



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



**Filmes bioativos de quitosana, alginato e suas blendas aditivadas com
nanoZnO: produção e caracterização**

Marília Oliveira Paiva de Vasconcelos

Recife, 2016

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

Marília Oliveira Paiva de Vasconcelos

**Filmes bioativos de quitosana, alginato e suas blends aditivadas com
nanoZnO: produção e caracterização**

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.

ORIENTADORA: Prof^ª Dr^ª Enayde de Almeida Melo

CO-ORIENTADORA: Prof^ª Dr^ª Andrelina Maria Pinheiro Santos

Recife, 2016

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

**Filmes bioativos de quitosana, alginato e suas blendas aditivadas com nanoZnO:
produção e caracterização**

Por Marília Oliveira Paiva de Vasconcelos

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

Banca Examinadora:

Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Vera Lúcia Arroxelas G. de Lima
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dra. Glória Maria Vinhas
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico ao meu filho Theo que ainda está por vir, mas já me transformou em uma pessoa melhor e mais confiante. Deus nos concede os filhos para por a prova nossa capacidade de amar o outro, mais que a nós mesmos, apesar de ainda não te conhecer já sinto um amor inexplicável e único por você.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela realização deste sonho, por me conceder a vida, a saúde e a fé para me conduzir e vencer esta etapa de minha vida. E acima de tudo por iluminar os meus caminhos com boas oportunidades e pessoas especiais que permitiram que eu chegasse até aqui... e também pelos obstáculos que me fizeram crescer.

Aos meus pais, João e Elza, meu eterno agradecimento pela torcida e pelas orações. Apesar da distância sempre me apoiaram e me fizeram acreditar que nada é impossível. Aos demais familiares e amigos. O apoio de vocês, mesmo de longe sempre foi importante.

Ao meu marido Josimar, por todo incentivo e apoio ao longo de todos esses 14 anos de caminhada juntos... mostrando-se sempre um parceiro e companheiro em todas as minhas decisões. Sem o seu apoio, paciência e até mesmo sua abdicção em seguir em certos caminhos para estar ao meu lado, não chegaria até aqui.

Às minhas orientadoras, professora Enayde e professora Andreлина pela orientação e dedicação na realização deste trabalho.

Às Marias: Erika, Regina, Maria, Jaque, Keliane, pela amizade que construímos. Por todos os momentos que passamos, o meu especial agradecimento. Sem vocês essa trajetória não seria tão prazerosa.

Agradeço ao professor José Maurício dos Santos Filho e ao doutorando Magno Felipe Teixeira, da UFPE, que auxiliaram na parte prática que não conseguiria realizar sem suas valiosas e bondosas contribuições.

À Carla, pela ajuda também na parte prática e pelas diversas dúvidas tiradas rrsrs, muito obrigada pela ajuda e paciência.

Aos membros da banca, por dedicarem seu tempo na leitura e análise da minha dissertação, contribuindo para que este trabalho se torne realmente relevante no mundo científico.

Por fim, à todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho e torceram por mim.

RESUMO

Nos últimos anos vem se observando que o setor de embalagens destaca-se como segmento importante por contribuir para a manutenção da qualidade do produto, aumentando a sua vida de prateleira e mantendo o seu valor nutricional. Diante deste desafio, pesquisadores vêm buscando novos materiais, novas metodologias que possam ser aplicadas na fabricação de embalagens seguras, que reduzam o impacto ambiental e que facilitem a veiculação de informações sobre a qualidade do produto para o consumidor. Assim, nos últimos anos, pesquisas têm sido intensificadas com o objetivo de incorporar ou encapsular agentes antioxidantes e antimicrobianos em filmes biopoliméricos nanoestruturados para aplicações diversas na indústria de alimentos, inclusive para a fabricação de embalagens. Neste trabalho, filmes puros e filmes das blendas de quitosana e alginato, com diferentes proporções dos biopolímeros, aditivados com nanoZnO 0,2% e 0,1% foram preparados por *solution casting*. Os filmes puros e os das blendas foram submetidos às análises para determinação das propriedades mecânicas; espectrometria de Infravermelho (micro-FTIR); atividade antimicrobiana; solubilidade e cor. Com os biopolímeros de quitosana, de alginato e com a mistura dos dois (quitosana/alginato), aditivados ou não com nanoZnO, foi possível obter filmes maleáveis e com propriedades mecânicas que permitem usá-los em embalagens para alimentos. O nanoZnO apresentou boa dispersão tanto nos filmes como nos filmes das blendas, principalmente quando usado na concentração de 0,1%, tornando-os mais opacos, levemente amarelados e ação antimicrobiana potencializada. A adição do nanoZnO não interfere negativamente nas propriedades físico-químicas, mecânicas e antimicrobiana dos biopolímeros, viabilizando a obtenção de filmes bioativos de quitosana, alginato e suas blendas para aplicação em embalagens para alimentos.

Palavras-Chave: Biopolímeros. Propriedade antimicrobiana. Quitosana. Alginato. NanoZnO.

ABSTRACT

In recent years it has been observed that the packaging sector stands out as an important segment contribute to the maintenance of product quality, increasing its shelf life and maintaining its nutritional value. Faced with this challenge, researchers are seeking new materials, new methodologies that can be applied in the manufacture of safety packaging that reduce environmental impact and facilitate the placement of information on the quality of the product to the consumer. In this study, pure films and films of blends of chitosan and alginate, with different proportions of the biopolymers, nanoZnO added with 0.2% and 0.1% were prepared by solution casting. Pure films and the blends were subjected to analysis to determine the mechanical properties; Infrared spectrometry (micro-FTIR); antimicrobial activity; solubility and color. With the biopolymer chitosan, alginate and the blends (chitosan / alginate), added or not with nanoZnO, it was possible to obtain flexible films and mechanical properties that allow using them in food packaging. The nanoZnO showed good dispersion in the films and their blends, especially when used in concentrations of 0.1%, making them more opaque, slightly yellowish and enhanced antimicrobial action. Therefore, the addition of nanoZnO did not affect negatively the physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of the biopolymers, enabling to obtain bioactive films of the chitosan, alginate and their blends for use in food packaging.

Keywords: Biopolymers. Antimicrobial property. Chitosan. Alginate. NanoZnO.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Classificação dos polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção.....	18
FIGURA 2. Reação de desacetilação da quitina.....	20
FIGURA 3. Estrutura do glicerol.....	27
FIGURA 4. Imagem do filme a ser ensaiado.....	42
FIGURA 5. Imagem do aparelho utilizado com o filme a ser analisado	43
FIGURA 6. Colorímetro Minolta CR-400	44
Figura 7. Filmes e blendas de quitosana, alginato e quitosana/alginato aditivados com nanoZnO.....	45
Figura 8. Filmes e blendas de de quitosana, alginato e quitosana/alginato aditivados com nanoZnO 0,1%	46
FIGURA 9. Espectros de infravermelho dos filmes de quitosana pura; quitosana adicionada 0,2% de nanoZno e adicionada a 0,1% de nanoZnO	50
FIGURA 10. Espectros de infravermelho dos filmes de alginato pura; alginato adicionado 0,2% de nanoZno e adicionado a 0,1% de nanoZnO	52
FIGURA 11. Os espectros de infravermelho das blendas de alginato 50% e quitosana 50%; com adição de 0,2% de nanoZnO e 0,1% de nanoZnO	54
FIGURA 12. Espectros de infravermelho das blendas de quitosana 10% e alginato 90% e quitosana 90% e alginato 10%	56
FIGURA 13. Espectros de infravermelho das blendas de quitosana 10% e alginato 90% com adição de 0,2% de nanoZnO e quitosana 90% e alginato 10% com 0,2% de nanoZnO	57
FIGURA 14. Atividade antimicrobiana dos filmes/blendas quitosana e alginato com e sem adição de nanoZnO 0,2%.....	59
FIGURA 15. Atividade antimicrobiana dos filmes/blendas quitosana e alginato com e sem adição de nanoZnO 0,1%.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Matriz da Composição da mistura de biopolímeros (quitosana e alginato) definida no planejamento experimental de mistura, com ZnOnano 0,2%.....	41
TABELA 2. Estimativas dos parâmetros e valor-p para as variáveis respostas FM, TM, DM,DF,SI E ME sem e com nanoZnO a 0,2% e 0,1%.....	47
TABELA 3. Otimização dos ensaios estimados das variáveis respostas FM, TM, DM,DF,SI E ME sem e com nanoZnO a 0,2% e 0,1%.....	48
TABELA 4. Valores de porcentagem de solubilidade em água para filmes e blendas de quitosana e alginato sem e com a adição de nanoZnO a 0,2% e 0,1%.....	61
TABELA 5. Valor-p do teste não paramétrico Wilcoxon.....	61
TABELA 6. Intervalos de confiança obtidos na colorimetria com 95% de confiança sem e com adição de nanoZnO.....	63

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	12
2.0 PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE.....	14
CAPÍTULO I	15
3.0 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Filmes biodegradáveis	16
3.2 Quitosana	19
3.3 Alginato	23
3.4 NanoZnO.....	24
3.5 Glicerol como agente plastificante.....	26
3.6 Blendas Poliméricas	28
3.7 Referências	29
4.0 OBJETIVOS	35
4.1 Geral.....	35
4.2 Específico.....	35
CAPÍTULO II	36
Resumo	37
Abstract	38
5.3 Introdução	39
5.4 Materiais e métodos	40
5.4.2 Preparação dos filmes e blendas poliméricas.	41
5.4.2 Caracterização dos filmes e blendas.....	42
- Avaliação visual	42
- Propriedade mecânica	42

5.4.4 Estatísticas	45
5.5 Resultados e Discussão	45
5.6 Conclusão	62
5.7 Referências	63

1.0 INTRODUÇÃO

A substituição dos plásticos convencionais por materiais biodegradáveis vem mobilizando cientistas e ambientalistas há algum tempo. Neste contexto, o interesse na utilização de produtos de fontes renováveis e a produção de materiais plásticos com caráter biodegradável têm se intensificado como política em diversos setores da sociedade. Assim, observa-se um crescente interesse a nível mundial em relação aos polímeros biodegradáveis, provenientes de recursos naturais e renováveis, principalmente, quando se considera o desenvolvimento de produtos que provoquem menor impacto ambiental (PELISSARI et al., 2011).

Os filmes e revestimentos com biopolímeros têm grande potencial de aplicação na indústria de alimentos, como embalagens ativas, aumentando a vida de prateleira e reduzindo o desperdício de alimentos. A utilização de quitosana e alginato, isolados e combinados, no desenvolvimento de filmes aditivados com nano ZnO apresenta-se como alternativa interessante em virtude das propriedades químicas destes materiais, além de serem biosseguros e biodegradáveis.

A quitosana pode ser obtida em varias formas, como hidrogéis, esponjas, membranas, nanofibras, micro/nanopartículas (JAYAKUMAR et al., 2011). Além disso, esse biopolímero em decorrência de suas propriedades químicas exibe mínima reação de corpo estranho, ausência de resposta inflamatória crônica e ausência de encapsulamento fibroso. Além disso, a aplicação de excelentes recursos tecnológicos permite processá-la em estruturas porosas ou nanofibrillares (MUZZARELLI et al., 2012).

O alginato é amplamente utilizado em alimentos, cosméticos e medicamentos bem como na indústria têxtil e de papel. Atualmente, vem, também, sendo utilizado em aplicações inovadoras na área médica e farmacêutica. Em função de suas características químicas, o alginato é utilizado como espessante, estabilizante de emulsões e de espuma, agente de encapsulação, agente de gelificação, agente de formação de filmes e de fibras sintéticas entre outras possibilidades. O alginato utilizado atualmente é extraído de algas, entretanto a sua produção por microrganismos permite uma exploração controlada de suas fontes naturais.

Adicionalmente, a produção por microrganismos pode ser realizada sob condições controladas, usando substratos de qualidade constante e permitindo, assim, a obtenção de materiais específicos com características uniformes (MULLER *et al.*, 2011). Segundo Lee e Mooney (2012), as propriedades biológicas propiciam potencial de aplicabilidade do alginato e seus derivados na área biomédica. Coberturas de alginato funcionam perfeitamente como matrizes para incorporação de fatores de crescimento, atuando como sistema de liberação controlada de substâncias que proporcionam incremento substancial do processo de reparo.

O ZnO não é um material recém-descoberto, tendo sido estudado desde de 1912. Contudo, nos últimos anos o mesmo tem sido alvo de intensa investigação e as pesquisas e aplicações do ZnO como material semiconductor cresceram drasticamente, haja vista o grande número de publicações existentes (AKKILIC *et al.*, 2012). O óxido de zinco (ZnO) é um semiconductor (*bandgap* de 3,37 eV (367,9 nm)) e nanopartículas de ZnO têm se mostrado promissoras em diversas aplicações, entre elas como células solares, sensores e fotocatalisador. Além disso, o óxido de zinco é muito vantajoso como material fotocatalítico devido a seu baixo custo, alta reatividade e natureza não tóxica (SANSIVIERO; FARIA, 2014).

Frente a estas constatações, torna-se relevante investigar a viabilidade de desenvolver filmes biopoliméricos aditivados com nano ZnO, com propriedades mecânicas e ação antimicrobiana, na perspectiva de empregá-los em produtos alimentícios. Desta forma, os conhecimentos gerados fornecerão subsídios importantes para a área de embalagens que se encontra na busca permanente por alternativas viáveis do ponto de vista técnico e econômico e que possam atender de forma satisfatória o consumidor e a indústria de alimentos.

2.0 PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

Considerando as propriedades dos biopolímeros (quitosana e alginato) e do nanoZnO é possível que a combinação destes materiais, em proporções adequadas, favoreça as propriedades mecânicas e potencialize a propriedade antimicrobiana do filme obtido, possibilitando empregá-lo em embalagens para alimentos. Desta forma, o filme desenvolvido que é biodegradável poderá ser utilizado em embalagens bioativas e inteligentes, propiciando a conservação de alimentos, com consequente ampliação da vida de prateleira e manutenção do valor nutricional e das características sensoriais do produto. No entanto algumas questões precisam ser definidas, a saber: Qual a proporção dos biopolímeros e do nanoZnO (0,2% ou 0,1%) que propiciará a obtenção deste filme? O filme obtido apresentará propriedades mecânicas que possibilitem empregá-lo em embalagens para alimentos?

CAPÍTULO I

3.0 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Filmes biodegradáveis

O Brasil é um dos países de maior índice de consumo mássico de plásticos convencionais. Estima-se que o valor bruto da produção física de embalagens, em 2013, atingiu R\$ 51,8 bilhões e este montante deve-se, em grande parte aos grandes volumes produtivos da indústria de alimentos que, juntamente com outros segmentos industriais que alicerça o país (ABRE, 2014).

Nos últimos anos tem ocorrido um considerável aumento de pesquisas relacionadas a polímeros biodegradáveis devido aos problemas associados a resíduos não degradáveis derivados dos plásticos convencionais provenientes do petróleo (CANCHÉ-ESCAMILLA et al., 2011; MULLER; PIRES; YAMASHITA, 2012). Recentemente, a produção e a utilização de biopolímeros, polímeros verdes e polímeros biodegradáveis, surgem como importantes alternativas devido à viabilidade técnica e econômica e por apresentarem grande potencial de expansão em substituição aos resíduos não degradáveis derivados dos plásticos convencionais (BRITO et al., 2011).

Os biopolímeros são polímeros produzidos a partir de fontes renováveis, como milho, cana de açúcar, celulose, quitina, entre outras. O grande interesse pelos biopolímeros está relacionado com alguns fatores ambientais, como por exemplo, o grande impacto ambiental causado pelo processo de extração e refino de petróleo para produção de polímeros sintéticos não biodegradáveis e a poluição ambiental (BRITO et al., 2011). Os filmes biodegradáveis são películas finas obtidas a partir de biopolímero, de origem vegetal ou animal, ou de blendas de compostos, que ao serem lançados no meio ambiente, convertem-se em compostos simples, mineralizados, que não agredem o biosistema (CHANDRA; RUSTGI, 1998). Ressalta-se que para a elaboração desses filmes se faz necessário utilizar pelo menos um polímero capaz de formar uma matriz contínua e coesa (GUILBERT et al., 1997).

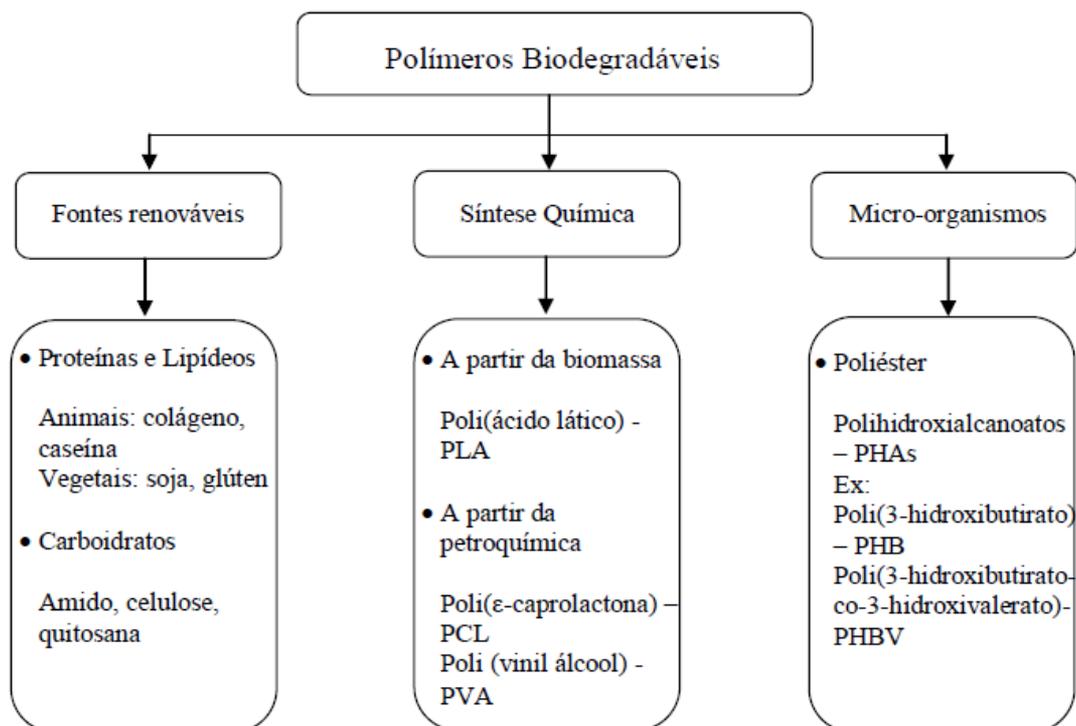
Filmes biodegradáveis oferecem um potencial para prolongar a vida de prateleira e preservar a qualidade dos alimentos por meio do controle da

transferência de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, sabor e aroma entre os componentes do alimento e atmosfera que os envolve (BADAWY; RABEA, 2011).

Dentre os biopolímeros naturais destacam-se o amido, a celulose, a quitosana e o ágar, substâncias derivadas de hidratos de carbono, bem como a gelatina, o glúten, o alginato, proteína de soro de leite e de colágeno, derivados proteicos. Nos dias atuais, o advento da tecnologia possibilitou a obtenção de biopolímeros sintéticos, como o ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), ácido poliglicólico (PGA), poli (álcool vinílico) e polibutileno succinato (PBS) (RHIM et al., 2013).

Desta forma, considerando a origem, os biopolímeros podem ser classificados em naturais e sintéticos. Os biopolímeros naturais, derivados de carboidratos e de proteínas, podem ser extraídos a partir da biomassa (a exemplo dos recursos agros), enquanto que os sintéticos podem ser obtidos por produção microbiana ou fermentação, como o poli-hidroxi-alcanoatos (PHA), ou por síntese química convencional, empregando biomassa, a exemplo do PLA; ou petróleo (como o PCL) (Figura 1). Os primeiros três grupos são derivados de recursos renováveis, enquanto que o último grupo é derivado do petróleo (OTHMAN, 2014).

Figura 1- Classificação dos polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção. Fonte: Adaptado de Brito et al.(2011) e (RHIM et al., 2013)



A técnica de produção dos filmes a partir de uma solução filmógena envolve, inicialmente, a etapa de solubilização do polímero em um solvente (água, etanol, solução de ácido acético, etc.) ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes, agentes reticulantes, agentes antimicrobianos, etc.). Posteriormente, a solução formadora do filme é vertida sobre um suporte e submetida a um processo de desidratação até uma condição que permita um fácil desprendimento do molde ou aplicada no recobrimento de um produto, sendo este processo denominado de *casting solution* (CUQ et al., 1995).

O método *casting solution* é comumente usado para elaborar filmes comestíveis em escala de laboratório. Neste método, as condições de secagem podem variar de 12 minutos com ar quente a 12 h à temperatura ambiente (DU et al., 2011).

Os recobrimentos são aplicados ou confeccionados diretamente sobre o produto ou alimento a ser protegido, enquanto os filmes são estruturas independentes que após sua fabricação podem ser utilizadas para envolver os

produtos, como embalagens. Os filmes podem localizar-se na superfície ou como finas camadas entre diferentes partes do produto (FALGUEIRA et al., 2011).

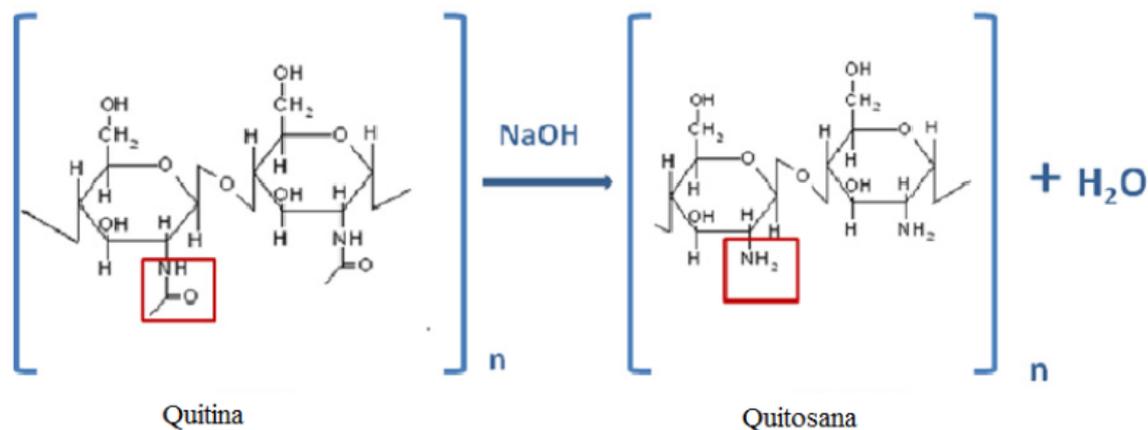
O uso de filmes ou recobrimento baseados em polímeros naturais depende de vários fatores, incluindo custo, disponibilidade, atributos funcionais, propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade), qualidades ópticas (brilho e opacidade), propriedades de barreira (permeabilidade ao vapor de água, O₂ e CO₂), resistência estrutural à água (solubilidade) e aceitação sensorial. Estas características resultam de diversos parâmetros, tais como: características físico-químicas e concentração da macromolécula e dos demais constituintes (solvente, plastificante, agente antimicrobiano, etc.), pH, condições de secagem e condições ambientais (temperatura e umidade) (VIEIRA et al., 2011).

As propriedades mecânicas dos biofilmes são características determinantes para a sua utilização como material de embalagem, devido ao manuseio a que estão sujeitos os produtos durante sua distribuição e comercialização. As propriedades funcionais dos biofilmes são fortemente influenciadas pelas condições de processos, pela formulação e pelos plastificantes usados. As propriedades requeridas para os biofilmes dependem principalmente das características do produto que será embalado, entretanto, baixa permeabilidade ao oxigênio é requerida em produtos sensíveis à oxidação, como gorduras poli-insaturadas (SOUZA et al., 2012).

3.2 Quitosana

A quitosana é obtida pela reação de desacetilação da quitina em meio alcalino (Figura 2). A quitina é composto pelas unidades monoméricas de β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose e β -(1 \rightarrow 4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose. Este polímero natural possui uma estrutura cristalina altamente organizada, como comprovada por difração de raios-X. Dessa forma, é um polímero insolúvel em meio aquoso e na maioria dos solventes orgânicos, e tem baixa reatividade química. A insolubilidade da quitina é o maior fator limitante da sua utilização (BADAWY; RABEA, 2011).

Figura 2- Reação de desacetilação da quitina. Fonte: CARVALHO *et al.* (2011)



O biopolímero quitosana pode ser modificado fisicamente, e tem como vantagem sua grande versatilidade, podendo ser preparado em diferentes formas, tais como pós, flocos, microsferas, nanopartículas, membranas, esponjas, colméias, fibras e fibras ocas (BERNKOP-SCHNÜRCH; DÜNNHAUPT, 2012). Os filmes de quitosana são quebradiços, com baixa resistência mecânica. A adição de plastificante torna-se importante por melhorar as propriedades mecânicas do filme, permitindo empregá-lo (FIORI *et al.*, 2014). Sendo assim, a quitosana, polímero biodegradável, forma filmes flexíveis com eficiente barreira ao oxigênio, podendo ser usado como alternativa ao uso de polímeros sintéticos.

Maciel *et al.* (2012) desenvolveram um novo material para embalagem com a incorporação do pigmento clorofila à matriz de filmes de quitosana, visando obter sistemas inteligentes de indicação de variação de temperatura. Nesse estudo, a clorofila adicionada (0,25 g/100 g) à suspensão de quitosana (2,00 g/100 g) proporcionou a origem de filmes inteligentes de quitosana (FIQ). Os efeitos da temperatura (10 °C a 50 °C) e da luminosidade (0 a 1000 lx) foram estudados utilizando um planejamento experimental, avaliando os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) e propriedades mecânicas. As suspensões de quitosana contendo clorofila foram aplicadas como revestimento em superfície de papel cartão formando o sistema de material flexível filme-papel cartão (S-FP), reduzindo significativamente o tempo de secagem. Os filmes caracterizaram-se pela homogeneidade, flexibilidade, coloração

esverdeada e por serem de fácil manuseio. A variação de cor foi visualmente observada no sistema S-FP, alterando irreversivelmente de verde para amarelo quando submetido a temperaturas acima de 50 °C, independentemente da luminosidade. Desta forma, o sistema proposto pelos autores, tem potencial de aplicação como indicador colorimétrico de temperatura na faixa de 50 °C a 75 °C, com a vantagem de simples fabricação, biodegradabilidade e uso de materiais seguros para aplicação em contato direto com alimentos e fármacos, além do baixo custo.

Abdollahi et al. (2012) incorporaram, com sucesso, óleo essencial de alecrim em filmes de quitosana. Este óleo essencial considerado um dos melhores antioxidantes naturais, mostrou-se ainda, capaz de melhorar a sensibilidade dos filmes de quitosana a água. Testes realizados confirmaram que esta melhoria está relacionada com a interação entre os grupos hidrofílicos da quitosana com o óleo essencial de alecrim. A permeabilidade ao vapor de água do filme de quitosana aumentou com a incorporação do óleo. Além disso, os filmes de quitosana aditivados com o óleo tornaram-se mais flexíveis e com transparência aumentada. Porém, reduziu a transmissão de luz UV, o que pode ser desejável para a indústria de embalagens de alimentos. No entanto, mais investigações se faz necessária para a compreensão do mecanismo de ação do antioxidante e da propriedade antimicrobiana dos filmes de quitosana contendo este óleo, aplicados em alimentos.

Em outro estudo com filmes desenvolvidos com quitosana e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), plastificados com sorbitol, os parâmetros estruturais, mecânicos, difratométricos e térmicos foram estudados. Soluções de HPMC (2% m/m) em água, e quitosana (2% m/m) em uma solução de ácido acético a 2%, foram preparadas. A concentração de sorbitol usada foi de 10% (m/m) para ambos os polímeros. Estas soluções foram misturadas em diferentes proporções (100/0; 70/30; 50/50; 30/70 e 0/100) de quitosana e HPMC, respectivamente, e 20 mL foram vertidos em placas de Petri de poliestireno, para posterior análise dos filmes prontos. A miscibilidade dos polímeros foi avaliada através da difração por Raio-X, microscopia eletrônica de varredura, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA). Os resultados obtidos demonstraram que

os filmes não foram totalmente miscíveis no estado seco, embora existam ligações fracas de hidrogênio entre os grupos funcionais dos biopolímeros (ROTTA; MINATTI; BARRETO, 2011).

Matet e colaboradores (2015) produziram blendas de polietileno/quitosana (2, 5 e 10%) e polietileno/EVA/quitosana (2, 5 e 10%) por processo de extrusão. Suas principais conclusões foram que as temperaturas de cristalização e fusão permaneceram constantes independentes da quantidade de quitosana. As propriedades mecânicas foram afetadas com a presença de quitosana, porém pequenas quantidades de quitosana (2%) não tiveram muito efeito sobre o módulo de elasticidade e deformação específica. A permeabilidade ao vapor d'água das blendas aumentou, enquanto a permeabilidade ao oxigênio permaneceu constante.

Grande, Pessan e Carvalho (2015) descreveram uma nova técnica para o processamento de uma blenda ternária de PLA, quitosana e PVA, na presença de glicerol (plastificante). O processo consistia basicamente na dissolução de quitosana em PVA, seguida da dispersão desta blenda termoplástica na matriz de PLA no estado fundido. Este processo permitiu a produção de biofilmes de quitosana com polímeros insolúveis em água, sob condições de processamento convencionais utilizadas para materiais termoplásticos.

Sun e colaboradores (2014) avaliaram filmes de quitosana incorporados com várias concentrações de ácido gálico, estes foram preparados e investigados quanto a suas propriedades antimicrobianas, mecânicas, físicas e estruturais. Quatro estirpes bacterianas que normalmente contaminam produtos alimentares foram escolhidas como bactérias alvo para avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes de quitosana-ácido gálico. A incorporação de ácido gálico aumentou significativamente as atividades antimicrobianas dos filmes contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua* e *Bacillus subtilis*. Filmes de quitosana incorporados com 1,5 g / 100 g de ácido gálico mostrou a atividade antimicrobiana mais forte. Verificou-se também que a resistência à tração (TS) da película de quitosana foi aumentada significativamente quando se incorpora 0,5 g / 100 g de ácido gálico. A inclusão de 0,5 g / 100 g de ácido gálico também diminuiu significativamente a permeabilidade ao vapor de água (PVA) e a permeabilidade ao oxigênio (OP).

Microestrutura dos filmes foi investigada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e microscopia eletrônica de varredura (SEM) e verificou-se que o ácido gálico foi disperso homogeneamente na matriz de quitosana.

3.3 Alginato

A fonte mais comum de alginato é a parede celular de algas castanhas, e para fins comerciais o alginato é extraído a partir de algas marinhas. Alginato e biocompósitos a base de alginato têm sido utilizadas como, por exemplo, adsorventes de corantes iônicos (SUI et al., 2012), antibacteriano em filmes (BENAVIDES; VILLALOBOS-CARVAJAL; REYES, 2012), e materiais para a cicatrização de feridas (SIKAREEPAISAN; RUKTANONCHAI; SUPAPHOL, 2011).

O alginato pode, ainda, ser produzido por microrganismos permitindo uma exploração controlada de fontes naturais. Adicionalmente, a produção por microrganismos pode ser realizada sob condições controladas, usando substratos de qualidade constante e permitindo, assim, a obtenção de materiais específicos com características uniformes (MULLER et al., 2011).

Lee e Mooney (2012) realizaram uma extensa revisão sobre as propriedades biológicas e potencial aplicabilidade do alginato e seus derivados na área biomédica. Segundo os autores, coberturas de alginato funcionam perfeitamente como matrizes para incorporação de fatores de crescimento, atuando como sistema de liberação controlada de substâncias que propiciam incremento substancial do processo de reparo. Dependendo do grau de reticulação, o intumescimento da estrutura tridimensional do alginato na presença de solventes é significativamente reduzido, resultando em uma diminuição na permeabilidade para diferentes solutos. Como consequência, a liberação do agente incorporado é lenta, permitindo que estes sistemas sejam utilizados na liberação controlada de substâncias.

Biofilmes confeccionados à base de alginato de sódio que foram reticulados com íons Ca^{++} provenientes de duas fontes, cloreto e benzoato de cálcio com glicerol como plastificante. Inicialmente, devido ao alto poder gelificante do Ca^{++} , um filme de baixo grau de reticulação foi confeccionado por *casting solution* (1º estágio).

Esse filme sofreu uma reticulação complementar por imersão em uma solução contendo de 3 a 7% de $\text{CaCl}_2 (\text{H}_2\text{O})$, além de glicerol (2º estágio). A liberação de benzoato de cálcio foi avaliada em diferentes concentrações de agente ativo no filme e dois níveis de reticulação do alginato. O mecanismo envolvido no processo de difusão foi investigado usando o modelo da Lei de Potência. Os resultados indicaram que a difusão de benzoato de cálcio em filmes de alginato apresentou características de comportamentos Fickiano e não-Fickiano. Os coeficientes de difusão efetivos obtidos usando a solução em série derivada da 2ª Lei de Fick são próximos aos valores obtidos pela solução em tempos curtos, com valores de difusividade efetiva do benzoato variando de 3 a $5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. Os valores de difusividade diminuíram com o aumento da intensidade de reticulação e aumentaram com a concentração de benzoato no filme. Os valores de difusividade encontrados são uma ordem de grandeza menor que a difusividade em alimentos com umidade intermediária, indicando um uso potencial para filmes de alginato como sistemas de liberação de substâncias ativas (TURBIANI et al., 2011).

Estudo com misturas de amido e alginato obteve-se filmes com uma melhor resistência à tração em comparação a filme com amido puro. Após imersão em soluções de CaCl_2 , os filmes com diferentes proporções de amido e alginato tiveram melhor flexibilidade do que o filme de amido isolado. As películas com proporções mais elevadas de alginato tinham os teores de cálcio mais elevados. Filmes de alginato tiveram uma menor resistência à água em relação ao filme de amido. Enquanto que os filmes de amido-alginato tiveram solubilidade em água moderada (FAZILAH et al., 2011).

Embora biocompósitos com base em alginato tenha forte potencial para ser utilizado, em embalagem, se faz necessário melhorar as propriedades mecânicas conferindo ao filme alta resistência. A incorporação de nanocristais de celulose aos biocompósitos a base de alginato, tem sido estudada com vistas a melhorar as propriedades mecânicas de filmes de alginato (CHENG et al., 2012).

3.4 NanoZnO

O ZnO nanoestruturado é um material bastante atrativo, destacando-se dentre outros óxidos, e em decorrência de sua versatilidade, apresenta variadas

morfologias, características elétricas e magnéticas promissoras, além da possibilidade de preparação por métodos químicos relativamente simples e de baixo custo. Essas características tem se mostrado cruciais para o delineamento e aplicação do ZnO em eletrônica, catálise, fotodetectores, sensores, células solares, opto-eletrônicos, entre outros. A fim de se obter características específicas para determinadas aplicações tecnológicas, se torna necessário escolher de forma criteriosa a rota de síntese, uma vez que materiais nanoestruturados com propriedades desejadas é fortemente influenciada por suas características estruturais e propriedades químicas (MAYRINCK et al., 2014). Vale ressaltar que o ZnO integra a lista GRAS (Generally Recognized as Safe) da FDA/USA (Food Drug and Administration) e tem se mostrado como um forte antimicrobiano contra patógenos alimentares (ESPITIA et al., 2013).

A literatura relata a aplicação do ZnO nanoparticulado em filmes biopoliméricos. Tankhiwale e Bajpai (2012) descreveram a preparação de nanopartículas de ZnO carregados em filmes de polietileno usando o amido como matriz de suporte. Estes filmes apresentaram ação antimicrobiana contra a *Escherichia coli*. A utilização de nanoZnO, como agente antimicrobiano, torna os filmes mais biodegradáveis, e economicamente mais barato, quando comparado a outros metais em nanopartículas, como prata e ouro. Desta forma, o nanoZnO apresenta forte potencial de uso em embalagem para alimentos.

Arfat et al. (2015) constataram que filmes de polipropileno (PP) aditivados com nanopartículas de ZnO e óleo essencial de manjeriço (BEO) foram eficazes em inibir o crescimento microbiano e retardar a oxidação lipídica em fatias de robalos refrigerados. O produto embalado com esse filme e armazenado sob refrigeração manteve a sua qualidade por um período de 10 a 12 dias.

Em estudo realizado por Li et al. (2011), foi desenvolvido um filme para embalagens com nanoZnO e aplicado com sucesso para a preservação de maçãs 'Fuji' em armazenamento a 4°C durante 12 dias. Os resultados mostraram que o revestimento de nanoZnO foi mais benéfico para manter a qualidade e conservação de produtos frescos logo após o seu corte do que em embalagens tradicionais.

Adicionalmente, o filme elaborado mostrou que nanoembalagens para alimentos possuem várias vantagens como a facilidade de processamento e de viabilidade para ser industrializada em comparação com outras tecnologias de preservação, a maioria dos quais são, alto custo demorado e mudança de off-flavor.

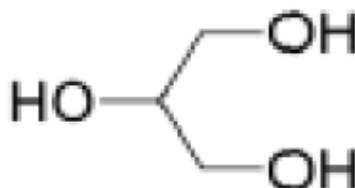
Espitia et al. (2013) desenvolveram filmes de nanocompósitos de metilcelulose (MC) incorporados com pediocina e nanopartículas de óxido de zinco (nanoZnO) cujas propriedades físico-mecânicas, incluindo cristalografia por difração de raio-X, resistência mecânica, inchaço e propriedades de cor, caracterização de microscopia, estabilidade térmica, bem como a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* foram avaliadas. O nanoZnO e a pediocina afetaram a cristalinidade do MC como também afetaram, significativamente, o alongamento na ruptura. Pediocina propiciou a obtenção de filmes amarelados, enquanto que nos filmes com nanoZnO a coloração foi esbranquiçada. O inchaço dos filmes diminuíram, significativamente, em relação ao controle e maiores concentrações de NanoZnO resultou em estabilidade térmica melhorada, quanto a atividade antimicrobiana, os filmes com estes nanocompósitos apresentaram atividade contra os microrganismos testados.

3.5 Glicerol como agente plastificante

Glicerol, monoglicéridos acetilados, polietileno glicol e sacarose são plastificantes, frequentemente, usados para alterar a propriedade mecânica do filme. Entretanto, a incorporação destes aditivos pode promover mudanças significativas nas propriedades de barreira dos filmes (ESPITIA et al., 2014). Dentre os plastificantes, o mais utilizado em filmes biodegradáveis é o glicerol. Quimicamente, o glicerol é um tri-álcool com três carbonos, tendo como nome sistemático (IUPAC) 1,2,3-propanotriol (Figura 3). É um líquido incolor, com gosto adocicado, sem cheiro e muito viscoso, derivado de fontes naturais ou petroquímicas. A presença de três grupos hidroxila na estrutura do glicerol é responsável pela solubilidade em água e sua natureza higroscópica. A molécula é altamente flexível possibilitando a existência de ligações de hidrogênio tanto intra como intermoleculares. O termo glicerina aplica-

se à purificação de compostos comerciais que contém, normalmente, quantidades maiores ou iguais a 95% de glicerol (BEATRIZ; ARAÚJO; LIMA, 2011).

Figura 3 - Estrutura do glicerol (BEATRIZ; ARAÚJO; LIMA, 2011)



Plastificantes, como glicerol, podem aumentar a flexibilidade, extensibilidade e distensibilidade do filme, seguido por diminuição na resistência mecânica, temperatura de transição vítrea e barreira a gases e vapor de água, em decorrência de sua higroscopicidade. O plastificante é uma molécula pequena, de baixa volatilidade e de natureza química similar a do polímero usado na constituição do filme (GROSSMAN, 2007).

Machado et al. (2014) averiguaram que nanocelulose da fibra do coco, amido de mandioca e o glicerol são materiais promissores para o desenvolvimento de compósitos biodegradáveis. A nanocelulose da fibra do coco obtida por hidrólise ácida, constituída por nanocristais, atua como reforço de matrizes poliméricas biodegradáveis, devido ao seu tamanho nanométrico e alto grau de cristalinidade. A aplicação dessas nanocargas em filmes de amido plastificados com glicerol resultou na obtenção de um material homogêneo, com características mecânicas, de barreira e térmicas apropriadas. Vale ressaltar que a concentração de nanocelulose foi a responsável por alterar significativamente as propriedades mecânicas, de atividade de água e de solubilidade.

Ribeiro e colaboradores (2011) avaliaram o efeito do glicerol sobre a permeabilidade ao vapor de água e estabilidade dos filmes biodegradáveis de amido extraído de caroços de jaca e a funcionalidade como embalagem contendo 20% de glicerol que se aplicou no estudo da estabilidade da vitamina C em função da temperatura e tempo de armazenamento. Observou-se que a hidrofiliabilidade e permeabilidade dos filmes biodegradáveis elaborados com amido de caroço de jaca

dependem da porcentagem de glicerol e da atividade de água contidos nos filmes. Maior estabilidade do filme biodegradável se mostra em atividades de água entre 0,33 e 0,58 em menores porcentagens de glicerol. A permeabilidade é diretamente proporcional à porcentagem de glicerol. Quanto menor a porcentagem de glicerol utilizado na elaboração dos filmes biodegradáveis de amido extraído do caroço de jaca menor é a perda de massa do produto embalado. O filme biodegradável de amido de caroço de jaca acondicionado a 25°C possui maior estabilidade e permeabilidade durante o armazenamento da vitamina C, perdendo 1% da massa em cinco dias de armazenamento.

Em filmes comestíveis produzidos com amido de trigo e diferentes concentrações de glicerol resultou no aumento da solubilidade e na redução de permeabilidade de vapor de água que estavam diretamente relacionadas à concentração de glicerol. Além disso, o glicerol não alterou o padrão dos raios-X dos filmes, no entanto, o grau de cristalinidade foi reduzida. Estas alterações provocadas pelo glicerol promoveu a melhora de algumas propriedades mecânicas das películas de amido (FARAHNAKY; SABERI; MAJZOBI, 2013).

3.6 Blendas Poliméricas

Blenda polimérica é a mistura física de dois ou mais polímeros formando um novo material com propriedades diferentes daqueles que os originaram. Uma blenda pode ser miscível ou imiscível. Ela é considerada miscível quando é possível misturar tão bem os polímeros a ponto de suas cadeias estarem intimamente em contato. Isso gera uma única fase com comportamento físico-químico intermediário ao comportamento de cada componente individualmente. Uma maneira experimental de comprovação da miscibilidade entre dois polímeros é a observância de apenas uma temperatura de transição vítrea (T_g), intermediária aos valores de cada polímero que originou a blenda. E, a blenda será imiscível quando houver a formação de duas ou mais fases (CANEVAROLO, 2006; DE PAOLI, 2008). Segundo ROA e colaboradores (2010), a preparação de blendas é uma alternativa importante para minimizar os custos de investimento no desenvolvimento de novos polímeros, visto que é possível a modificação de polímeros existentes.

O interesse no estudo das blendas tem aumentado a cada ano. Os principais motivos para esse crescimento são decorrentes das seguintes vantagens: tecnológica (as blendas possuem a capacidade de combinar as propriedades de diferentes componentes de modo a obter excelentes propriedades mecânicas, térmicas e químicas); financeira (o custo de desenvolvimento de uma blenda é menor que o custo da síntese de um novo polímero); ambiental e mercadológico (possibilidade de ajuste da composição da blenda de acordo com as especificações do cliente) (FERNANDES et al., 2012).

Tendo em vista as vantagens dos biopolímeros (alginato e quitosana), das blendas biopoliméricas e do nanoZnO, filmes de alginato e quitosana aditivados com esse nanocompósito constitui uma tecnologia promissora para ser empregada em embalagens para alimentos. Portanto, as propriedades físico-químicas e microbiológicas destes filmes devem ser investigadas.

3.7 Referências

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. Improvement of active chitosan film properties with Rosemary essential oil for food packaging. **International Journal of Food Science and Technology**, 47, 847–853, 2012.

ABRE - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGENS. Disponível em: <http://www.abre.org.br/jornal/news108/index.htm>. Acesso em: 31 de Dezembro de 2014.

AKKILIC, K.; OCAKI, Y.S.; KILICOGLU, T.; TOPRAK, A. The Annealing Effects of ZnO Thin Films on Characteristic Parameters of Au/ZnO Schottky Contacts on n-Si. **Journal Of Nano- And Electronic Physics**, p.1012, 2012.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; VONGKAMJAN, K.; SUMPAVAPOL, P.; YARNPAKDEE, S. 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. **Journal Food Science and Technology**, 2015.

BADAWY, M.E.I.; RABEA, E. A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection. **International Journal of Carbohydrate Chemistry** 29, 2011.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 02, p. 306-319, 2011.

BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, 110, 232–239, 2012.

BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; DÜNNHAUPT, S. Chitosan-based drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 81(3): 463–469, 2012.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, vol. 6, p. 127-139, 2011.

CANCHÉ-ESCAMILLA, G; CANCHÉ-CANCHÉ, M. DUARTE-ARANDA, S. CÁCERES-FARFÁN, M. BORGES-ARGÁEZ, R. Mechanical properties and biodegradation of thermoplastic starches obtained from grafted starches with acrylics. **Carbohydrate Polymers**.86, p. 1501-1508, 2011.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. Artliber Editora, São Paulo, 2006.

CARVALHO, M. M. S. G.; STAMFORD, T. C. M.; SANTOS, E. P.; TENÓRIO, P.; SAMPAIO, F. Chitosan as an oral antimicrobial agent. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. **FORMATEX, Microbiology Series**, nº 3, vol. 1, p. 542-550, 2011.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers progress. **Polymer Science**, 23, p.1273-1335, 1998.

CHENG, Y.; LU, L.; ZHANG, W.; SHI, J.; CAO, Y. Reinforced low density alginate based aerogels: Preparation, hydrophobic modification and characterization. **Carbohydrate Polymers**, 88, 1093–1099, 2012.

COMA, V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science** 78, 90-103, 2008.

CUQ, B., GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. **Active Food Packaging**, M. Rooney (Ed.), p. 111-142, 1995.

DE PAOLI, M. A. **Degradação e Estabilização de Polímeros**. Chemkeys, 2ª versão on-line (revisada), 2008.

DU, W.-X.; AVENA BUSTILLOS, R.; HUA, S. S.; MCHUGH, T. Antimicrobial volatile

essential oils in edible films for food safety. In **A. Mendez-Vilas (Ed.), Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances**, Vol. 2, p. 1124-1134, 2011.

ESPITIA, P.J.P.; DU, W.-X.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; SOARES, N.F.F.; MCHUGH, T. H. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. **Food Hydrocolloids**, 35, p. 287-296, 2014.

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. Physical mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, 94(1): 199–208, 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*, 2011.

FARAHNAKY, A.; SABERI, B.; MAJZOobi, M. Effect of glycerol on physical and mechanical properties of wheat starch edible films. **Journal of Texture Studies**, 44, p. 176–186, 2013.

FAZILAH, A.; MAIZURA, M.; ABD KARIM, A.; BHUPINDER, K.; RAJEEV BHAT; UTHUMPORN, U.; CHEW, S. H. Physical and mechanical properties of sago starch – alginate films incorporated with calcium chloride, **International Food Research Journal**, 18(3): 1027-1033 2011.

FERNANDES, L. L.; FREITAS, C. A.; DEMARQUETTE, N. R.; FECHINE, G. J. M. Estudo do Efeito do Tipo de Polipropileno na Fotodegradação da Blenda Polipropileno /Poliestireno de Alto Impacto. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 22, n. 1, p. 61-68, 2012.

FIORI, A.P.S.M.; GABIRABA, V.P.; PRAXEDES, A.P.P.; NUNES, M.R.S.; BALLIANO, T.L.; SILVA, R.C.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A.S. Preparação e caracterização de nanocompósitos poliméricos baseados em quitosana e argilo minerais. **Polímeros**, Vol. 24, n. 5, p. 628 – 635, 2014.

GRANDE, R.; PESSAN, L. A.; CARVALHO, A. J. R. Ternary melt blends of poly(lactic acid)/poly(vinyl alcohol)-chitosan. **Industrial Crops and Products**, *In press*, 2015.

GROSSMAN, M. V. E.; MALI, S.; SHIMAZU, A. A. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, PR, v.28, n. 1, p. 79-88, 2007.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, 14, p. 741-751, 1997.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; KUMAR, S. P.T.; NAIR, S.V; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications, **Biotechnology Advances**, 29, 3, 322-337, 2011.

JIN, T.; SUN, D.; SU, J.Y.; ZHANG, H.; SUE, H-J. Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Quantum Dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, and Escherichia Coli O157H7, **Journal of Food Science**, vol.74, Nr. 1, M46-M52, 2009.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**. 37: 106–126, 2012.

MACIEL, V. B. V.; FRANCO, T. T.; YOSHIDA, C. M. P. Sistemas inteligentes de embalagens utilizando filmes de quitosana como indicador colorimétrico de temperatura. **Polímeros**, vol. 22, n. 4, p. 318-324, 2012.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Química Nova**, Vol. 37, No. 8, 1275-1282, 2014.

MATET, M.; HEUZEY, M. C.; AJJI, A.; SARAZIN, P. Plasticized chitosan/polyolefin films produced by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 177-184, 2015.

MAYRINCK, C.; RAPHAEL, E.; FERRARI, J. L.; SCHIAVON, M. A. Síntese, Propriedades e Aplicações de Óxido de Zinco Nanoestruturado. **Revista Virtual Química**, 6 (5), 1185-1204, 2014.

MULLER, C.M.O.; PIRES, A.T.N.; YAMASHITA, F. Characterization of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends obtained by extrusion and thermopressing. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23 (3), p.426-434, 2012.

MULLER, J. M.; SANTOS, R. L.; BRIGIDO, R. V. Produção de alginato por microrganismos. **Polímeros**, vol. 21, n.4, São Carlos, 2011.

MUZZARELLI, R. A. A.; GRECO, F.; BUSILACCHI, A.; SOLLAZZO, V.; GIGANTE, A. Chitosan, hyaluronan and chondroitin sulfate in tissue engineering for cartilage regeneration: A review, **Carbohydrate Polymers**, 89, 3,723-739, 2012.

OTHMAN, S. H. Bio-nanocomposite Materials for Food Packaging Applications: Types of Biopolymer and Nano-sized Filler, **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, 2, 296 – 303, 2014.

PELISSARI, F. M.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARISTZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V. E. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, p. 1-6, 2011.

RHIM, J.W.; PARK, H.M.; HA, C.S. Bio-Nanocomposites for Food Packaging Applications. **Progress in Polymer Science**, 38, 1629-1652, 2013.

RIBEIRO, A. E. C.; BARBOSA, H. R.; ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; DE CARVALHO, C. W. P. Permeabilidade, estabilidade e funcionalidade de filmes biodegradáveis de amido de caroço de jaca (*Artocarpus heterophyllus*). **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v.2, n.1, p.73–88, 2011.

ROA, J. P. B.; MANO, V.; FAUSTINO, P. B.; FELIX, E. B.; SILVA, M. E. S. R.; SOUZA FILHO, J. D. Síntese e Caracterização do Copolímero Poli(3-Hidroxi-butirato-co- ϵ -Caprolactona) a Partir de Poli(3-Hidroxi-butirato) e Poli(ϵ -Caprolactona). **Polímeros**, vol. 20, nº 3, p. 221-226, 2010.

ROTTA, J.; MINATTI, E.; BARRETO, P.L.M. Determination of structural and mechanical properties, diffractometry, and thermal analysis of chitosan and hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 31(2): 450-455, abr.-jun. 2011.

SANSIVIERO, M. T. C.; FARIA, D. L. A. Influência do tratamento térmico no nanocompósito fotocatalisador ZnO/TiO₂. **Química Nova**, Vol. XY, No. 00, 1-5, 2014.

SARANTÓPOULOS, C. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**, CETEA/ ITAL, Campinas (2002).

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

SOTHORNVIT, R. et al. Effect of Clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT – Food Science and technology**, London, v. 43. n. 2, p. 279-284, Mar. 2010.

SIKAREEPAISAN, P.; RUKTANONCHAI, U.; SUPAPHOL, P. Preparation and characterization of asiaticoside-loaded alginate films and their potential for use as effectual wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, 83, 1457–1469, 2011.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola, **Química Nova**, Vol. 35, No. 2, 262-267, 2012.

SUI, K.; LI, Y.; LIU, R.; ZHANG, Y.; ZHAO, X.; LIANG, H. Biocomposite fiber of calcium alginate/multi-walled carbon nanotubes with enhanced adsorption properties for ionic dyes. **Carbohydrate Polymers**, 90, 399–406, 2012.

SUN, X.; WANG, Z.; KADOUH, H.; ZHOU, K. The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films. **LWT - Food Science and Technology** 57(1): 83-89, 2014.

TANKHIWALE, R.; BAJPAI, S.K. Preparation, characterization and antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 90, 16– 20, 2012.

TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G.; GIMENES, M.L. Liberação de benzoato de cálcio de filmes de alginato de sódio reticulados com íons cálcio, **Polímeros**, vol. 21, nº 3, p. 175-181, 2011.

VIEIRA, M.G.A., SILVA, M. A., SANTOS, L. O., BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, 47, 254–263, 2011.

ZANATTA, G.F.; KANASHIRO, A.M.I.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; PULICI, S.C.P. Suscetibilidade de amostras de *Escherichia Coli* de origem aviária a antimicrobianos, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, n.3, p.283-286, jul./set., 2004.

4.0 OBJETIVOS

4.1 Geral

Desenvolver e caracterizar filmes de quitosana e alginato aditivado com nanoZnO com vistas a aplicá-lo em embalagem para alimentos.

4.2 Especifico

- Definir as proporções de quitosana, de alginato e nanoZnO para a obtenção de um filme biopolimérico;
- Avaliar as propriedades mecânicas e a ação antimicrobiana do filme biopolimérico aditivado com nanoZnO.

CAPÍTULO II

Artigo: Filmes bioativos de quitosana, alginato e suas blendas aditivadas com nanoZnO: produção e caracterização

Resumo

Os filmes e revestimentos biopoliméricos têm grande potencial de aplicação na indústria de alimentos. A utilização de quitosana e alginato, isolados e/ou combinados, no desenvolvimento de filmes, aditivados com nanoZnO, apresenta-se como alternativa para uso em embalagens para alimentos, frente as propriedades mecânicas, de barreira e a ação antimicrobiana dos biopolímeros. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar filmes de quitosana, de alginato e de suas blendas, aditivados com nanoZnO. Os filmes puros e os filmes das blendas, com diferentes proporções dos biopolímeros, preparados por *solution casting*, e aditivados com 0,2% e 0,1% de nanoZnO foram submetidos a espectrometria de Infravermelho (micro-FTIR); a determinação da atividade antimicrobiana, de solubilidade e da cor, e a ensaio mecânico. Os resultados demonstraram que todas as condições experimentais propiciaram a obtenção de filmes maleáveis, com boa homogeneidade e dispersão do nanoZnO, principalmente quando usado na concentração de 0,1%. Os filmes aditivados com nanoZnO apresentaram-se mais opacos, levemente amarelados, e com ação antimicrobiana potencializada, sem, contudo, alterar negativamente as propriedades mecânicas. A adição do nanoZnO não interferiu negativamente nas propriedades físico-químicas, mecânicas e antimicrobiana dos biopolímeros, viabilizando a obtenção de filmes bioativos de quitosana, de alginato e de suas blendas para aplicação em embalagens para alimentos.

Palavras-chave: Polímeros biodegradáveis. Nanopartículas. Embalagem de alimentos.

Bioactive films of the chitosan, alginate and their blends added with nanoZnO: production and characterization

Abstract

The films and coatings biopolymers have great potential for application in the food industry. The use of chitosan and alginate, alone and / or combined in developing films, additivated with nanoZnO, is presented as an alternative for use in food packaging, due to mechanical properties, barrier and antimicrobial action of biopolymers. Thus, the aim of this study was to develop and characterize chitosan and alginate films and their blends, additivated with nanoZnO. The pure films and films of blends with different proportions of the biopolymers prepared by solution casting and additivated with 0.2% and 0.1% nanoZno were subjected to infrared microscopy (micro-FTIR); the determination of antimicrobial activity, solubility and color, and mechanical testing. The results showed that all the experimental conditions enabled the obtaining of flexible film with good homogeneity and dispersion of nanoZnO, especially when used at a concentration of 0.1%. The films added with nanoZnO presented more opaque, slightly yellowish, and with enhanced antimicrobial activity without, however, adversely change the mechanical properties. The addition of nanoZnO did not affect negatively the physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of the biopolymers, enabling to obtain bioactive films of the chitosan, alginate and their blends for use in food packaging.

Keywords: Biodegradable polymers. Nanoparticles. Food packaging.

5.3 Introdução

Entre as novas tecnologias aplicadas ao setor agroalimentar, a nanotecnologia, ferramenta consolidada, é caracterizada como efetiva na habilidade de preparar nanopartículas ordenadas em tamanhos e formas diferenciadas (Sheini et al, 2012; Tan et al, 2011; Santos; Santos, 2008; Huang et al, 2008). Esta ferramenta por empregar escalas muito pequenas - um nanômetro equivale a 10^{-9} m, ou seja, um bilionésimo do metro - possibilita o surgimento de novas propriedades e funções, gerando inovações em diversas áreas (KLOCHIKHIN; SHAPIRA, 2012).

Na produção do alimento, a nanotecnologia tem potencial de aplicação em todas as etapas da cadeia produtiva. Na fase agrícola, pode ser utilizada, por exemplo, no desenvolvimento de pesticidas e adubos mais eficientes e seguros. Nas etapas de processamento de alimentos nanoestruturas, nanopartículas, nanoemulsões etc. podem ser aplicadas como ingredientes em produtos potencializando suas características de qualidade. No setor de embalagem, a nanotecnologia pode ser aplicada no desenvolvimento de “embalagens inteligentes” detentoras de funções ativas junto ao produto, além de se “comunicarem” com o consumidor, por meio de informações dinâmicas relacionadas às condições de estocagem, possíveis contaminações, condições de consumo (a exemplo das embalagens para microondas), entre outras (CUSHEN *et al.*, 2012).

Para o desenvolvimento de novas embalagens alimentícias se faz necessário o estudo dos materiais utilizados na sua fabricação. Assim, conhecer as propriedades mecânicas e de barreira desses materiais diversificará a sua aplicação não só no setor de alimentos e bebidas como também farmacêutico e de cosméticos, além de favorecer o aumento da validade comercial do produto a ser embalado. A migração de substâncias indesejáveis é outro aspecto muito estudado (SIRACUSA et al., 2008).

Por sua vez, a substituição dos plásticos convencionais em embalagens por materiais biodegradáveis vem mobilizando cientistas e ambientalistas, uma vez que o seu descarte gera grandes volumes em aterros, onde permanecem por longo tempo por serem de decomposição lenta. Além disso, quando não descartados corretamente, contribuem para a poluição de águas e ameaçam a segurança de

animais (BRAVO REBOLLEDO et al., 2013; CARSON et al., 2013). Neste contexto, a utilização de produtos de fontes renováveis e a produção de materiais plásticos com caráter biodegradável a serem aplicados em embalagens têm se intensificado como política em diversos setores da sociedade. Observa-se, também, um crescente interesse a nível mundial por polímeros biodegradáveis, provenientes de recursos naturais e renováveis, principalmente, quando se considera o desenvolvimento de produtos que provoquem menor impacto ambiental (PELISSARI et al, 2011).

Dentre os polímeros biodegradáveis pode-se destacar a quitosana e o alginato, provenientes de recursos naturais e renováveis, que constituem alternativa interessante para aplicação em embalagens para alimentos em virtude de suas propriedades químicas, além de serem bioseguros e biodegradáveis. Sendo assim, a incorporação de nanopartículas, como o nanoZnO, poderá potencializar as propriedades destes biopolímeros, propiciando a preservação das características intrínsecas dos alimentos e sua conservação. No entanto, na perspectiva de aplicar estes filmes aditivados com nanoZnO em embalagens para alimentos, as suas propriedades mecânicas e microbiológicas necessitam ser investigada, fato que impulsionou o desenvolvimento deste trabalho.

5.4 Materiais e métodos

Quitosana de médio peso molecular (Sigma-Aldrich), alginato (Dinâmica Química Contemporânea), ácido acético (Quimex) e o glicerol (CAQ- Casa da Química Indústria e Comercio) foram utilizados na elaboração dos filmes biopoliméricos. O nanoZnO foi adquirido do Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas – UFPE. Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em parceria com os Laboratórios de Materiais Poliméricos (propriedades mecânicas e a Análise de infravermelho com transformada de Fourier), e o Laboratório de Microbiologia (atividade antimicrobiana) da UFPE.

5.4.2 Preparação dos filmes e blendas poliméricas.

Os filmes foram preparados, em triplicata, utilizando a técnica *solution casting*, com e sem adição do nanoZnO em pó nas condições definidas na tabela 1. Os filmes de quitosana foram preparados pela dissolução de 1,5 g de quitosana em 100 mL de solução de ácido acético (0,5% v/v). A mistura foi agitada em agitador mecânico (digital Tecnal TE-039/1), a 700rpm, a 50°C por 60 minutos. Com relação aos filmes de alginato, 1,5g do biopolímero foram solubilizados em 100 mL de água destilada, sob agitação a 700rpm por 30min. Nos últimos 15min, o plastificante glicerol foi adicionado e, em seguida, a solução foi vertida em placas de petri (150x15mm) e submetida à secagem a $30^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa com circulação de ar (MA035-MARCONI) por 48 horas.

Para as blendas de quitosana e alginato, as soluções dos biopolímeros foram preparadas separadamente, como descritas anteriormente, e, em seguida, misturadas, segundo as proporções estabelecidas na Tabela 01, e submetidas à agitação a 700rpm, a 50°C, por 60min, em agitador mecânico (digital Tecnal TE-039/1). Nos últimos 15min de agitação, o plastificante glicerol foi adicionado e em seguida a solução foi vertida em placas de petri (150x15mm) e submetida à secagem a $30^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa com circulação de ar (MA035- MARCONI) por 48 horas.

Tabela 1- Matriz da composição da mistura de biopolímeros (quitosana e alginato) com e sem nanoZno

Polímeros	Ensaio				
	E1	E2	E3	E4	E5
Quitosana	100%	-	50%	10%	90%
Alginato	-	100%	50%	90%	10%

Para a obtenção dos filmes puros e filmes das blendas aditivados com nanoZnO, o nanocompósito em pó foi adicionado as soluções (quitosana, alginato e quitosana/alginato), na concentração de 0,2%, nos últimos 10min de agitação

(700rpm), antes da adição do plastificante. Todos os filmes foram armazenados em dessecador, contendo sílica gel, para posterior análise.

5.4.2 Caracterização dos filmes e blendas

- Avaliação visual

Os filmes puros e os das blendas foram avaliados visualmente quanto a capacidade de formação do filme, maleabilidade, dispersão, homogeneidade e alteração da cor. .

- Propriedade mecânica

Os ensaios de tração dos filmes e blendas, com e sem adição de nanoZnO, foram realizados em triplicata, em máquina universal, marca EMIC (Figura 4) seguindo a norma ASTM D-882, a temperatura ambiente e sem controle de umidade, nas seguintes condições: velocidade da garra à 5 mm/min; distância inicial entre as garras a 40 mm e dimensão do corpo de prova em 2,5 x 7,5 cm.

Figura 4 - Imagem do filme a ser ensaiado



- Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de espectroscopia no infravermelho (FTIR) dos filmes e das blendas, com e sem adição do nanoZnO, foram realizados em Espectrômetro Spectrum 400 FT-IR/ FT-NIR – Perkin Elmer, com acessório HATR e os espectros

foram obtidos com resolução de 4 cm^{-1} , empregando-se o total de 16 scans e faixa de $4000\text{ a }600\text{ cm}^{-1}$ (Figura 5). Os dados foram analisados pelo software Opus.

Figura 5 - Imagem do aparelho utilizado com o filme a ser analisado



- Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes puros e os das blendas *in vitro* foi avaliada pelo método de difusão em agar nutritivo. Processo consistiu na difusão de discos dos filmes, de aproximadamente 2 cm de diâmetro, nas placas de petri contendo o meio de cultivo. Todas as placas foram esterilizadas em autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 min. Após a esterilização, as placas foram inoculadas, com 0,1 mL de suspensão de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (10^{-4} na escala MacFarland) e incubadas a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. A ação antimicrobiana foi identificada pela presença do halo de inibição.

- Solubilidade

A solubilidade traz informações sobre o comportamento da molécula permeante com a superfície da matriz polimérica e o meio. Os testes de solubilidade em água foram realizados seguindo o método descrito em Zamudio-Flores et al. (2010). Os filmes foram cortados em peças de tamanho 1 x 2 cm e mantidos em dessecador com sílica por 7 dias. Os filmes foram pesados, imersos em 80 mL de água deionizada, e submetidos à agitação (200rpm), por 1h, a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, as amostras foram removidas e secas em estufa a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ até peso constante. A porcentagem do material total solúvel em água foi calculada utilizando a equação 1.

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final}}{\text{Peso seco inicial}} \times 100 \quad (1)$$

- Cor

A análise instrumental da cor dos filmes puros e os das blendas foi efetuada utilizando um colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta®, Japão) (Figura 6) no modo de refletância, e o iluminante C. A cor, expressa no sistema CIE Lab ($L^*a^*b^*$), é especificada numericamente em um espaço tridimensional esférico, definido por três eixos perpendiculares: o eixo “L” (luminosidade) que varia do preto (0%) ao branco (100%); o eixo “a”, do verde (-a) ao vermelho (+a) e o eixo “b”, do azul (-b) ao amarelo (+b). Para a determinação dos parâmetros da cor, os filmes foram sobrepostos em uma placa branca, as leituras de L^* ; a^* e b^* foram efetuadas em 5 (cinco) diferentes pontos dos filmes, e os dados submetidos ao cálculo da média aritmética.



Figura 6 – Colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta®, Japão)

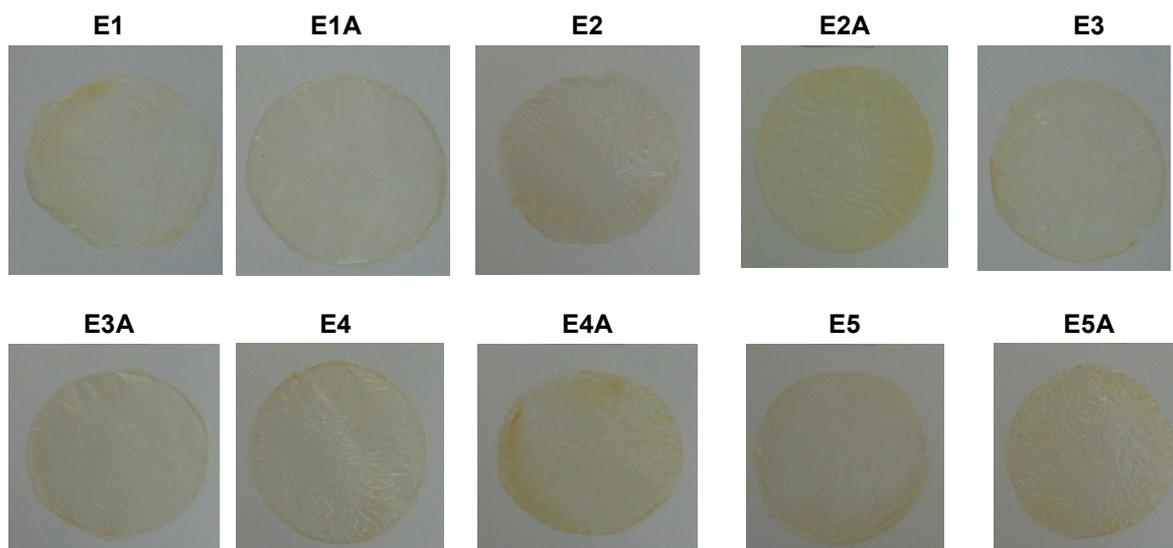
5.4.4 Estatísticas

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software estatístico R, software gratuito e livre (<https://www.r-project.org/>). Os resultados foram expressos em intervalos de confiança, teste t de *Student*, ANOVA (Analysis of variance), teste *Tukey* e o teste não paramétrico Wilcoxon, em que aplicaram-se para comparação das médias com 95% de confiança.

5.5 Resultados e Discussão

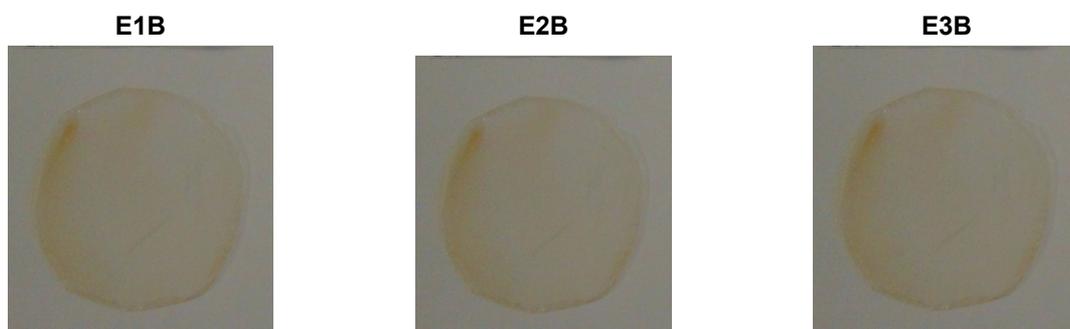
Todas as formulações propiciaram a obtenção de filmes (Figura 7). A análise dos aspectos visuais revelaram que os filmes apresentaram boa dispersão do nanoZnO, demonstrando que todas as condições testadas foram favoráveis. Quanto a cor observa-se alterações, uma vez que os filmes com adição do nanoZnO mostraram-se mais opacos. Para avaliar o efeito da concentração do nanoZnO, sobre os aspectos visuais dos filmes, reduziu-se a concentração do nanocompósito para 0,1% apenas nos filmes obtidos nas condições de 100% de quitosana 100% de alginato, 50% de quitosana e 50% de alginato. Evidencia-se que ao empregar menor concentração de nanoZnO, os filmes obtidos tornaram-se mais maleáveis, e com melhor dispersão do nanoZnO (Figura 8).

Figura 7 – Filmes de quitosana, alginato e quitosana/alginato aditivados com nanoZnO



[(E1) Quitosana 100%; (E1A) Quitosana 100% com 0,2% de nanoZnO; (E2) Alginato 100%; (E2A) Alginato 100% com 0,2% nanoZnO; (E3) 50% quitosana e 50% alginato; (E3A) 50% quitosana e 50% alginato com 0,2% nanoZnO; (E4) 10% quitosana e 90% alginato; (E4A) 10% quitosana e 90% alginato com 0,2% nanoZnO; (E5) 90% quitosana e 10% alginato; (E5a) 90% quitosana e 10% alginato com 0,2% de nanoZnO].

Figura 8 – Filmes de de quitosana, alginato e quitosana/alginato aditivados com nanoZnO 0,1%



[Quitosana 100% com nanoZnO 0,1% (E1B); Alginato 100% com nanoZnO 0,1% (E2B); quitosana 50%e alginato 50%com nanoZnO 0,1% (E3B)].

- Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes definem a capacidade de proteger a integridade dos alimentos de danos físicos (MARTINS, CERQUEIRA e VICENTE, 2012; RUBILAR et al., 2013). O conhecimento da propriedade de resistência à tensão (T) e de alongação na ruptura (E), a depender da aplicação da embalagem, é de fundamental importância. Estes parâmetros relacionam propriedades mecânicas de filmes com as suas estruturas químicas e estão fortemente relacionados com a composição da película (BOURBON et al., 2011).

Para análise das propriedades mecânicas dos filmes puros e os das blendas foi aplicado o experimento com mistura por meio do teste t e a aplicabilidade do planejamento estatístico na otimização da formulação da composição do filme com as variáveis respostas: força máxima (FM), tensão máxima (TM), deformação máxima (DM), deformação específica de força máxima (DF), secção inicial (SI), módulo de elasticidade (ME); e as variáveis explicativas alginato e quitosana nas condições especificadas da Tabela 01. Na Tabela 2, observa-se que os ensaios sem e com nanoZnO (0,1% e 0,2%) obtiveram as estimativas (est), o valor-p, o fator de inflação da variância (VIF) e o coeficiente de determinação ajustado (R^2), demonstrando que tanto o modelo com nanoZnO (0,1% e 0,2%) quanto o sem nanoZnO foram significantes, com 95% de confiança utilizando o teste t. Além disso, o $VIF < 5$, o que indica a não existência *multicolinearidade* entre alginato e quitosana na modelação, ou seja, o alginato não influencia a quitosana, assim como, também, a quitosana não interfere no alginato. Em todos os ensaios, o R^2 ajustado foi próximo de 1,00, demonstrando que os ensaios são viáveis. Vale ressaltar que para os ensaios com nanoZnO 0,1%, às variáveis DM e DF não foram significantes, a 95% de confiança.

Tabela 2- Estimativas dos parâmetros, valor-p, VIF e R² para as variáveis respostas FM, TM, DM, DF, SI, ME sem e com nanoZnO (0,1% e 0,2%).

Ensaio – Sem nanoZnO												
	FM		TM ¹		DM ¹		DF ¹		SI ²		ME ³	
	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p
Algin.	34,25	0,000	5,61	0,000	1,48	0,005	2,53	0,001	7,26	0,000	79,35	0,046
Quit.	24,28	0,001	5,41	0,001	0,60	0,060	1,65	0,004	8,02	0,000	78,16	0,048
VIF	< 5		< 5		< 5		< 5		< 5		< 5	
R ²	0,994		0,993		0,935		0,982		0,998		0,834	

Ensaio – Com nanoZnO 0,2%												
	FM ¹		TM		DM		DF		SI ²		ME ³	
	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p
Algin.	4,12	0,000	438,30	0,033	3,04	0,004	8,33	0,004	7,56	0,000	101,58	0,063
Quit.	3,15	0,000	390,29	0,044	1,92	0,013	3,30	0,048	7,93	0,000	145,60	0,026
VIF	< 5		< 5		< 5		< 5		< 5		< 5	
R ²	0,997		0,857		0,960		0,948		0,997		0,856	

Ensaio – Com nanoZnO 0,1%												
	FM ¹		TM		DM		DF ¹		SI ²		ME ¹	
	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p	est	valor-p
Algin.	4,06	0,034	544,17	0,015	3,52	0,078	3,55	0,440	7,83	0,031	9,34	0,037
Quit.	3,61	0,038	164,23	0,051	1,86	0,146	9,41	0,190	7,52	0,033	9,17	0,038
VIF	< 5		< 5		< 5		< 5		< 5		< 5	
R ²	0,996		0,998		0,971		0,801		0,997		0,996	

¹ logaritimizou os dados para modelar; ² logaritimizou os dados, tomando-os em valor absoluto para modelar; ³ os dados foram divididos por 100.

Para as variáveis significantes, aplicou-se a otimização para encontrar a composição adequada para obtenção do filme com melhor resposta para as variáveis FM, TM, DM, DF, SI e ME. Na Tabela 3 encontra-se o valor médio estimado (ótimo) de acordo com as proporções (prop) máximas obtidas para o alginato e quitosana. Assim, tomando a variável resposta força máxima (FM), como exemplo, observa-se que para o filme com alginato 50% e quitosana 50%, sem adição do ZnO 0,2%, é de 29,26, entretanto com a adição do nanoZnO 0,2%, este parâmetro passa a ser de 37,90 e com nanoZnO 0,1% para 46,11. Desta forma, evidencia-se que filmes aditivados com este nanocompósito a 0,1% apresentam maior resistência. Para a variável resposta Secção Inicial, filmes com alginato 10% e quitosana 90% sem adição de nanoZnO (-28,06) são menos resistentes do que filmes com alginato 10%

e quitosana 90% com adição de ZnO 0,2% (-26,06) e com nanoZnO 0,1% (-21,63%). Observa-se, portanto que a adição de nanoZnO a 0,1% potencializa as propriedades mecânicas dos filmes.

Tabela 3- Otimização dos ensaios estimados das variáveis respostas FM, TM, DM, DF, SI, ME sem e com nanoZnO (0,2% e 0,1%).

	Otimização												
	FM		TM		DM		DF		SI ³		ME ³		
	prop	otim	prop	otim	prop	otim	prop	otim	prop	otim	prop	otim	
Sem nanoZno	Algin.	0,50		0,50		0,50		0,50		0,10		0,50	
	Quit.	0,50	29,26	0,50	246,16	0,50	2,83	0,50	8,07	0,90	-28,06	0,50	78,75
Com 0,2% de nanoZnO	Algin.	0,50		0,50		0,50		0,50		0,10		0,10	
	Quit.	0,50	37,90	0,50	414,29	0,50	2,48	0,50	5,82	0,90	-26,90	0,90	141,20
Com 0,1% de nanoZnO	Algin.	0,50		0,50		0,50		0,10		0,50		0,50	
	Quit.	0,50	46,11	0,50	353,08	0,50	2,69	0,90	8,82	0,50	-21,63	0,50	104,59

[otim = otimização; prop= proporção máxima].

Em estudo realizado por Li et al.(2009), filmes à base de poliuretano aditivados de nanopartículas de ZnO (0,2%), também apresentaram melhoria nas propriedades mecânicas quando comparadas com as dos filmes sem adição do nanocompósito. No entanto, o alongamento à ruptura foi inversamente relacionado à força módulo e à tração de Young. Em outro estudo realizado por Kumar et.al (2014), foi observado melhorias nas propriedades mecânicas com a adição de nanoZnO e WO₃ (óxido de tungstênio) com a concentração percentual em peso de 14%. Estes filmes apresentaram aumento da resistência à tração e o módulo de Young.

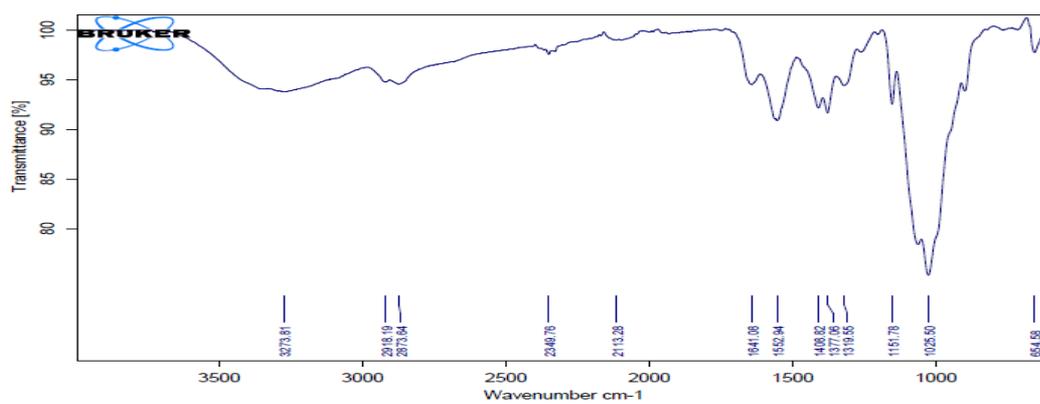
- Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A FTIR é uma técnica que permite a análise qualitativa de compostos orgânicos, uma vez que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, provocando o aparecimento de bandas no espectro do infravermelho, que também são influenciadas pela presença de grupos funcionais próximos. Um espectro de infravermelho atua como uma impressão digital de uma dada amostra. A espectroscopia FTIR, também, permite uma análise quantitativa, tendo em vista que as intensidades de absorção das bandas no espectro são proporcionais à concentração (SOUZA; POPPI, 2012).

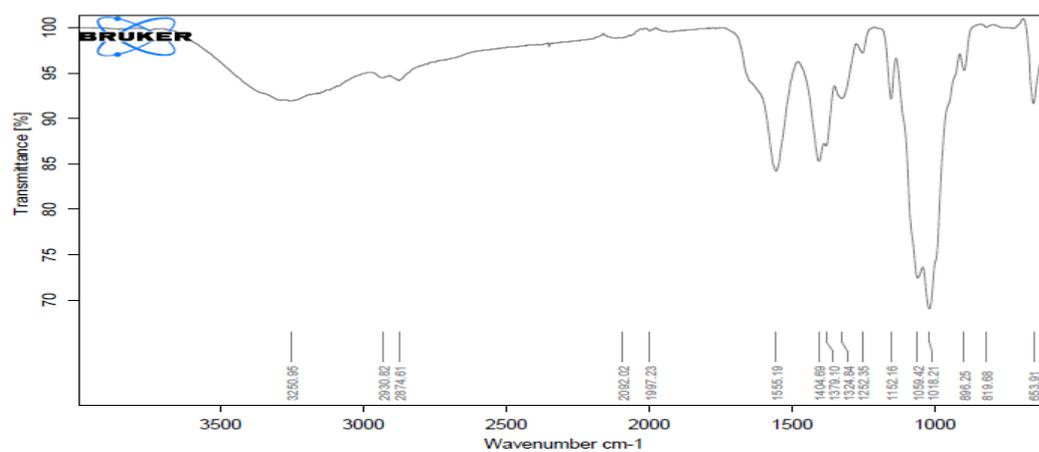
Os espectros de infravermelho dos filmes de quitosana 100%, sem e com adição de nanoZnO 0,2% e 0,1%, na região de 3500 a 1000 cm^{-1} estão apresentados na Figura 9. As principais bandas vibracionais da quitosana estão presentes nas seguintes ondas de comprimento: 1025 (estiramento C-O-C); 1319 (estiramento dos grupos amina C-N); 1377 (deformação angular CH₃); 1553 (deformação angular NH₂); 1641 (estiramento C=O) e 2874 (estiramento C-H). Estes resultados estão de acordo com os descritos na literatura (VIEIRA *et al.*, 2014).

O espectro de FTIR da quitosana 100% sem adição de nanoZnO é muito semelhante aos espectros dos filmes com adição do nanoZnO 0,2% e 0,1%. A única diferença distinta foi a banda de 1555 e 1642 cm^{-1} , característica para os grupos amino de quitosana, segundo relato de Perelshtein *et.al* (2013). Nos filmes com nanoZnO pode-se observar nos espectros que os picos entre 3.250,95 e 3284,96 cm^{-1} , correspondente a vibração de alongamento de -OH e -NH₂, tornou-se mais ampla e de maior intensidade, indicando alguma interação entre estes grupos e o nanoZnO, concordando com os dados dos estudos realizados por Wang, Du e Liu (2004) e Salehi *et. al.* (2010). As bandas próximas de 1070 cm^{-1} no espectro dos filmes de quitosana são geralmente atribuídas aos alongamentos vibracionais C-O e C-N (SALEHI *et.al.*, 2010; VICENTINI; SMANIA Jr; LARANJEIRA, 2010). Observa-se que a intensidade destas bandas características aumentou significativamente nos espectros dos filmes aditivados com nanoZnO 0,2 e 0,1%, indicando que os grupos de C-O e C-N estão envolvidos na organização do nanoZnO na matriz.

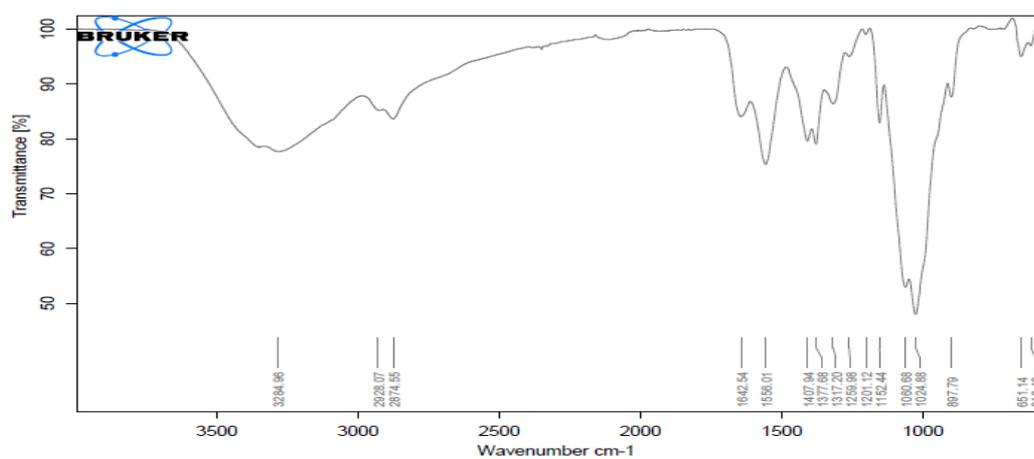
Figura 9 - Espectros de infravermelho dos filmes de quitosana na região de 3500 a 1000 cm^{-1}



(a)



(b)



(c)

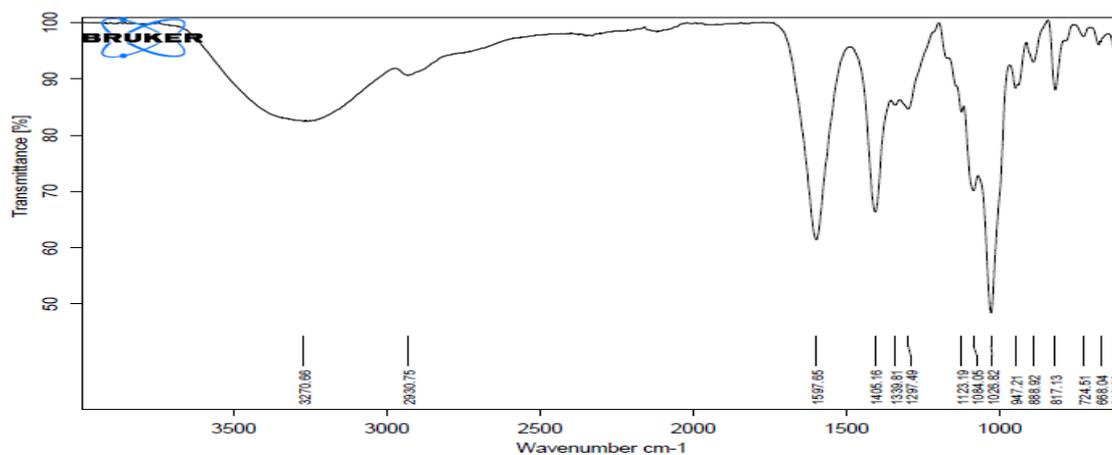
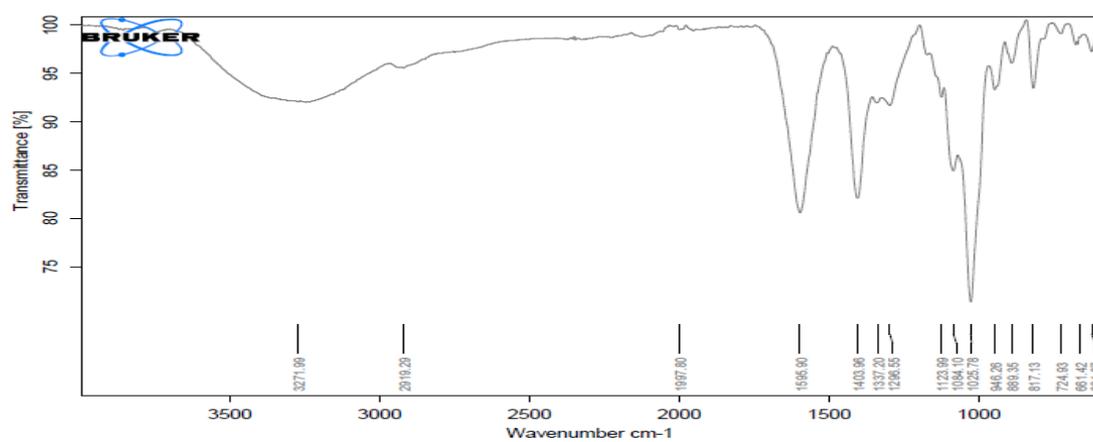
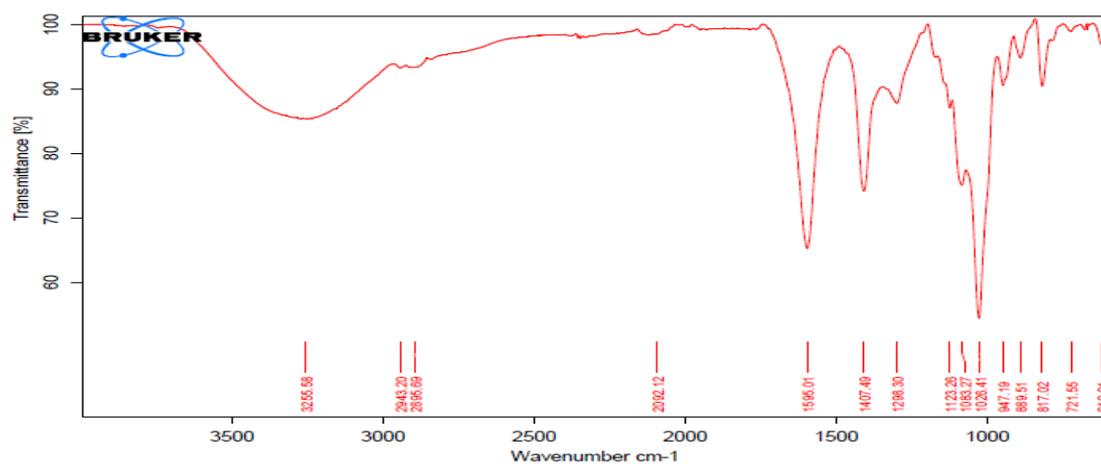
[quitosana 100% (a); quitosana 100% aditivado com nanoZnO 0,2% (b); quitosana 100% aditivado com nanoZnO 0,1% (c) cm^{-1}]

Os espectros de infravermelho dos filmes de alginato 100% e dos filmes das blendas alginato 50% e quitosana 50%, com adição de 0,2% e 0,1% de nanoZnO na região de 3500 a 1000 cm^{-1} e estão apresentados na Figura 10 e 11, respectivamente. A banda encontrada em 1620 cm^{-1} , típica no alginato, está relacionada à vibração do grupo C=O (ABRUZZO *et AL.*, 2013). Os espectros dos filmes aditivados com nanoZnO 0,2% e 0,1% mostrou importantes picos a 661 cm^{-1} e 668 cm^{-1} , indicando alongamento do ZnO, conforme descrito por Varaprasad *et. al.* (2014). Os picos observados em 1600-1640 e 3100-3271 cm^{-1} , mas não largos, se deve à presença de vestígios de água após hidratação por exposição do ZnO ao ar livre (MOROZOV *et. al.*, 2015).

A reação dos grupamentos carboxílico do alginato com os grupamentos amina da quitosana, forma um complexo aniônico, como resultado, mudanças são esperadas nas faixas de absorção destes grupamentos após a complexação (COSTA JR, 2008). Observa-se, portanto, que houve um deslocamento significativo do pico da amina, próximo de 1650 cm^{-1} para 1617 cm^{-1} . Gazori *et al.* (2009), obtiveram resultados semelhantes em um estudo de interação entre o alginato e a quitosana, com mudanças na faixas de absorção dos grupamentos ácidos carboxílicos e amida. Essas mesmas alterações podem ser observadas nos espectros das blendas quitosana 10% / alginato 90% e alginato 10% / quitosana 90% (Figura 12).

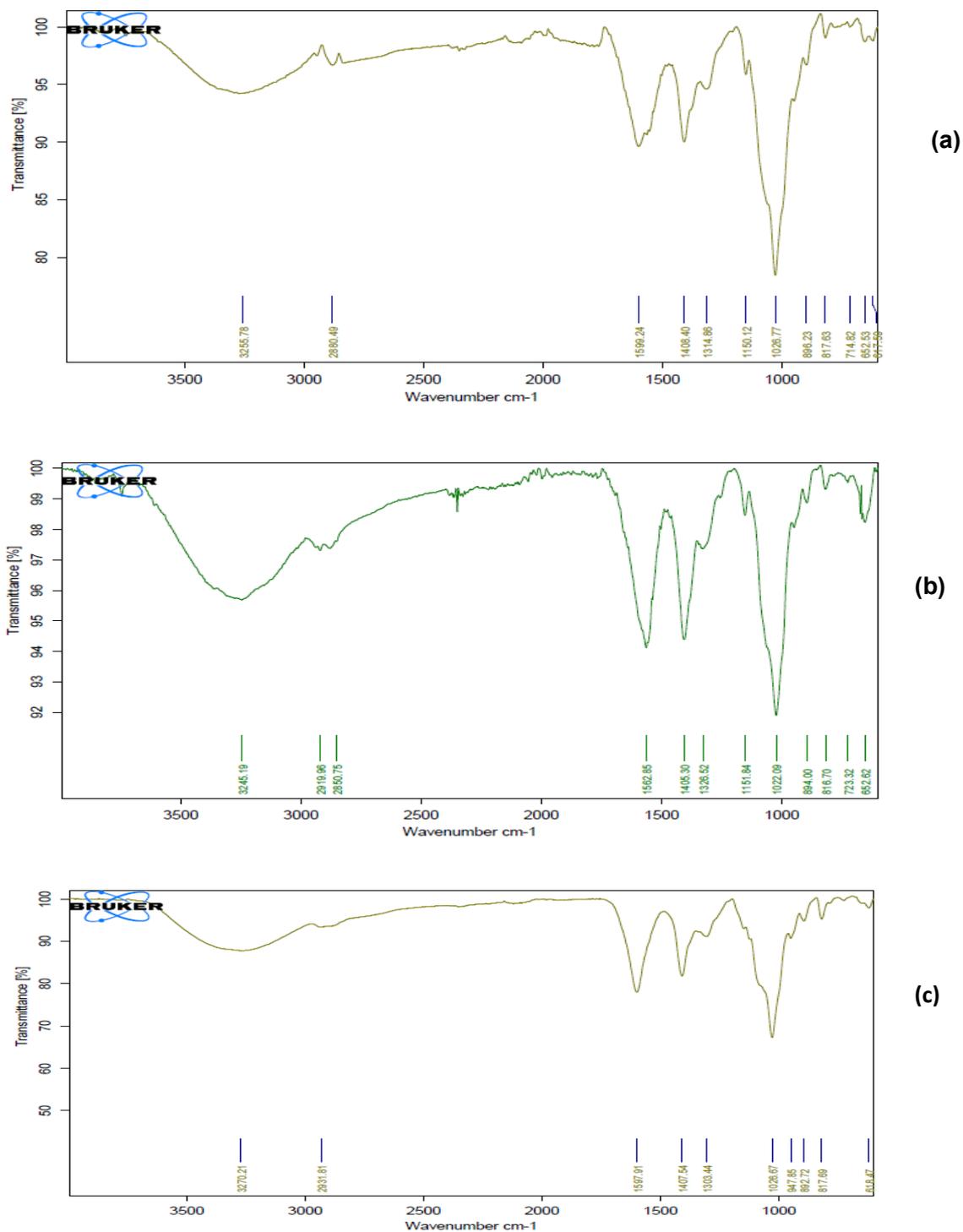
Nos espectros de infravermelho das blendas com a adição do nanoZnO 0,2% e adição de 0,1% de nanoZnO (Figura 13), pode-se observar que a banda próxima de 1600 cm^{-1} decorre da deformação de grupos -OH (n1-OH), provenientes de moléculas de água adsorvidas na superfície hidrofílica do óxido metálico, conforme relatado por Lee *et al.* (2008).

Figura 10- Espectros de infravermelho dos filmes de alginato na região entre 3500 e 1000 cm^{-1}



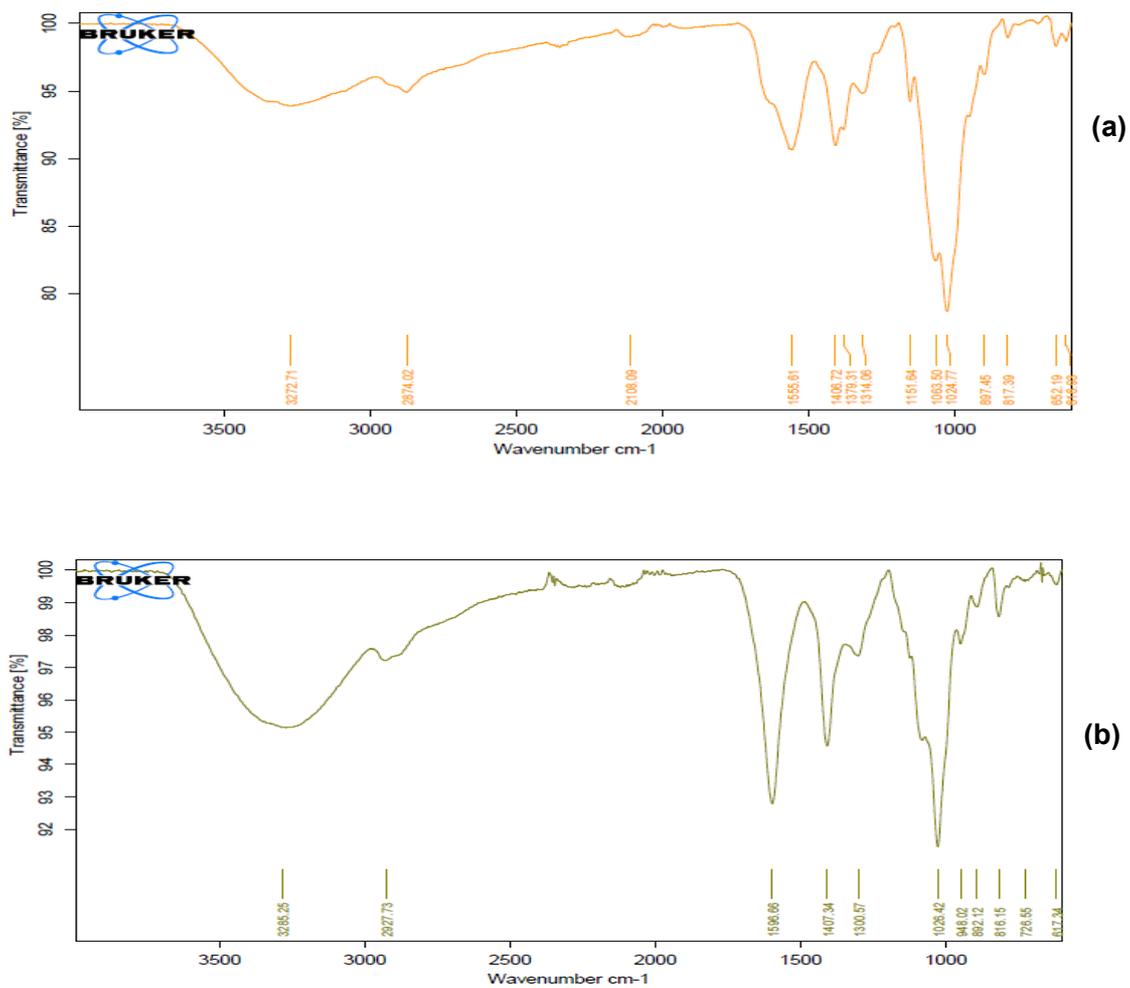
[alginate 100% (a); alginate aditivado com nanoZnO 0,2% (b); alginate aditivado com nanoZnO 0,1% (c)].

Figura 11 - Espectros de infravermelho das blendas alginato / quitosana, sem e com adição de nanoZnO na região entre 3500 e 1000 cm^{-1}



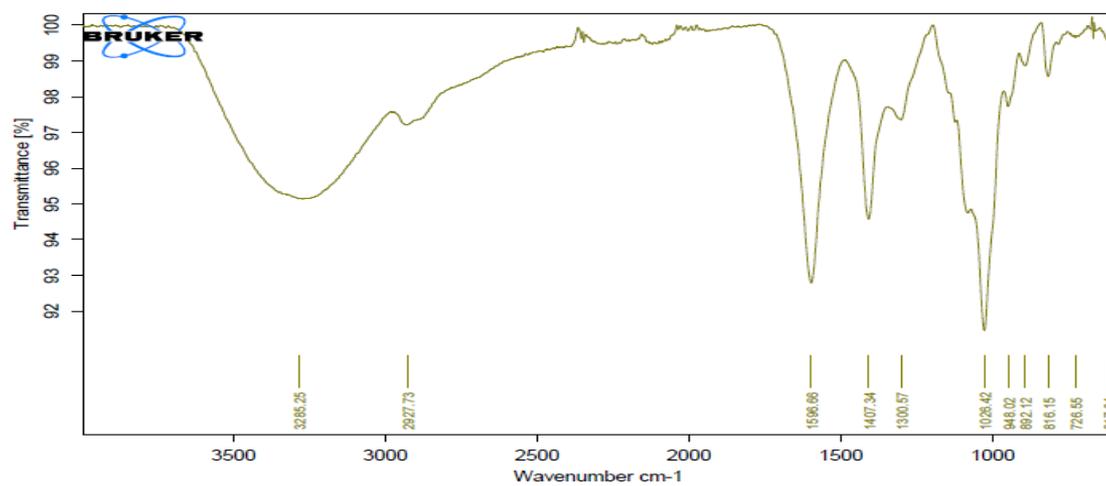
[alginate 50%/quitosana 50% (a); alginate 50%/quitosana 50% aditivado com nanoZnO 0,2% (b); alginate 50%/quitosana 50% aditivado com nanoZnO 0,1%(c)].

Figura 12 - Espectros de infravermelho das blendas de quitosana/alginato na região entre 3500 e 1000 cm^{-1}

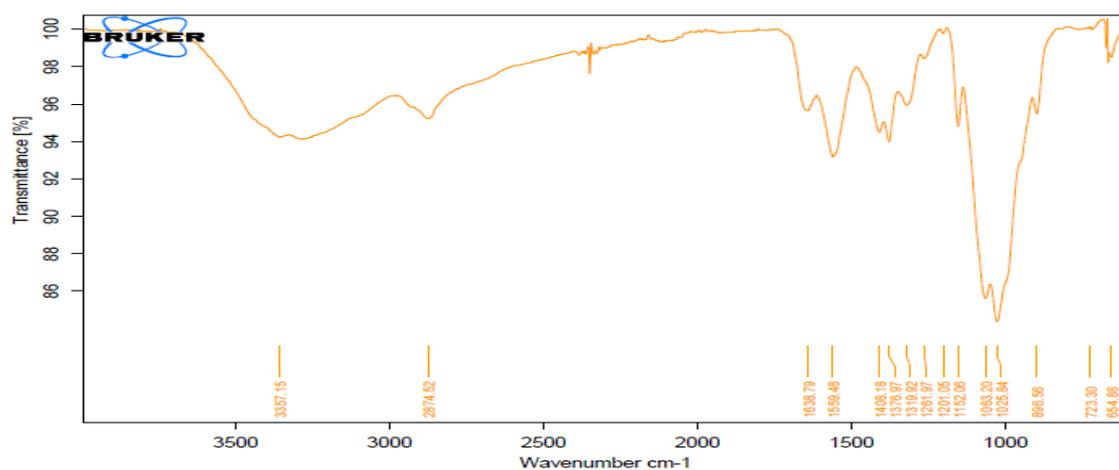


[quitosana 10%/ alginato 90% (a) e quitosana 90% e alginato 10% (b)].

Figura 13 - Espectros de infravermelho das blendas de quitosana/alginato aditivada com NanoZnO na região entre 3500 e 1000 cm^{-1}



(a)



(b)

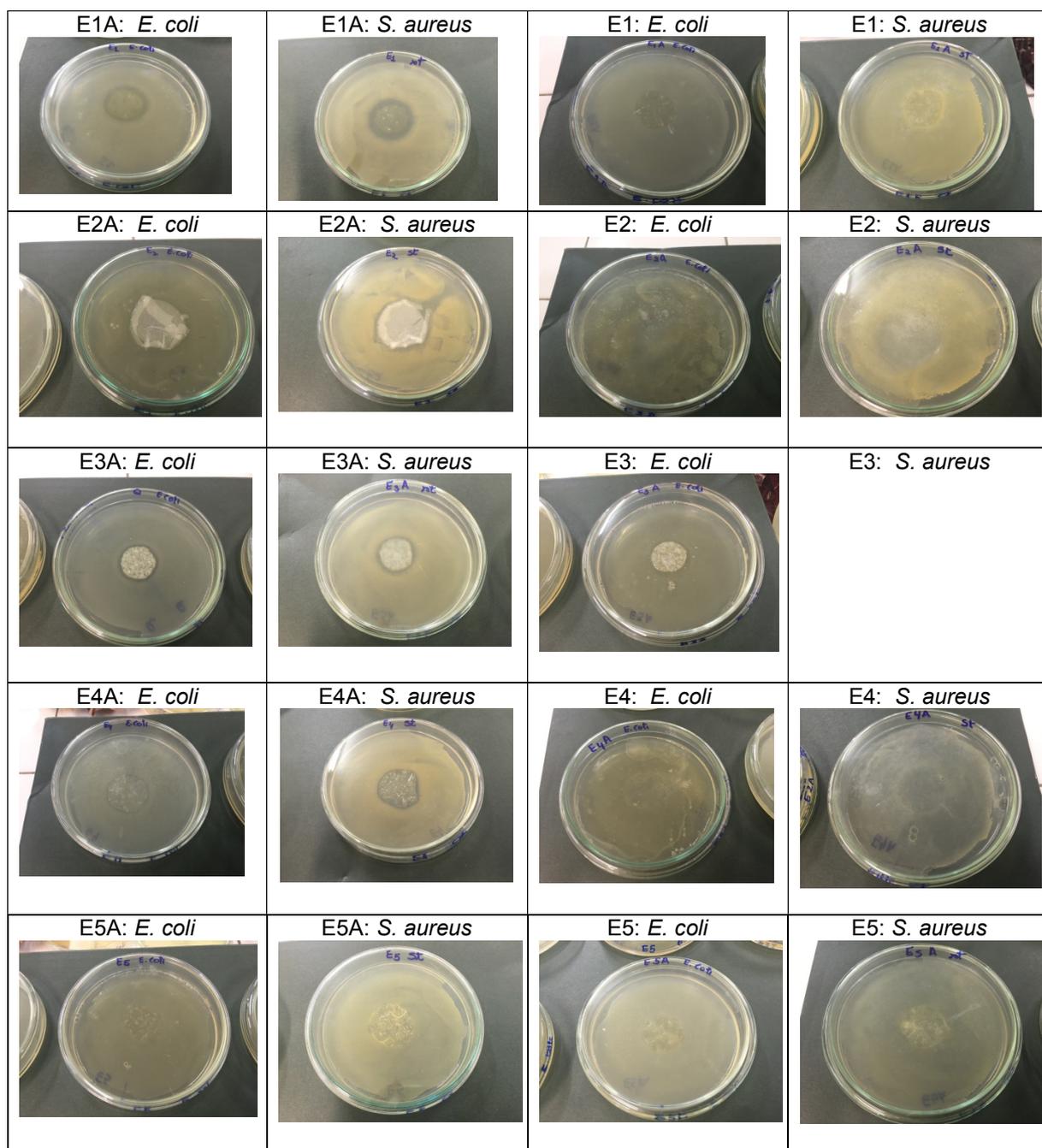
[quitosana 10%/ alginato 90% aditivado com nanoZnO 0,2%(a); quitosana 90%/ alginato 10% aditivado com nanoZnO 0,2%(b)].

- Atividade antimicrobiana

Para averiguar o potencial dos filmes puros e suas blendas, com e sem adição do nanoZnO, na perspectiva de serem empregados em produtos susceptíveis a ações microbianas que favorecem sua degradação e a redução de sua validade comercial, foram utilizadas nos ensaios, bactérias gram (-): *Escherichia coli* e gram (+): *Staphylococcus aureus*. Nas Figuras 14 e 15, evidencia-se que filmes contendo nanoZnO apresentam ação antimicrobiana tanto para a bactéria gram(+) quanto para a gram(-). Vários pesquisadores constataram a ação antimicrobiana de ZnO nanoestruturado aditivado em diferentes tipos de polímeros. Diaz-Pascual e Diez-Vicente (2014) relataram que filmes de polihidroxibutirato-PHB e poli-b-(hidroxibutirato-co-valerato-PHB) aditivado com ZnO nanoestruturado apresentaram resultados positivos em bactérias gram (-) e gram (+). Naknaen (2014) ao adicionar ZnO nanoestruturado ao poli(succinato) de butileno-PBS e aplicar esse filme em embalagens para maçãs verificou ampliação da validade comercial do produto de 6 para 9-12 dias. Filmes de quitosana (DU et. al, 2008) e de alginato (TRANDAFILOVIC et. al, 2012) tiveram a ação antimicrobiana potencializadas ao serem aditivados, no caso do filme de quitosana o composto adicionado foi o ZnO. Evidencia-se na literatura que a ação antimicrobiana deste óxido metálico é relatada por diversos autores, porém são escassos ensaios com este óxido na escala nano.

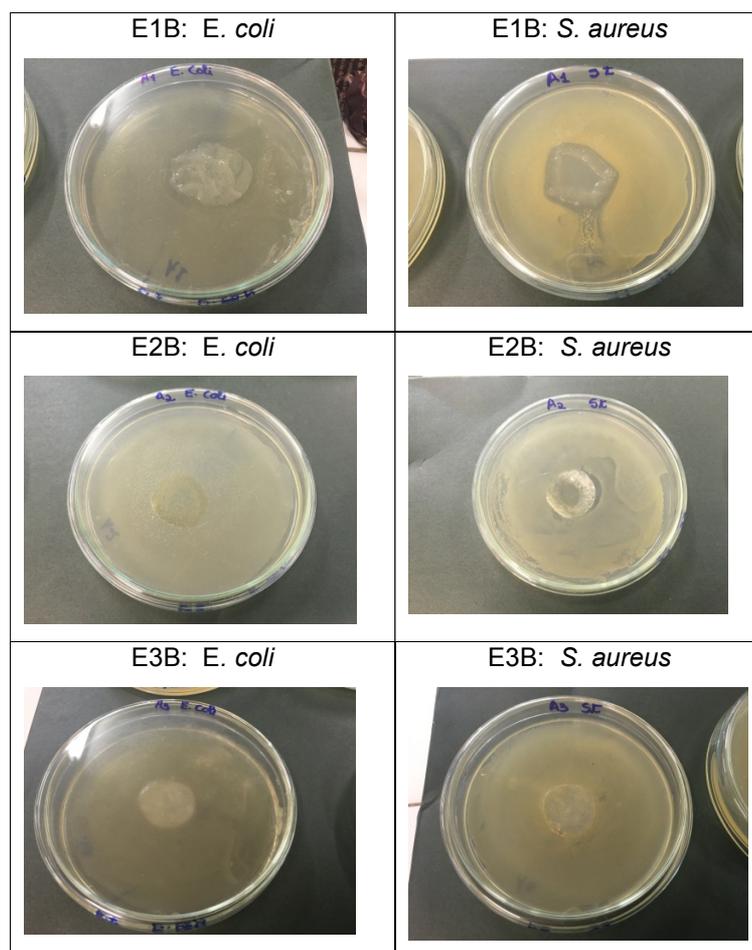
Na Figura 14, observa-se a formação de halo em quase todos os ensaios, comprovando, assim, a ação antimicrobiana do nanoZnO (LDN/UFPE), contra as duas bactérias testadas. Entretanto, evidencia-se que a eficácia da inibição microbiana é influenciada pela concentração deste nanocompósito no filme (Figura 15). Este dado demonstra a possibilidade do uso deste óxido metálico não só para obtenção de filmes nanoestruturados para aplicação em microeletrônica (SANTOS; SANTOS, 2007, SANTOS; SANTOS, 2008), mas também no desenvolvimento de embalagens para alimentos.

Figura 14 – Atividade antimicrobiana dos filmes/blendas quitosana e alginato com e sem adição de nanoZnO 0,2%



[(E1A) Quitosana 100% com 0,2% de nanoZnO ; (E1) Quitosana 100% (E2A) Alginato 100% com 0,2% nanoZnO; (E2) Alginato 100%; (E3A) 50% quitosana e 50% alginato com 0,2% nanoZnO;(E3) 50% quitosana e 50% alginato;(E4A) 10% quitosana e 90% alginato com 0,2% nanoZnO;(E4) 10% quitosana e 90% alginato; (E5A) 90% quitosana e 10% alginato com 0,2% de nanoZnO; (E5) 90% quitosana e 10% alginato].

Figura 15 – Atividade antimicrobiana dos filmes/blendas quitosana e alginato com adição de nanoZnO 0,1%



[E1B: quitosana 100% + nanoZnO 0,1%; E2B: alginato 100%+ nanoZnO 0,1%; E3B: quitosana 50%/alginato 50%+ nanoZnO 0,1%].

- Solubilidade

A solubilidade dos filmes e dos filmes das blendas está diretamente relacionada com os componentes envolvidos na sua formação, ou seja, ao tipo de estrutura que formam e também com a hidrofiliicidade/hidrofobicidade. Dependendo da aplicação do filme, valores elevados de solubilidade podem ser benéficos, não inviabilizando a utilização do filme. Para embalagens comestíveis é desejável uma alta solubilidade com uma dissolução instantânea, assim também para revestimentos de sementes agrícolas que necessitam ter uma rápida germinação no campo (FARIAS et., 2012).

A análise dos dados dos ensaios de solubilidade em água dos filmes, sem e com nanoZnO (0,2% e 0,1%), encontra-se nas Tabela 4 e 5. Constata-se, portanto, que os filmes dos ensaios E1 e E5 sem nanoZnO; dos ensaios E1, E3 e E5 com nanoZnO 0,2% e do ensaio E1 com nanoZnO 0,1% não apresentaram solubilidade significativa com 95% de confiança, demonstrando ser estes filmes mais apropriados para embalagens não comestíveis. Por outro lado, os filmes dos demais ensaios que solubilizaram totalmente serão mais indicados para empregá-los em embalagens comestíveis.

Tabela 4 - Intervalo de confiança da solubilidade em água para filmes de quitosana; alginato, e quitosana/alginato, sem adição de nanoZnO e com adição de nanoZnO (0,2% e 0,1%).

Ensaio	Sem nanoZnO	Com nanoZnO 0,2%	Com nanoZnO 0,1%
E1	11,59 ± 2,37	28,73 ± 1,36	3,04 ± 3,13
E2	--	--	--
E3	--	38,66 ± 3,57	--
E4	--	--	--
E5	29,98 ± 4,23	24,32 ± 4,55	--

(E1) Quitosana 100%; (E2) Alginato 100%; (E3) 50% quitosana e 50% alginato; (E4) 10% quitosana e 90% alginato; (E5) 90% quitosana e 10% alginato.

-- : Ocorrência de solubilização total dos filmes puros e dos filmes das blendas.

Tabela 5- Valor-p do teste não paramétrico Wilcoxon da solubilidade em água de filmes de quitosana; alginato, e quitosana/alginato, sem adição de nanoZnO e com adição de nanoZnO (0,2% e 0,1%).

Ensaio	Valor-p		
	Sem nanoZnO	Com nanoZnO 0,2%	Com nanoZnO 0,1%
E1	0,1025	>0,2000	0,1797
E2	--	--	--
E3	--	>0,2000	--
E4	--	--	--
E5	>0,2000	>0,2000	--

(E1) Quitosana 100%; (E2) Alginato 100%; (E3) 50% quitosana e 50% alginato; (E4) 10% quitosana e 90% alginato; (E5) 90% quitosana e 10% alginato.

-- : Ocorrência de solubilização total dos filmes puros e dos filmes das blendas.

- Cor

A cor é um dos dados mais importantes para aceitação ou rejeição de um produto pelo consumidor (CHENG et al., 2015; OJAGH et al., 2010). Na Tabela 6 encontram-se os valores de L^* , a^* e b^* dos filmes puros e dos filmes das blendas. Os valores de L^* demonstram que todos os filmes apresentaram-se claros, sem apresentar diferença significativa entre eles, exceto para o filme do ensaio E2, aditivado com nanoZnO 0,2% que se mostrou um pouco mais escuro quando comparado com os demais.

O valor negativo para o parâmetro de a^* revela ausência da cor vermelha e presença da cor verde, no entanto, este valores por se encontrarem próximo de 1, demonstra uma tonalidade levemente esverdeada. Observa-se que os filmes com maior percentual de alginato apresentam a cor esverdeada com totalidade mais clara do que aqueles com maior proporção de quitosana. No entanto, com a adição do nanoZnO esta diferença de tonalidade da cor verde não mais é exibida entre os filmes com este nanocompósito.

O valor de b^* demonstra que os filmes puros e os das blendas são levemente amarelados. Evidencia-se que aqueles com maior proporção de quitosana são mais amarelados do que os demais, não apresentando diferença estatística entre eles. No entanto, o filme de com alginato 100%, aditivado com nanoZnO, apresentou significativamente o menor valor para este parâmetro. Kanmani e Rhim (2014), também observaram alteração nos parâmetros da cor ao incorporarem nanopartículas de ZnO em filmes biopoliméricos. Os valores a^* diminuíram significativamente, enquanto os valores de b^* aumentaram significativamente pela adição de nanocompósito.

Tabela 6- Parâmetro de cor de filmes puros e de blendas de quitosana e alginatos sem e com adição de nanoZnO 0,2%

Ensaio	Sem nanoZnO		
	L*	a*	b*
E1	52,17 ± 0,39 ^a	-1,44 ± 0,11 ^a	3,89 ± 0,27 ^c
E2	52,22 ± 0,68 ^a	-1,02 ± 0,02 ^c	2,95 ± 0,16 ^a
E3	52,76 ± 0,21 ^a	-1,31 ± 0,10 ^{a,b}	3,60 ± 0,13 ^{b,c}
E4	52,52 ± 0,39 ^a	-1,07 ± 0,04 ^c	3,08 ± 0,46 ^{a,b}
E5	53,06 ± 0,55 ^a	-1,27 ± 0,03 ^b	3,27 ± 0,08 ^{a,c}
Ensaio	com nanoZnO 0,2%		
	L*	a*	b*
E1	53,45 ± 2,34 ^{a,b}	-1,22 ± 0,17 ^a	3,05 ± 0,44 ^{b,c}
E2	58,16 ± 1,83 ^c	-1,53 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,18 ^d
E3	52,92 ± 0,47 ^a	-1,27 ± 0,04 ^a	3,40 ± 0,16 ^{a,c}
E4	55,28 ± 0,53 ^{a,b,c}	-1,42 ± 0,12 ^a	3,31 ± 0,38 ^{a,b,c}
E5	52,97 ± 0,62 ^a	-1,24 ± 0,07 ^a	3,43 ± 0,62 ^{a,b,c}

(E1) Quitosana 100%; (E2) Alginato 100%; (E3) 50% quitosana e 50% alginato; (E4) 10% quitosana e 90% alginato; (E5) 90% quitosana e 10% alginato]; Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, dentro do contexto com e sem nanoZnO, são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

5.6 Conclusão

Com os biopolímeros de quitosana, de alginato e com a mistura dos dois (quitosana/alginato), aditivados ou não com nanoZnO, foi possível obter filmes maleáveis e com propriedades mecânicas que permitem usá-los em embalagens para alimentos. O nanoZnO apresentou boa dispersão tanto nos filmes puros como nos filmes das blendas, principalmente quando usado na concentração de 0,1%. Os filmes aditivados com nanoZnO tornaram-se mais opacos, levemente amarelados e com ação antimicrobiana potencializada. A adição do nanoZnO não interferiu negativamente nas propriedades físico-químicas, mecânicas e antimicrobiana dos biopolímeros, viabilizando a obtenção de filmes bioativos de quitosana, de alginato e de suas blendas para aplicação em embalagens para alimentos.

5.7 Referências

ABRUZZO, A.; BIGUCCI, F.; CERCHIARA, T.; SALADINI, B.; GALLUCCI, M.C.; CRUCIANI, F.; VITALI, B.; LUPPI, B. Chitosan/alginate complexes for vaginal delivery of chlorhexidine digluconate. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 651– 658, 2013.

ASTM – American Society for Testing and Materials – D882-12: Standard Test Method for Tensile Properties of thin plastic Sheeting. In: **Annual book of ASTM standards**, Philadelphia, 2012.

BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M. A.; ROCHA, C. M. R.; AVIDES, M. C.; QUINTAS, M. A. C.; VICENTE, A. A. Physico-chemical characterization of chitosanbased edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 2, p. 111–118, 2011.

BRAVO REBOLLEDO, E. L. et al. Plastic ingestion by harbour seals (*Phoca vitulina*) in The Netherlands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 67, n. 1–2, p. 200-202, 2013.

CARSON, H. S. et al. Tracking the sources and sinks of local marine debris in Hawai'i. **Marine Environmental Research**, v. 84, n. 0, p. 76-83, 2013.

CHENG, S.-Y.; WANG, B.-J.; WENG, Y.-M. Antioxidant and antimicrobial edible zein/chitosan composite films fabricated by incorporation of phenolic compounds and dicarboxylic acids. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 115-121, 2015.

COSTA JR, E. S.; MANSUR, H.S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, 2008.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation Trends. **Food Science & Technology**, v. 24, n. 1, p. 30–46, 2012.

DÍEZ-PASCUAL, A. M.; DÍEZ-VICENTE, A. L. Poly(3-hydroxybutyrate)/ZnO Bionanocomposites with Improved Mechanical, Barrier and Antibacterial Properties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 6, 2014.

DU, W.-X.; AVENA BUSTILLOS, R.; HUA, S. S.; MCHUGH, T. Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety. In **A. Mendez-Vilas (Ed.), Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances**, v. 2, p. 1124-1134, 2011.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Química Nova**, v. 35, p. 546-552, 2012.

GAZORI, T.; KHOSHAYAND, M. R.; AZIZI, E.; YAZDIZADE, P.; NOMANI, A.; HARIRIAN, I. Evaluation of Alginate/Chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 599–606, 2009.

KANMANI, P.; RHIM, J.-W. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 190–199, 2014.

KLOCHIKHIN, E. A.; SHAPIRA, P. Engineering small worlds in a big society: assessing the early impacts of nanotechnology in China. **Review of Policy Research**, v. 29, p. 752-775, 2012.

KUMAR, N. B. R.; CRASTA, V.; BHAJANTRI, R. F., PRAVEEN, B.M. Microstructural and Mechanical Studies of PVA Doped with ZnO and WO₃ Composites Films. **Journal of Polymers**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

LEE, I.; MORALES, R.; ALBITER, M. A.; ZAERA, F. Synthesis of heterogeneous catalysts with well shaped platinum particles to control reaction selectivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 15241-15246, 2008.

LI, J.H.; HONG, R.Y.; LI, M.Y.; LI, H.Z.; ZHENG, Y.; DING, J. Effects of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 64, p. 504–509, 2009.

LI, X.; LI, W.; JIANG, Y.; DING, Y.; YUN, J.; TANG, Y.; ZHANG, P. Effect of nano-ZnO-coated active packaging on quality of fresh-cut 'Fuji' Apple. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1947–1955, 2011.

MANNHEIMER W. **Microscopia dos Materiais - Uma Introdução**, Ed. Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise , e-papers, 2002.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 220-227, 2012.

MOROZOV, I. G.; BELOUSOVA, O. V.; ORTEGA, D.; MAFINA, M. K.; KUZNETCOV, M. V. Structural, optical, XPS and magnetic properties of Zn particles capped by ZnO nanoparticles. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 633, p. 237–245, 2015.

NAKNAEN, P. Utilization possibilities of antimicrobial biodegradable packaging produced by poly(butylensuccinate) modified with zinc oxide nanoparticles in fresh-

cut apple slices. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 6, p. 2413-2420, 2014.

NORAJIT, K.; KIM, K.M.; RYU, G.H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 377–384, 2010.

OJAGH, S. M., REZAEI, M., RAZAVI, S. H., HOSSEINI, S. M. H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 161-166, 2010.

PELISSARI, F. M.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARISTZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V. E. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, p. 1-6, 2011.

PERELSHTAIN, I.; RUDERMAN, E.; PERKAS, N.; TZANOV, T.; BEDDOW, J.; JOYCE, E.; MASON, T. J.; BLANES, M.; MOLL´A, K.; PATLOLLA, A.; FRENKELE, A. I.; GEDANKEN, A. Chitosan and chitosan–ZnO-based complex nanoparticles: formation, characterization, and antibacterial activity. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, p. 1968–1976, 2013.

RUBILAR, J. F., CRUZ, R. M., SILVA, H. D., VICENTE, A. A., KHMELINSKII, I.; VIEIRA, M. C. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 466-474, 2013.

SALEHI, R.; ARAMI, M.; MAHMOODI, N. M.; BAHRAMI, H.; KHORRAMFAR, S. Novel biocompatible composite (chitosan– zinc oxide nanoparticle): preparation, characterization and dye adsorption properties, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 80, p. 86–93, 2010.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J. P. Pre-heating temperature dependence of the c-axis orientation of ZnO thin films. **Thin Solid Films**, v. 516, p. 6210-2114, 2008.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J.P. High quality c-axis oriented thin ZnO film obtained at very low pre-heating temperature. **Materials Letters** (Individual member ed.), v. 61, p. 3432-3435, 2007.

SESHAN, K. **Handbook of Thin-Film Deposition Processes and Techniques - Principles, Methods, Equipment and Applications**. 2 ed. Noyes Publications, New York, U.S.A., 2002.

SIRACUSA, V. et al. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho

médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. **Química Nova**, v. 35, p. 223-229, 2012.

TRANDAFILOVIĆ, L.V.; BOŽANIĆ, D.K.; DIMITRIJEVIĆ-BRANKOVIĆ, S.; LUYT, A.S.; DJOKOVIĆ, V. Fabrication and antibacterial properties of ZnO–alginate, nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 263-269, 2012.

VARAPRASAD, K.; RAMAM, K.; MOHAN REDDY, G. S.; SADIKU, R. Development and characterization of nano-multi functional materials for advanced applications. **RSC Advances**, v. 4, p. 104, 2014.

VICENTINI, D. S.; SMANIA JR., A.; LARANJEIRA, M. C. M. Chitosan/poly(vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers, **Materials Science and Engineering, C**, v. 30, p. 503–508, 2010.

VIEIRA, E. F. S.; CESTARI, A. R.; CHAGAS, R. A.; CORTES, G. K. R. Obtenção e caracterização de matriz apropriada para sistemas de liberação prolongada – estudo de liberação de herbicidas atrazina e diuron. **Química Nova**, v. 37, nº 3, p. 398-403, 2014.

WANG, X.; DU, Y.; LIU, H., Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 21–26, 2004.

ZAMUDIO-FLORES, P. B.; TORRES, A. V.; SALGADO-DELGADO, R.; BELLO-PÉREZ, L. A. Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modified starch and modified starch/chitosan blend films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, p. 991-998, 2010.