para indústria de alimentos

Resumo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver revestimentos comestíveis à base de quitosana aditivados com nanoZnO e avaliar sua eficiência na conservação de frutos, no caso goiaba. As melhores condições para obtenção do revestimento foi avaliada utilizando a técnica do planejamento de experimento fatorial fracionário 2^{4-1} . As variáveis independentes foram concentração da quitosana (0,5% – 1,5%), tempo de imersão da fruta no revestimento (2min-5min), temperatura de imersão (30-40°C), concentração de nanoZnO (0-0,2%) e como variáveis resposta a ausência/presença de podridão e cor (interna e externa) dos frutos que foram armazenados em temperatura ambiente (22°C ±1,0). As condições experimentais que geraram as melhores respostas foram repetidas, os frutos revestidos armazenados por 21 dias em temperatura ambiente (22°C ±1,0) e, a cada 2 dias, submetidos as determinações de acidez total (AT); sólidos solúveis (SS); relação SS/AT, pH, atividade de água (aW) e perda de massa. Os resultados demonstraram que os revestimentos contendo quitosana (0,5%) e quitosana (0,5%) + nanoZnO (0,2%) foram eficientes contra o aparecimento de podridão nos frutos, além de apresentaram maior fluidez do gel, maior facilidade de aplicação e revestimento mais homogêneo. Os frutos com esses, quando comparados com os controles (frutos sem revestimentos), após 21 dias de armazenamento, apresentaram maiores teores de SS e de AT/SS, com destaque para os frutos com revestimento contendo nanoZnO, cujos valores foram mais elevados. Estes dados demonstram que o nanoZnO não impede o amadurecimento do fruto, mas inibi o aparecimento da podridão que está relacionada a ação antimicrobiana do nanoZnO, indicando sua potenciabilidade/viabilidade em revestimentos comestíveis à base de quitosana.

Palavras-chave: nanoZnO, revestimento comestível, quitosana, conservação.

Abstract

This study aimed to develop edible coatings using as biopolymer chitosan additive with nanoZnO and evaluate their effectiveness in preserving of fruit, the guava case. To evaluate the best conditions for obtaining and application the coating was used the fractional factorial 2^{4-1} experiment design technique. The independent variables were concentration of chitosan (0.5% - 1.5%), immersion time (2min-5min); the gel temperature of coating (30-40°C); nanoZnO concentration (0-0.2 %) and variable response: absence / presence of rot and color (internal and external) of the fruits. All assays was conducted at room temperature ($22 \pm 1.0^\circ\text{C}$) and samples were taken which 48 hours to determinations of total acidity (TA); soluble solids (SS); SS / TA ratio, pH, water activity (aw) and weight loss. The results demonstrate that the coatings containing chitosan pure (0.5%) and chitosan (0.5%) + nanoZnO (0.2%) were effective against the onset of rot in the fruit. These coatings were selected for the second stage of this study, because results demonstrated , as well as having shown greater efficiency from contamination; the lower percentage of biopolymer, produce an gel with low viscosity, easier application and more homogeneous coating. The fruits with chitosan coatings (0.5%) and chitosan (0.5%) + nanoZnO (0.2%) compared with controls (fruits without coating), after 21 days of storage, showed higher levels SS and AT / SS, especially fruit coating containing nanoZnO. These data show that the nanoZnO not only prevent the ripening of the fruit, but inhibit the onset of rot due to the nanoZnO antimicrobial activity, indicating the potentiality/viability in edible coatings chitosan base. However, despite ZnO is recognized as safe (GRAS) and approved by the FAO for industrial application, the ZnO use in this studied is a material at the nanoscale has different properties.

1 Introdução

Novas tecnologias para conservação de alimentos visando a redução de desperdício e a manutenção da qualidade nutricional e sensorial vêm sendo pesquisadas nos últimos anos. Dentro deste contexto, surgem os revestimentos comestíveis destinados a conservação de alimentos, a exemplo de frutas, que há muitos anos vem sendo empregados com esta perspectiva. No entanto, atualmente, as pesquisas estão sendo direcionadas para o desenvolvimento de revestimentos bioativos com adição de substâncias antioxidantes e/ou antimicrobianas. A aplicação destes revestimentos possibilita estender a vida útil dos alimentos frescos uma vez que controlam a transferência de umidade, a troca gasosa ou até mesmo processos de oxidação. Portanto, tornam-se interessantes para serem aplicados em

produtos alimentícios sensíveis ao oxigênio, como aqueles com elevado teor de vitamina C (BONILLA et al., 2012).

O óxido de zinco (ZnO) é um composto inorgânico amplamente utilizado em aplicações cotidianas. Este composto listado como um material GRAS (*Generally Recognized as Safe*), é reconhecido como seguro pela *Food and Drug Administration* (FAO) e usado como aditivo alimentar. O advento da nanotecnologia tem levado ao desenvolvimento de materiais com novas propriedades para uso como agentes antimicrobianos (ESPITIA et al., 2012).

Uma das propriedades mais interessantes do nano ZnO é a antimicrobiana, como pode ser observada em diversos trabalhos presentes na literatura (SAWAI, 2003; ADAMS et al., 2006; BRAYNER et al., 2006; FRANKLIN et al., 2007; LI et al., 2008). Entretanto, o mecanismo de ação antibacteriano do ZnO ainda está sob investigação. A geração fotocatalítica de peróxido de hidrogênio foi sugerida como um dos mecanismos principais (SAWAI, 2003). Além disso, a penetração na membrana da célula e a desorganização da membrana bacteriana após contato com nanopartículas de ZnO, também foram indicados como causadores da inibição do crescimento bacteriano (HUANG et al., 2010; BRAYNER et al., 2006). No entanto, o papel dos íons Zn^{2+} liberado na dissolução do ZnO ainda não está claro (FRANKLIN et al., 2007). Foi sugerido que os íons Zn^{2+} ligados às membranas dos microrganismos podem prolongar a fase de retardamento do ciclo de crescimento microbiano (ATMARCA; CLCEK, 1998).

A quitosana é um biopolímero derivado de fontes naturais renováveis e possui numerosas aplicações em vários campos, dentre eles a área de alimentos como películas comestíveis e revestimentos. A quitosana possui propriedades antibacterianas e antifúngicas que aumentam a proteção de alimentos, entretanto, possui baixa propriedade de barreira à gases, água, além de possuir permeabilidade que podem limitar seu uso (ELSABEE; ABDU, 2013). No entanto, novas alternativas para a melhoria das propriedades de barreira podem ser aplicadas, como a nanotecnologia que além de melhorar estas propriedades podem trazer benefícios quanto ao custo e a eficiência (SORRENTINO et al., 2007). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do revestimento comestível à base de quitosana aditivado com nanoZnO, em frutos. Neste estudo utilizou-se a goiaba, devido à alta perecibilidade.

2 Material e métodos

2.1 Material

Goiabas (300 unidades) no estágio de maturação verde a semi-maduras foram adquiridas em um estabelecimento comercial (CEASA /PE), tendo como critério de seleção a coloração da casca do fruto (verde escuro a verde claro).

2.2. Planejamento Experimental fatorial

Para melhor definir as condições experimentais para o revestimento comestível bioativo a base de quitosana/ZnO nano, o estudo foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa, uma planilha do planejamento experimental fatorial fracionário 2^{4-1} , foi utilizada como referência na qual continha como variáveis independentes: Tempo de imersão dos frutos (2min – 5min), temperatura do gel para revestimento (30°C – 40°C), concentração de ZnO nano (0- 0,2%) e concentração de quitosana (0,5% - 1,5%). Para as variáveis dependentes foram verificadas a presença de pontos de podridão e a coloração interna e externa dos frutos. A matriz do planejamento experimental com os valores reais utilizados nos ensaios encontra-se apresentada na Tabela 1. Na segunda etapa, empregando as melhores condições experimentais, definidas na primeira etapa do estudo, os frutos revestidos e armazenados por 21 dias, em temperatura ambiente, foram submetidos, a cada dois dias, as determinações de acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), pH e atividade de água (aw) segundo metodologia da AOAC (2002). Além disso, foi verificada também a presença/ausência de pontos de podridão, coloração interna e externa dos frutos. Para a determinação da perda de massa, os frutos foram pesados individualmente antes da aplicação do revestimento e a cada dois dias do período de armazenamento. Todos os frutos, nas duas etapas do experimento (1° e 2° etapa) foram armazenados em temperatura ambiente (22°C ±1,0).

TABELA 1. Matriz do planejamento fracionário 2^{4+1} para obtenção dos revestimentos comestíveis.

<i>Ensaio</i>	Tempo de imersão (min)	Temperatura de imersão (°C)	Concentração ZnO nano (%)	Conc. do quitosana(%)
01	2	30	0	0,5
02	5	30	0	1,5
03	2	40	0	1,5
04	5	40	0	0,5
05	2	30	0,2	1,5
06	5	30	0,2	0,5
07	2	40	0,2	0,5
08	5	40	0,2	1,5
09	3,5	35	0,1	1,0
10	3,5	35	0,1	1,0
11	3,5	35	0,1	1,0

2.2.1 Preparação do gel de quitosana/nanoZnO

Seguindo as condições estabelecidas no planejamento experimental (Tabela 1), quitosana de peso molecular médio (SIGMA- ALDRICH Chemistry) foi solubilizada em solução de ácido acético a 0,5% (v/v) a 50°C, e mantida sob agitação em agitador magnético (TECNAL) com aquecimento. O processo foi finalizado ao verificar a total solubilização da quitosana e a formação do gel.

O nanoZnO, um pó branco com uma superfície texturizada e partículas de tamanho < 140nm, foi sintetizado e cedido pelo Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas (LDN/UFPE). Ao gel de quitosona obtido conforme explicitado no item anterior, foi incorporado o nanoZnO, de forma lenta e com constante agitação para evitar a formação de aglomerados, tendo em vista que o nanoZnO é um pó muito fino. O tempo de agitação variou em função da viscosidade do gel, tendo como parâmetro a completa dispersão do nanoZnO no gel.

2.2.2 Aplicação do revestimento em goiabas

As goiabas (*Psidium guajava*, Lin) no estágio de maturação verde a semi-madura foram adquiridas no CEASA/PE, região metropolitana do Recife, e transportados para o Laboratório de Engenharia de Alimentos (DEQ/UFPE). Os frutos foram selecionados para garantir a homogeneidade das amostras quanto ao tamanho, grau de maturação e integridade física, lavados em água corrente, sanitizados em solução de hipoclorito a 2% por 15 min e secos a temperatura ambiente. Em seguida, as goiabas foram imersas no gel de quitosana e de quitosana/ZnO segundo as condições estabelecidas no planejamento experimental (Tabela 1), em seguida, foram retiradas e deixadas a temperatura ambiente sobre bandejas de poliestireno. As goiabas foram deixadas em temperatura ambiente e, a cada dois dias, análises visuais (cor - externa e interna do fruto, presença/ausência de podridão) foram efetuadas e as imagens registradas por fotografia digital, utilizando como controle a goiaba sem revestimento.

2.3 Tratamento estatístico

Os experimentos foram conduzidos em triplicata e os resultados expressos em média e desvio padrão. Para comparação das médias foi aplicado o teste t de Student para $p < 0,05$, utilizando o programa estatístico Statsoft-v7.

3. Resultados e discussão

3.1 Seleção das melhores condições do revestimento

Os aspectos visuais dos frutos relativos a cor (externa e interna) e a presença de podridão nos frutos observados aos dez dias de armazenamento encontram-se apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Efeito dos filmes comestíveis encapsulados com nanoZnO na cor e podridão da goiaba após dez dias de armazenamento a temperatura ambiente em função do controle.

Ensaio	Tempo de imersão (min)	Variáveis independentes			Respostas (10 dias)		Podridão
		T°C	Conc. nanoZnO (g _{nanoZnO} /g _{quitosana})	Conc. Quitosana	Cor		
					Externa	Interna	
Controle	-	-	-	-	VE	V	P
01	2	30	0	0,5	VE	VV	P
02	5	30	0	1,5	VE	V	P
03	2	40	0	1,5	VA	RC	A
04	5	40	0	0,5	VE	RC	A
05	2	30	0,2	1,5	VA/VE	R	A
06	5	30	0,2	0,5	VA/VE	RC	A
07	2	40	0,2	0,5	VE	R/RC	A
08	5	40	0,2	1,5	VE	RC	A
09	3,5	35	0,1	1,0	VA	RC	A
10	3,5	35	0,1	1,0	VA/VE	RC	A
11	3,5	35	0,1	1,0	VA/VE	RC	A

Aspecto externo das frutas, VE: verde escuro; VC: verde-claro; VA: verde-amarelado. Aspecto interno das frutas, RC: rosa claro; R: rosa; VV: vermelho escuro; V: vermelho. Podridão : Presente (P), Ausente (A).

O ensaio controle (frutas sem revestimento), no terceiro dia de ensaio, já apresentava amadurecimento elevado (cor externa do fruto Amarelada), a partir do quinto dia já apresentava indícios de podridão, ao final do décimo dia de ensaio observou-se a completa podridão do fruto, tendo seu interior com coloração intensa vermelha (correspondente a amadurecimento). Em relação a conservação dos frutos de maneira geral, observou-se que houve uma preservação das características físicas (ausência de podridão) das frutas dos ensaios em que houve revestimento. Com exceção dos ensaios 02 e 03, que assim como o controle, não apresentou uma boa barreira contra o amadurecimento/podridão.

Observa-se que os géis sem adição de nanoZnO que mais influenciaram na conservação dos frutos foram aqueles dos ensaios 3 ($t_{\text{imersão}} = 2$ min, $T(^{\circ}\text{C}) = 40$, $\text{Conc. ZnO}_{\text{nano}}(\%) = 0,0$, $\text{Quitosana}(\%) = 1,5$) e 4 ($t_{\text{imersão}} = 5$ min, $T(^{\circ}\text{C}) = 40$, $\text{Conc. ZnO}_{\text{nano}}(\%) = 0,0$, $\text{Quitosana}(\%) = 0,5$), uma vez que houve retardo no amadurecimento dos frutos, observado pela cor interna e externa do fruto e ausência de podridão. Em relação à cor (externa e interna), ao adicionar ZnO_{nano} ao gel de quitosana, independente da concentração do biopolímero, evidencia-se, também, retardo no amadurecimento dos frutos, mantendo-se conservados ao longo do período de armazenamento (10 dias). Comportamento diferente foi

observado nos respectivos controles que chegaram ao grau máximo de amadurecimento, apresentando podridão (APÊNDICE 1) (Ensaio 01 e 02)

Revestimentos aditivados (ex: componentes antimicrobianos, componentes antioxidantes) ou não para frutos não é um processo novo. Na literatura encontram-se estudos utilizando revestimento de amido, cera de carnaúba, alginato e gelatina (TAPIA et al, 2008, BRANDELERO et al, 2011, SILVA et al, 2012) em diversos tipos de frutas, como acerola, morango, mamão, abacaxi, manga, laranja. O grande interesse neste tipo de embalagem além da facilidade de aplicação industrial se deve a redução de embalagens descartadas pós-consumo no meio ambiente. A ideia ou objetivo na aplicação destes revestimentos comestíveis, aditivados ou não, é retardar o amadurecimento dos frutos que passam por diversos processamentos até chegar ao consumidor, reduzindo, assim, perdas alimentares, um dos grandes problemas que vem atraindo a atenção de diversos órgãos governamentais e não governamentais. Porém, o emprego de nanoZnO em revestimentos comestíveis é um processo novo que vem despertando o interesse dos pesquisadores devido a propriedade antimicrobiana do nanoZnO (HAJIPOUR et al, 2012), facilidade de produção e baixo custo. Podendo, também, ser utilizado no desenvolvimento de filmes biodegradáveis, melhorando as propriedades de barreira e mecânicas quando adicionados a biopolímeros, como quitosana (ZHAO et al, 2013), alginato e amido (TRIGO et al, 2012). Estes autores verificaram um ganho significativo, de aproximadamente 50%, na vida de prateleira e na manutenção do valor nutricional, a depender do tipo de revestimento e dos frutos. Entretanto, estudos vêm sendo aprofundados como vistas a uma aplicação industrial segura para consumo humano ou animal.

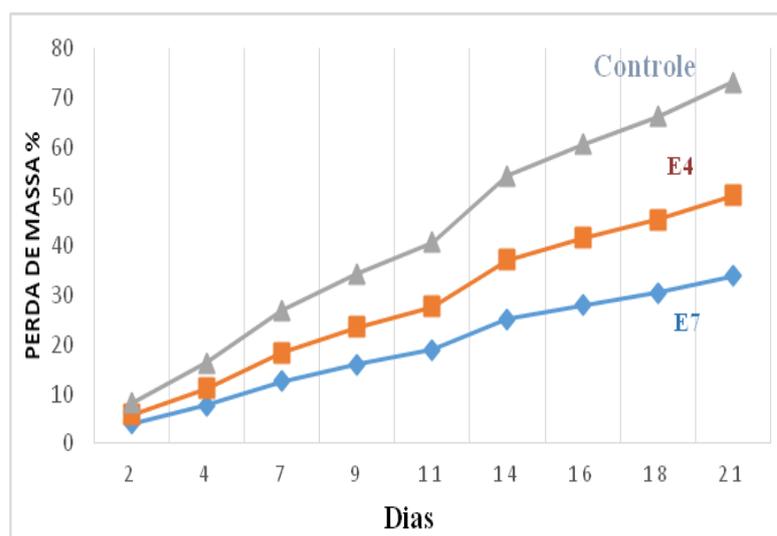
Os ensaios escolhidos para iniciar a nova etapa de estudos (etapa 2) foram os ensaios E4 (quitosana 0,5% e ZnO 0%) e E7 (quitosana 0,5% e ZnO 0,2%). Estes ensaios foram escolhidos pois levou-se em consideração além dos resultados referentes a ausência de podridão e coloração externa e interna dos frutos a fluidez do gel para o revestimento por ser mais viável o manuseio, além de baratear o custo da produção (larga escala de produção, indústria). Em relação ao E4, este foi o ensaio com menor porcentagem de biopolímero (quitosana) que possuiu o melhor resultado frente a podridão, comparado com os outros ensaios que possuíam maior quantidade de biopolímero o obtiveram resultado semelhante. Ocorreu o mesmo em relação ao Ensaio 07 quando comparado aos ensaios que possuíam ZnO. Observou-se também que quanto maior a concentração de biopolímero pior o aspecto visual das frutas, apesar de manter a conservação da frutas o aspecto visual. A fruta ao decorrer do tempo, com a perda de massa, começava a aparentar que estavam revestidas.

Desta forma os ensaios que apresentaram melhores resultados para a segunda etapa foram os ensaios E4 e E7.

3.2 Caracterização Físico-Química

Para avaliar a influência do nanoZnO no amadurecimento dos frutos, foi considerada as condições experimentais dos ensaios E4 e E7 (Tabela 2) (APÊNDICE 2). A caracterização físico-química dos frutos relativa a acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), razão SS/AT, pH e atividade de água (AW) além da análise de perda de massa foram realizadas de 48h em 48h. Os resultados destas determinações estão apresentados nas Figuras de 01 a 03.

FIGURA1. Perda de massa de goiabas com revestimento a base quitosana com nanoZnO durante 21 dias de armazenamento. Controle: frutos sem revestimento; ensaios E7 (quitosana :0,5%, nanoZnO: 0,2%), ensaio E4 (quitosana: 0,5%, nanoZnO: 0%).

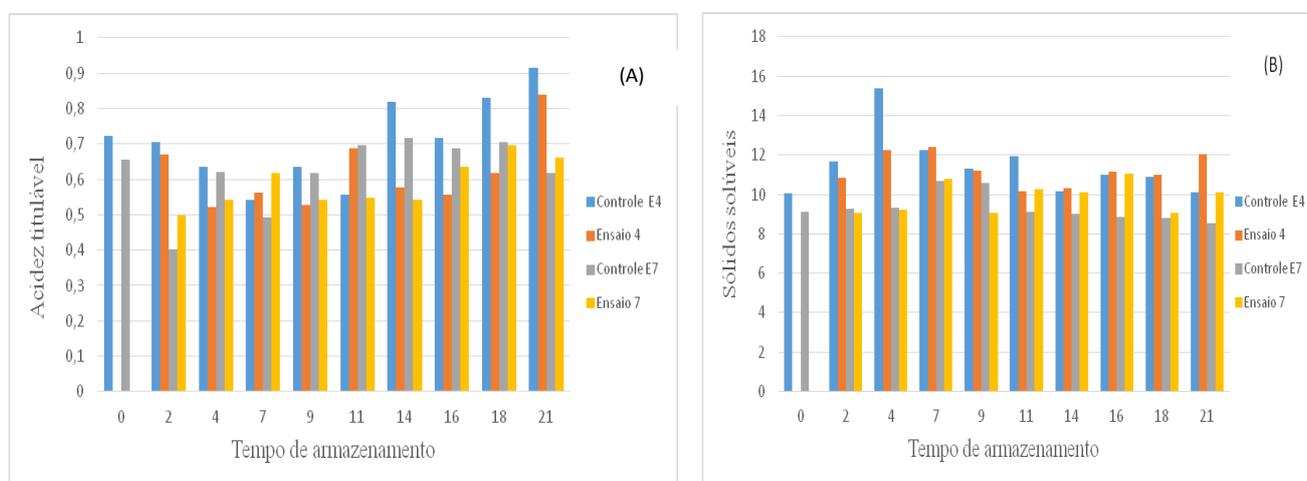


Em relação à perda de massa, ao comparar as frutas revestidas com aquelas do grupo controle (frutos sem revestimentos) evidencia-se que os revestimentos, independente da concentração de quitosana, protegeram as frutas de forma satisfatória (Figura 1), demonstrando viabilidade dos revestimentos. No entanto, observa-se que o percentual de perda de massa foi inversamente proporcional à concentração do nanoZnO, ou seja, quanto maior a concentração do biopolímero, menor a perda de massa da fruta. A eficiência deste biopolímero também foi constatada por Jiang e Li (2001) ao revestirem pitombas com porcentagens diferentes de quitosana, (0.5%, 1% e 2%) e armazenadas sob refrigeração (2°C)

com umidade de 90%. Os autores verificaram que, no vigésimo dia, a perda de massa do controle foi de aproximadamente 5%, enquanto que a perda de massa dos frutos com revestimentos de quitosana não passou de 2%. Com os revestimentos de quitosana/nanoZnO (Figura 1), observa-se que as goiabas perderam massa ao longo do período de armazenamento, entretanto, a perda de massa das frutas do ensaio E7 (0,5% de quitosana e 0,2% de ZnO), foi menor do que a das frutas do ensaio E4 (0,5% de quitosana). Podendo supor que a presença do nanoZnO aumente a barreira de umidade, reduzindo a perda de água para o meio ambiente.

A perda de massa das goiabas revestidas com quitosana com ou sem nanoZnO, após 21 dias de armazenamento, foi de 32,34% (E4) e 23,13% (E7). Os efeitos dos revestimentos e temperaturas de armazenamento na preservação pós-colheita de goiabas Pedro-Santo foi avaliado por Oshiro et al. (2012). Estes frutos foram revestidos com solução de quitosana (1 e 3%) (m/v) e gelatina (3%) (m/v) ou embalados em filme de PVC 17 μ m, armazenados por 28 dias a 5°C e 10°C, com UR 80 \pm 5%. A perda de massa foi crescente, sendo os maiores valores observados nos frutos controle, chegando ao máximo de 25% em relação à massa inicial independente das temperaturas de armazenamento. Quanto as coberturas utilizadas, os autores evidenciaram que a embalagem com PVC propiciou a menor perda de massa.

FIGURA 2. Caracterização físico-química de frutos dos ensaios E7 (0,5% de quitosana e 0,2% de nanoZnO) e do ensaio E4 (0,5% de quitosana e 0% de nanoZnO) e seus respectivos controles (fruto sem revestimento) relativa a acidez titulável (AT) (A), sólidos solúveis (SS) (B), pH (C) e atividade de água (Aw) (D) pelo tempo de armazenamento



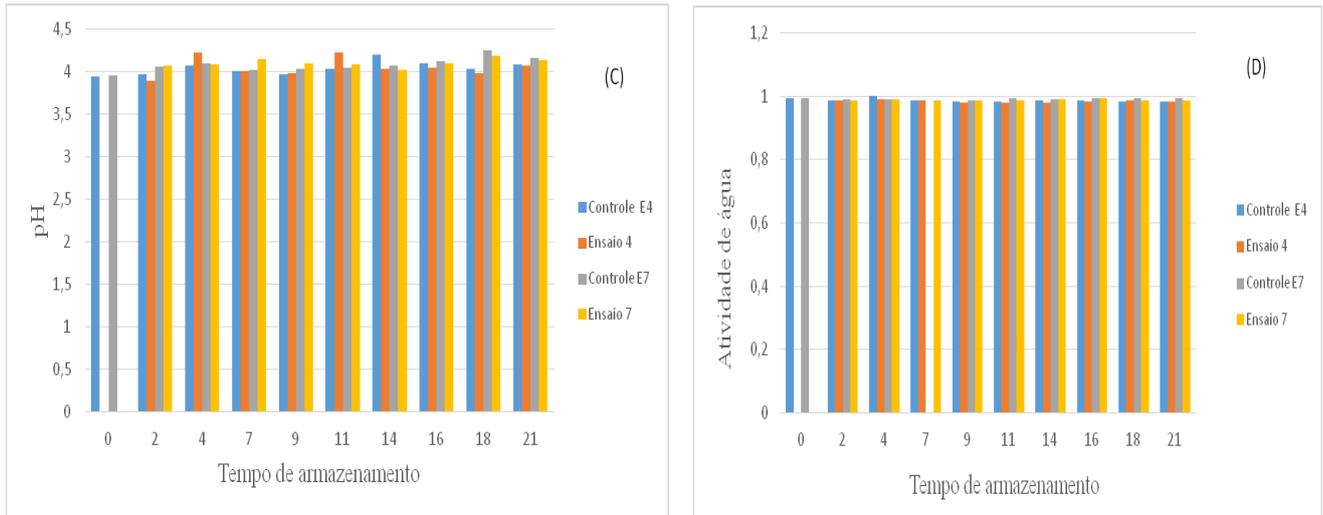
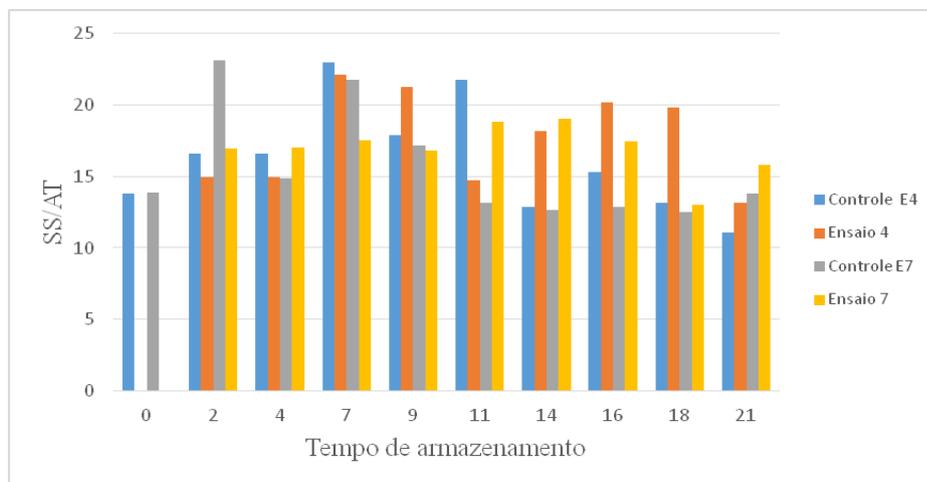


FIGURA 3. Caracterização físico-química de frutos dos ensaios E7 (0,5% de quitosana e 0,2% de nanoZnO) e do ensaio E4 (0,5% de quitosana e 0% de nanoZnO) e seus respectivos controles relativa a relação SS/AT pelo tempo de armazenamento.



As características físico-químicas das goiabas com revestimentos estão apresentadas nas Figuras 2 e 3 e no Apêndice 3. A análise dos dados de cada um dos parâmetros foi efetuada entre as goiabas tendo como referência o ensaio controle (goiaba sem revestimento). À medida que as frutas amadurecem verifica-se o declínio da acidez (AT) e aumento no teor de sólidos solúveis (SS), com consequente aumento da relação SS/AT. A elevação do teor de SST se deve à conversão de polissacarídeos da parede celular em açúcares solúveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005; AZZOLINI, et al.,2004). Independente do tratamento observa-se que as frutas amadureceram ao longo do armazenamento. As frutas com

revestimento de quitosana sem nanoZnO (Ensaio E4), aos 21 dias de armazenamento, apresentaram valor da relação SS/AT ($13,16 \pm 0,47$) estatisticamente similar ao das frutas do grupo controle 7 ($13,78 \pm 0,32$), as frutas do controle 4 (C4) apresentaram valores inferiores em relação ao E4, E7 e C7 ($11,09 \pm 0,51$) e o das frutas do Ensaio E7 apresentaram valor superiores aos outros ensaios, ($15,79 \pm 0,71$).

Estes dados demonstram que a presença do nanoZnO no revestimento não impede o amadurecimento da fruta. Segundo Lima, Assis e Gonzaga Neto (2002), em frutos de cultivares e seleções de goiabeiras produzidos na Região do Submédio São Francisco a relação SST/ATT variou de 9,02 a 19,82. Evidencia-se que os valores de SST/ATT das goiabas deste estudo submetidas ao revestimento encontram-se dentro desta faixa de valores. Em relação ao pH (Figura 2 C) e a atividade de água (Figura 2 D) é possível observar variações pouco expressivas. Comportamento semelhante foi relatado por Oshiro et al. (2012) para goiaba 'Pedro Sato' que aos 28 dias de armazenamento o pH médio foi de $4,89 \pm 0,38$. Em frutos de diferentes cultivares e seleções de goiabeira da Região do Submédio São Francisco os valores de pH variam de 3,72 a 4,22 (LIMA; ASSIS; GONZAGA NETO, 2002), O pH das frutas deste estudo (E4 = $4,07 \pm 0,02$ e E7 = $4,14 \pm 0,00$) encontra-se dentro desta faixa de valores.

Os resultados deste trabalho indicam que existe uma viabilidade no uso do nanoZnO como aditivo para aumentar a validade comercial de frutas, que no caso deste estudo, refere-se a goiabas. Sendo assim, os dados gerados são subsídios importantes para a área de embalagem, especificamente relacionada a revestimento a base de quitosana/ nanoZnO, tendo em vista que tecnologias que reduzam as perdas alimentares com aumento da vida de prateleira, sem reduzir a qualidade e o valor nutricional dos alimentos vêm sendo bastante estudada nas últimas décadas. Dentro deste contexto, os revestimentos, dentro desta perspectiva, é um dos processos que desperta o interesse de inúmeros pesquisadores pela praticidade de aplicação, baixo custo e redução da poluição ambiental no descarte das embalagens pós-consumo.

Mesmo que o ZnO seja um composto reconhecido como seguro (GRAS) e aprovado pela FAO para uso industrial, é importante ressaltar que um material na escala nanométrica apresenta propriedades diferenciadas quando comparado com compostos na escala micro ou macro. Desta forma, torna-se necessário estudos mais sistemáticos para avaliar os mecanismos de ação do nanoZnO no organismo visando uma futura aplicação industrial. Para a aplicação industrial de nanocompósitos, mesmo sendo alvo de interesse pelas indústrias, deve-se atender a alguns requisitos, como segurança, não toxicidade, facilidade de

aplicação/manuseio, e baixo custo. No caso do nanoZnO desenvolvido no Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas (LDN/UFPE), com propriedade antimicrobiana importante, pois inibiu o aparecimento de podridão nos frutos (ANEXO 2), tem um baixo custo de fabricação, atendendo assim a um destes requisitos.

4 Conclusão

Os revestimentos a base de quitosana aditivados com nanoZnO foram eficientes em proteger os frutos, especialmente nas condições experimentais do ensaio E7 (0,5% de quitosana e 0,2% de nanoZnO). Os resultados obtidos demonstram a viabilidade do uso do nanoZnO em revestimentos biopoliméricos, a base de quitosana, para aumentar validade comercial do produto. Desta forma, nanoZnO apresenta-se como um nanocópito promissor, entretanto, para uma aplicação industrial, torna-se necessário estudos mais sistemáticos, para melhor avaliar o mecanismo de ação do nanoZnO no organismo humano e animal, impacto ambiental, e a eficiência no encapsulamento nanoZnO.

Referências

ADAMS, L.K.; LYON, D.Y.; ALVAREZ, P.J.J. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. **Water Research**, v 19, n 40, p. 3527-3532, 2006.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis**, v. 2, 17th, Arlington: AOAC, 2002.

ATMARCA, S., GUL, K. CLCEK, R., The effect of zinc on microbial growth. **Turkish Journal of Medicine and Science**, n 28, p. 595-597, 1998

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. **Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação**. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.

BONILLA, J.; ATARES, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 208–213, 2012.

BRANDELERO, R. P. H.; Grossmann, M. V. E; Yamashita, F. Effect of the method of production of the blends on mechanical and structural properties of biodegradable starch films produced by blown extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n 3, P. 1344–1350, 2011

BRAYNER R, F.-I.R., Brivois N, Djediat S, Beneditti MF, Fiévet F., Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. **Nano Lett.**, v 4,n 6, p. 866-870, 2006

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ed. Lavras: Ed. UFLA, 2005. 785p.

ELSABEE, M. Z.; ABDU, E. S.; Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering**. C.33, p. 1819–1841, 2013.

ESPITIA, P.; SOARES, N.D.F.; COIMBRA, J.S.D.R.; ANDRADE, N.J.; CRUZ, R.S.; MEDEIROS, E.A.A. Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, p. 1447–1464, 2012.

FRANKLIN, N.M, R.N.; APTE, S.C.;BATLEY, G.E.; GADD, G.E.;CASEY, P.S. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. **Environment in Science Technology**,v 24,n 41, p. 8484-8490, 2007.

HAJIPOUR, M.J.; FROMM, K.M.; ASHKARRAN, A.A.; ABERASTURI,D.J.;LARRAMENDI,I.R; ROJO,T.;SERPOOSHAN,V; PARAK,W.J.;MAHMOUDI,M. Antibacterial properties of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v.30,n10,2012

HUANG, J., et al., Large-scale synthesis of flowerlike ZnO nanostructure by a simple chemical solution route and its gas-sensing property. **Sensors and Actuators B: Chemical**. V 1, ,n146, p. 206-212, 2010 .

JIANG, Y.; LI, Y. Effects of chitosan coating postharvest life and quality of logan fruit. **Food Chemistry**, v 73, p 139-143, 2001.

LI, Q., et al., Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. **Water Research**, v 18, n 42, p 4591-4602, 2008.

LIMA, M.A.C; ASSIS, J.S.; GONZAGA NETO,L. Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na região do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24 n.1, p. 273 -276, 2002

OSHIRO, A.M.; DRESCH,A.M.; SCALON, S.P.Q. Preservação de goiabas ‘pedro sato’ armazenadas sob atmosfera modificada em refrigeração. **Revista Ciências Agrárias**, v 35, jan/jun 2012.

SAWAI, J., Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. **Journal of Microbiological Methods**, v. 2, n.54, p. 177-182, 2003

SILVA, D. F. P.; SALOMAO, L. C. C.; ZAMBOLIM, L. and ROCHA, A.Use of biofilm in the postharvest conservation of 'Pedro Sato' guava. **Revista Ceres**, vol.59, n.3, p. 305-312, 2012.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, p. 84–95, 2007.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A.; CARMONA, A.; RODRÍGUEZ, F. J.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTINBELLOSO, O. Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1493-1503, 2008

TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S; SPOTO, M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 125-133, 2012.

APÊNDICE 3. Resultados das análises físico- químicas : Acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), relação sólidos solúveis acidez titulável (AT/SS), atividade de água (aW), potencial hidrogeniônico (pH) do Controle do ensaio 4 e 7 e do Ensaio 4 e 7. teste t de student ($p < 0,05$), comparação de médias, utilizando o programa estatístico Statsoft-v7.

Resultados do Ensaio 04 e controle do ensaio 04

Ensaio	Controle Ensaio 4 (0% quitosana, 0% nanoZnO)					Ensaio 4 (0,5% quitosana, 0% nanoZnO)				
	AT	SS	AT/SS	aW	pH	AT	SS	AT/SS	aW	pH
Dia 0	0,722±0,02	10,03±0,57	13,82±0,556	0,995±0,00	3,95±0,00	-	-	-	-	-
Dia 02	0,704±0,02 ^a	11,67±0,31 ^a	16,58±0,38 ^a	0,986±0,00 ^a	3,97±0,01 ^a	0,669±0,05 ^a	10,83±0,15 ^b	14,96±0,72 ^b	0,987±0,00 ^a	3,89±0,02 ^b
Dia 04	0,634±0,00 ^a	15,40±0,10 ^a	16,58±0,38 ^a	0,999±0,00 ^a	4,07±0,04 ^b	0,521±0,09 ^a	12,23±0,21 ^b	14,96±0,72 ^b	0,989±0,00 ^a	4,23±0,04 ^a
Dia 07	0,542±0,07 ^a	12,27±0,25 ^a	22,97±3,69 ^a	0,985±0,00 ^a	4,01±0,04 ^a	0,563±0,04 ^a	12,40±0,26 ^a	22,09±1,31 ^a	0,985±0,00 ^a	4,01±0,02 ^a
Dia 09	0,634±0,04 ^a	11,30±0,00 ^a	17,87±0,10 ^b	0,983±0,00 ^a	3,97±0,03 ^a	0,528±0,04 ^b	11,23±0,21 ^a	21,29±0,62 ^a	0,980±0,00 ^a	3,98±0,03 ^a
Dia 11	0,556±0,09 ^a	11,93±0,21 ^a	21,78±3,11 ^a	0,982±0,00 ^a	4,04±0,01 ^b	0,689±0,03 ^a	10,17±0,29 ^b	14,75±0,72 ^b	0,981±0,00 ^a	4,23±0,02 ^a
Dia 14	0,820±0,02 ^a	10,16±0,06 ^a	12,85±1,18 ^b	0,985±0,00 ^a	4,21±0,02 ^a	0,577±0,09 ^b	10,33±0,38 ^a	18,17±2,45 ^a	0,981±0,00 ^b	4,04±0,02 ^b
Dia 16	0,718±0,02 ^a	11,00±0,00 ^a	15,33±0,04 ^b	0,988±0,00 ^a	4,10±0,03 ^a	0,556±0,06 ^b	11,13±0,11 ^a	20,20±2,48 ^a	0,983±0,00 ^a	4,05±0,03 ^a
Dia 18	0,831±0,05 ^a	10,87±0,42 ^a	13,12±1,06 ^b	0,984±0,00 ^a	4,04±0,02 ^a	0,619±0,05 ^b	11,00±0,00 ^a	19,82±1,34 ^a	0,985±0,00 ^a	3,98±0,05 ^a
Dia 21	0,915±0,05 ^a	10,13±0,06 ^b	11,09±0,51 ^b	0,982±0,00 ^a	4,09±0,02 ^a	0,838±0,04 ^a	12,03±0,58 ^a	13,16±0,47 ^a	0,984±0,00 ^a	4,07±0,02 ^a

Resultados do Ensaio 07 e controle do ensaio 07

Ensaio	Controle do ensaio 7 (0% quitosana, 0% nanoZnO)					Ensaio 7 (1,5% quitosana, 0% nanoZnO)				
	AT	SS	AT/SS	aW	pH	AT	SS	AT/SS	aW	pH
Dia 0	0,655±0,00	9,10±0,10	13,90±0,15	0,992±0,00	3,96±0,00 ^a	-	-	-	-	-
Dia 02	0,401±0,02 ^b	9,27±0,11 ^a	23,13±0,99 ^a	0,990±0,00 ^a	4,06±0,00 ^a	0,498±0,01 ^a	9,07±0,15 ^a	16,99±1,10 ^b	0,988±0,00 ^a	4,08±0,03
Dia 04	0,622±0,01 ^b	9,33±0,15 ^a	14,90±0,38 ^b	0,990±0,00 ^a	4,10±0,03 ^a	0,542±0,02 ^a	9,20±0,10 ^a	17,00±0,90 ^a	0,989±0,00 ^a	4,09±0,04
Dia 07	0,493±0,03 ^b	10,70±0,26 ^a	21,75±0,88 ^a	0,988±0,02 ^a	4,03±0,01 ^a	0,619±0,05 ^a	10,80±0,10 ^b	17,50±1,19 ^b	0,988±0,00 ^a	4,15±0,02
Dia 09	0,619±0,06 ^a	10,57±0,15 ^a	17,17±1,64 ^a	0,986±0,00 ^a	4,04±0,01 ^a	0,542±0,03 ^a	9,07±0,11 ^a	16,78±1,23 ^a	0,987±0,00 ^a	4,10±0,04
Dia 11	0,697±0,03 ^a	9,13±0,15 ^b	13,12±0,49 ^b	0,995±0,00 ^a	4,05±0,02 ^a	0,549±0,04 ^b	10,27±0,15 ^a	18,79±1,52 ^a	0,988±0,00 ^b	4,09±0,02
Dia 14	0,718±0,07 ^a	9,00±0,10 ^b	12,64±1,41 ^b	0,991±0,00 ^a	4,08±0,02 ^a	0,542±0,11 ^a	10,10±0,10 ^a	19,02±3,55 ^a	0,989±0,00 ^a	4,03±0,03
Dia 16	0,689±0,01 ^a	8,87±0,06 ^b	12,84±0,12 ^b	0,992±0,00 ^a	4,13±0,02 ^a	0,634±0,20 ^b	11,04±0,06 ^a	17,47±0,50 ^a	0,992±0,00 ^a	4,10±0,07
Dia 18	0,704±0,01 ^a	8,80±0,10 ^b	12,50±0,12 ^a	0,992±0,00 ^a	4,26±0,01 ^a	0,697±0,03 ^a	9,07±0,06 ^a	13,03±0,63 ^a	0,988±0,00 ^b	4,19±0,05
Dia 21	0,619±0,01 ^a	8,53±0,5 ^b	13,78±0,32 ^b	0,994±0,00 ^a	4,16±0,03 ^a	0,662±0,02 ^a	10,10±0,10 ^a	15,79±0,71 ^a	0,987±0,00 ^a	4,14±0,00

