

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

TAÍS TÉO DE BARROS

Produção e caracterização de filmes de polpa de mamão com
adições de nanoestruturas, processados em modo batelada

SÃO CARLOS
2016

TAÍS TÉO DE BARROS

Produção e caracterização de filmes de polpa de mamão com adições de nanoestruturas, processados em modo batelada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadores:

Dr. Odílio Benedito Garrido de Assis

Dr. Rubens Bernardes Filho

SÃO CARLOS
2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B277p Barros, Taís Téo de
Produção e caracterização de filmes de polpa de
mamão com adições de nanoestruturas, processados em
modo batelada / Taís Téo de Barros. -- São Carlos :
UFSCar, 2017.
82 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2016.

1. Filmes biodegradáveis. 2. Filmes comestíveis.
3. Nanopartículas de quitosana. 4. Nanofibras de
celulose. 5. Processamento por batelada. I. Título.




Folha de Aprovação


Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Taís Téó de Barros, realizada em 26/02/2016:



Prof. Dr. Odílio Benedito Garrido de Assis
UFSCar



Profa. Dra. Milena Martelli
FFCLRP/USP



Prof. Dr. Daniel Souza Correa
Embrapa

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria José e Sergio e avó, Julieta, pelo carinho, amor, incentivos, conselhos e apoio incondicional em todas as fases e decisões da minha vida.

Ao meu irmão, Renato, pela cumplicidade, amizade, amor e confiança.

Ao meu namorado, André, pelo companheirismo, cumplicidade, amizade, carinho, amor e paciência.

Aos Professores Dr. Odílio Benedito Garrido de Assis e Dr. Rubens Bernardes Filho pela orientação, oportunidade, confiança e apoio, que foram essenciais para realização deste trabalho.

À Dra. Milena Martelli Tosi pela imensa colaboração, apoio, ensinamentos e amizade em todos os momentos.

A Profa. Dra. Délia Rita Tapia Blácido, a Dra Milena Martelli Tosi e ao Departamento de Química da USP de Ribeirão Preto pela colaboração na obtenção das nanofibras de celulose.

À Embrapa Instrumentação e à Rede Agronano pelo apoio financeiro, além da disponibilização de seus equipamentos e espaço.

Aos colegas e técnicos dos laboratórios da Embrapa Instrumentação, especialmente à Adriana Thomasi, Silviane Zanni e Joana Bresolin pela colaboração, amizade, parceria e momentos de descontração.

À CAPES, pelo auxílio financeiro ao projeto.

RESUMO

A produção de filmes biodegradáveis baseados em recursos renováveis, fazendo uso de matrizes biopoliméricas de baixo custo, vem aumentando consideravelmente. A pesquisa e o desenvolvimento de novos materiais neste segmento possibilitam a substituição, ainda que parcial, dos plásticos sintéticos derivados do petróleo, além de agregar valor a resíduos agroindustriais e *commodities* agrícolas. Os purês de frutas (ou polpa) representam uma alternativa viável para a obtenção destas matrizes, podendo ser empregados a própria fruta ou rejeitos provenientes de seu processamento. Dentre os frutos adequados para este fim está o mamão papaia (*Carica papaya*), fartamente disponível no país. O Brasil é seu maior produtor mundial e, devido à sua alta perecibilidade, é uma fonte rica de rejeitos adequados à produção de polpas e ao processamento de filmes comestíveis. Embora os filmes processados a partir de purê de frutas apresentem limitações mecânicas e de permeabilidade, estas características podem ser minimizadas pela formação de compósitos através da inserção de nanoestruturas de reforço e associação com outros biopolímeros com características filmogênicas. Assim, avaliar o uso de polpas de mamão papaia, em adiantado estado de maturação no processamento de filmes em Sistema Mathis (no modo batelada) e o efeito da inserção de estruturas de reforço, foram os principais objetivos deste trabalho. Os filmes foram caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas, térmica, de permeabilidade, colorimétrica e antimicrobiana. Os melhores resultados foram obtidos para as composições em que a pectina foi adicionada em 0,5 % (m/v), elevando a tensão máxima de ruptura (σ_{max}), em 12 vezes quando comparada aos filmes de polpa sem aditivos (controle). A adição de nanofibras de celulose e a nanopartículas de quitosana também melhoraram σ_{max} , mas em valores inferiores (6,2 e 5 vezes respectivamente). A inserção da pectina também foi favorável na redução das taxas de permeabilidade (WVP) com valores 77,72 % inferiores aos filmes controle. Com relação às medidas colorimétricas, as maiores alterações registradas foram para os filmes processados com os reforços (quitosana em conjunto com o glicerol), os quais resultaram em uma maior variação total de cor (ΔE). A presença de nanopartículas de quitosana também acelerou o escurecimento superficial (IE). A adição de pectina nas formulações atuou positivamente na preservação das características colorimétricas iniciais. Os testes antimicrobianos indicaram que a quitosana na forma de nanopartículas inseridas na matriz biopolimérica não apresentou atividade antimicrobiana. A polpa de mamão papaia, na condição sobremadura, mostrou ser uma matéria-prima adequada ao processamento de filmes comestíveis biodegradáveis e a adição de nanoreforços e de pectina necessárias para a melhoria das propriedades mecânicas e de barreira e para a preservação das características colorimétricas iniciais dos filmes.

Palavras-chave: filmes biodegradáveis; filmes comestíveis; nanopartículas de quitosana; pectina; nanofibras de celulose; processamento por batelada; Mathis.

ABSTRACT

The production of biodegradable films based on renewable low cost resources has increased considerably. The research and development of new materials in this segment make possible to replace, even still partially, the synthetic plastics derived from petrol and to add value to agro-industrial waste and agricultural commodities. The fruit purees (or pulp) represent an alternative for obtaining these low-cost arrays. It can be obtained from the fruit itself or from its processing wastes. Amongst the suited fruits for this purpose is the papaya (*Carica papaya*), largely available. Brazil is the largest producer of this fruit and, due to its high perishability, is a rich source of waste material for pulp and edible film processing. Although the films prepared from fruit puree lacks in mechanical and permeability properties, such features may be minimized by the addition of nanofillers associated to film forming biopolymers. Thus, the evaluation of papaya puree, in over-ripe stage, as raw material for film processing using a Mathis System (in batch mode) with reinforced nanostructure was the main aim of this study. The films were characterized considering mechanical and thermal properties, permeability, colorimetric and antimicrobial activity. The best results were recorded to formulations in which the pectin was added at 0.5 % (w/v), increasing the maximum fracture strength (σ_{max}), in 12 times when compared to neat puree films (control). The insertion of cellulose nanofibers and chitosan nanoparticles also promoted a σ_{max} increasing, nevertheless in inferior proportion (6.2 and 5 times respectively). The presence of pectin also was positive in reducing the permeability rates (WVP) with values of 77.72 % lower than those measured to the control films. Concerning the colorimetric properties, the films with filler additions (chitosan nanoparticles with glycerol) suffered the greater color changes (ΔE). The addition of chitosan nanoparticles also speed the surface browning index (BI). Again the pectin acted positively in preserving the original color characteristics. The antimicrobial essays indicated that the chitosan in nanoparticle format inside the polymeric matrix did not present any antimicrobial activity. The over-ripe papaya pulp showed to be a raw material suitable for edible biodegradable film processing and the addition of nanofillers and pectin necessary to improve the barrier and mechanical properties and to preserve the original colorimetric features.

Keywords: biodegradable films; edible films; chitosan nanoparticles; pectin; cellulosic nanofibers; batch mode; Mathis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produto para revestimento de minimamente processados (NatureSeal).....	14
Figura 2 – Aplicações de filmes biodegradáveis.....	15
Figura 3 – Perdas mundiais de frutas e vegetais.....	20
Figura 4 – Gelatinização da quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP).....	23
Figura 5 – Estrutura idealizada da quitosana, sendo “n” o grau de polimerização.....	25
Figura 6 – Estrutura química da celulose.....	25
Figura 7 – Estrutura química da pectina.....	27
Figura 8 – Aspecto interno de amostra de mamão sobremaduro utilizado no preparo do purê.....	30
Figura 9 - Etapas do preparo do purê de mamão.....	31
Figura 10 – Máquina Mathis – Sistema em Batelada.....	37
Figura 11 – Máquinas de processamento Mathis.....	38
Figura 12 – Diagrama colorimétrico de acordo com o Sistema Cie/Lab.....	41
Figura 13 – Distribuição de tamanhos de nanopartículas de quitosana.....	44
Figura 14 – Caracterização da morfologia das nanoestruturas.....	45
Figura 15 – Efeito da adição de nanopartículas sobre a tensão máxima de ruptura.....	51
Figura 16 - Tensão máxima na ruptura para filmes com quitosana e nanofibras.....	53
Figura 17 – Tensão máxima na ruptura para filmes com quitosana, nanofibras e pectina.....	55
Figura 18 – Curvas de TG de todos os filmes avaliados e da quitosana pura (em pó).....	57
Figura 19 – Curvas de TG de filmes com adições de quitosana (ch) e da quitosana pura (em pó)....	59
Figura 20 – Curvas de TG filmes com 15 % (d.b.) de purê de mamão em suas formulações.....	60
Figura 21 – Termogramas de DSC.....	62
Figura 22 – Comparação das taxas de permeabilidade ao vapor de água (WVP).....	66
Figura 23 – Variação da coloração total (ΔE) e dos Índices de Escurecimento (IE).....	69
Figura 24 – Ação antimicrobiana (contra <i>Staphylococcus aureus</i>) da quitosana.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades mecânicas.....	18
Tabela 2 – Composições das formulações filmogênicas avaliadas.....	36
Tabela 3 – Variação dos valores de Grau Brix nas etapas de preparo do purê.....	46
Tabela 4 – Propriedades mecânicas de filmes sem reforçadores.....	47
Tabela 5 – Propriedades mecânicas de filmes com nanopartículas de quitosana.....	49
Tabela 6 – Propriedades mecânicas de filmes com nanoestruturas.....	52
Tabela 7 - Propriedades mecânicas de filmes com nanoestruturas e pectina.....	54
Tabela 8 – Temperatura dos principais eventos endotérmicos.....	62
Tabela 9 – Propriedades de barreira de filmes com nanoestruturas e pectina.....	65
Tabela 10 – Análise Colorimétrica.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

“**M_x**” – x representa a porcentagem de polpa de mamão utilizada para a solução filmogênica.

A – Área de permeação.

a* – Grau de variação entre o verde (-a) e o vermelho (+a).

a₀ – Grau de variação entre o verde (-a) e o vermelho (+a) inicial.

ARS – Agricultural Research Service.

b* – Grau de variação entre o azul (-b) e o amarelo (+b).

b₀ – Grau de variação entre o azul (-b) e o amarelo (+b) inicial.

ch – Quitosana.

d.b. – “dry basis”, massa seca.

DSC – “Differential Scanning Calorimetry”, Calorimetria Diferencial de Varredura.

E – Módulo de Young.

gli – Glicerol.

IE – Índice de escurecimento.

L* – Luminosidade.

L₀ – Luminosidade inicial.

M(palhada) – Massa da palhada.

M(suspensão) – Massa da suspensão.

MS – Percentual de massa seca.

n – Grau de polimerização.

nf – Nanofibras de celulose.

O₂P – Permeabilidade ao oxigênio.

pec – Pectina.

PHAs – Polihidroxialcanoatos.

rpm – Rotações por minuto.

T – Temperatura.

Tcelulose – Teor de celulose.

TG – Termogravimetria.

TPP – Tripolifosfato.

UR – Umidade Relativa.

w/t – Perda de massa por unidade de tempo.

WVP – Permeabilidade ao vapor d’água.

x – Espessura dos filmes.

ΔE – Variação total de cor.

ΔP – Gradiente de pressão.

ϵ_{\max} – Deformação máxima.

σ_{\max} – Tensão máxima na ruptura.

SUMÁRIO

1	Introdução	11
1.1	Uso de polímeros sintéticos e problemas ambientais	11
1.2	Produção e aplicação de filmes biodegradáveis	13
1.3	Filmes comestíveis produzidos a partir de purê de frutas	16
1.4	Perdas pós-colheita de frutas e processamento de filmes	19
1.5	Materiais de Reforço	21
1.5.1	Reforçadores nanoestruturados	22
1.5.1.1	Nanopartículas de Quitosana	24
1.5.1.2	Nanofibras de celulose	25
1.5.2	Pectina	26
2	Objetivos	28
2.1	Objetivos específicos	28
3	Material e Métodos	29
3.1	Preparo do purê de mamão.....	29
3.2	Obtenção das nanoestruturas de reforço	31
3.2.1	Síntese das Nanopartículas de Quitosana	31
3.2.2	Extração das nanofibras de celulose.....	32
3.2.2.1	Concentração de sólidos das suspensões de nanofibras.....	33
3.3	Caracterização das nanoestruturas de reforço.....	34
3.4	Preparo das soluções filmogênicas e processamento dos filmes	34
3.5	Caracterização dos filmes	38
3.5.1	Determinação da Espessura	38
3.5.2	Propriedades Mecânicas	39
3.5.3	Propriedades Térmicas	39
3.5.4	Permeabilidade ao Vapor de Água.....	40
3.5.5	Análise Colorimétrica.....	41
3.6	Atividade Antimicrobiana.....	42
4	Resultados e Discussão	43
4.1	Caracterização das Nanopartículas de Quitosana e Nanofibras de Celulose	43
4.1.1	Tamanho de partículas.....	43
4.1.2	Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	44

4.2. Análise de Sólidos Solúveis (Grau Brix)	45
4.3 Propriedades mecânicas	46
4.3.1 Filmes sem reforçadores	46
4.3.2 Filmes com nanopartículas de quitosana	48
4.3.3 Filmes com nanofibras de celulose	51
4.3.4 Filmes com pectina.....	53
4.4 Propriedades Térmicas	55
4.4.1 Termogravimetria	55
4.4.2 Calorimetria Diferencial de Varredura	60
4.5 Permeabilidade ao Vapor de Água.....	62
4.5.1 Filmes com reforçadores	63
4.6 Propriedades Colorimétricas	66
4.7 Atividade antimicrobiana	70
5 Conclusões.....	74
Referências Bibliográficas	76

1 Introdução

1.1 Uso de polímeros sintéticos e problemas ambientais

Atualmente, os polímeros derivados de petróleo são amplamente utilizados em diversas áreas, tais como: embalagens, peças de engenharia, utensílios domésticos, equipamentos e dispositivos mecânicos, componentes das indústrias automobilística, aeronáutica e têxtil além da produção de brinquedos, segmentos estes que dependem amplamente dos plásticos sintéticos. O baixo custo de produção associado à versatilidade e à resistência desses materiais e a ausência de alternativas técnicas e economicamente viáveis, fazem dos plásticos sintéticos um dos materiais mais empregados no mundo [1] e de difícil substituição.

Desde 1950, a produção mundial de plástico vem crescendo cerca de 8,7 % ao ano, passando de 1,7 milhões para 288 milhões de toneladas produzidas em 2012. No Brasil a produção foi de aproximadamente 65 milhões de toneladas em 2014, sendo a metade deste montante destinado à confecção de embalagens [1].

Características como flexibilidade e resistência mecânica, associadas à qualidade, segurança e ao baixo custo final, motivam o uso de materiais plásticos sintéticos como embalagens alimentícias [2]. Contudo, mudanças de hábitos de consumo, bem como o aumento da conscientização ambiental demandam por uma busca por embalagens práticas e alternativas, que além de preservarem os alimentos sejam econômica e ambientalmente viáveis.

Para a indústria de alimentos uma embalagem tem múltiplas funções: além de diminuir os riscos de contaminação química e biológica, as embalagens têm como objetivo a contenção de determinada quantidade do alimento e sua proteção contra

injúrias diversas além de garantir o reconhecimento de marcas, produtores e informações relevantes ao consumidor [3].

Dentre os principais polímeros utilizados como material para embalagens estão o polietileno (PE), o polipropileno (PP), cloreto de polivinila (PVC), poliestireno (PS) e o polietileno tereftalato (PET). As características mais relevantes para a escolha dos plásticos para este fim são sua resistência mecânica, rigidez, barreira a gases e vapor de água, flexibilidade, resistência química e termoestabilidade [3].

Diferentemente das embalagens passivas comumente utilizadas, as quais se limitam em isolar os alimentos das condições externas, um novo segmento em desenvolvimento no setor são as embalagens denominadas ativas e inteligentes. Estas proporcionam uma abordagem integrada entre a proteção e uma integração com seu entorno. As embalagens ativas interagem com o produto e tem como objetivo o controle de algumas características [4], como por exemplo, proporcionar ação antimicrobiana ou antioxidante [5] por meio da presença de agentes reativos, como óxido de magnésio, cobre ou prata [2], proporcionando uma redução da carga microbiana ou a minimização da oxidação de seus nutrientes.

Já as embalagens inteligentes monitoram as condições do produto acondicionado ou de seu ambiente externo [4], comunicando, normalmente de forma visual, alterações não recomendáveis, como flutuações de temperatura [6], liberação de substâncias químicas relacionadas à deterioração [7] ou da presença de teores inaceitáveis de contaminantes [2].

Das 65 milhões de toneladas de material plástico utilizado na produção de embalagens convencionais no Brasil, apenas 5 milhões de toneladas foram destinadas corretamente à reciclagem e o restante foi descartado como lixo, o que configura um grande problema ambiental [1]. Esses dados refletem as dificuldades da

gestão de resíduos plásticos no país que, embora seja extremamente necessária, tem um preço elevado, podendo variar entre US\$ 20 e US\$ 250 por tonelada recolhida, de acordo com a região. Já o descarte em aterro consome entre US\$ 10 e US\$ 100 por tonelada, ficando entre US\$ 40 a US\$ 200 a tonelada incinerada [8].

Desse modo, é dispensável enfatizar a necessidade premente do desenvolvimento de novos materiais, provenientes de fontes renováveis que possam substituir, ainda que parcialmente, estes polímeros sintéticos.

Neste contexto, o uso de resíduos e rejeitos da agroindústria no processamento de plásticos biodegradáveis apresenta um enorme potencial de aplicações e exploração comercial no Brasil. Além disso, a possibilidade de agregar valores a resíduos e produzir materiais de usos funcionais e que causem menos impactos ambientais, torna-se, portanto, uma linha de pesquisa estratégica.

1.2 Produção e aplicação de filmes biodegradáveis

Assim, não só no Brasil, mas mundialmente, a busca por novos materiais biodegradáveis que apresentem qualidades mínimas necessárias para substituir os plásticos sintéticos derivados do petróleo vem aumentando consideravelmente. A este fator, soma-se a demanda por alimentos frescos e saudáveis por uma parcela cada vez maior de consumidores, aspectos estes que estimulam o desenvolvimento de novos materiais além de agregar valor a resíduos agroindustriais e a *commodities* agrícolas.

Uma alternativa neste sentido é o emprego de membranas ou coberturas comestíveis para proteção de produtos alimentícios. Essas coberturas podem ser processadas na forma de filmes para posterior aplicação ou formadas diretamente

sobre o alimento, estabelecendo uma fina película protetora [9]. Países como o Japão, Estados Unidos e Canadá já utilizam essa tecnologia [10], principalmente na conservação de frutas e hortaliças minimamente processadas.

A empresa norte-americana NatureSeal, por exemplo, comercializa fórmulas (Figura 1) indicadas para coberturas comestíveis protetoras aplicáveis a diversas frutas e hortaliças minimamente processadas como maçãs, peras, mangas e cenouras. Segundo os fabricantes, essas coberturas estendem a vida de prateleira destes alimentos em até 21 dias, além de manter sua textura natural, inibir seu escurecimento enzimático e evitar desidratação decorrente do processamento [11].



Figura 1 – Produto para revestimento de minimamente processados (NatureSeal) [11].

Além das coberturas comestíveis indicadas ao revestimento de frutas, como o da Figura 1, a produção de filmes contínuos biodegradáveis baseados em recursos renováveis também tem sido amplamente estudada [10, 12, 13], ainda que, apesar dos avanços, apresente um custo de produção superior aos plásticos sintéticos.

Atualmente, as aplicações deste tipo de material estão voltadas essencialmente para a proteção de alimentos [10]. No entanto, com os avanços das técnicas de

processamento e da formação de materiais compósitos, a tendência é que ocorra a diversificação destas aplicações. Há potencial de aplicações como embalagens na área de cosméticos, flores, medicamentos ou em substituição a alguns alimentos, como algas em *sushi* (Figura 2).

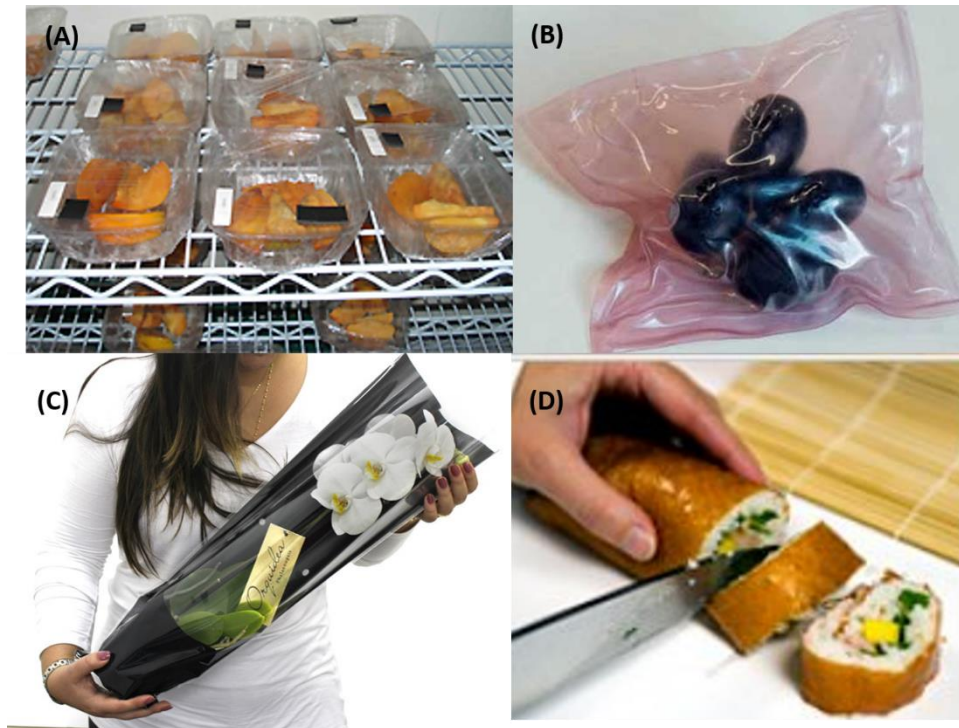


Figura 2 – Aplicações de filmes biodegradáveis. (A) Caquis revestidos com filmes biodegradáveis de quitosana [14]. (B) Uvas embaladas com filme biodegradável produzido a partir de amido, uva e açai [15]. (C) Possível aplicação para filmes biodegradáveis no ramo de embalagem flores. (D) *Sushis* envoltos por filmes comestíveis processados a partir de polpa de frutas.

Mesmo com a desvantagem em relação aos custos, tem-se registrado um crescimento no mercado de polímeros biodegradáveis. Em valores absolutos, a produção saltou de 28 mil toneladas em 2000 para 94,8 mil toneladas em 2005 [16, 17] e com a perspectiva de atingir 6,7 milhões de toneladas em 2018 [18].

Os polihidroxicanoatos (PHAs), que são biopoliésteres na forma de grânulos produzidos por algumas espécies de bactérias [12], são os que têm tido uma maior aceitação comercial, embora tais polímeros sejam comercializados ao preço médio de

US\$ 16,00/kg, muito superior ao polipropileno sintético, vendido a US\$ 1,00/kg [13, 19, 20].

Outras matérias-primas renováveis também têm sido avaliadas na produção de polímeros biodegradáveis como as proteínas (glúten [21] e zeínas [22]), os polissacarídeos (amido [23], quitosana [22] e celulose [24]) e os lipídios [25], frequentemente processados na forma isolada ou em blendas, membranas biocompatíveis, aditivos em compósitos, filmes contínuos e como matriz de inserção de insumos químicos para aplicação no campo ou na indústria alimentícia e farmacêutica [23, 26].

1.3 Filmes comestíveis produzidos a partir de purê de frutas

Os purês (ou polpa) de frutas representam uma alternativa para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis, podendo ser obtidos a partir da própria fruta [24, 27] ou provenientes de rejeitos de seu processamento [28].

Por terem em sua composição substâncias pécticas e celulósicas, os purês apresentam capacidade de agregação e, por estabelecerem interações entre seus compostos, têm propriedades filmogênicas que resultam em matrizes nas quais os próprios açúcares atuam como plastificantes naturais [10]. Além disso, atributos sensoriais provenientes do fruto como aroma, cor e sabor podem ser preservados e, em determinadas aplicações, serem atrativos adicionais para o consumidor.

Os filmes obtidos a partir do purê de frutas tiveram seu início de desenvolvimento em 1996, através do processamento de películas elaboradas a partir da polpa de maçã, as quais resultaram em membranas com excelente barreira ao oxigênio [29] e com propriedades mecânicas aceitáveis. Esses filmes foram sugeridos

como uma alternativa ao uso de embalagens sintéticas e aos revestimentos comestíveis obtidos por imersão.

Desde então, várias frutas e hortaliças têm sido avaliadas em relação à capacidade filmogênica, como o pêssego [29], a banana [27, 28] o tomate [30], a manga [31] e a cenoura [32]. A Tabela 1 agrupa os resultados das caracterizações mecânicas e de permeação de alguns filmes, conforme dados obtidos na literatura.

Tabela 1 – Propriedades mecânicas (tensão máxima na ruptura: σ_{\max} ; deformação máxima: ε_{\max} ; módulo de elasticidade ou módulo de Young: (E) e de barreira (permeabilidade ao vapor d'água – WVP) para alguns de filmes à base de polpa, conforme dados apresentados na literatura.

Purê (filme)	σ_{\max} (MPa)	ε_{\max} (%)	E (MPa)	WVP (g.mm/kPa.h.m ²)	Condições ambientais (WVP e O ₂ P)
Mamão e HPMC [33]*	20,1	2,9	-	2,0	UR=80 % e T=25 °C
Tomate + Pectina [30]	11,4	11,2	248	2,4	UR=81 % e T=25 °C
Cenoura [32]	7,5 – 21,9	4,4 – 46,2	-	0,26 – 0,99	UR=81 % e T=23 °C
Farinha banana [27]	6,0	8,2	1,8	-	UR=50 % e T=25 °C
Acerola, manga e amido [34]	4,51	68,67	-	-	UR=60 % e T=23 °C
Manga [24]	4,1	44,1	19,9	2,7	UR=83 % e T=25 °C
Banana [28]	3,2	23	21	3,95	UR=80 % e T=25 °C
Maçã e Alginato [35]	2,9	51,1	7,1	4,95	UR 83 % e T=25 °C
Acerola e amido [36]	0,775	23,11	-	0,208	UR=50 % e T=25 °C
Pêssego [29]	-	-	-	4,2	UR=80 % e T=25 °C
Damasco [29]	-	-	-	4,3	UR=80 % e T=25 °C
Maçã [29]	-	-	-	5,8	UR=76 % e T=25 °C
Pera [29]	-	-	-	7,8	UR 74 % e T=25 °C

*Os números entre colchetes correspondem às referências bibliográficas.

O processamento básico de filmes de purê de frutas é relativamente simples e consiste na remoção inicial das sementes e da casca, seguida da homogeneização da polpa por meio de atividade mecânica em meio aquoso. Após isso, podem ser conduzidos tratamentos térmicos para inativação enzimática e, por fim, a remoção da fração não homogeneizável é conduzida por separação (filtragem).

Uma grande vantagem do processamento de filmes de purê é a disponibilidade de matéria-prima, podendo ser utilizadas frutas descartadas em estágio avançado de amadurecimento e impróprias ao consumo, ou aquelas provenientes de perdas que ocorrem desde a colheita até o consumo final ou processamento [28]. Neste sentido, o emprego desses descartes como matéria-prima para a obtenção do purê pode ser considerado uma boa estratégia para diminuir as perdas pós-colheita, principalmente de produtos tropicais de alta perecibilidade.

1.4 Perdas pós-colheita de frutas e processamento de filmes

As perdas pós-colheita de frutas ocorrem por várias razões, como doenças, injúrias mecânicas causadas por manipulação inadequada ou excessiva, ausência da cadeia de resfriamento, processamento de baixa tecnologia, além de armazenamento e transporte inapropriados [37].

Em países industrializados, como os da Europa, América do Norte e boa parte da Ásia, cerca de 40 % das perdas totais de alimentos ocorrem no comércio e nos domicílios dos consumidores. A fração perdida por esses países (em torno de 222 milhões de toneladas) é quase equivalente ao total de alimentos

produzido em locais menos privilegiados, como a África Subsaariana, que produz, em média, 230 milhões de toneladas ao ano [38].

Mais especificamente em relação a frutas e hortaliças, nos países industrializados, as perdas ocorrem principalmente no consumo final e apenas uma pequena parcela no processamento. Nas regiões menos industrializadas, as perdas se dão principalmente no campo e nas etapas de distribuição e processamento [38]. Na Figura 3 temos o balanço das ocorrências de perdas mundiais segundo levantamento apresentado por Gustavsson e colaboradores [38].

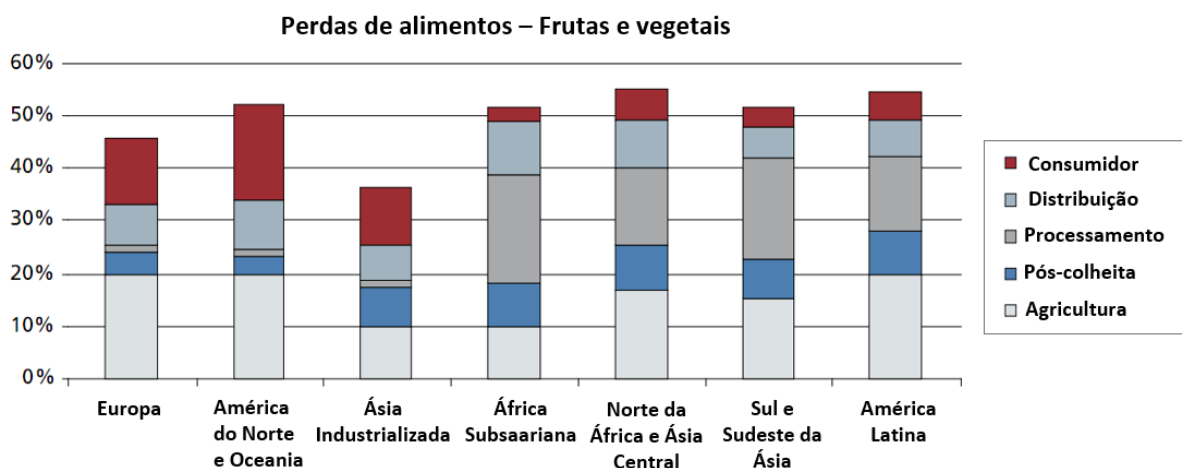


Figura 3 – Perdas mundiais de frutas e vegetais [38].

Em 2013, a produção mundial de frutas frescas foi de aproximadamente 640 milhões de toneladas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial, responsável por aproximadamente 40 milhões de toneladas. No entanto, estima-se que no mínimo 9 milhões de toneladas da produção brasileira (22,5 %) tenham sido descartadas [39].

O mamão (*Carica papaya*) é uma cultura nativa da América Tropical, e os altos índices de perdas de sua produção são essencialmente decorrentes de problemas logísticos, gerando um elevado descarte. Atualmente, o Brasil é o

maior produtor mundial de mamão, respondendo por 30 % do total da produção, e o terceiro maior exportador, atrás apenas de México e Malásia. Além disso, o Brasil detém uma área de cultivo de 32 mil hectares, com uma produção em torno de 1,6 milhões de toneladas [27]. No Brasil, as perdas totais pós-colheitas para o mamão são estimadas em 40 % [40], o que representa uma rica fonte de rejeitos adequados à produção de polpas e ao processamento de filmes [33, 41].

Embora a matéria-prima seja farta, o maior desafio na produção e utilização dos filmes biodegradáveis de origem agrícola é a obtenção de características no mínimo mais próximas aos convencionais sintéticos [25, 42-45].

Assim, a aplicação deste tipo de material deve ser avaliada em função de suas limitações, como baixas propriedades mecânicas e alta permeabilidade ao vapor de água, características decorrentes da estrutura hidrofílica dos polissacarídeos constituintes da polpa. Uma maneira de minimizar esses efeitos é pela formação de compósitos, inserindo estruturas celulósicas diversas (cânhamo [46], sisal [21], casca de ervilhas [47], palha do arroz [48]), além de fibras [24, 49]) e partículas orgânicas (quitosana [50]), como elementos de reforço.

1.5 Materiais de Reforço

Diversos aditivos são passíveis de serem empregados como materiais de reforço na formulação de soluções filmogênicas à base de purê de frutas.

Entre os mais citados estão as fibras celulósicas (nas dimensões micro e nano) e as nanopartículas processadas a partir de quitosana ou alginatos [24, 28, 35, 51].

Entretanto, ainda é pequeno o número de estudos sobre o processamento de filmes de polpa e o real efeito da adição de componentes nanoestruturados na alteração das propriedades dos filmes obtidos.

1.5.1 Reforçadores nanoestruturados

A Nanociência e a Nanotecnologia ganharam importância significativa no final do século XX, quando a manipulação de materiais cujas dimensões encontram-se na faixa de nanômetros (1×10^{-9} m), ou seja, um bilionésimo de metro, tornou-se possível em decorrência do avanço tecnológico [52]. O crescente interesse nos materiais nesta escala decorre principalmente das propriedades físicas e químicas distintas que os materiais apresentam nessas dimensões [53].

Tais mudanças estão relacionadas a maior área superficial dos materiais nanométricos, fazendo com que os átomos presentes na superfície estejam mais acessíveis para participarem de interações físicas e químicas com o meio nos quais estão inseridos [24, 53, 54]. Em matrizes poliméricas, estas interações podem influenciar a dinâmica molecular das cadeias, resultando em alterações de propriedades mecânicas, de barreira [55] e de estabilidade térmica [56].

Partículas orgânicas, fibras e lamelas cerâmicas de dimensões nanométricas são consideradas como “*fillers*” para emprego em reforço matricial e podem ser classificadas genericamente como “nanopartículas” [57].

As nanopartículas orgânicas de origem biopoliméricas podem ser obtidas por dois princípios básicos: i) por reação de polimerização do monômero principal ou ii) por interação iônica entre dois polieletrólitos, como usualmente empregado no caso da obtenção de nanopartículas de quitosana [58], processo este conhecido como “gelatinização ionotrópica”. Nanopartículas obtidas por gelatinização ionotrópica vêm sendo avaliadas em diferentes aplicações nas áreas de materiais, médica, farmacêutica e alimentícia [59-61].

Basicamente, para a produção de nanopartículas de quitosana pelo método de gelatinização ionotrópica, faz-se uso da adição de um poliânion específico, o tripolifosfato (TPP), que atua como um contra-íon provocando a coagulação da mistura pela formação de ligações intra e intermoleculares entre os fosfatos negativamente carregados do TPP e os grupos amino positivamente carregados da quitosana. Para que ocorram as ligações, o TPP é diluído em condições alcalinas (pH 7-9) e interagido com a quitosana diluída em meio ácido (pH 4-6) [62, 63]. A Figura 4 ilustra os grupos funcionais que promovem a interação iônica nos dois compostos.

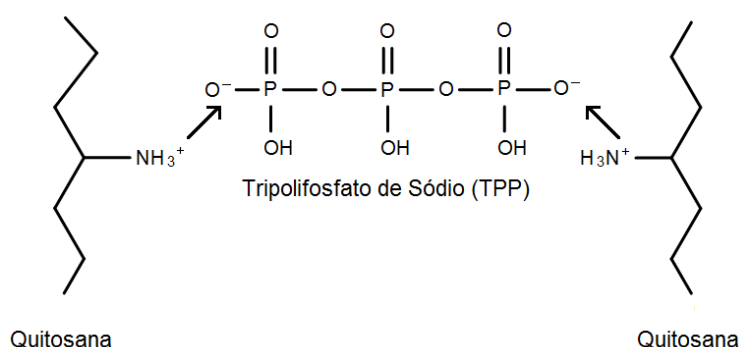


Figura 4 – Gelatinização da quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP) por interação entre grupos iônicos e catiônicos [64].

As fibras de origem celulósica são regularmente extraídas de palhas ou rejeitos agroindustriais por processos que envolvem redução mecânica

(moagem) e tratamentos químicos ácidos e alcalinos, com o auxílio ou não de temperaturas elevadas [65].

Neste trabalho, os reforços avaliados para a melhoria das propriedades dos filmes de polpa de mamão foram nanopartículas de quitosana obtidas por gelatinização, as nanofibras semicristalinas de celulose e a pectina.

1.5.1.1 Nanopartículas de Quitosana

A quitosana é um polímero natural formado por cadeias lineares de unidades de glicosamina e *N*-acetil-glicosamina unidas por ligações β (1 \rightarrow 4), obtido a partir do processo de desacetilação da quitina, um componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos (Figura 5). A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, ficando atrás somente da celulose [66], da qual, apesar de possuir semelhanças na estrutura química, diferencia-se devido à presença de grupos amínicos [67].

Devido às suas características atóxicas, facilidade na formação de géis e blendas, biodegradabilidade e biocompatibilidade, a quitosana vem sendo estudada em diversos campos de pesquisa e em aplicações tecnológicas e industriais há mais de setenta anos [68], no desenvolvimento de filmes e como aditivo [69-71].

Na unidade da Embrapa Instrumentação, quitosanas em diversos graus de modificações químicas têm sido avaliadas como material de coberturas protetoras de alimentos e no processamento de filmes ativos [72].

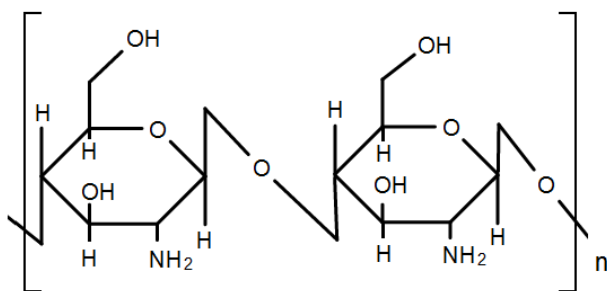


Figura 5 – Estrutura idealizada da quitosana, sendo “n” o grau de polimerização [64].

Além disso, a quitosana apresenta ótimas propriedades antimicrobianas, evidenciadas por estudos nos quais sua presença inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e de diversos fungos causadores de podridão em alimentos [30, 73].

1.5.1.2 Nanofibras de celulose

A celulose, assim como a quitosana, é um homopolímero de cadeias lineares de carboidrato. Esta é formada pela repetição de unidades de D-glucopiranosose ligadas por ligações do tipo β (1 \rightarrow 4) (Figura 6) [12]. É o polissacarídeo mais abundante da natureza e amplamente empregado em diversas aplicações como embalagens, na indústria têxtil e de alimentos (como espessante ou estabilizante) e como componente fundamental na produção de papéis [74].

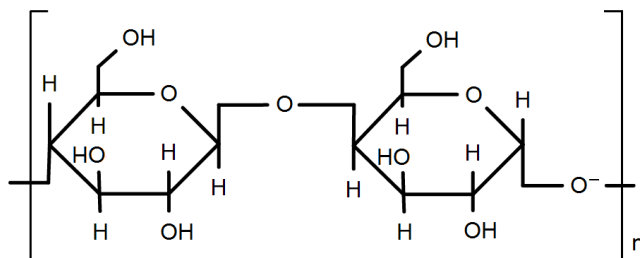


Figura 6 – Estrutura química da celulose.

A celulose, em diversas formas, vem sendo avaliada na formação de compósitos e como reforço em filmes biodegradáveis [24, 49, 50]. Em geral, a inserção de fibras celulósicas eleva a estabilidade térmica e resistência mecânica da matriz, além de reduzir a permeação a gases [75]. O uso de fibras extraídas de palhas e resíduos é altamente desejável, considerando a disponibilidade de fontes renováveis [56, 75, 76], e suas características de biodegradabilidade, baixa densidade e baixo custo de produção [12], colocando-se como uma alternativa viável à substituição de fibras sintéticas (vidro ou carbono), usualmente empregadas na indústria.

Nanofibras são usualmente extraídas por hidrólise ácida a partir de resíduos lignocelulósicos de origens diversas. Neste trabalho, foram utilizadas nanofibras extraídas por rota enzimática a partir de palhas de soja, um resíduo extremamente abundante no Brasil, considerando que a palha corresponde a aproximadamente 50 % da massa da planta de soja [77].

1.5.2 Pectina

Outro material frequentemente adicionado em filmes biodegradáveis é a pectina, um polissacarídeo encontrado na parede celular de frutas e vegetais, que contribui para a firmeza e estabilidade estrutural [28, 78-80]. Geralmente, a pectina é obtida a partir da casca e polpa de frutas cítricas, maçãs e sementes de girassol.

A pectina é altamente filmogênica, antioxidante e promotora de plasticidade. Trata-se de um polímero de cadeia linear composto por monômeros de ácido D-galacturônico unidos por meio de ligações do tipo α (1 \rightarrow 4).

Monômeros como D-galactose e L-arabinose também podem estar presentes na cadeia [78, 79] (Figura 7).

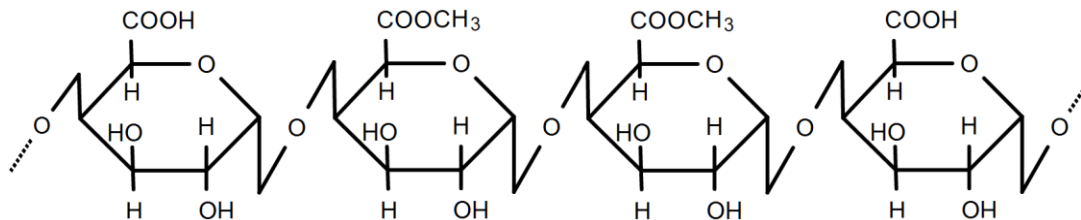


Figura 7 – Estrutura química da pectina.

Por ser solúvel em água, a pectina é empregada na indústria alimentícia como agente espessante [80-82]. Além disso, há efeitos positivos deste polissacarídeo nas propriedades mecânicas de filmes à base de polpa de frutas [28, 83].

2 Objetivos

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar a adequação do uso de polpas de mamão papaia (*Carica papaya*) em adiantado estado de maturação, sem e com a adição de reforços no processamento de filmes biodegradáveis, utilizando a máquina Mathis no modo batelada.

2.1 Objetivos específicos

- Processar e caracterizar polpas de mamão papaia (*Carica papaya*) a partir de frutos em avançado estado de maturação;
- Produzir e caracterizar nanopartículas de quitosana por gelatinização ionotrópica e nanofibras de celulose, extraídas da palha da soja, como potenciais materiais de reforço estrutural.
- Estudar as alterações decorrentes da inserção dessas nanoestruturas associadas ou não à pectina nas propriedades mecânicas, térmicas, de barreira ao vapor de água e de coloração dos filmes processados;
- Avaliar a presença de atividade antimicrobiana proporcionada pela inserção de quitosana na matriz biopolimérica nos filmes de polpa de mamão.

3 Material e Métodos

3.1 Preparo do purê de mamão

Mamões do grupo papaia (*Carica papaya L.*) foram adquiridos em um mercado local e reservados até um estágio avançado de maturação para o preparo do purê. Para a análise do estágio de amadurecimento levou-se em consideração não apenas a firmeza relativa do fruto como principalmente a cor da casca a qual adota-se a variação de uma escala de amarelo de 0 a 5. O estágio 0 de maturação é aquele no qual o fruto está totalmente desenvolvido e com 100 % da casca na coloração verde. Já os estágios de amadurecimento de 1 a 5 são aqueles nos quais têm-se respectivamente 15, 25, 50, 75 e 100 % da superfície na cor amarela. No estágio 5 o fruto está plenamente amadurecido e adequado para o consumo [84].

No presente estudo, os frutos utilizados para o preparo do purê estavam além do estágio 5 de amadurecimento, ou seja, já possuíam sinais claros de decaimento como podridão externa e baixa firmeza de textura, portanto inadequados à aceitação do consumidor.

A Figura 8 apresenta o aspecto interno de uma amostra utilizada nestas condições.



Figura 8 – Aspecto interno de amostra de mamão sobremaduro utilizado no preparo do purê.

Inicialmente, as frutas foram higienizadas a partir da imersão em solução de hipoclorito por 15 minutos e, em seguida, as cascas e as sementes foram removidas e descartadas. A polpa foi obtida por redução mecânica em liquidificador durante 3 minutos. A cada 750 g de polpa, adicionou-se 250 g de água e 0,2 % (m/m) de ácido ascórbico e 0,2 % (m/m) de ácido cítrico (Figura 9a). Após a mistura, o purê foi centrifugado por 5 minutos a 12.000 rpm e o sobrenadante removido. Na sequência, o purê foi autoclavado a 115 °C por 1 minuto, embalado a vácuo e preservado a -20 °C (Figura 9b) [28].



Figura 9 - Etapas do preparo do purê de mamão. a) Polpa com ácido ascórbico e ácido cítrico; b) Purê embalado, pronto para ser acondicionado a -20°C .

Alíquotas das frutas, da solução não centrifugada, do sobrenadante descartado após a centrifugação e do purê autoclavados foram encaminhadas para a medida da quantidade de sólidos solúveis (Grau Brix) em refratômetro digital (Atago, RX-5000 α).

3.2 Obtenção das nanoestruturas de reforço

3.2.1 Síntese das Nanopartículas de Quitosana

A quitosana utilizada foi de média massa molar (400.000 g/mol), com 75-85 % de unidades desacetiladas, segundo dados fornecidos pelo fabricante (Sigma-Aldrich Co. - St. Louis, MO, USA).

As nanopartículas foram obtidas pelo método de gelatinização ionotrópica, seguindo a metodologia proposta por Koukaras [85]. O gel de quitosana foi obtido por dissolução em ácido acético a 1 %, sob agitação intensa ao longo de 1 hora. As concentrações de quitosana testadas foram de 0,1, 0,2 e

0,5 % (m/v). Em seguida, o TPP (tripolifosfato) (Aldrich) foi dissolvido em água destilada, na concentração de 0,1 % (m/v) e adicionado ao gel de quitosana por gotejamento contínuo na razão de 1 mL.min⁻¹ para uma concentração final de TPP de 0,05 %. No processo, a formação de suspensão opalescente indica a formação das nanopartículas no meio. Todo o procedimento foi realizado à temperatura ambiente e umidade relativa próxima a 75 %.

3.2.2 Extração das nanofibras de celulose

As palhas de soja foram gentilmente cedidas pela Embrapa Soja, Londrina-PR. A extração das nanofibras foi conduzida através de uma suspensão contendo 2 % em massa de palha previamente mercerizada. A suspensão foi aquecida a 50 °C e posteriormente adicionada ao coquetel enzimático Optimash™ VR (xilanase/celulase) (Dupont), com atividade de 315 CMC U/g de palha.

Após 42 horas de tratamento enzimático, procedeu-se a desnaturação proteica e centrifugação (7.000 rpm, 10 °C, 10 min), conforme metodologia proposta por Tibolla e colaboradores [86]. Posteriormente, a suspensão foi tratada mecanicamente com Ultraturrax por 5 minutos (14.000 rpm) e com sonificador de ponteira por 3 minutos (130 W, amplitude de 70 %) (VCX 130PB, Sonics & Materials, EUA), seguindo procedimento adaptado de Flauzino-Neto e colaboradores [87]. A suspensão contendo nanofibras foi armazenada a 4 °C com adição de algumas gotas de clorofórmio para prevenção de crescimento microbiano. O procedimento de extração das fibras foi realizado parte na unidade da Embrapa Instrumentação e parte conduzido no Departamento de Química da

USP de Ribeirão Preto, fazendo uso da infraestrutura laboratorial da Profa. Dra. Délia Rita Tapia Blácido.

3.2.2.1 Concentração de sólidos das suspensões de nanofibras

Para determinar a concentração de sólidos em cada uma das suspensões de nanofibras, 10 g de amostras de cada suspensão coloidal (nanofibras em solução) foram secas em estufa a 50 °C até massa constante e os resultados calculados em relação ao teor de celulose total de cada amostra, de acordo com a relação 1:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{MS (\%) \times \frac{m(\text{suspensão})}{m(\text{palhada})}}{T_{\text{celulose}}} \cdot 100 \quad (1)$$

Sendo:

$$MS (\%) = \frac{m(\text{seca})}{m(\text{úmida})} \times 100 \quad (2)$$

$$m(\text{úmida}) = m(\text{placa} + \text{liq}) - m(\text{placa}) \quad (3)$$

$$m(\text{seca}) = m(\text{placa} + \text{sol}) - m(\text{placa}) \quad (4)$$

Onde:

MS (%) = Percentual de massa seca;

M(suspensão) = Massa da suspensão (\approx 100 g);

M(palhada) = Massa da palhada (\approx 2 g);

Tcelulose = Teor de celulose em relação à massa da palha (varia de 0 a 1 dependendo do material).

3.3 Caracterização das nanoestruturas de reforço

Amostras de nanopartículas de quitosana-TPP foram removidas do meio reativo e ressuspensas em água destilada. O mesmo procedimento foi conduzido para as nanofibras.

As morfologias das nanopartículas e das nanofibras foram observadas em microscópico eletrônico de transmissão (MET) JEM 100CXII (JEOL).

Para a análise das nanofibras, amostras foram retiradas da solução diluída e submetidas ao ultrasonificador por 2 min para dispersão. Em seguida, uma gota da suspensão foi colocada sobre suportes (“*grides*”) e secas à temperatura ambiente. Após 24 horas, as amostras foram coradas com solução 1,5 % de acetato de uranila, por imersão dos *grides* por 2 minutos. Os valores de diâmetros das fibras foram avaliados com auxílio do programa Image J em contagens aleatórias na amostra fotografada.

As dimensões das nanopartículas de quitosana foram obtidas em sistema Zeta Potencial Analyser (Malvern Instruments). As medidas foram realizadas a 25 °C e em triplicata para ambos os materiais.

3.4 Preparo das soluções filmogênicas e processamento dos filmes

As soluções filmogênicas foram obtidas através da solubilização da polpa previamente congelada em água destilada. Essa mistura foi mantida sob agitação magnética ao longo de 24 horas para garantir a solubilização e uniformidade em sua distribuição.

As concentrações de purê testadas foram de 10, 15, 20 e 25 % em massa seca. A mesma concentração foi avaliada com inserção de duas concentrações distintas de nanopartículas de quitosana-TPP (0,1 e 0,2 %) e de nanofibras (0,1 e 0,2 %).

Filmes com a adição de pectina (0,5 g por 100 g de solução total) e de glicerol (5 g por 100 g de massa seca de purê) foram também processados com o objetivo de avaliar o efeito plastificante desses compostos sobre as propriedades mecânicas dos filmes processados. No total, 48 formulações distintas foram elaboradas, conforme dados dispostos na Tabela 2.

Para a identificação das formulações foram adotadas letras para os componentes e algarismos para as porcentagens avaliadas. Em relação aos componentes utiliza-se “M” para a concentração de massa seca de polpa de mamão, a qual variou entre 10, 15, 20 e 25 %. As nanopartículas de quitosana foram identificadas como “ch”, seguido das concentrações avaliadas (0,1 e 0,2 %), bem como as nanofibras de celulose (nf). O glicerol (gli) e a pectina (pec) foram adicionados somente na concentração de 5 % e 0,5 %, respectivamente.

Tabela 2 – Composições das formulações filmogênicas avaliadas. No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Código de identificação dos filmes	Polpa (%)	Nanopartículas de quitosana (%)	Nanofibras de celulose (%)	Pectina (%)	Glicerol (%)
M10	10	-	-	-	-
M15	15	-	-	-	-
M20	20	-	-	-	-
M25	25	-	-	-	-
M10_ch0,2	10	0,2	-	-	-
M15_ch0,2	15	0,2	-	-	-
M20_ch0,2	20	0,2	-	-	-
M25_ch0,2	25	0,2	-	-	-
M10_ch0,1	10	0,1	-	-	-
M15_ch0,1	15	0,1	-	-	-
M20_ch0,1	20	0,1	-	-	-
M25_ch0,1	25	0,1	-	-	-
M10_gli5	10	-	-	-	5
M15_gli5	15	-	-	-	5
M20_gli5	20	-	-	-	5
M25_gli5	25	-	-	-	5
M10_ch0,2_gli5	10	0,2	-	-	5
M15_ch0,2_gli5	15	0,2	-	-	5
M20_ch0,2_gli5	20	0,2	-	-	5
M25_ch0,2_gli5	25	0,2	-	-	5
M10_ch0,1_gli5	10	0,1	-	-	5
M15_ch0,1_gli5	15	0,1	-	-	5
M20_ch0,1_gli5	20	0,1	-	-	5
M25_ch0,1_gli5	25	0,1	-	-	5
M10_pec0,5	10	-	-	0,5	-
M15_pec0,5	15	-	-	0,5	-
M20_pec0,5	20	-	-	0,5	-
M25_pec0,5	25	-	-	0,5	-
M10_pec0,5_gli5	10	-	-	0,5	5
M15_pec0,5_gli5	15	-	-	0,5	5
M20_pec0,5_gli5	20	-	-	0,5	5
M25_pec0,5_gli5	25	-	-	0,5	5
M10_ch0,2_pec0,5_gli5	10	0,2	-	0,5	5
M15_ch0,2_pec0,5_gli5	15	0,2	-	0,5	5
M20_ch0,2_pec0,5_gli5	20	0,2	-	0,5	5
M25_ch0,2_pec0,5_gli5	25	0,2	-	0,5	5
M10_ch0,1_pec0,5_gli5	10	0,1	-	0,5	5
M15_ch0,1_pec0,5_gli5	15	0,1	-	0,5	5
M20_ch0,1_pec0,5_gli5	20	0,1	-	0,5	5
M25_ch0,1_pec0,5_gli5	25	0,1	-	0,5	5
M10_nf0,1	10	-	0,1	-	-
M15_nf0,1	15	-	0,1	-	-
M20_nf0,1	20	-	0,1	-	-
M25_nf0,1	25	-	0,1	-	-
M10_nf0,2	10	-	0,2	-	-
M15_nf0,2	15	-	0,2	-	-
M20_nf0,2	20	-	0,2	-	-
M25_nf0,2	25	-	0,2	-	-

Como citado anteriormente, todos os filmes foram obtidos utilizando a máquina Mathis no modo batelada. As formulações foram separadamente depositadas sobre superfície de poliéster (Transparências Laser Folien para impressão a jato de tinta, USA Folien) em áreas aproximadas de 14 x 20 cm e conduzidas à câmara interna na temperatura de 40 °C por 140 min sob ventilação (Figura 10). Estes parâmetros foram otimizados para os filmes de mamão a partir dos processamentos anteriores realizados por Martelli *et al* [28].

Após o processamento, a base plástica foi removida ao exterior da câmara e, após resfriamento natural, os filmes foram destacados e acondicionados em dessecadores.



Figura 10 – Máquina Mathis – Sistema em Batelada. Figura ilustrativa do processamento dos filmes de purê de mamão.

Um aspecto a ser destacado é que a unidade da Embrapa Instrumentação em São Carlos, local de realização deste trabalho, dispõe de duas máquinas de processamento de filmes (*paper coating*), uma de produção em escala laboratorial (processo em batelada) (Figura 11A) e outra de escala semi-industrial em processo contínuo (Figura 11B).

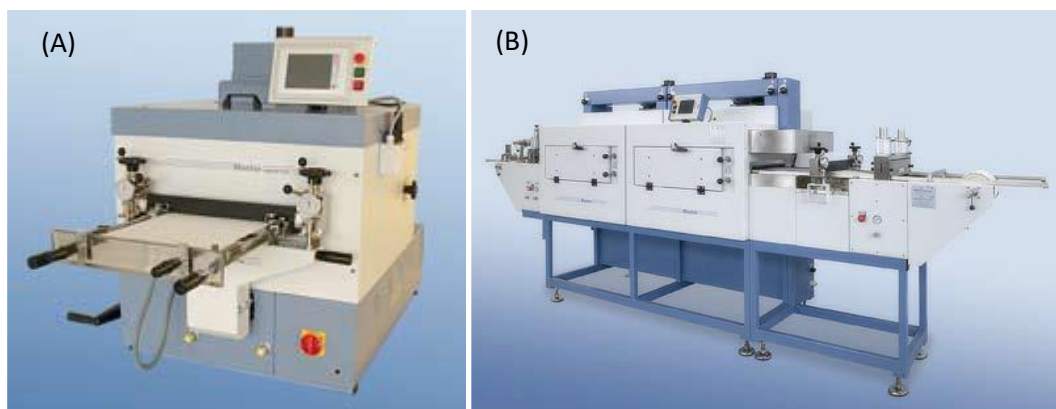


Figura 11 – Máquinas de processamento Mathis. (A) Processo em batelada; (B) Processo contínuo, disponíveis na Embrapa Instrumentação (Fonte: catálogo do fabricante).

Esses sistemas, desenvolvidos pela empresa suíça Mathis (www.mathisag.com), são únicos em seus gêneros e têm sido empregados com sucesso na produção de filmes de polpas e compósitos. A montagem em “modo batelada” (Figura 11A), foi a empregada neste trabalho.

A Tabela 2 apresenta as concentrações e variações dos componentes das 48 soluções filmogênicas avaliadas nos testes preliminares de formação de filmes. A síntese de alguns dos filmes presentes na tabela não foi possível, como será discutido adiante.

3.5 Caracterização dos filmes

3.5.1 Determinação da Espessura

A espessura dos filmes foi obtida pela medida de 5 pontos diferentes em cada amostra utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo Manufacturing, Japan). Tais valores foram usados para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas.

3.5.2. Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram analisadas a partir de ensaios em Texturômetro TA.XT Plus (Stable Micro System, Reino Unido). Os filmes foram cortados de acordo com a Norma ASTM D882-97. O teste padrão de ensaio de tensão x deformação, no modo tração, foi realizado para a determinação de alterações nas características mecânicas. Avaliou-se a tensão de ruptura (σ_{\max}) e a alongação máxima (ϵ_{\max}) dos filmes sintetizados em 6 replicatas.

3.5.3 Propriedades Térmicas

A análise da estabilidade térmica dos filmes foi conduzida por meio de termogravimetria dinâmica (TG) em equipamento TGA Q-500 (TA Instruments, EUA). Foram pesadas entre 9 e 10 mg de cada amostra seladas em recipientes de platina e ensaiadas em rampa térmica de 30 até 700 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min. As medidas foram realizadas sob fluxo de nitrogênio na vazão constante de 60 mL/min.

A análise de eventos térmicos de degradação e alteração estrutural foi realizada por medida de calorimetria diferencial de varredura (DSC) em sistema Q100 DSC (TA Instruments, EUA). Nesta análise, amostras de 4 mg dos filmes foram pesadas e seladas em recipientes de alumínio e submetidas à rampa de aquecimento padrão de -20 a 200 °C na razão de 5 °C/minuto sob atmosfera de

ar e N₂ com vazão de 50 mL/min. Quitosana pura (em flocos) também foi avaliada para comparação do comportamento térmico.

3.5.4 Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água (WVP), uma característica fundamental para a definição de aplicações de filmes biopoliméricos, foi determinada tendo por base a metodologia descrita na norma ASTM E 96-92 (método do copo). As medidas foram realizadas em amostras de filmes cortadas no formato circular com 6 cm de diâmetro e fixados em células de acrílico após terem sido adicionados 6 mL de água destilada.

As células foram dispostas em dessecadores com sílica e estocadas em estufa à temperatura (40 °C), umidade (50 % UR) e ventilação controladas. A massa de cada conjunto foi estabelecida por medida em balança semianalítica em intervalos de 1 hora ao longo de 10 horas. A estimativa da permeabilidade ao vapor de água (WVP) foi calculada considerando a equação 5:

$$WVP = \frac{w}{t} \cdot \frac{x}{A \cdot \Delta P} \quad (5)$$

Sendo: “w/t” representa a perda de massa por unidade de tempo, “x” a espessura dos filmes, “t” a unidade de tempo, “A” a área de permeação e “ΔP” o gradiente de pressão (diferença de pressão entre a face superior e inferior do filme na célula de acrílico).

3.5.5 Análise Colorimétrica

A medida de alteração de cor ao longo do tempo dos filmes processados foi realizada pela leitura em colorímetro Chroma Meter CR-410 (Konica Minolta, EUA). As medidas foram realizadas em um período de 60 dias após o processamento, com intervalos de 2 dias, nos quais foi avaliada a evolução de cores nas superfícies de acordo com a “escala de Hunter”, composta pelos parâmetros L^* , a^* e b^* . L^* indica a luminosidade (número de fótons), ou seja, a quantidade de luz refletida, variando de zero (preto) a 100 (branco). Os parâmetros a^* e b^* quantificam a cromaticidade: a^* expressa o grau de variação entre o verde (-a) e o vermelho (+a) e o b^* entre o azul (-b) e o amarelo (+b), os quais devem ser interpretados de acordo com o diagrama ilustrado na Figura 12.

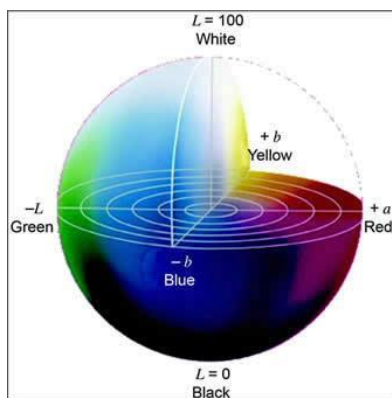


Figura 12 – Diagrama colorimétrico de acordo com o Sistema Cie/Lab [88].

Utilizando os valores numéricos de a^* e b^* , é possível determinar o índice de escurecimento (IE), processo esse decorrente de reações oxidativas ou enzimáticas que acontecem na polpa, expresso por [89]:

$$IE = \frac{100(X-0,31)}{0,172} \quad (6)$$

sendo: $X = (a^* + 1,75 \cdot L^*) / 5,645 \cdot L + a^* - 3,021 \cdot b^*$.

A variação total de cor (ΔE), foi estimada como:

$$\Delta E = [(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2]^{1/2} \quad (7)$$

L^* , a^* e b^* representam os parâmetros de cor das amostras e L_0 , a_0 e b_0 os respectivos valores iniciais. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

3.6 Atividade Antimicrobiana

A possível ação antimicrobiana da quitosana que compõe os filmes reforçados foi avaliada através do método de difusão em ágar, tendo por base a determinação das dimensões de halos de inibição do crescimento de microrganismos [90]. Os halos são zonas transparentes nas quais não ocorre crescimento de microrganismos e seu diâmetro é proporcional à ação antimicrobiana. O microrganismo teste empregado neste estágio do trabalho foi a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

O meio sólido foi preparado com 4 % de meio Müller Hinton (Himedia) com ágar e o meio líquido com 2 % de meio Müller Hinton (Himedia), ambos diluídos em água destilada. Os meios foram aquecidos até sua homogeneização e autoclavados. O meio líquido foi então inoculado com os microrganismos e permaneceu a 37 °C, sob agitação de 120 rpm durante 15 horas. Após esse período, as placas com meio sólido foram inoculadas e 3 discos de filmes (diâmetro de 1 cm) foram posicionados em cada placa.

4 Resultados e Discussão

4.1 Caracterização das Nanopartículas de Quitosana e Nanofibras de Celulose

4.1.1 Tamanho de partículas

O perfil de distribuição das nanopartículas de quitosana obtidas pela técnica de gelatinização iônica e empregadas como reforço de adição nos filmes de polpa de mamão está representado na Figura 13.

Trata-se de uma distribuição bimodal de tamanhos com uma pequena concentração de partículas de menores dimensões centradas em 25,53 nm e uma distribuição predominante com centro em 194,3 nm. O diâmetro médio levando em consideração a quantidade de distribuição é dado automaticamente pelo sistema como 161,3 nm, dimensões médias estas superiores às encontradas na literatura (próximas a 78 nm), para o processamento de nanopartículas de quitosana pela técnica aqui empregada [64], indicando que o processo pode ser otimizado pela variação de alguns parâmetros experimentais como vazão de gotejamento, agitação, pH, relação entre massas dos polímeros, etc. Contudo, as dimensões obtidas, prestam-se aos propósitos deste trabalho de atuarem como reforço matricial.

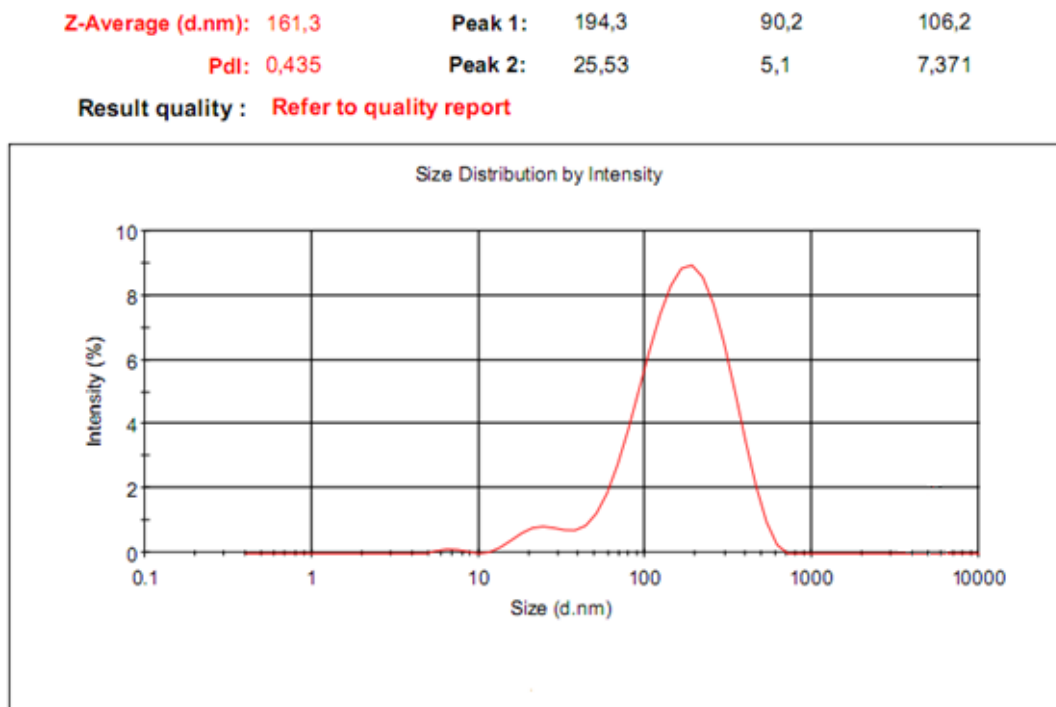


Figura 13 – Distribuição de tamanhos de nanopartículas de quitosana.

4.1.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

O aspecto das nanopartículas de quitosana e das nanofibras de celulose obtidas após tratamentos enzimáticos está mostrado na Figura 14. Embora de difícil distinção individual, observa-se que as nanopartículas de quitosana apresentaram morfologia de aspecto homogêneo, com boa dispersão e com formatos tendendo ao esférico com dimensões inferiores a 500 nm. Algumas aglomerações são observadas (Figura 14A), sendo são compatíveis com as análises de tamanho de partículas realizadas em sistema zetasizer.

Com respeito às nanofibras, essas possuem configurações e distribuição de tamanhos distintos, com diâmetros de fibras próximos a 15 nm e comprimentos variados.

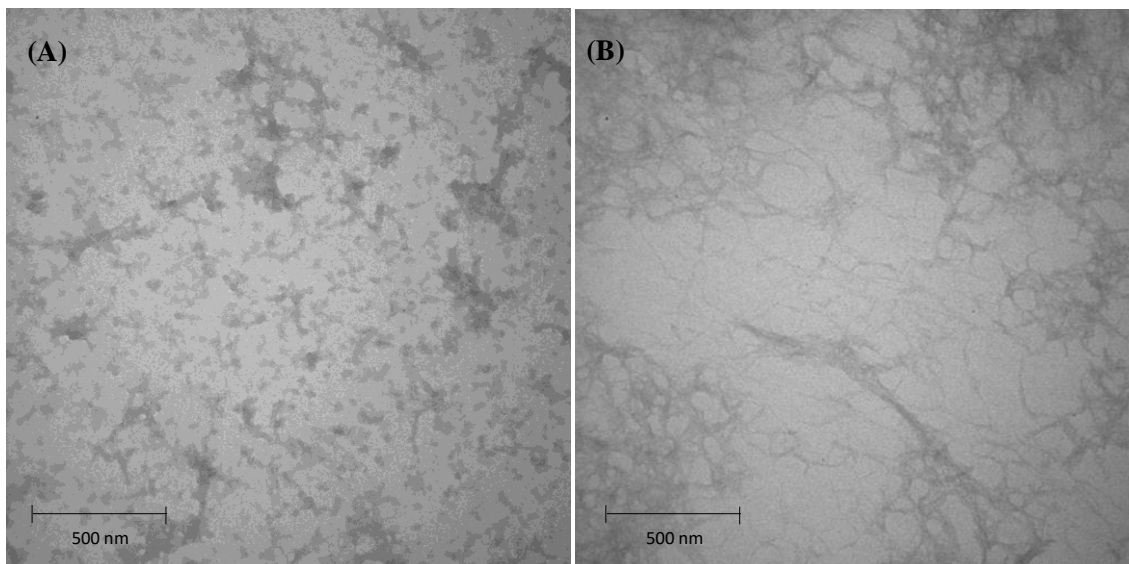


Figura 14 – Caracterização da morfologia das nanoestruturas. Morfologia das (A) nanopartículas de quitosana e (B) nanofibras de celulose obtida por microscopia eletrônica de transmissão (MET).

4.2. Análise de Sólidos Solúveis (Grau Brix)

A caracterização da polpa utilizada no processamento dos filmes foi conduzida pela quantificação do teor de açúcar presente em todas as etapas do preparo por meio da determinação do grau Brix. O Grau Brix indica a quantidade de sólidos solúveis presentes em uma solução, sendo um grau Brix (1º Brix) equivalente a 1 % de sólidos solúveis. Os dados numéricos obtidos nas análises estão dispostos na Tabela 3.

Esta análise é necessária, considerando que a presença de açúcar, apesar de atuar como plastificante, pode prejudicar o pleno processamento dos filmes quando presente em excesso. O emprego de aquecimento no processamento pode promover a caramelização dos filmes durante seu processamento no Sistema Mathis.

De acordo com a Tabela 3 nota-se que as frutas *in natura* e o purê não centrifugado possuem em sua composição uma maior concentração de

açúcares: $11,28 \pm 1,29$ e $11,02 \pm 0,08$, respectivamente. Já o purê pronto apresenta uma redução nesse valor ($7,62 \pm 0,23$), comprovando que o processo de centrifugação e descarte do sobrenadante foi efetivo na eliminação do excesso.

Tabela 3 – Variação dos valores de Grau Brix nas etapas de preparo do purê.

Amostra	Grau Brix (°)
Mamão <i>in natura</i>	$11,28 \pm 1,29^a$
Purê não centrifugado	$11,02 \pm 0,08^a$
Sobrenadante	$7,32 \pm 0,06^b$
Purê pronto	$7,62 \pm 0,23^b$

4.3 Propriedades mecânicas

Para a avaliação do efeito das diversas inserções na matriz filmogênica (polpa), foram testadas diversas concentrações de plastificantes e reforçadores como nanopartículas de quitosana, pectina e nanofibras de celulose. Considerando que as propriedades mecânicas são determinadas pela estrutura final do material, diferenças são esperadas nos resultados de tensão e deformação para cada formulação.

4.3.1 Filmes sem reforçadores

Primeiramente foram testados filmes cujas soluções eram compostas somente de água e diferentes concentrações de purê, que foram considerados como controle para comparação com os demais filmes.

Não foi viável a formação de filmes com menos de 20 % (d.b) de polpa (M10 e M15). Filmes com essas concentrações (10 e 15 %) somente foram possíveis de serem processados com a adição de glicerol (5 %). Em geral, na síntese de filmes biopoliméricos a adição de plastificantes se faz necessária para a obtenção de mínima flexibilidade e alongação, facilitando a manuseabilidade e a realização de ensaios.

Ainda que os filmes à base de purê de frutas apresentem em sua composição natural açúcares simples que podem apresentar efeito plastificante, como o processo de preparo envolve a centrifugação e o descarte do sobrenadante e, conseqüentemente, de parte do açúcar presente, a adição de plastificantes torna-se necessária em algumas formulações [91].

Os resultados de espessura, deformação máxima e tensão máxima na ruptura dos filmes sem nanoreforçadores estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 – Propriedades mecânicas de filmes sem reforçadores. Espessura, deformação máxima (ϵ_{\max}) e tensão máxima na ruptura (σ_{\max}) de filmes biodegradáveis com 20 e 25 % de purê de mamão papaia (M) adicionados de água e 10, 15, 20 e 25 % de purê adicionados de água e 5 % de glicerol (gli).

Filmes*	Espessura (mm)	Deformação máxima: ϵ_{\max} (%)	Tensão máxima: σ_{\max} (MPa)
M20	0,04 ± 0,01 ^a	9,95 ± 1,41 ^{a, b, c, d}	8,40 ± 0,74 ^a
M25	0,04 ± 0,001 ^{a, b}	9,54 ± 0,83 ^{a, b, c, d}	6,18 ± 0,95 ^{a, b, c}
M10_gli5	0,05 ± 0,01 ^{a, b, c, d}	6,62 ± 1,24 ^d	1,76 ± 0,58 ^{d, e}
M15_gli5	0,04 ± 0,01 ^{a, b}	10,07 ± 1,18 ^{a, b, c, d}	1,12 ± 0,25 ^{d, e}
M20_gli5	0,04 ± 0,00 ^{a, b, c, d}	6,37 ± 2,36 ^d	0,6 ± 0,46 ^e
M25_gli5	0,05 ± 0,01 ^{a, b, c}	9,35 ± 0,52 ^{a, b, c, d}	1,32 ± 0,62 ^{d, e}

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Pode-se observar que não há diferenças significativas nas propriedades mecânicas em relação ao aumento da concentração de purê. No entanto, para uma mesma concentração (20 e 25 %), nota-se uma diminuição nos parâmetros de tensão e deformação nos filmes com a adição de glicerol. Ao adicionar o plastificante ocorre, como esperado, a redução da tensão de ruptura. Para os filmes com 25 % de polpa, praticamente não há alterações significativas estatisticamente na elongação (deformação máxima). Por outro lado, a formulação com 20 % de polpa teve sua média reduzida em 26 % na deformação na presença de plastificante, o que não era inicialmente esperado.

De um modo geral, o plastificante enfraquece as forças intermoleculares entre as cadeias adjacentes do polímero, aumentando seu volume interno livre. Essa ação facilita a deformação a baixas tensões (diminui a tensão de ruptura), pois minimiza suas interações intermoleculares, devido a seu caráter higroscópico [92]. A ausência de efeito ou a redução de elongação observada para os filmes de polpa podem ser características da composição matricial e do rearranjo das fibras celulósicas específicas deste composto.

Segue a discussão dos resultados com os aditivos, na qual será dada ênfase à tensão máxima (σ_{max}), considerando que este é o parâmetro que caracteriza a capacidade de sustentação de um filme até sua ruptura, sendo fundamental para a definição de potenciais aplicações.

4.3.2 Filmes com nanopartículas de quitosana

Duas concentrações de nanopartículas de quitosana foram avaliadas como reforçadores: 0,1 e 0,2 % e, novamente, comparadas aos filmes do controle. Não foi possível a formação de filmes com a solução de nanopartículas

de quitosana com 0,5 %. O processamento dos filmes foi prejudicado, devido a sua alta viscosidade.

A adição de plastificante (glicerol) também foi avaliada na mesma concentração (5 %) conduzida nos filmes sem nanopartículas. Os resultados dos ensaios mecânicos nestas diversas condições estão resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 – Propriedades mecânicas de filmes com nanopartículas de quitosana. Espessura, deformação máxima (ϵ_{\max}) e tensão máxima (σ_{\max}). No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana) e gli (glicerol) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Filmes*	Espessura (mm)	Deformação máxima: ϵ_{\max} (%)	Tensão máxima: σ_{\max} (MPa)
M10_gli5	0,05 ± 0,01 ^{e,f,g,h}	6,62 ± 1,24 ^e	1,76 ± 0,58 ^{e,f}
M10_ch0,1	0,16 ± 0,00 ^{c,d}	5,88 ± 1,98 ^e	1,97 ± 1,03 ^{e,f}
M10_ch0,2_gli5	0,06 ± 0,01 ^{e,f,g}	5,91 ± 4,84 ^e	1,93 ± 0,058 ^{e,f}
M15_gli	0,04 ± 0,01 ^{g,h}	10,07 ± 1,18 ^{b,c,d,e}	1,12 ± 0,25 ^{e,f}
M15_ch0,1_gli	0,07 ± 0,01 ^{f,g,h}	9,06 ± 1,81	2,50 ± 1,01
M15_ch0,2	0,18 ± 0,01 ^a	6,86 ± 3,17 ^e	2,79 ± 1,92 ^{e,f}
M15_ch0,2_gli	0,04 ± 0,01 ^{f,g,h}	7,38 ± 4,37 ^a	5,93 ± 0,76 ^a
M20	0,04 ± 0,01 ^h	9,95 ± 1,41 ^{b,c,d,e}	8,40 ± 0,74 ^b
M20_gli	0,04 ± 0,00 ^{e,f,g,h}	6,37 ± 2,36 ^e	0,6 ± 0,46 ^f
M20_ch0,1	0,16 ± 0,01 ^{b,c,d}	6,22 ± 0,69 ^e	1,71 ± 0,57 ^{e,f}
M20_ch0,1_gli	0,07 ± 0,00 ^e	13,45 ± 3,42 ^{a,b,c,d}	1,016 ± 0,41 ^{e,f}
M20_ch0,2	0,18 ± 0,01 ^{a,b}	7,75 ± 1,96 ^{d,e}	3,29 ± 1,39 ^{d,e,f}
M20_ch0,2_gli	0,04 ± 0,00 ^{g,h}	15,82 ± 3,6 ^{a,b}	7,87 ± 3,45 ^{b,c}
M25	0,04 ± 0,00 ^{g,h}	9,54 ± 0,83 ^{b,c,d,e}	6,18 ± 0,95 ^{b,c,d}
M25_gli	0,05 ± 0,01 ^{e,f,g}	9,35 ± 0,52 ^{b,c,d,e}	1,32 ± 0,62 ^{e,f}
M25_ch0,1	0,16 ± 0,01 ^d	8,21 ± 1,06 ^{c,d,e}	3,77 ± 1,29 ^{d,e,f}
M25_ch0,1_gli	0,07 ± 0,00 ^{e,f}	15,55 ± 3,26 ^{a,b}	1,32 ± 0,17 ^{e,f}
M25_ch0,2	0,18 ± 0,01 ^{a,b,c}	10,87 ± 2,47 ^{b,c,d,e}	3,45 ± 0,37 ^{d,e,f}
M25_ch0,2_gli	0,04 ± 0,00 ^{g,h}	13,64 ± 1,85 ^{a,b,c,d}	4,41 ± 0,79 ^{c,d,e}

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Em relação aos filmes com a menor concentração de polpa avaliada (10 % d.b.), identificados com as iniciais M10, a adição de nanopartículas de quitosana não resultou em diferenças estatisticamente significativas na deformação e tensão de ruptura dos filmes. Nota-se apenas uma pequena alteração em relação à sua espessura, devido à maior concentração de matéria seca nas formulações com as nanopartículas de quitosana.

Para os filmes com 15 e 20 % de polpa (d.b.), a inserção de nanopartículas foi efetiva em uma melhora geral das propriedades mecânicas. A ação sinérgica da quitosana com o glicerol na matriz de polpa mostrou ser um parâmetro fundamental para as alterações da plasticidade.

Para os filmes com 25 % de polpa, a adição somente de quitosana não alterou sua deformação e diminuiu a tensão máxima na ruptura, como esperado. Na Figura 15, está apresentado o efeito da adição de nanopartículas sobre a tensão máxima de ruptura para os filmes, nos quais foram variados simultaneamente a concentração de polpa e de nanopartículas.

O aumento da tensão com o aumento da concentração de nanopartículas é esperado considerando que as nanopartículas distribuídas na matriz interagem com as fibras da polpa, elevando a densidade e, conseqüentemente, limitando o deslocamento relativo das fibras. Assim, tensões maiores são necessárias para que se dê o rompimento do filme. Este efeito fica mais evidente nos filmes M15_ch0,2_gli5 e M20_ch0,2_gli5, nos quais o reforço decorrente da adição das nanopartículas é crescente e em concordância com os dados encontrados na literatura, os quais mostram um aumento de aproximadamente 53 % na tensão máxima de filmes com nanopartículas de quitosana [33, 50].

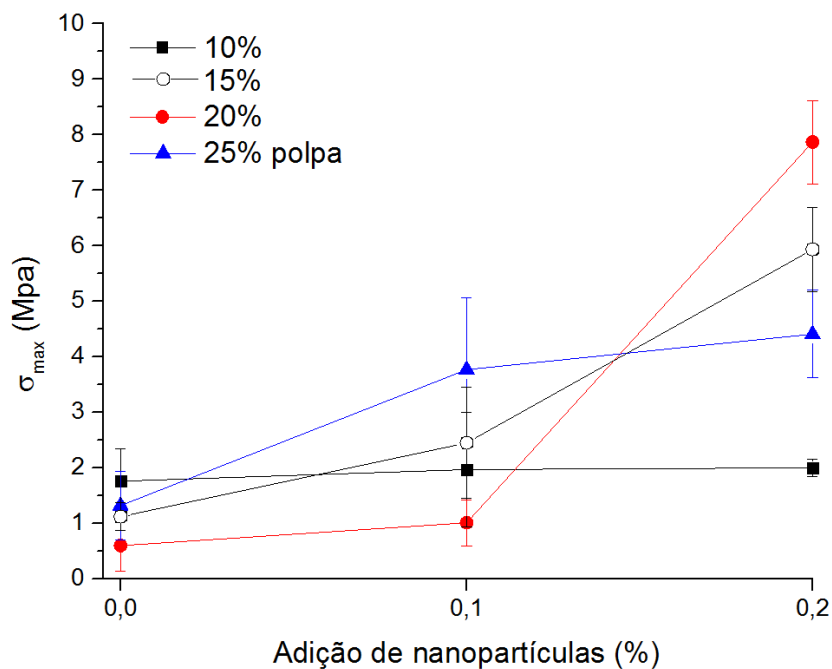


Figura 15 – Efeito da adição de nanopartículas sobre a tensão máxima de ruptura. Filmes com diversas concentrações de polpa (10, 15, 20 e 25 %) e três concentrações de nanopartículas de quitosana (0, 0,1 e 0,2 %). Todos os filmes avaliados contêm 5 % de glicerol como plastificante.

4.3.3 Filmes com nanofibras de celulose

As análises das propriedades mecânicas em função das adições de nanofibras foram realizadas nos filmes processados com 15 % de polpa e 5 % de glicerol como plastificante (M15_gli5), cujos dados numéricos estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 – Propriedades mecânicas de filmes com nanoestruturas. Espessura, deformação máxima (ϵ_{\max}) e tensão máxima (σ_{\max}) de filmes com nanopartículas de quitosana e nanofibras de celulose. No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Filmes*	Espessura (mm)	Deformação máxima: ϵ_{\max} (%)	Tensão máxima: σ_{\max} (MPa)
M15_ch0,2_gli	0,04 ± 0,00 ^b	7,38 ± 4,37 ^a	5,93 ± 0,76 ^a
M15_nf0,2	0,07 ± 0,00 ^b	9,33 ± 0,72 ^b	7,30 ± 2,27 ^b
M15_ch0,2	0,19 ± 0,01 ^a	5,59 ± 4,28 ^b	2,79 ± 2,28 ^c
M15_gli	0,05 ± 0,01 ^b	10,04 ± 1,02 ^b	1,18 ± 0,25 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Comparando as ações da quitosana e das nanofibras de celulose (M15_ch0,2 e M15_nf0,2) como reforço para os filmes biopoliméricos, nota-se que não houve diferença significativa em sua deformação com relação ao filme sem fibras (M15_gli), embora com um incremento na tensão máxima na ruptura da ordem de 2,6 vezes decorrente da presença das nanofibras na matriz.

A Figura 16 compara os dados de tensão de ruptura de algumas formulações M15 com e sem reforços adicionados, na qual é possível notar o efeito superior da inserção das nanofibras com relação ao valor obtido pela adição de nanopartículas na mesma concentração.

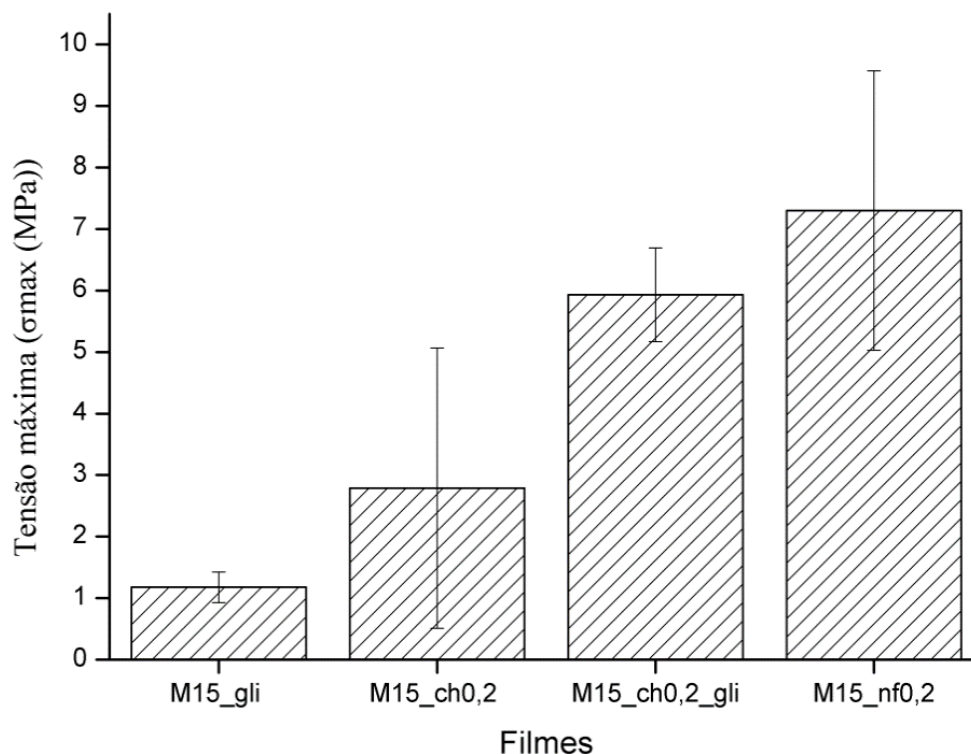


Figura 16 - Tensão máxima na ruptura para filmes com quitosana e nanofibras. Filmes da série M15 com e sem adição de reforçadores. No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

4.3.4 Filmes com pectina

Além das nanopartículas de quitosana e nanofibras de celulose, também foi testada a pectina como agente filmogênico para a mesma concentração de polpa (15 %), com a qual foram obtidos resultados mais satisfatórios de deformação e tensão na ruptura. A concentração de pectina utilizada (0,5 % de concentração final) teve como referência o trabalho desenvolvido por Martelli e colaboradores [28], no qual a adição resultou em melhoras significativas nas propriedades mecânicas de filmes processados a partir de polpas de banana. Os valores comparativos com demais filmes M15 estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7 - Propriedades mecânicas de filmes com nanoestruturas e pectina. Espessura, deformação máxima (ϵ_{\max}) e tensão máxima (σ_{\max}) de filmes com nanopartículas de quitosana, nanofibras de celulose e pectina. No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Filmes*	Espessura (mm)	Deformação máxima: ϵ_{\max} (%)	Tensão máxima: σ_{\max} (MPa)
M15_ch0,2_gli	0,05 ± 0,005 ^c	7,38 ± 4,37 ^a	5,93 ± 0,76 ^a
M15_pec0,5_gli	0,082 ± 0,0005 ^b	10,97 ± 2,01 ^b	5,15 ± 0,85 ^b
M15_gli	0,05 ± 0,01 ^{b, c}	10,07 ± 1,02 ^b	1,18 ± 0,31 ^b
M15_nf0,2	0,07 ± 0,005 ^{b, c}	9,33 ± 0,722 ^b	7,30 ± 2,27 ^b
M15_ch0,2	0,19 ± 0,012 ^a	5,59 ± 4,28 ^{b, c}	3,70 ± 2,28 ^b
M15_pec0,5	0,06 ± 0,007 ^{b, c}	1,47 ± 0,740 ^c	14,14 ± 3,15 ^a

*Identificação adotada conforme formulações apresentadas na Tabela 2.

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Pode-se observar que a pectina (M15_pec0,5) tem efeito significativo na redução da deformação máxima dos filmes (alongação) na ordem de 6,3 e 3,8 vezes em relação à amostra com nanofibras (M15_nf0,2) e à com adição de quitosana (M15_ch0,2), respectivamente. Seu maior efeito, contudo, foi em estabilizar a estrutura quanto a tensão de deformação, elevando significativamente os valores de tensão de ruptura, que podem ser visualmente comparados pela distribuição apresentada na Figura 17.

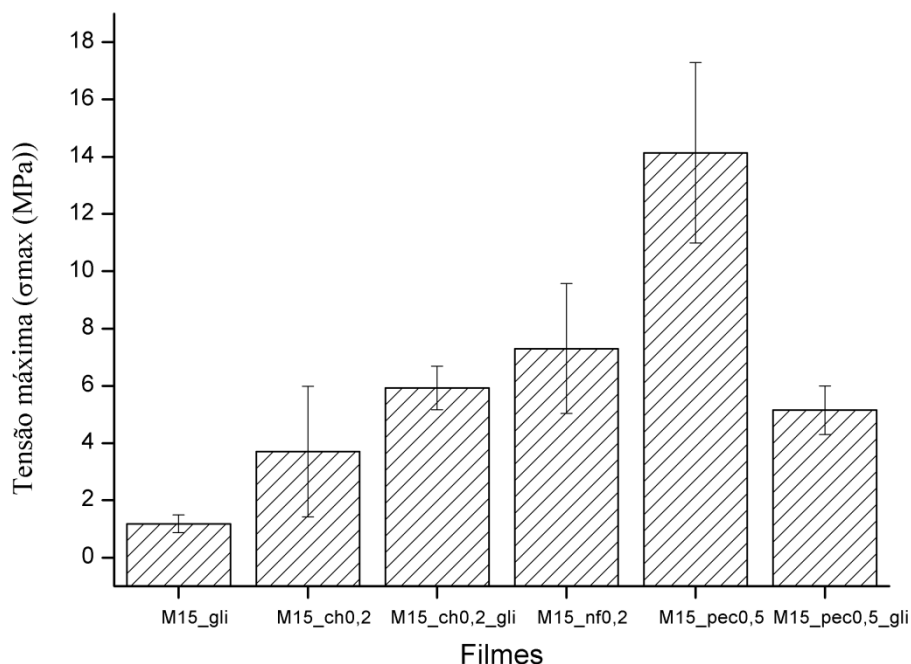


Figura 17 – Tensão máxima na ruptura para filmes com quitosana, nanofibras e pectina. Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Os dados da Tabela 7 e a Figura 17 permitem concluir que o glicerol tem efeito plastificante otimizado quando associado à pectina, promovendo grande elasticidade, ou seja, ϵ_{\max} de $1,47 \pm 0,74$ % para o filme com pectina para $10,97 \pm 2,01$ % para o mesmo filme com adição de 5 % de glicerol, correspondendo a um aumento da ordem de 7,5 vezes na deformação até que ocorra a ruptura.

4.4 Propriedades Térmicas

4.4.1 Termogravimetria

Diversas características físicas dos polímeros, entre elas as propriedades térmicas, são determinadas pela interação entre os compostos e mobilidade de suas cadeias. Especialmente para o emprego como embalagens, as

características térmicas são relevantes considerando que usualmente são produzidos em larga escala e em temperaturas elevadas [33].

As curvas termogravimétricas obtidas para os filmes estão dispostas na Figura 18, evidenciando diferenças nas perdas de massa com a elevação da temperatura. A curva correspondente à quitosana pura também está apresentada como referência para comparação.

A quitosana apresenta degradação térmica distinta dos filmes à base de polpa com dois estágios térmicos definidos, indicando uma maior estabilidade térmica de sua matriz, com massa residual de 34 % em 600 °C.

Todos os filmes de polpa apresentaram perfis de degradação similares com rápida perda de massa acusando massa residual de 3,5 % na temperatura de 530 °C. Valores ligeiramente superiores (massa residual de 5,2 % em 635 °C) foram obtidos para as formulações com 0,2 % de nanopartículas (M15_ch0,2 e M15_ch0,2_gli), indicando efeito estabilizante da quitosana na matriz. O filme com nanofibras (M15_nf0,2) apresentou uma ligeira redução nas temperaturas correspondentes aos primeiros estágios de decomposição, indicando uma menor estabilidade dessas estruturas. Uma possível causa para este efeito pode ser o caráter iônico das fibras. As fibras de celulose normalmente são negativamente carregadas (aniônicas) [93], enquanto a quitosana é um polissacarídeo essencialmente catiônico (cargas positivas). Como na polpa predominam estruturas celulósicas, a interação com a quitosana será mais intensa em função das interações entre cargas opostas, o que é minimizado na adição das fibras e reflete na estabilidade térmica.

De maneira geral, para os filmes à base de polpa, o primeiro estágio de decomposição ocorre em temperaturas inferiores a 100 °C, sendo atribuído à

evaporação da água fracamente adsorvida na matriz, principalmente de água residual ligada aos grupos hidroxilas e terminações polares das estruturas celulósicas.

O segundo estágio de decomposição tem início em temperaturas próximas a 150 °C e correspondem a degradação de proteínas, amido, frutose, glicose e sacarose presentes na polpa (Figura 18). Um terceiro estágio é identificado entre 300 e 450 °C e está relacionado à decomposição das cadeias poliméricas e à degradação de componentes orgânicos como a lignina, hemicelulose e celulose. A partir deste estágio, têm-se as reações pirolíticas, com a formação de grafite, dióxido de carbono e demais compostos voláteis.

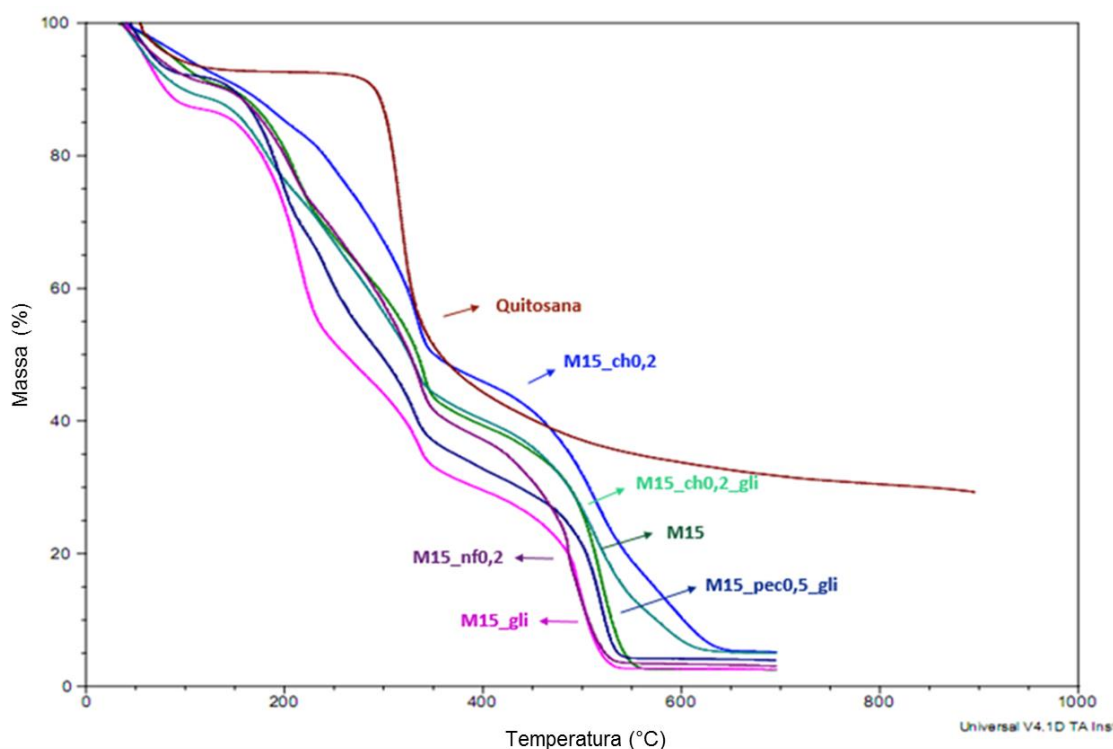


Figura 18 – Curvas de TG de todos os filmes avaliados e da quitosana pura (em pó). Todos os filmes continham 15 % (d.b.) de purê de mamão em suas formulações. Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana), gli (glicerol), pec (pectina), nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Embora a adição de pectina tenha efeito positivo sobre as propriedades mecânicas, não foram observadas alterações significativas com relação à influência sobre as propriedades térmicas.

Na Figura 19, destaca-se, para efeito de comparação, os termogramas referentes ao filme sem (M15) e com adições de nanopartículas de quitosana (M15_ch0,1 e M15_ch0,2). Nota-se, como anteriormente comentado, que a adição de 0,2 % de nanopartículas de quitosana desloca os eventos térmicos para maiores temperaturas, o que sugere uma pequena melhora na estabilidade térmica dos filmes se comparada ao controle, composto somente de polpa e água (M15). Diversos estudos têm caracterizado o comportamento térmico da quitosana e de sua inserção na formação de blendas, concluindo que esta difere dos demais polissacarídeos pela presença dos grupos amino e hidroxilas em sua estrutura [94]. Essa configuração favorece o estabelecimento de ligações cruzadas intercadeias, como por exemplo as ligações de hidrogênio, que levam à formação de filmes com uma maior cristalinidade estrutural, com predominância de células no formato ortorrômbico [95]. Este formato é relativamente estável e interfere positivamente na redução das degradações térmicas [96].

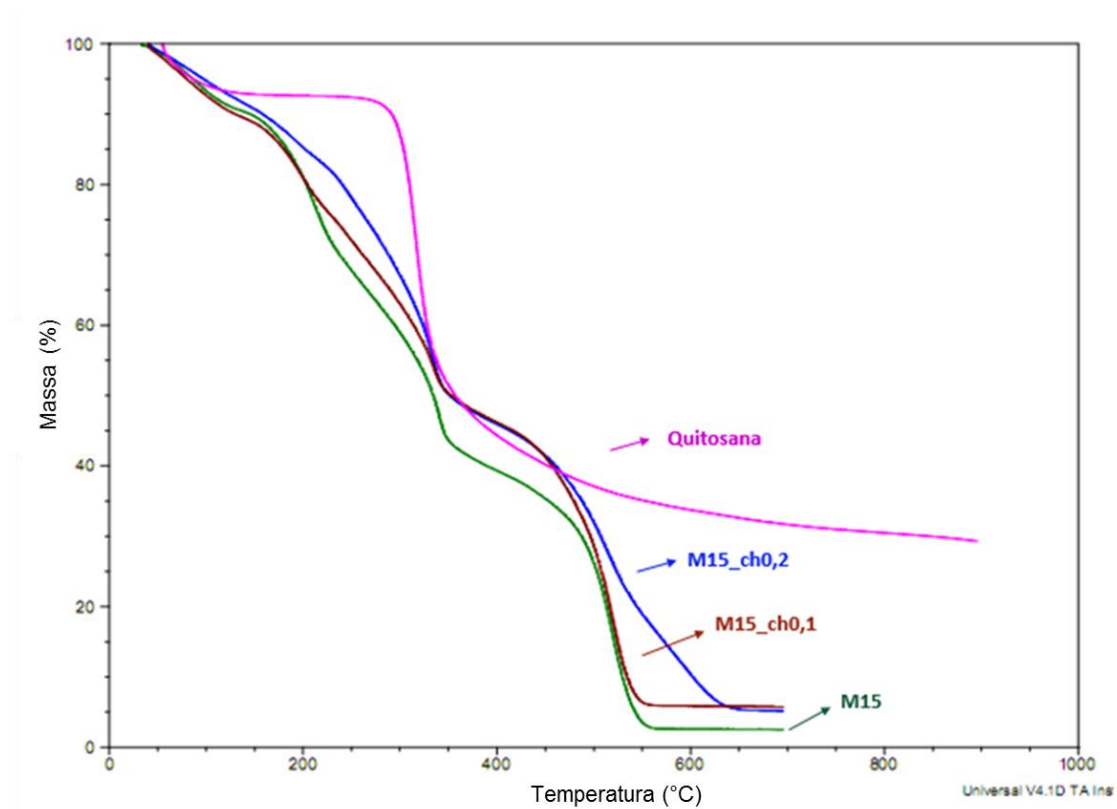


Figura 19 – Curvas de TG de filmes com adições de quitosana (ch) e da quitosana pura (em pó). Todos os filmes continham 15 % (d.b.) de purê de mamão em suas formulações. Duas concentrações de quitosana (ch) foram avaliadas: 0,1 e 0,2 %. Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca) e ch (nanopartículas de quitosana) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Em relação à adição simultânea de quitosana e glicerol (M15_ch0,2_gli), houve uma ligeira redução da estabilidade com a adição do plastificante, embora não significativa (Figura 20). A adição de glicerol reduz as interações intercadeias enfraquecendo a coesão estrutural, o que reflete em uma redução nas temperaturas de degradação. Adicionalmente, em blends com a presença de glicerol e quitosana, ocorre uma competição entre as moléculas para se ligarem aos sítios hidroxilas da matriz, gerando desestabilizações pontuais, principalmente quando as adições de quitosana e glicerol são realizadas em maiores proporções, conforme observado e caracterizado em sistemas poliméricos similares [97] .

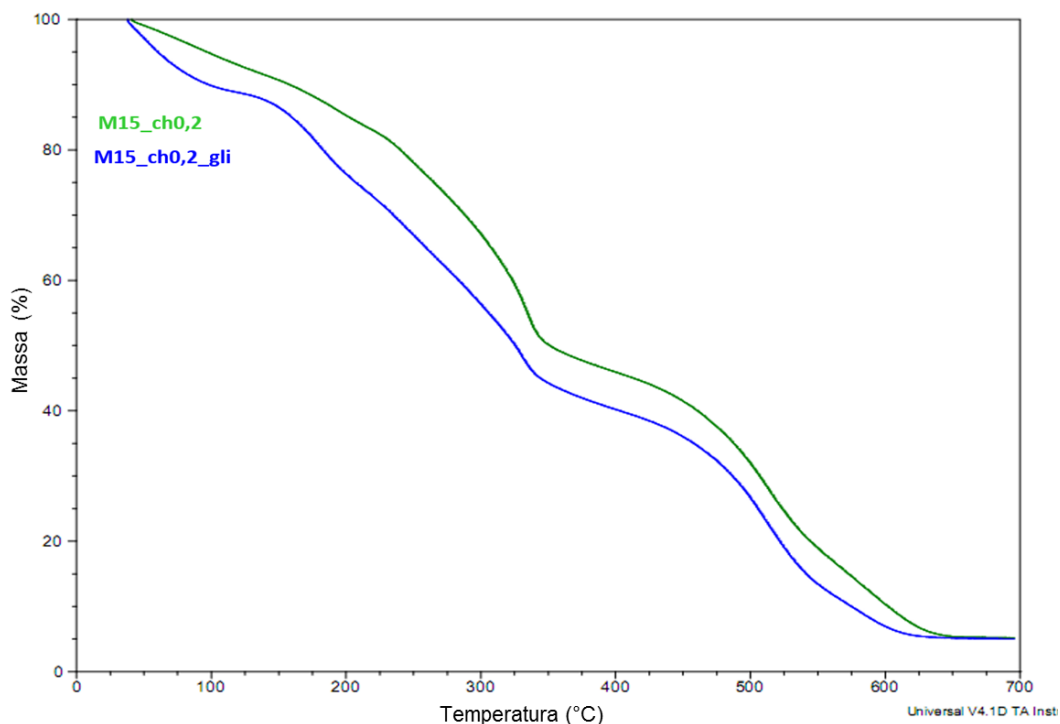


Figura 20 – Curvas de TG filmes com 15 % (d.b.) de purê de mamão em suas formulações. Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana) e gli (glicerol) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

4.4.2 Calorimetria Diferencial de Varredura

Nas análises complementares conduzidas por DSC (Figura 21) foram observados picos endotérmicos correspondentes aos principais eventos para as diversas formulações.

As curvas confirmam um padrão de degradação similar com a predominância de dois estágios distintos, o primeiro em baixas temperaturas correspondente à transição vítrea (T_g), que são melhores observados para as formulações com adições de nanoestruturas e pectina. O segundo evento com pico endotérmico mais intenso (T_p) é referente à liberação de água adsorvida na amostra, em concordância com as análises realizadas por TG. A Tabela 8 apresenta os valores numéricos correspondentes.

Para alguns filmes é possível a identificação de um terceiro evento entre 150 e 200 °C, correspondente ao início da degradação de açúcares como frutose, glucose e sucrose [28]. As temperaturas de fusão das estruturas celulósicas presentes na polpa, bem como da quitosana, estão acima do intervalo ensaiado. Tais temperaturas estão em torno de 200 °C [98], para a quitosana, e de 230 a 400 °C, no caso de filmes de polpas de frutas [28].

De maneira geral, a inserção de nanoestruturas e de pectina exerce pouca influência no tipo de degradação que ocorre nos filmes, embora essas adições atuem mais significativamente no deslocamento das temperaturas de transição vítrea.

Cabe observar que no filme com glicerol (M15_gli), houve a necessidade de maiores temperaturas para uma completa eliminação da água adsorvida (cerca de 20 °C superior ao filme sem plastificante M15), além de promover um abaixamento da T_g .

A necessidade de maiores temperaturas para a evaporação total da água retida nos filmes com glicerol está relacionada ao aumento do número de grupos hidroxilas disponíveis para interação, o que gera atrações mais fortes das moléculas polares e, também, retenção de um maior volume de água na matriz [96].

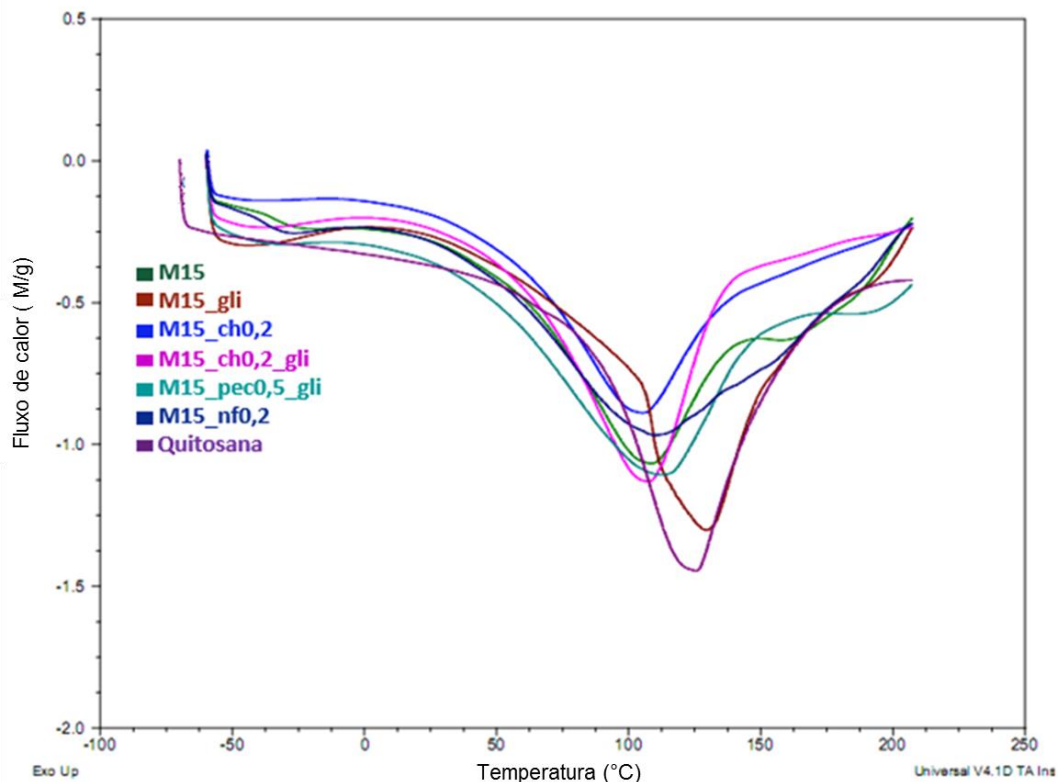


Figura 21 – Termogramas de DSC. Amostras de quitosana pura (em pó) e de filmes biodegradáveis com 15 % (d.b.) de purê de mamão com adições de quitosana (ch), pectina (pec), nanofibras de celulose (nf) e glicerol (gli). Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca) e ch (nanopartículas de quitosana) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Tabela 8 – Temperatura dos principais eventos endotérmicos. Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca) e ch (nanopartículas de quitosana) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Amostra	Tg (°C)	Tp (°C)*
M15	- 31	111
M15_gli	- 48	130
M15_ch0,2	-	104
M15_ch_0,2_gli	- 44	108
M15_pec0,5_gli	- 45	113
M15_nf0,2	- 32	110
Quitosana	-	128

*Pico endotérmico principal correspondente a dessorção de água.

4.5 Permeabilidade ao Vapor de Água

Além das propriedades mecânicas, as propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes biopoliméricos são fatores relevantes que devem ser levados

em consideração para diversas aplicações na indústria de embalagens e alimentos e que estão estritamente relacionadas às composições dos filmes.

4.5.1 Filmes com reforçadores

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes compostos de 15 % de polpa (d.b.) e reforçadores foi determinada e os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Não houve diferenças estatisticamente significativas nos valores de WVP nos filmes para ambas as concentrações de nanopartículas de quitosana avaliadas, mesmo com a presença do plastificante glicerol. Entretanto, nota-se uma tendência de redução desses valores com a presença de nanopartículas, o que é um efeito esperado.

Os filmes compostos apenas de polpa (M15) apresentaram permeabilidade ao vapor de água de 3,5 g mm/m²h kPa. Este valor é inferior ao registrado para filmes sintetizados a partir de purês de frutas como maçã (5,8 g mm/m²h kPa), pera (7,8 g mm/m²h kPa) [29] e manga (8,9 g mm/m²h kPa) [31], conforme previamente apresentados na Tabela 1. A permeabilidade medida nos filmes de mamão (M15) foi próxima à encontrada em filmes de banana (3,95 g mm/m²h kPa) [28].

Embora o valor de WVP medido para os filmes à base de polpa de mamão seja inferior ao de outros filmes biodegradáveis processados a partir de purê de frutas, este ainda apresenta uma permeabilidade relativamente alta se comparada, por exemplo, a filmes de polissacarídeos como o hidroximetilpropilcelulose (HPMC), da ordem de 0,8 g mm/m²h kPa [50].

Devido à estrutura altamente fibrosa e complexa da polpa de mamão, a adição de plastificante, na concentração aqui avaliada, não interferiu negativamente nas propriedades de barreira.

A Tabela 9 apresenta os dados de WVP obtidos para os filmes com adição de nanofibras de celulose (M15_nf0,2) em comparação com os reforçados com quitosana (M15_ch0,2) e pectina (M15_pec0,5). Os dados indicam que, comparativamente, os filmes processados somente com polpa (M15) com relação à adição de nanofibras de celulose (M15_nf0,2) resultaram em uma redução da permeação em 60,6 % variando de 3,50 g mm/m²h kPa ± 0,52 para 1,38 g mm/m²h kPa ± 0,08, com a adição das fibras. Já em comparação com a presença de pectina, a redução na permeabilidade foi de 77,72 %, diminuindo de 3,50 g mm/m²h kPa ± 0,52 (M15) para 0,78 g mm/m²h kPa ± 0,019 (M15_pec0,5). No filme com pectina e glicerol (M15_pec0,5_gli), os resultados indicam uma pequena elevação do valor da permeação (1,50 ± 0,11 g mm/m²h kPa), provavelmente por uma maior interação entre estes dois compostos que facilitam a transição de umidade através da matriz [19].

Comparando o efeito dos reforçadores pectina e quitosana, ambos com glicerol, a pectina mostrou-se mais eficiente na redução da permeabilidade. O filme M15_pec0,5_gli apresenta valores de WVP de 1,50 ± 0,11 g mm/m²h kPa e o com quitosana (M15_ch0,2_gli) de 3,01 ± 0,11 g mm/m²h kPa, ou seja, uma redução de aproximadamente 50 % na presença de pectina.

Outra comparação pertinente é a dos filmes com diferentes concentrações de polpa em sua composição: 15 e 25 % (d.b.), ambos com pectina e glicerol. A pectina mostrou-se menos efetiva em reduzir as taxas de permeabilidade quando há maior concentração de polpa. Diversos fatores podem atuar para este

resultado, como a maior presença de açúcares em uma maior quantidade de polpa e, também, a redução entre a proporção de pectina e polpa que leva a uma maior dispersão, minimizando sua interação com a matriz.

Desta maneira, filmes com maior concentração de polpa, ainda que com pectina (M25_pec0,5_gli), apresentaram taxas de permeabilidade similares às dos filmes com menores concentrações de polpa e glicerol (M15_gli), $3,30 \pm 0,53$ e $3,48 \pm 0,39$, respectivamente. Este resultado sugere que filmes com maiores concentrações de polpa necessitam de uma maior concentração de pectina para que o efeito na permeabilidade seja notável.

Tabela 9 – Propriedades de barreira de filmes com nanoestruturas e pectina.

Espessura e permeabilidade ao vapor de água (WVP). No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Filmes*	Espessura (mm)	WVP (g mm/m ² h kPa)
M15	$0,15 \pm 0,02^a$	$3,50 \pm 0,52^a$
M15_gli	$0,16 \pm 0,01^a$	$3,48 \pm 0,39^a$
M15_ch0,1	$0,17 \pm 0,00^a$	$2,51 \pm 0,17^a$
M15_ch0,2	$0,15 \pm 0,01^a$	$2,63 \pm 0,67^a$
M15_ch0,2_gli	$0,16 \pm 0,00^b$	$3,01 \pm 0,25^{a,b}$
M15_nf0,2	$0,08 \pm 0,00^b$	$1,38 \pm 0,08^b$
M15_pec0,5	$0,05 \pm 0,02^d$	$0,78 \pm 0,02^c$
M15_pec0,5_gli	$0,11 \pm 0,04^c$	$1,50 \pm 0,11^c$
M25_pec0,5_gli	$0,18 \pm 0,01^a$	$3,30 \pm 0,53^{a,b}$

*Identificação adotada conforme formulações apresentadas na Tabela 2.

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Na Figura 22, compara-se o efeito dos reforçadores avaliados (quitosana, nanofibras de celulose e pectina) nas taxas de permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes à base de polpa de mamão, evidenciando a maior eficiência da pectina em reduzi-las.

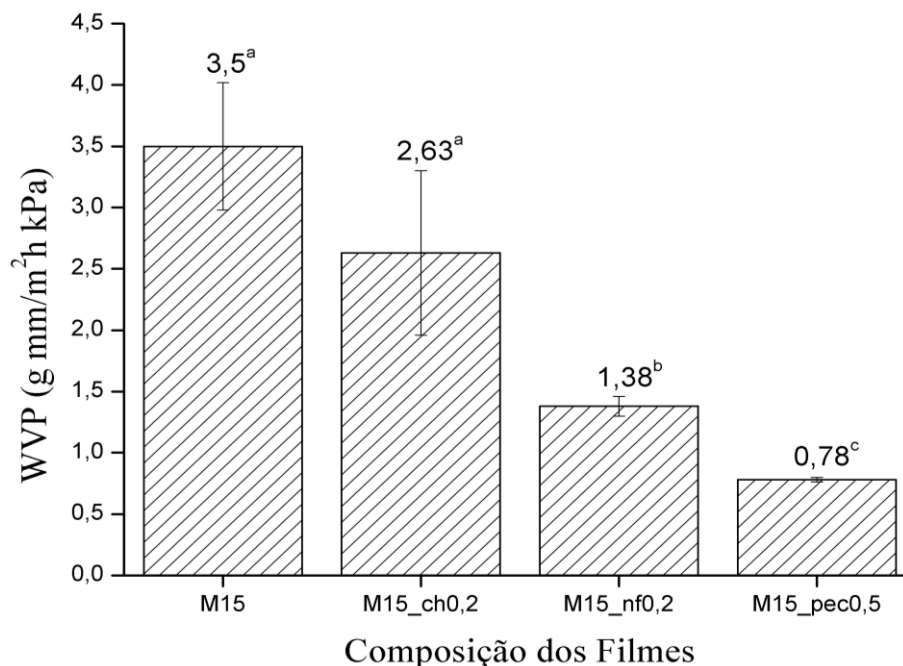


Figura 22 – Comparação das taxas de permeabilidade ao vapor de água (WVP). Todos os filmes foram compostos por 15 % de polpa (d.b.). Letras diferentes indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$). No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

4.6 Propriedades Colorimétricas

As propriedades colorimétricas dos filmes foram avaliadas ao longo do período de armazenamento e os resultados dispostos na Tabela 10.

Avaliando os parâmetros de luminosidade L_0^* e L^* , referentes aos dias de processamento e após 60 dias, respectivamente, os quais variam de zero (preto) a 100 (branco), nota-se a diminuição desses (decaimento do parâmetro L^*), sugerindo o escurecimento superficial das amostras.

Em relação aos parâmetros de cromaticidade a^* e b^* , os quais expressam o grau de variação entre o verde (-a) e o vermelho (+a) e entre o azul (-b) e o amarelo (+b), nota-se um aumento para ambos, indicando que com o tempo os filmes tendem a colorações mais intensas, com tonalidades mais avermelhadas e amareladas, decorrentes de processos degradativos (oxidação ou ação enzimática) que intensificam a cor alaranjada característica da polpa do mamão papaia [99].

A intensidade dessas variações, contudo, varia de filme para filme, o que pode ser depreendido pelo parâmetro ΔE (variação total de cor). Os filmes com adições de glicerol apresentaram variações mais intensas (maiores valores de ΔE) do que os obtidos para filmes com as mesmas composições sem glicerol. Por exemplo, os filmes M15_ch0,2 e M15_ch0,2_gli tiveram valores de ΔE de $10,16 \pm 4,46$ e $31,65 \pm 2,90$, respectivamente.

De maneira similar, o cálculo do IE (índice de escurecimento), indica, como esperado, que todos os filmes se tornaram preponderantemente mais escuros com o passar do tempo. Tais alterações de coloração são devido às reações químicas como as que ocorrem entre um aminoácido ou proteína com um carboidrato reduzido, nas quais o grupo carbonila do carboidrato interage com o grupo amino do aminoácido, gerando melanoidinas que conduzem ao escurecimento dos filmes [83].

Tabela 10 – Análise Colorimétrica de filmes biopoliméricos de mamão compostos por 15 % de polpa (d.b.) com adições de glicerol (gli); quitosana (ch); pectina (pec) e nanofibras de celulose (nf). Na tabela estão valores de Luminosidade iniciais (L_0^*) e finais (L^*), parâmetros de cromaticidade a^* e b^* iniciais (a_0^* e b_0^*) e finais (a^* e b^*), Alteração de cor (ΔE) e Índice de Escurecimento (IE). O período final corresponde a 60 dias de armazenamento à temperatura ambiente.

Filme	L_0^*	L^*	a_0^*	a^*	b_0^*	b^*	ΔE	IE
M15_ch0,2_gli	87,00± 0,83	61,50± 2,05	0,02± 0,47	12,99± 2,24	48,76± 3,23	35,25± 0,82	31,65± 2,90 ^a	95,92± 4,28 ^b
M15_nf0,2	92,78± 0,21	83,74± 1,74	-1,42± 0,03	3,84± 1,59	26,94± 0,89	50,13± 4,99	25,45± 5,43 ^{a,b}	89,11± 16,96 ^b
M15_pec0,5_gli	78,35± 1,08	81,65± 0,50	5,16± 0,28	5,16± 0,59	35,82± 0,08	54,13± 1,97	18,63± 1,83 ^{b,c}	103,93± 7,03 ^{a,b}
M15_ch0,2	86,21± 0,36	79,76± 1,94	1,11± 0,63	5,79± 2,31	54,76± 1,52	60,97± 3,51	10,16± 4,46 ^{c,d,e}	131,00± 20,02 ^a
M15	88,53± 0,69	86,48± 0,18	1,49± 0,50	1,86± 0,08	44,44± 2,43	46,53± 0,85	2,98± 0,69 ^e	74,33± 2,12 ^{b,c}
M15_gli	70,71± 0,94	79,79± 1,47	2,56± 0,21	3,21± 0,72	36,13± 0,79	34,81± 1,23	9,26± 1,59 ^{d,e}	57,99± 4,58 ^c
M15_ch0,1	86,96± 0,53	84,38± 0,92	2,69± 0,48	2,48± 0,74	47,05± 1,61	53,85± 2,82	7,32± 2,90 ^{d,e}	95,73± 9,52 ^b
M15_ch0,1_gli	80,34± 0,82	70,30± 1,25	0,19± 0,35	7,93± 0,94	34,28± 2,04	36,33± 0,08	12,77± 1,56 ^{c,d}	77,60± 2,95 ^{b,c}
M15_pec0,5	86,83± 0,73	90,32± 0,35	-0,74± 0,29	-1,58± 0,08	32,51± 1,13	37,41± 1,41	6,14± 0,89 ^{d,e}	49,77± 2,77 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Na Figura 23 estão dispostos comparativamente os valores de Alteração Total de cor (ΔE) e do Índice de Escurecimento (IE) calculados para os filmes da série M15. Tem-se que as maiores alterações de cor ocorrem na superfície do filme processado com adições de nanopartículas de quitosana e glicerol (M15_ch0,2_gli) e na do processado com adições de nanofibras (M15_nf0,2), indicando que ambos os reforços, embora tenham demonstrado efeitos positivos nas demais propriedades, atuam negativamente em acelerar as alterações de cores na polpa.

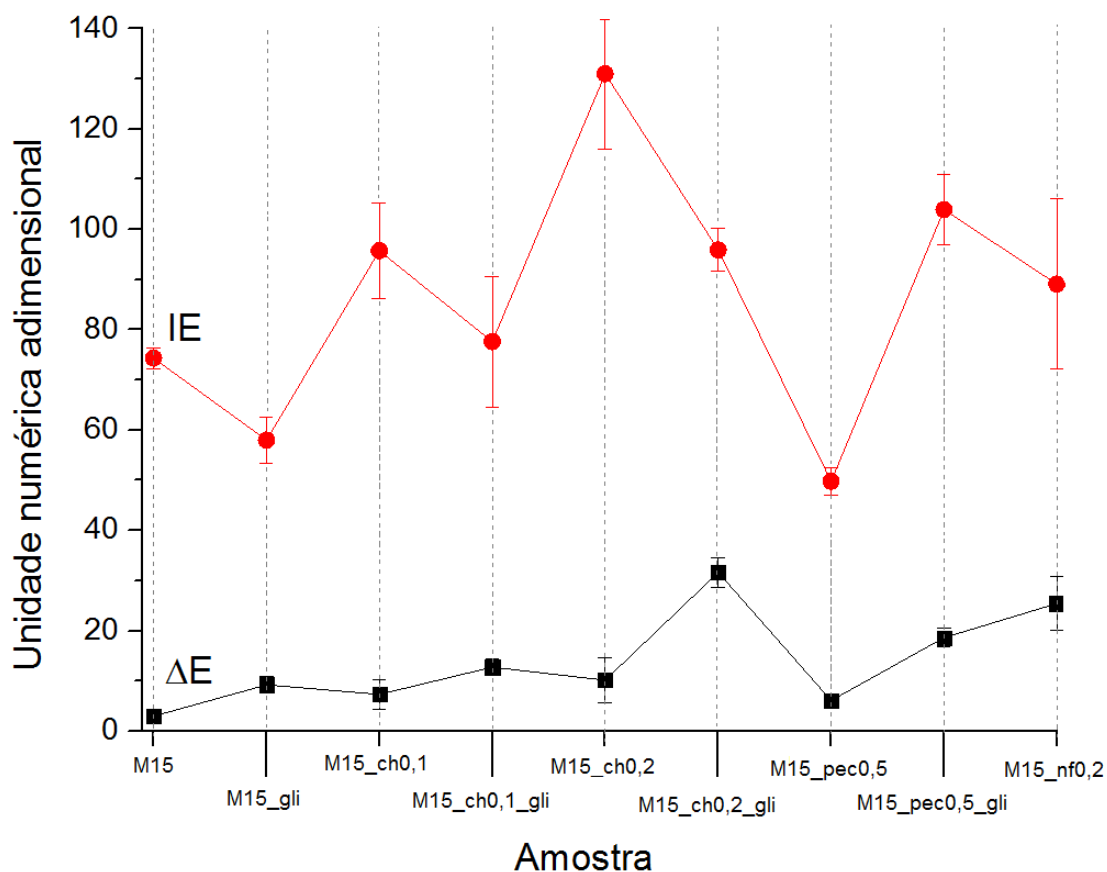


Figura 23 – Variação da coloração total (ΔE) e dos Índices de Escurecimento (IE). Os parâmetros foram calculados sobre as superfícies dos filmes da série M15 com e sem adições de reforços após 60 dias da síntese. No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

A amostra M15_ch0,2 teve o maior Índice de Escurecimento (IE), indicando que a presença da quitosana na matriz da polpa favoreceu o escurecimento, provavelmente por sua alta afinidade com os grupos funcionais presentes na estrutura celulósica predominante na polpa do mamão.

As menores variações colorimétricas na variação total (ΔE) ou no escurecimento (IE) foram registradas nas amostras com a adição de 0,5 % de pectina (M15_pec0,5), a qual atuou positivamente na preservação das características iniciais. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Martelli e colaboradores [83] na análise das variações colorimétricas de filmes processados a partir de polpa de bananas, nos quais a presença da mesma concentração de pectina garantiu uma boa estabilidade das cores originais.

4.7 Atividade antimicrobiana

A análise microbiológica teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana da inserção da quitosana como um agente antibacteriano natural. Nos ensaios realizados em meio de cultura sólido, nenhum efeito antimicrobiano detectável das nanopartículas de quitosana em meio a matriz foi observado (Figura 24).

Apesar da atividade antimicrobiana da quitosana ser amplamente descrita na literatura, os mecanismos exatos pelos quais ocorre ainda não estão plenamente elucidados. Três hipóteses têm sido apresentadas, as quais atribuem esta atividade à interação da quitosana com: i) sítios eletricamente carregados das lipoproteínas presentes na parede celular dos microrganismos;

ii) interação e inativação do DNA microbiano e iii) complexação de metais e nutrientes essenciais ao crescimento microbiano [73].

Segundo a primeira hipótese, a mais aceita delas, a atividade antimicrobiana se dá por interações mediadas por forças eletrostáticas entre os grupos protonados da quitosana e resíduos negativamente carregados presentes na superfície do microrganismo. Tais interações promoveriam trocas iônicas que geram fragmentações estruturais da membrana, modificando a permeabilidade da parede celular, o que resulta em um desequilíbrio osmótico com consequente perda de fluidos intercelulares. Este desequilíbrio pode inibir o crescimento ou mesmo levar a morte do microrganismo.

Na segunda hipótese, a quitosana penetraria através da membrana celular ligando-se ao DNA do microrganismo, impossibilitando a síntese de RNAm e, conseqüentemente, a produção de proteínas essenciais para sua sobrevivência. A terceira hipótese atribui a atividade antimicrobiana à deposição por atração eletrostática da quitosana sobre o microrganismo, formando uma camada ao seu redor. Essa camada reduziria a penetração, seja pela redução da permeabilidade ou por reações de complexação, através de quelação de metais e de nutrientes essenciais à sobrevivência do microorganismo [73].

Todos esses mecanismos ocorrem por interações superficiais, o que requer que moléculas de quitosana e do microrganismo entrem em contato direto.

No caso de nanopartículas adicionadas como reforço, a ausência da atividade antimicrobiana da quitosana como aditivo em filmes era, de certa forma, esperada, considerando que as nanopartículas encontram-se distribuídas no interior da matriz e fortemente ligadas às estruturas celulósicas internas do

filme. Assim, sua disponibilidade para interações na superfície é esperada ser de baixa intensidade. Deve-se levar em consideração também que as adições de quitosana foram em baixas quantidades (0,1 e 0,2 %), não suficientes para que qualquer atividade fosse detectada.

A escolha da bactéria *Staphylococcus aureus* como teste se deu em função de estudos prévios realizados na Embrapa [100, 101], nos quais constatou-se maior sensibilidade das bactérias Gram-positivas na presença de quitosana. Ou seja, se não existe atividade contra *S. aureus*, muito provavelmente não há a possibilidade de atividade com demais bactérias, sejam Gram-positivas ou Gram-negativas. Como esta atividade não foi observada, não houve a necessidade de conduzir novos experimentos com outras espécies.

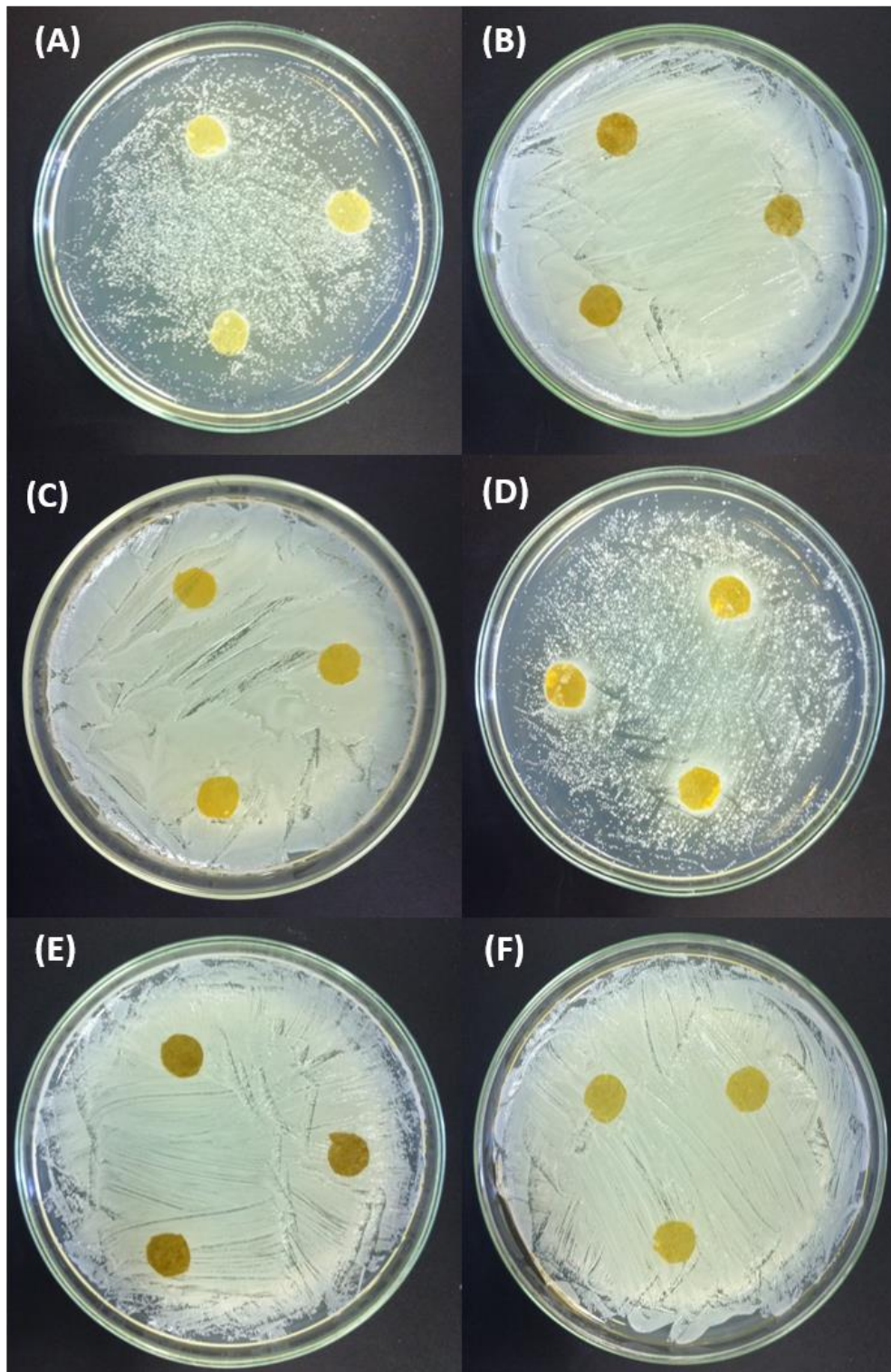


Figura 24 – Ação antimicrobiana (contra *Staphylococcus aureus*) da quitosana. Todos os filmes possuem 20 % (d.b) de purê de mamão. (A) Controle polpa e água; (B) Polpa e solução de nanopartículas de quitosana 0,2 %; (C) Polpa e solução de nanopartículas de quitosana 0,1 %; (D) Polpa, solução de nanopartículas de quitosana 0,2 % e glicerol 5 %; (E) Polpa, solução de nanopartículas de quitosana 0,1 % e glicerol 5 %; (F) Polpa, solução de nanopartículas de quitosana 0,2 %, pectina 0,5 % e glicerol 5 %.

5 Conclusões

Com base nos resultados apresentados podemos assinalar as seguintes conclusões:

- Polpas de mamão, do grupo papaia (*Carica papaya*), na condição sobremadura, mostrou ser uma matéria-prima adequada ao processamento de filmes comestíveis biodegradáveis, fazendo uso da máquina Mathis no modo batelada;
- A adição de nanopartículas de quitosana e nanofibras de celulose como reforços estruturais é viável e atua positivamente nas propriedades mecânicas, elevando os valores da tensão máxima de ruptura, caracterizando uma maior resistência ao rompimento dos filmes;
- O uso de glicerol como plastificante pode auxiliar no aumento da elongação, mas sua interação com os demais componentes não deixa evidente os benefícios de sua adição, principalmente sobre as propriedades de barreira e colorimétricas.
- A adição dos nanoreforçadores alteram as propriedades térmicas dos filmes processados, principalmente elevando ligeiramente a estabilidade em função do efeito estabilizador das partículas de quitosana na matriz de polpa. O glicerol interfere no volume de água adsorvida e na redução da temperatura de transição vítrea;
- A adição dessas nanoestruturas tem pouca influência nos valores de permeação ao vapor de água, embora tenham ação negativa em relação à preservação das cores originais dos filmes processados;
- Os ensaios realizados nos filmes com a presença de pectina indicaram que este polissacarídeo tem papel fundamental nas diversas propriedades físico-

químicas analisadas, indicando que este é um composto essencial na formação e estabilidade filmogênica dos filmes à base de polpa;

- A adição de nanopartículas de quitosana distribuídas internamente na matriz biopolimérica não resultou em ação antimicrobiana contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, o que foi interpretado como resultado da baixa concentração adicionada.

Referências Bibliográficas

1. Abiplast, *Indústria Brasileira de Transformação de Material Plástico. Perfil 2014*. 2014. p. 37.
2. Almeida, A.C.S.; Franco, E.A.N.; Peixoto, F.M.; Pessanha, K.L.F., *Application of nanotechnology in food packaging*. *Polímeros*, 2015. **25**(SPE): p. 89-97.
3. AZEREDO, H.d., *Fundamentos de estabilidade de alimentos*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004.
4. Soares, N.d.F.F.; Silva, W.A.; Pires, A.C.d.S.; Camilloto, G.P.; Silva, P.S., *Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos*. *Ceres*, 2015. **56**(4).
5. Dantas, E.A.; Costa, S.S.; Cruz, L.S.; Bramont, W.B.; Costa, A.S.; Padilha, F.F.; Druzian, J.I.; Machado, A.S., *Characterization and evaluation of the antioxidant properties of biodegradable films incorporated with tropical fruit pulps*. *Ciência Rural*, 2015. **45**(1): p. 142-148.
6. Maciel, V.B.; Franco, T.T.; Yoshida, C.M., *Sistemas Inteligentes de Embalagens Utilizando Filmes de Quitosana como Indicador Colorimétrico de Temperatura*. *Polímeros*, 2012. **22**(4): p. 318-324.
7. Sozer, N.; Kokini, J.L.; *Nanotechnology and its applications in the food sector*. *Trends in biotechnology*, 2009. **27**(2): p. 82-89.
8. Plastic, V., *The Business Case for Measuring, Managing and Disclosing Plastic Use in the Consumer Goods Industry*. 2014, UNEP.
9. Assis, O.B.G.; de Britto, D., *Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações/Review: edible protective coatings for fruits: fundamentals and applications*. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2014. **17**(2): p. 87.
10. Embuscado, M.E; Huber, K.C., *Edible films and coatings for food applications*. 2009: Springer.
11. NatureSeal. *Fresh-Cut Formulas*. 2016; Available from: <http://www.natureseal.com/processors/fresh-cut-formulas.aspx>.
12. Yu, L., *Biodegradable polymer blends and composites from renewable resources*. 2009: John Wiley & Sons.
13. Franchetti, S.M.M; Marconato, J.C, *Polímeros biodegradáveis-uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos*. *Química Nova*, 2006. **29**(4): p. 811.
14. Zepeda, V. *Uma solução para substituir o plástico das embalagens de frutas*. 2010 [cited 2016 08/02]; Available from: http://midiaemeioambiente.blogspot.com.br/2010_07_01_archive.html.
15. Silveira, E.d., *Filme sensível avisa ao consumidor deterioração dos alimentos*. *Pesquisa Fapesp*, 2011. **183**: p. 72-75.
16. Platt, D.K., *Biodegradable polymers: market report*. 2006: iSmithers Rapra Publishing.
17. Eyre, C., *Growth in EU bioplastics market defies recession*. 2010 [cited 2014 03/18]; Available from: <http://www.europeanplasticsnews.com/subscriber/newscat2.html?cat=1&channel=620&id=1265706653>.
18. PRW. *PRW in Bioplastics production to rise by 400% by 2018*. 2014 [cited 2014 03/18]; Available from:

- <http://www.europeanplasticsnews.com/subscriber/newscat2.html?cat=1&channel=620&id=5314>.
19. Lopes, M.S.G., *Produção de plásticos biodegradáveis utilizando hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar*. 2010, Instituto Butantan.
 20. Nonato, R.; Mantelatto, P.; Rossell, C., *Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001. **57**(1-2): p. 1-5.
 21. Corradini, E.; Agnelli, J.A.M.; Morais, L.C.d.; Mattoso, L.H.C., *Estudo das propriedades de compósitos biodegradáveis de amido/glúten de milho/glicerol reforçados com fibras de sisal*. Polímeros: Ciência e Tecnologia, 2008. **18**(4): p. 353-358.
 22. Assis, O.B.; Scramin, J.A.; Correa, T.A.; de Britto, D.; Forato, L.A., *A comparative evaluation of integrity and colour preservation of sliced apples protected by chitosan and zein edible coatings*. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 2012. **13**(1): p. 76-85.
 23. Pellicano, M.; Pachekoski, W.; Agnelli, J.A., *Influência da adição de amido de mandioca na biodegradação da blenda polimérica PHBV/Ecoflex®*. Polímeros, 2009. **19**(3): p. 212-217.
 24. Azeredo, H.MC.; Mattoso, L.H.C.; Wood, D.; Williams, T.G.; Avena-Bustillos, R.J.; McHugh, T.H., *Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers*. Journal of food science, 2009. **74**(5): p. N31-N35.
 25. Srinivasa, P.; Ramesh, M.; Tharanathan, R., *Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films*. Food hydrocolloids, 2007. **21**(7): p. 1113-1122.
 26. Falcone, D.M.; Agnelli, J.A.M.; de Faria, L.I., *Panorama setorial e perspectivas na área de polímeros biodegradáveis*. Polímeros Ciência e Tecnologia, 2007. **17**(1): p. 5.
 27. Sothornvit, R.; Pitak, N., *Oxygen permeability and mechanical properties of banana films*. Food Research International, 2007. **40**(3): p. 365-370.
 28. Martelli, M.R.; Barros, T.T.; de Moura, M.R.; Mattoso, L.H.C.; Assis, O.B.G., *Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films*. Journal of food science, 2013. **78**(1): p. N98-N104.
 29. McHugh, T.; Huxsoll, C.; Krochta, J., *Permeability properties of fruit puree edible films*. Journal of food science, 1996. **61**(1): p. 88-91.
 30. Du, W.X.; Olsen, C.W.; Avena-Bustillos, R.J.; McHugh, T.H.; Levin, C.E.; Friedman, M., *Antibacterial Activity against E. coli O157: H7, Physical Properties, and Storage Stability of Novel Carvacrol-Containing Edible Tomato Films*. Journal of food science, 2008. **73**(7): p. M378-M383.
 31. Sothornvit, R.; Rodsamran, P., *Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes*. Postharvest Biology and Technology, 2008. **47**(3): p. 407-415.
 32. Wang, X.; Sun, X.; Liu, H.; Zhongsu, M., *Barrier and mechanical properties of carrot puree films*. Food and Bioproducts Processing, 2011. **89**(2): p. 149-156.
 33. Lorevice, M.V.; de Moura, M.R.; Mattoso, L.H.C., *Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens*. Química Nova, 2014. **37**(6): p. 931.

34. de 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*. Quim. Nova, 2012. **35**(2): p. 262-267.
35. Rojas-Graü, M.A.; Avena-Bustillos, R.J.; Olsen, C.; Friedman, M.; Henika, P.R.; Martín-Belloso, O.; Pan, Z.; McHugh, T.H., *Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films*. Journal of Food Engineering, 2007. **81**(3): p. 634-641.
36. Farias, M.G.; Fakhouri, F. M.; Carvalho, C.W.P.de.; Ascheri, J.L.R., *Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (Malpighia emarginata DC)*. Química Nova, 2012. **35**(3): p. 546-552.
37. Beretta, C.; Stoessel, F.; Baier, U.; Hellweg, S., *Quantifying food losses and the potential for reduction in Switzerland*. Waste management, 2013. **33**(3): p. 764-773.
38. Gustavsson, J.; Cederberg, C.; Sonesson, U., *Global food losses and food waste*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rom, 2011.
39. Santos, C.E.d., *Anuário brasileiro da fruticultura 2013*. 2013: p. 136.
40. Costa, L.C.; Ribeiro, W.S.; Almeida, E.I.B.; Gurjão, G.C.; Barbosa, J.A., *Procedência, qualidade e perdas pós-colheita de mamão "Havaí" no mercado atacadista da EMPASA de Campina Grande- PB*. REVISTA AGROPECUÁRIA TÉCNICA, 2011. **32**(1): p. 21-34.
41. Otoni, C.G.; de Moura, M.R.; Aouada, F.A.; Camilloto, G.P.; Cruz, R.S.; Lorevice, M.V.; Soares, N.F.F.; Mattoso, L.H.C., *Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films*. Food Hydrocolloids, 2014. **41**: p. 188-194.
42. Kester, J.; Fennema, O., *Edible films and coatings: a review*. Food technology (USA), 1986.
43. Shit, S.C.; Shah, P.M., *Edible polymers: challenges and opportunities*. Journal of Polymers, 2014. **2014**.
44. Yakimets, I.; Paes, S.S.; Wellner, N.; Smith, A.C.; Wilson, R.H.; Mitchell, J.R., *Effect of water content on the structural reorganization and elastic properties of biopolymer films: a comparative study*. Biomacromolecules, 2007. **8**(5): p. 1710-1722.
45. Olivas, G.I.; Barbosa-Cánovas, G.V., *Alginate–calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity*. LWT-Food science and technology, 2008. **41**(2): p. 359-366.
46. Kunanopparat, T.; Menut, P.; Morel, M.H.; Guilbert, S., *Reinforcement of plasticized wheat gluten with natural fibers: From mechanical improvement to deplasticizing effect*. Composites part A: Applied science and manufacturing, 2008. **39**(5): p. 777-785.
47. Chen, Y.; Liu, C.; Chang, P.R.; Anderson, D.P.; Huneault, M.A., *Pea starch-based composite films with pea hull fibers and pea hull fiber-derived nanowhiskers*. Polymer Engineering and Science, 2009. **49**(2): p. 369.
48. El-Wakil, N.A., *Use of lignin strengthened with modified wheat gluten in biodegradable composites*. Journal of applied polymer science, 2009. **113**(2): p. 793-801.

49. Machado, B.A.S.; Nunes, I.L.; Pereira, F.V.; Druzian, J.I., *Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante*. *Ciência Rural*, 2012. **42**(11): p. 2085-2091.
50. de Moura, M.R.; Aouada, F.A.; Avena-Bustillos, R.J.; McHugh, T.H.; Krochta, J.M.; Mattoso, L.H.C., *Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles*. *Journal of Food Engineering*, 2009. **92**(4): p. 448-453.
51. De Azeredo, H.M., *Nanocomposites for food packaging applications*. *Food Research International*, 2009. **42**(9): p. 1240-1253.
52. Zarbin, A.J., *Química de (nano) materiais*. *Química Nova*, 2007. **30**(6): p. 1469.
53. Esteves, A.C.C.; Barros-Timmons, A.; Trindade, T., *Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos*. *Química Nova*, 2004. **27**: p. 798-806.
54. Dalmas, F.; Cavaille, J.Y.; Gauthier, C.; Chazeau, L.; Dendievel, R., *Viscoelastic behavior and electrical properties of flexible nanofiber filled polymer nanocomposites. Influence of processing conditions*. *Composites Science and Technology*, 2007. **67**(5): p. 829-839.
55. Sorrentino, A.; Gorrasi, G.; Vittoria, V., *Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications*. *Trends in Food Science & Technology*, 2007. **18**(2): p. 84-95.
56. Teixeira, E.d.M.; Oliveira, C.R.; Mattoso, L.H.C., *Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida*. *Polímeros*, 2010. **20**(4): p. 264-268.
57. Krug, H.F.; Wick, P., *Nanotoxicology: an interdisciplinary challenge*. *Angewandte Chemie International Edition*, 2011. **50**(6): p. 1260-1278.
58. Schaffazick, S.R.; Guterres, S.S., *Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos*. *Química Nova*, 2003. **26**(5): p. 726-737.
59. Borges, O.; Tavares, J.; de Souza, A.; Borchard, G.; Junginger, H.E.; Cordeiro-da-Silva, A., *Evaluation of the immune response following a short oral vaccination schedule with hepatitis B antigen encapsulated into alginate-coated chitosan nanoparticles*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007. **32**(4): p. 278-290.
60. Amass, W.; Amass, A.; Tighe, B., *A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies*. *Polymer International*, 1998. **47**(2): p. 89-144.
61. Du, W.-L.; Niu, S.S.; Xu, Y.L.; Xu, Z.R.; Fan, C.L., *Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions*. *Carbohydrate Polymers*, 2009. **75**(3): p. 385-389.
62. Calvo, P.; Remunan-López, C.; Vila-Jato, J.L.; Alonso, M.J., *Development of positively charged colloidal drug carriers: chitosan-coated polyester nanocapsules and submicron-emulsions*. *Colloid and Polymer Science*, 1997. **275**(1): p. 46-53.

63. Gan, Q.; Wang, T.; Cochrane, C.; McCarron, P., *Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-TPP nanoparticles intended for gene delivery*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2005. **44**(2): p. 65-73.
64. de Moura Aouada, M.R., *Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos*. 2009, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS.
65. Siró, I.; Plackett, D., *Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review*. Cellulose, 2010. **17**(3): p. 459-494.
66. Devlieghere, F.; Vermeulen, A.; Debevere, J., *Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables*. Food microbiology, 2004. **21**(6): p. 703-714.
67. Belitz, H.-D.; Grosch, W., *Química de los alimentos*. Química de los Alimentos, 1987.
68. Kumar, M.N.R., *A review of chitin and chitosan applications*. Reactive and functional polymers, 2000. **46**(1): p. 1-27.
69. Signini, R.; Campana Filho, S.P., *Characteristics and properties of purified chitosan in the neutral, acetate and hydrochloride forms*. Polímeros, 2001. **11**(2): p. 58-64.
70. Lorevice, M.V.; de Moura, M.R.; Aouada, F.; Marroso, L.H.C., *Development of novel guava puree films containing chitosan nanoparticles*. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2012. **12**(3): p. 2711-2717.
71. Chillo, S.; Mastromatteo, M.; Conte, A.; Gerschenson, L.; Del-Nobile, M.A., *Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties*. Journal of Food Engineering, 2008. **88**(2): p. 159-168.
72. de Britto, D.; de Assis, O.B.G., *Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application*. International journal of biological macromolecules, 2007. **41**(2): p. 198-203.
73. Goy, R.C.; de Britto, D.; Assis, O.B.G., *A review of the antimicrobial activity of chitosan*. Polímeros, 2009. **19**(3): p. 241-247.
74. Kalia, S.; Avérous, L., *Biopolymers: biomedical and environmental applications*. Vol. 70. 2011: John Wiley & Sons.
75. Caldeira, M.d.S., *Produção de nanocompósito utilizando diferentes fontes de celulose como reforço*. 2013.
76. Reciclagem, U., *Poliiolefinas reforçadas com fibras vegetais curtas: sisal vs. curauá*. Polímeros, 2011. **21**(3): p. 168-174.
77. Wan, C.; Zhou, Y.; Li, Y., *Liquid hot water and alkaline pretreatment of soybean straw for improving cellulose digestibility*. Bioresource technology, 2011. **102**(10): p. 6254-6259.
78. Batista, J.A.; Tanada-Palmu, P.S.; Grosso, C.R., *Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2005. **25**(4): p. 781-788.
79. Whistler, R.L.; BeMiller, J.N., *Carbohydrate chemistry for food scientists*. 1997: Eagan press.
80. de Moura, M.R.; Ahmad, F.S.; Reghine, J.; Mattoso, L.H.C., *Preparação de Novos Nanobiocompósitos Comestíveis Ativos Contendo Nanoemulsão de Canela e Pectina*. Polímeros, 2014. **24**(4): p. 486-490.
81. Iijima, M.; Nakamura, K.; Hatakeyama, T., *Phase transition of pectin with sorbed water*. Carbohydrate Polymers, 2000. **41**(1): p. 101-106.

82. Maior, J.F.A.S.; Reis, A.V.; Muniz, E.C.; Cavalcanti, O.A., *Reaction of pectin and glycidyl methacrylate and ulterior formation of free films by reticulation*. International journal of pharmaceutics, 2008. **355**(1): p. 184-194.
83. dos Reis Martelli, M.; de Barros, T.T.; Assis, O.B.G., *Filmes de Polpa de Banana Produzidos por Batelada: Propriedades Mecânicas e Coloração*. Polímeros: Ciência e Tecnologia.
84. Silva, G.G.; Diniz, R.G.; Silva, M.E., *Avaliação química do mamão papaia (Carica papaya L.) em diferentes estádios de maturação*. Revista Capixaba de Ciencia e Tecnologia, 2007. **3**: p. 1-7.
85. Koukaras, E.N.; Papadimitriou, S.A.; Bikiaris, D.N.; Froudakis, G.E., *Insight on the formation of chitosan nanoparticles through ionotropic gelation with tripolyphosphate*. Molecular pharmaceutics, 2012. **9**(10): p. 2856-2862.
86. Tibolla, H.; Pelissari, F.M.; Menegalli, F.C., *Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and enzymatic treatment*. Lwt-Food Science and Technology, 2014. **59**(2): p. 1311-1318.
87. Neto, W.P.F.; Silvério, H.A.; Dantas, N.O.; Pasquini, D., *Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue - Soy hulls*. Industrial Crops and Products, 2013. **42**: p. 480-488.
88. Corporation, M., *Precise color communication: color control from feeling to instrumentation*. 1994: Minolta.
89. Palou, E.; López-Malo, A.; Cánovas, G.V.B.; Chanes, J.W.; Swanson, B.G., *Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure-treated banana puree*. JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-, 1999. **64**: p. 42-45.
90. Pelczar Jr. M.J.; Chan, E.C.S.; Krieg, N.R.; Yamada, S;F, *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2005: Pearson Makron Books.
91. Ghanbarzadeh, B.; Musavi, M.; Oromiehie, A.R.; Rezayi, K.; Rad, E.R.; Milani, J., *Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and microstructure properties of zein films*. LWT-Food Science and Technology, 2007. **40**(7): p. 1191-1197.
92. Sobral, P.d.A.; Menegalli, F.C.; Hubinger, M.D.; Roques, M.A., *Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films*. Food Hydrocolloids, 2001. **15**(4): p. 423-432.
93. Stana-Kleinschek, K.; Ribitsch, V., *Electrokinetic properties of processed cellulose fibers*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1998. **140**(1): p. 127-138.
94. Neto, C.d.T.; Giacometti, J.A.; Job, A.E.; Ferreira, F.C.; Fonseca, J.L.C.; Pereira, M.R., *Thermal analysis of chitosan based networks*. Carbohydrate Polymers, 2005. **62**(2): p. 97-103.
95. loelovich, M., *Crystallinity and hydrophilicity of chitin and chitosan*. J. Chem, 2014. **3**: p. 7-14.
96. Rueda, D.; Secall, T.; Bayer, R., *Differences in the interaction of water with starch and chitosan films as revealed by infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry*. Carbohydrate polymers, 1999. **40**(1): p. 49-56.
97. de Britto, D., de Rizzo, J.S.; Assis, O.B.G., *Effect of Carboxymethylcellulose and Plasticizer Concentration on Wetting and Mechanical Properties of Cashew Tree Gum-Based Films*. International

- Journal of Polymer Analysis and Characterization, 2012. **17**(4): p. 302-311.
98. Xu, Y.; Ren, X. ; Hanna, M.A., *Chitosan/clay nanocomposite film preparation and characterization*. Journal of Applied Polymer Science, 2006. **99**(4): p. 1684-1691.
 99. Pathare, P.B.; Opara, U.L. ; Al-Said, F.A.J., *Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review*. Food and Bioprocess Technology, 2013. **6**(1): p. 36-60.
 100. Goy, R.; Assis, O.B.G., *Antimicrobial analysis of films processed from chitosan and N, N, N-trimethylchitosan*. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 2014. **31**(3): p. 643-648.
 101. Goy, R.C., Morais, S.T.; Assis, O.B.G., *Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on E. coli and S. aureus growth*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2015.