

CÍCERO CARDOSO POLA

NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE AMIDO DE MILHO E POLI(VINIL ÁLCOOL) COMO NOVOS MATERIAIS PARA EMBALAGENS ATIVAS ANTIMICROBIANAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P762n
2017

Pola, Cícero Cardoso, 1988-

Nanocompósitos biodegradáveis à base de amido de milho e poli(vinil álcool) como novos materiais para embalagens ativas antimicrobianas / Cícero Cardoso Pola. – Viçosa, MG, 2017.
xv, 100f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Nilda de Fátima Ferreira Soares.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos - Embalagens. 2. Materiais nanoestruturados.
3. Micro-organismos patogênicos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
II. Título.

CDD 22 ed. 664.07

CÍCERO CARDOSO POLA

NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE AMIDO DE MILHO E POLI(VINIL ÁLCOOL) COMO NOVOS MATERIAIS PARA EMBALAGENS ATIVAS ANTIMICROBIANAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 30 de novembro de 2017.


Allan Robledo Fialho e Moraes


Renato Souza Cruz


Eber Antonio Alves Medeiros


Carmen Luiza Feitosa de Lima Gomes
(Coorientadora)


Nilda de Fátima Ferreira Soares
(Orientadora)

Aos meus pais.

Dedico.

ii

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar ao longo de todo esse caminho.

Aos meus pais, que não mediram esforços para que eu pudesse chegar até este momento. Por toda preocupação, confiança e ensinamentos.

À minha irmã e meu cunhado Fábio e minha sobrinha Stella, pela amizade, pelos conselhos, pelos momentos de alegria e por toda ajuda ao longo desta caminhada.

À Anelise por todo amor, companheirismo, paciência, imenso suporte e por estar sempre presente.

À toda minha família pelo grande apoio e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa, por meio do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pela oportunidade de participação no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, pela orientação e confiança e por toda ajuda na minha formação como pesquisador.

Ao professor Reinaldo Francisco Teófilo pelos aconselhamentos e auxílio ao longo do desenvolvimento desta pesquisa.

À professora Carmen Gomes pelos aconselhamentos e auxílio ao longo da pesquisa e pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório na Texas A&M University durante 9 meses.

Ao professor Allan Robledo Fialho e Moraes, pela participação na banca e pela enorme ajuda ao longo de todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Renato Souza Cruz, pela participação na banca e pela enorme disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

Ao Eber Antonio Alves Medeiros, pelos aconselhamentos, pela ajuda como gestor do Laboratório de Embalagens e pela amizade.

Ao Renato Damásio, pela parceria e pela imensa ajuda na caracterização das nanoceluloses.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) da UFV bem como às agências financiadoras CAPES, CNPq, FAPEMIG e FINEP, além dos funcionários Karla e Gilmar.

Ao laboratório de Mineralogia do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, pelas análises de difração de raios-x.

Ao professor Sukarno Olavo Ferreira pelo auxílio nas análises de perfilometria.

Aos amigos mais antigos do LABEM: Allan, Bahia, Caio, Geany, Germanna, Johnson, Renatinho e Victor pela convivência e pela enorme ajuda ao longo de todas as etapas da realização desta pesquisa.

À toda equipe do Labem pela amizade, união e convivência. Em especial ao Nelson, Miriane e Rafael, por toda ajuda na condução do experimento.

Aos funcionários do DTA, em especial Fernando, Lorena e João Tomaz.

Aos amigos do Food Safety Lab: Andres, Daniela, Jecori, Kevin, Paulo, Shubangi, Suleiman, Tres, Yougui.

Aos amigos de College Station: Rodrigo, Renato, Dennis, Jana, Geraldo, Thávilla, Davi, Mozart, Cássio, Michelle, Pati.

Ao Allan e Caio pela grande amizade desenvolvida ao longo dos anos de pós-graduação.

Aos amigos de república que me acompanham desde a graduação em Alegre-ES, Alixandre e José Eduardo.

A todos que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CÍCERO CARDOSO POLA, filho de José Carlos Pola e Maria Aparecida Cardoso Pola, nasceu em Castelo, Espírito Santo, em 07 de março de 1988.

Em julho de 2006, iniciou o Curso de Engenharia de Alimentos na Universidade Federal do Espírito Santo, graduando-se em julho de 2011.

Em agosto de 2011, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em julho de 2013.

Em agosto de 2013, iniciou o Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em novembro de 2017.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIACOES	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I.....	3
NOVOS MATERIAIS PARA EMBALAGENS DE ALIMENTOS – CONSIDERAOES GERAIS.....	3
RESUMO	4
1. EMBALAGENS PLÁSTICAS E O MEIO AMBIENTE	5
2. MATERIAIS TRADICIONAIS VERSUS NOVOS MATERIAIS.....	6
2.1. Classe I	7
2.2. Classe II	8
2.2.1. Polietileno (PE) “verde”:	8
2.2.2. Poli(cloreto de vinila) (PVC) “verde”:.....	8
2.2.3. Poli(etileno tereftalato) (PET) “verde”:	8
2.3. Classe III	9
2.3.1. Poli(adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT):.....	9
2.3.2. Poli(ε-caprolactona) (PCL):	10
2.3.3. Poli(vinil lcool) (PVOH):	10
2.4. Classe IV.....	11
2.4.1. Origem vegetal:	11
2.4.1.1. Amido:	12
2.4.1.2. Acetato de celulose (AC):.....	13
2.4.1.3. Alginato:.....	14
2.4.1.4. Pectina:.....	15
2.4.2. Origem animal:	15
2.4.2.1. Quitosana:	15
2.4.3. Micro-organismos:.....	16
2.4.3.1. Poli(β-hidroxibutirato) (PHB):	16
2.4.4. Biotecnologia:	17
2.4.4.1. Poli(cido ltico) (PLA):	17
3. ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DAS PROPRIEDADES DOS BIOPOLÍMEROS	18
3.1. Blendas poliméricas:.....	18
3.2. Adição de cargas:	19
4. CONSIDERAOES FINAIS	20
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
CAPÍTULO II.....	27
DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS  BASE DE BLENDA DE AMIDO DE MILHO/PVOH INCORPORADOS COM NANOCRISTAIS E NANOFIBRILAS DE CELULOSE	27
RESUMO	28
1. INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.1. Material	33
2.2. Produção dos filmes nanocompósitos.....	33
2.3. Delineamento de otimização e função desejabilidade	34
2.4. Caracterização das celulosas nanocristalina e nanofibrilada.....	35
2.4.1. Dfrao de Raios-X (XRD)	35
2.4.2. Espalhamento dinâmico de luz	36
2.4.3. Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (ATR-FTIR)	36

2.4.4.	Morfologia das nanoceluloses.....	36
2.5.	Caracterização dos filmes nanocompósitos	36
2.5.1.	Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)	37
2.5.2.	Rugosidade de superfície	37
2.5.3.	Espessura.....	37
2.5.4.	Resistência mecânica	37
2.5.5.	Permeabilidade a vapor de água (PVA).....	38
2.5.6.	Permeabilidade ao Oxigênio (PO ₂)	38
2.5.7.	Transmissão de luz	38
2.5.8.	Termogravimetria (TGA)	39
2.5.9.	Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	39
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1.	Caracterização das nanoceluloses.....	39
3.2.	Caracterização dos filmes nanocompósitos	44
3.2.1.	Microscopia eletrônica de transmissão e perfilometria	44
3.2.2.	Espessura e resistência mecânica.....	46
3.2.3.	Permeabilidade a vapor de água (PVA).....	51
3.2.4.	Permeabilidade ao oxigênio (PO ₂).....	53
3.2.5.	Transmissão de luz	54
3.2.6.	Termogravimetria (TGA)	55
3.2.7.	Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	57
3.2.8.	Otimização pela função desejabilidade.....	59
4.	CONCLUSÃO	60
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
CAPITULO III.....		67
NANOCOMPÓSITO ANTIMICROBIANO À BASE DE AMIDO E POLI(VINIL		
ÁLCOOL) INCORPORADOS COM NANOCRISTAL DE CELULOSE E NISINA		
.....		67
1.	INTRODUÇÃO	69
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	71
2.1.	Material	71
2.2.	Produção dos filmes	71
2.3.	Caracterização dos filmes	72
2.3.1.	Espessura.....	72
2.3.2.	Propriedades mecânicas.....	73
2.3.3.	Permeabilidade ao oxigênio (PO ₂)	73
2.3.4.	Transmissão de luz	73
2.3.5.	Atividade antimicrobiana	73
2.3.6.	Análise estatística	74
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
3.1.1.	Resistência mecânica	74
3.1.2.	Permeabilidade ao oxigênio (PO ₂)	77
3.1.3.	Transmissão de luz	78
3.1.4.	Atividade antimicrobiana	79
4.	CONCLUSÃO	80
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
CONCLUSÃO GERAL		87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		88

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Classificação dos materiais.....	6
Figura 2. Poli (adipato co-tereftalato de butileno).....	9
Figura 3. Poli(ϵ -caprolactona).	10
Figura 4. Estrutura química do poli(vinil álcool).....	10
Figura 5. Estrutura química da amilose e da amilopectina.....	12
Figura 6. Acetato de celulose.....	14
Figura 7. Quitosana.....	16
Figura 8. Poli(β -hidroxibutirato).....	17
Figura 9. Poli(ácido lático).....	17
Figura 10. Esquema <i>top-down</i> da localização das nanoceluloses. Fonte: Postek <i>et al.</i> (2011).	31
Figura 11. Fluxograma de produção dos filmes nanocompósitos.	34
Figura 12. Difratoogramas de raios-x dos nanocristais de celulose (CNC, —) e das nanofibrilas de celulose (CNF, —).	40
Figura 13. Fotomicrografias obtidas por TEM da (a) suspensão de nanocristais de celulose (CNC) na magnificação 30 kx; (b) suspensão de nanofibrilas (CNF) de celulose na magnificação de 30 kx; (c) filme nanocompósito contendo 3,0% (m/m) de CNF e 0,6% (m/m) de CNF – ponto central do delineamento composto central rotacional (DCCR) – na magnificação 50 kx; usando 80 kV.	41
Figura 14. Histogramas da distribuição de comprimento e largura dos nanocristais de celulose (CNC; a, b) e largura das nanofibrilas de celulose (CNF; c) obtidos a partir de 100 leituras com o software <i>ImageJ</i>	42
Figura 15. Espectros FTIR-ATR das nanofibrilas de celulose (CNF, —) e dos nanocristais de celulose (CNC, —).	43
Figura 16. Micrografias do perfil topográfico do (a) filme nanocompósito contendo 3% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) CNF – ponto central do delineamento composto central rotacional – e; (b) filme controle – sem adição de CNC e CNF. Magnificação de 10x em área de 475 x 625 μ m.	45

Figura 17. Superfícies de respostas referêntes a: (a) resistência à tração (MPa); (b) módulo de elasticidade (MPa); (c) permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\times 10^7$ e; (d) permeabilidade ao oxigênio (PO_2 , $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\times 10^{19}$, dos filmes nanocompósitos desenvolvidos.	49
Figura 18. Curva termogravimétrica (TGA, —) e sua correspondente primeira derivada (DTG, —) referente aos filmes: (a) T6 – 5,89% CNC e 0,6% de CNF; (b) T8 – 3,0% CNC e 1,17% de CNF; (c) ponto central do delineamento composto central rotacional (DCCR) – 3,0% CNC e 0,6% de CNF; (d) filme controle – sem incorporação de CNC e CNF.	55
Figura 19. Curvas de DSC dos filmes: sem incorporação de CNC e CNF (controle, —); filme nanocompósito do ponto central do delineamento composto central rotacional (DCCR) – 3,0% CNC e 0,6% de CNF (T11, —); filme nanocompósito com 3,0% CNC e 1,17% de CNF (T8, —); e filme nanocompósito com 5,89% CNC e 0,6% de CNF (T6, —).	58
Figura 20. Otimização simultânea dos resultados de resistência à tração (MPa), módulo de elasticidade (MPa), permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\times 10^7$) e permeabilidade ao oxigênio (PO_2 , $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\times 10^{19}$) dos filmes nanocompósitos desenvolvidos representados pelo (a) perfil de desejabilidade e (b, c) superfícies de resposta em função das concentrações de CNC e CNF.	60
Figura 22. Atividade antimicrobiana dos filmes ativos à base de blenda de amido/PVOH contra <i>S. aureus</i> : (a) controle (0% NIS e 0% CNC) e (b) incorporado com 10% (m/m) NIS; <i>L. monocytogenes</i> : (c) controle e (d) incorporado com 10% NIS.	79

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Concentração de nanocristais de celulose (CNC) e nanofibrilas de celulose (CNF) nas formulações filmogênicas à base de amido/PVOH e resultados observados da caracterização das propriedades dos diferentes filmes.	47
Tabela 2. Coeficientes de regressão estimados para resistência máxima à tração (RT), módulo de elasticidade (ME), permeabilidade ao vapor de água (PVA) e permeabilidade ao oxigênio (PO ₂).	48
Tabela 3. Temperatura inicial (T _{mi}), de pico (T _{mp}) e final (T _{mf}) da fusão dos filmes desenvolvidos.....	58
Tabela 4. Formulações filmogênicas dos filmes ativos à base de blenda polimérica de amido de milho e PVOH.....	72
Tabela 5. Coeficientes de regressão estimados para alongamento na ruptura (AR), módulo de elasticidade (ME), transmissão de luz (T _{600nm}) e halo de inibição das bactérias <i>Listeria monocytogenes</i> (LM), <i>Bacillus cereus</i> (BC) e <i>Staphylococcus aureus</i> (SA).	76

LISTA DE ABREVIÇÕES

AR: Alongamento na ruptura

ATP: Amido termoplástico

ATR-FTIR: Espectroscopia de absorção infravermelho com reflectância total atenuada.

BDA: Batata dextrose ágar

CNC: Nanocristais de celulose

CNF: Nanofibrilas de celulose

DRX: Difração de raios-x

DTG: Primeira derivada da curva termogravimétrica

ESP: espessura

ME: Módulo de elasticidade

PE: Polietileno

PET: Poli(etileno tereftalato)

PO₂: Permeabilidade ao oxigênio

PP: Polipropileno

PS: Poliestireno

PVA: Permeabilidade ao vapor de água

RT: Resistência à tração

RU: Rugosidade aparente

T_{600nm}: Transmissão de luz a 600 nm

TEM: Microscopia eletrônica de transmissão

TGA: Análise termogravimétrica

TSA: Ágar triptona de soja

TSB: Caldo triptona de soja

RESUMO

POLA, Cícero Cardoso, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2017. **Nanocompósitos biodegradáveis à base de amido de milho e poli(vinil álcool) como novos materiais para embalagens ativas antimicrobianas.** Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Coorientadores: Carmen Luiza Gomes e Reinaldo Francisco Teófilo.

O uso de biopolímeros para produção de filmes tem atraído cada vez mais atenção na área de embalagens ao redor do mundo. Apesar da biodegradabilidade, origem renovável, alta disponibilidade e baixo custo, a aplicação em larga escala desses materiais é reduzida devido às limitadas propriedades que esses materiais apresentam. O presente trabalho foi dividido em duas partes. A primeira parte consistiu no desenvolvimento e caracterização de filmes nanocompósitos a partir de blenda polimérica biodegradável à base de amido de milho/poli(vinil álcool) (PVOH) incorporados com nanocristais (CNC) e nanofibrilas de celulose (CNF) de acordo com um delineamento composto central, otimizando-se a concentração das nanoceluloses em relação às propriedades de desempenho utilizando-se a função desejabilidade. As propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água (PVA) e ao oxigênio (PO_2), morfológicas, ópticas e térmicas dos filmes nanocompósitos foram avaliadas. O processo de produção dos filmes resultou em boa dispersão das nanoceluloses na matriz polimérica, permitindo que a interação entre os CNC e as CNF promovesse aumento significativo na resistência à tração e rigidez dos filmes nanocompósitos. A incorporação de CNC e CNF permitiu a obtenção da máxima barreira ao vapor de água dentro dos limites estudados, ao mesmo tempo em que foi observada a necessidade de maiores concentrações de CNC para promover a redução na PO_2 . A dispersão das nanoceluloses aumentou a barreira à luz dos filmes. Os filmes com maiores concentrações de CNC e CNF apresentaram maior estabilidade térmica. O filme nanocompósito com composição ótima foi obtido com 5,78% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) de CNF. O filme nanocompósito desenvolvido apresenta boas características para o desenvolvimento de embalagens sustentáveis, podendo ainda receber a adição de compostos ativos para aumentar seu potencial de aplicação. A segunda parte envolveu o desenvolvimento e a caracterização de filmes ativos antimicrobianos

baseados na mesma blenda polimérica e incorporados com nisina (NIS) e CNC, com potencial para uso como embalagem ativa antimicrobiana para alimentos. Os filmes desenvolvidos foram avaliados de acordo com suas propriedades mecânicas, de barreira ao oxigênio e ópticas. A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada contra as bactérias patogênicas *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Os nanocompósitos ativos desenvolvidos apresentaram significativo efeito antimicrobiano contra os três micro-organismos testados. Os CNC não só aumentaram a rigidez e a resistência à tração dos filmes, como também diminuíram significativamente a PO₂ dos mesmos. A NIS atuou como plastificante na matriz polimérica, aumentando o alongamento na ruptura dos filmes. A presença de CNC e NIS aumentou a barreira à luz dos filmes. Os nanocompósitos ativos apresentaram bom desempenho *in vitro* e capacidade para serem aplicados na conservação de alimentos.

ABSTRACT

POLA, Cícero Cadoso, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2017. **Biodegradable nanocomposites based on corn starch and poly(vinyl alcohol) as new materials for antimicrobial active packaging** Advisor: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-Advisors: Carmen Luiza Gomes and Reinaldo Francisco Teófilo.

The use of biopolymers as film-forming materials has aroused great attention towards packaging application field around the world. Despite of their biodegradability, renewable source, high availability, and low cost, the large-scale application of these materials is limited by their poor performance properties. This work was divided into two main parts. The first part was related to the development and characterization of biodegradable nanocomposite films based on corn starch/poly(vinyl alcohol) blend incorporated with cellulose nanocrystals (CNC) and cellulose nanofibrils (CNF) using a composite central design and desirability function approach to optimize their formulation. The nanocomposite films were evaluated according to their mechanical, water vapor (WVP) and oxygen barrier (O₂P), optical and thermal properties. The film-forming process resulted in a homogeneous dispersion of nanocelluloses within the polymeric matrix, allowing close interaction among them and, consequently, enhancing the tensile strength and stiffness of the nanocomposite films. The presence of CNC and CNF reduced the nanocomposite film's WVP; however, higher CNC levels were needed to decrease the O₂P as well. Nanocellulose dispersion within film matrix significantly increased their light barriers. Nanocomposite films with higher CNC and CNF levels presented greater thermal resistance. The optimized nanocomposite film composition comprised 5.83% (wt.) and 0.6% (wt.) of CNC and CNF, respectively. The nanocomposite film presented suitable characteristics for sustainable packaging applications, which could be further improved with the addition of active compounds to broaden its applicability. The second part of this study was related to the development of an antimicrobial active film using the same polymeric blend, incorporated with nisin (NIS) and CNC. The developed active films were analyzed according to their mechanical, oxygen barrier and optical properties. Film's antimicrobial activity was tested against the pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, and

Staphylococcus aureus. The developed active films presented significant effect against all tested microorganisms. CNC not only significantly increased active film's stiffness and tensile strength, but also promoted the O₂P reduction. NIS presented a plasticizing effect in the polymeric matrix, increasing significantly the elongation of the active films. The presence of both compounds (NIS and CNC) decreased the light transmittance through the film. The developed active film presented great *in vitro* antimicrobial activity and have potential to be applied in further studies on food shelf-life extension.

INTRODUÇÃO GERAL

Os biopolímeros consistem em uma crescente e promissora classe de materiais que atraem cada vez mais atenção de pesquisadores ao redor do mundo, por se tratarem de uma alternativa sustentável aos tradicionais plásticos derivados do petróleo (DUFRESNE e CASTAÑO, 2017). O grande interesse em biopolímeros, como o amido, se deve a propriedades como biodegradabilidade, origem renovável, alta disponibilidade e baixo custo. Porém sua aplicação comercial é limitada, pois estes materiais apresentam propriedades mecânicas, térmicas e de barreira bem inferiores dos polímeros provenientes de fontes fósseis (CAZÓN *et al.*, 2017; GUIMARÃES *et al.*, 2015).

Dessa forma, estratégias para promover melhorias nas propriedades desses polímeros biodegradáveis viabilizando sua aplicação comercial têm sido constantemente pesquisadas (IMRE e PUKÁNSZKY, 2013). Uma dessas alternativas consiste na formação de blendas poliméricas, a partir da mistura física de dois ou mais polímeros, como o poli(vinil álcool) (PVOH). Outra alternativa se baseia na aplicação de nanopartículas de reforço, como as nanoceluloses, que podem interagir com a matriz polimérica melhorando a resistência mecânica, térmica e aumentando a barreira à gases (AZEREDO *et al.*, 2017).

Simultaneamente às pesquisas envolvendo desenvolvimento de biopolímeros com propriedades superiores, a funcionalização desses materiais para desenvolvimento de embalagens ativas é cada vez mais explorada na área de tecnologia de embalagens. Entre os diversos compostos antimicrobianos utilizados para produção de embalagens ativas, a nisina apresenta excelente ação inibitória de bactérias Gram-positivas, mesmo quando incorporada em baixas concentrações, apresenta reduzida tendência a gerar desenvolvimento de resistência bacteriana, além de não promover alteração significativa no odor, cor e sabor dos filmes e dos alimentos (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016a).

O principal objetivo deste trabalho foi desenvolver novos materiais biodegradáveis à base de blenda biopolimérica de amido de milho/poli(vinil álcool) com propriedades viáveis para aplicação como embalagens de alimentos. A primeira parte do trabalho consistiu no estudo do desenvolvimento de filmes nanocompósitos reforçados com nanocristais (CNC) e nanofibrilas de celulose

(CNF), seguido pela caracterização dos mesmos quanto as propriedades mecânicas, de barreira e térmicas, permitindo a obtenção de um filme nanocompósito com formulação ótima dentro dos limites estudados. A segunda parte envolveu o desenvolvimento de filmes ativos antimicrobianos utilizando a mesma blenda polimérica da primeira parte incorporada com o peptídeo antimicrobiano nisina (NIS) e CNC como agente de reforço, bem como a influência dos mesmos nas características físico-mecânicas, de barreira e ativa do filme.

CAPÍTULO I

NOVOS MATERIAIS PARA EMBALAGENS DE ALIMENTOS – CONSIDERAÇÕES GERAIS

RESUMO

Como alternativa aos plásticos tradicionais obtidos a partir de fontes fósseis, os biopolímeros consistem numa emergente classe de materiais sustentáveis que atraem cada vez mais atenção pela possibilidade de reduzir o impacto ambiental associado ao indevido descarte dos plásticos derivados do petróleo. Com a elaboração do presente texto objetivou-se expor de forma didática algumas considerações gerais sobre o tema de novos materiais utilizados para embalagens atualmente, mantendo foco, principalmente, nos polímeros biodegradáveis. Levando em consideração as características dos materiais utilizados atualmente para produção de embalagens, a classificação quanto à origem e a habilidade de serem biodegradados ou não foi proposta. Entre as principais características que despertam grande interesse nos biopolímeros, destacam-se a elevada disponibilidade, baixo custo e, claro, a biodegradabilidade. Porém as inferiores propriedades de desempenho apresentadas por esses materiais quando comparados com os polímeros tradicionais ainda representam o principal fator limitante para aplicação comercial dos mesmos. Ao final, algumas das estratégias utilizadas como tentativas de reverter tais limitações são descritas.

Palavras-chave: embalagens renováveis, sustentabilidade, fonte fóssil, fonte renovável, blendas poliméricas, nanocompósitos.

1. EMBALAGENS PLÁSTICAS E O MEIO AMBIENTE

Segundo a Associação Brasileira de Embalagem (ABRE), o mercado mundial de embalagens movimenta mais de US\$ 500 bilhões por ano, representando entre 1 e 2,5% do produto interno bruto (PIB) de cada país, sendo que, apenas no Brasil este mercado é responsável pela movimentação de mais de R\$ 47,0 bilhões, gerando mais de 200 mil vagas de emprego (ABRE, 2017a). Entre os diversos materiais utilizados para produção de embalagens, os plásticos contribuem com 39,07% do valor total da produção do setor, sendo seguidos pelas embalagens celulósicas com 34,30% - levando em consideração os setores de papelão ondulado (18,54%), cartolina e papel cartão (9,87%) e papel (5,89%), embalagens metálicas com 17,14%, embalagens de vidro com 4,81% e embalagens de madeira com 2,59% (ABRE, 2017b).

Indiscutivelmente, a importância dos materiais plásticos para produção de embalagens é cada vez maior, pois eles passaram a substituir de forma gradativa os outros materiais. Os motivos para o crescimento na utilização desses materiais são muitos, dos quais se destacam o baixo custo, baixa densidade, extrema versatilidade e facilidade na produção em larga escala. Contudo, sua crescente aplicação tem contribuído significativamente também para a geração e/ou aumento de resíduos sólidos, o que resulta em graves problemas ambientais (LUCKACHAN *et al.*, 2011; VALDÉS *et al.*, 2014). Alternativas para manejo desses resíduos vêm sendo discutidas e, em certas situações, implementadas, ao longo das últimas décadas, porém em proporções muito inferiores às necessárias para o desenvolvimento sustentável. Além disso, embora, grande parte dos materiais plásticos apresentem potencial para serem reciclados fatores econômicos e de logística ainda dificultam enormemente essa atividade.

Portanto, é notável que, além da necessidade de políticas mais severas e maiores incentivos para implementação e realização de coleta seletiva e reciclagem, outras alternativas, como o uso de novos materiais provenientes de fontes renováveis e biodegradáveis, passem a ser mais exploradas para reduzir o impacto ambiental promovido por materiais plásticos.

2. MATERIAIS TRADICIONAIS VERSUS NOVOS MATERIAIS

A grande maioria dos plásticos comercializados atualmente apresentam duas características principais que os torna alvo de críticas ambientais, a sua origem e o seu destino, uma vez que são provenientes de fontes fósseis e não são biodegradáveis. Assim, sua produção apresenta elevado potencial poluente e após sua aplicação, normalmente, são descartados indevidamente, gerando acúmulo em lixões, aterros, rios e oceanos, impactando negativamente o meio ambiente. Assim sendo, embora existam, na literatura, diferentes formas de se classificar os materiais plásticos tradicionais e os recentemente desenvolvidos, no presente texto, eles serão classificados de acordo com sua origem, isto é, se provenientes de fonte renovável ou não, e também se são biodegradáveis ou não, resultando num total de quatro classes (Figura 1) que serão brevemente discutidas e exemplificadas a seguir.

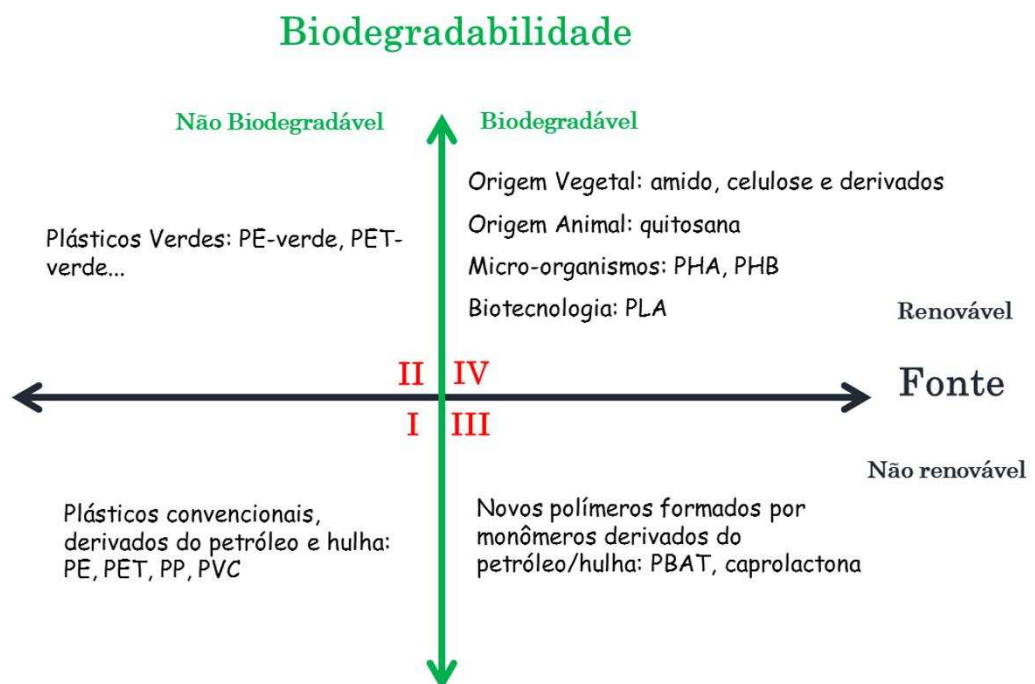


Figura 1. Classificação dos materiais.

2.1. Classe I

A Classe I é formada pelos plásticos não biodegradáveis e provenientes de fontes não renováveis. São obtidos principalmente por meio da destilação fracionada do petróleo, a partir da nafta, fração de interesse para polímeros. Após fracionamento térmico apropriado, a nafta gera frações gasosas contendo moléculas saturadas e insaturadas, sendo as principais o etileno, o propileno e o butadieno, que após polimerização dão origem aos principais polímeros comerciais: polietileno (PE), poli(cloreto de vinila) (PVC), poliestireno (PS), poliésteres, polipropileno (PP), resinas acrílicas, resinas fenólicas, poliamidas (CANEVAROLO JR., 2013).

Outra fonte para produção desses plásticos é o carvão mineral, que após destilação produz gases de hulha, amônio, alcatrão da hulha e coque (resíduo), nesta ordem de saída. Do gás da hulha é possível separar etileno (para produção de PE) e metano (que, por oxidação, produz formaldeído, matéria-prima básica para formação das resinas fenol-formaldeído, ureia-formaldeído, e melamina-formaldeído). A amônia (NH_3) é utilizada para a produção de ureia ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$) e aminas, como agentes de cura para resinas epóxi. O alcatrão da hulha é uma mistura complexa que, por destilação, produz benzeno (para produção de fenol, isocianatos e estireno). Do coque obtém-se acetileno (via reação com CaO e a seguir com água), que, por hidrogenação, produz etileno ou, por reação com ácido clorídrico, produz cloreto de vinila (para produção do PVC) (CANEVAROLO JR., 2013).

Devido às suas excelentes propriedades tecnológicas e baixo custo, esses plásticos representam os materiais mais importantes comercialmente, de forma que suas características bem como suas propriedades e aplicações já são amplamente conhecidas. Entretanto, sob ponto de vista ambiental, estes polímeros representam a Classe que mais tende a agredir o meio ambiente, uma vez que não são descartados de forma apropriada e, como comentado anteriormente, não são biodegradáveis, provêm de fontes não renováveis e poluentes. É importante ressaltar que alguns monômeros obtidos a partir do petróleo, ou seja, de origem fóssil, podem produzir polímeros biodegradáveis. Estes polímeros pertencem à Classe III e serão comentados adiante.

2.2. Classe II

Os materiais plásticos pertencentes à Classe II são produzidos a partir de polímeros que eram sintetizados, exclusivamente, utilizando monômeros provenientes de fontes fósseis, e que também passaram a ser sintetizados a partir de matéria-prima proveniente de fontes renováveis. São comercialmente denominados de plásticos “verdes”, sendo os principais:

2.2.1. Polietileno (PE) “verde”:

De forma simplificada, a produção do PE “verde” é iniciada com a obtenção da sacarose de alguma fonte renovável, geralmente cana-de-açúcar, que em seguida é fermentada a etanol. O etanol é então destilado e desidratado na presença de catalisadores, obtendo-se o monômero eteno que, após polimerização, dá origem ao PE “verde” (BRASKEM, 2017).

2.2.2. Poli(cloreto de vinila) (PVC) “verde”:

Para sua produção, é necessário inicialmente a obtenção de eteno “verde”, proveniente de fontes renováveis, da mesma forma como descrito acima para o PE “verde” (BRITO *et al.*, 2011). A partir daí, há várias formas de se obter o monômero cloreto de vinila. Por exemplo, o eteno é atacado por HCl (ácido clorídrico) + O₂ ou por Cl₂, havendo reação de adição do cloro, obtendo, como produto, o CH₂ClCH₂Cl (EDC: 1,2-dicloroetano), que por sua vez reage com 2 H₂O, e dá origem a HCl e o cloreto de vinila, monômero que, após polimerização, dá origem ao PVC “verde”.

2.2.3. Poli(etileno tereftalato) (PET) “verde”:

Assim como para o PVC e o PE “verdes”, o monômero eteno é produzido a partir de fontes renováveis. Ocorre então a reação de condensação com o tereftalato, resultando no etilenotereftalato, que após polimerização produz o PET “verde”. Ou seja, o PET “verde” deve ser considerado parcialmente proveniente de fonte renovável, já que o tereftalato tem origem fóssil.

É importante ressaltar que embora sejam provenientes de fontes renováveis, esses polímeros não são biodegradáveis, e possuem as mesmas propriedades de quando obtidos a partir de fontes fósseis.

2.3. Classe III

Conforme comentado, a Classe III é formada por polímeros obtidos a partir de monômeros provenientes de fontes fósseis, ou seja, não renováveis, mas são biodegradáveis. Geralmente, são polímeros com ligações do tipo éter ou éster, pois facilitam o ataque por enzimas de micro-organismos. Alguns dos principais polímeros desta Classe são comentados a seguir:

2.3.1. Poli(adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT):

É um copoliéster sintético produzido a partir da combinação do butano-1,4-diol, ácido adípico e ácido tereftálico (Figura 2). Embora derivado do petróleo, pode ser completamente biodegradado em poucas semanas sob ação de micro-organismos presentes na natureza (BASF, 2017).

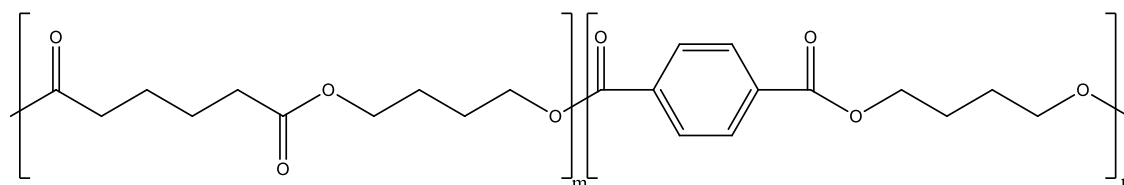


Figura 2. Poli (adipato co-tereftalato de butileno).

Recentemente, o PBAT tem sido alçado como potencial substituto para alguns plásticos convencionais, em especial o PE, uma vez que apresenta propriedades similares a este polímero. Suas principais aplicações comerciais são para o uso em embalagens para os setores da agricultura e alimentos, seja como polímero principal ou como componente de blendas com polímeros mais rígidos. Devido à boa processabilidade, elevada flexibilidade e caráter hidrofóbico do PBAT, seus filmes apresentam boas propriedades mecânicas e de barreira, entretanto apresentam custo elevado em relação aos polímeros convencionais.

2.3.2. Poli(ϵ -caprolactona) (PCL):

É um polímero hidrofóbico e semicristalino pertencente à família dos poliésteres alifáticos (Figura 3), produzido, principalmente, por polimerização por abertura do anel da ϵ -caprolactona (DOPPALAPUDI *et al.*, 2014).

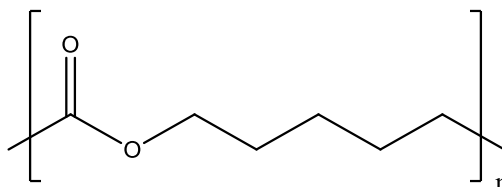


Figura 3. Poli(ϵ -caprolactona).

Possui temperatura de transição vítrea de $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e temperatura de fusão entre 59 e $64\text{ }^{\circ}\text{C}$, o que dificulta sua processabilidade quando misturado com outros polímeros. É solúvel em solventes orgânicos, como o clorofórmio e o diclorometano (WOODRUFF *et al.*, 2010). As propriedades dos filmes variam largamente de acordo com o peso molecular e o grau de cristalinidade, mas, em geral, são flexíveis e apresentam boa resistência mecânica (LABET e THIELEMANS, 2009). Pelo elevado custo, é mais utilizado na área de engenharia de tecidos, principalmente para reparos de cartilagem e ossos, uma vez que, apesar de ser biodegradável, apresenta boa estabilidade e bom desempenho mecânico (MITSAK *et al.*, 2011).

2.3.3. Poli(vinil álcool) (PVOH):

É um polímero semicristalino sintético, não tóxico, não possui odor, solúvel em água e biodegradável. É obtido a partir da hidrólise completa ou parcial do poli(vinil acetato) para remoção dos grupos acetato (Figura 4) (TANG e ALAVI, 2011).

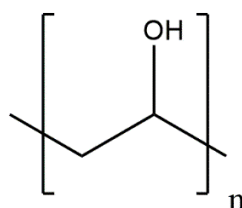


Figura 4. Estrutura química do poli(vinil álcool).

O PVOH não é considerado propriamente um termoplástico, pois sua temperatura de fusão (230 °C) é superior à temperatura de degradação térmica (em torno de 150 °C). Por isso, é processado principalmente pelo método *casting*, onde há, inicialmente, a solubilização do polímero em um solvente, geralmente a água.

Filmes à base de PVOH apresentam elevada resistência à tração, alta flexibilidade, excelente barreira ao oxigênio e aromas, além de grande capacidade de absorção de água (TANG e ALAVI, 2011). Além disso, sua elevada resistência a solventes orgânicos, boas propriedades emulsificantes e adesivas permitem que seja utilizado também na produção de adesivos e revestimentos pela indústria de papel. Também é utilizado para fabricação de filmes solúveis em água, fraudas, lentes de contato, lubrificantes e luvas com resistência química (OJEDA, 2013). A biodegradação do PVOH se dá principalmente por ação enzimática da polivinil álcool oxidase e polivinil álcool desidrogenase. Pela solubilidade em água, possibilidade de ser processado via *casting* e boa compatibilidade com biopolímeros, o PVOH apresenta grande potencial para desenvolvimento de blendas poliméricas biodegradáveis. (RAHMAN *et al.*, 2010).

2.4. Classe IV

A Classe IV é formada por polímeros que são provenientes de fontes renováveis e que também são biodegradáveis. Representa, portanto, os polímeros mais “amigáveis” ao meio ambiente. Como a origem dos polímeros dessa Classe é bastante diversificada, ela será dividida em quatro grupos:

2.4.1. Origem vegetal:

De modo geral, muitos desses polímeros não apresentam propriedades termoplásticas, sendo muitas vezes necessária a adição de plastificantes ou mesmo alguma modificação química para que possam ser processados, seja via *casting* ou extrusão. Nesse grupo se encontram muitos polímeros amplamente

encontrados na natureza como o amido, o alginato, a pectina e a celulose e alguns de seus derivados, como o acetato de celulose (AC), entre outros:

2.4.1.1. Amido:

É o segundo carboidrato de maior disponibilidade na natureza e o principal carboidrato de reserva dos vegetais, encontrado, principalmente, em grãos, cereais, tubérculos e raízes (CAZÓN et al., 2017). É um polissacarídeo formado por monômeros de D-glicose, composto por duas subunidades poliméricas, a amilose – predominantemente linear, na qual os monômeros são unidos entre si por ligação $\alpha(1\rightarrow4)$ – e a amilopectina – altamente ramificada, na qual os monômeros são unidos entre si por ligação $\alpha(1\rightarrow4)$ e as ramificações se ligam às cadeias principais por ligação $\alpha(1\rightarrow6)$ – (BeMILLER e WHISTLER, 2009), como é representado na Figura 5. O grande interesse relacionado ao uso de amido como base para produção de filmes biodegradáveis se deve ao baixo custo, alta disponibilidade, alta taxa de biodegradação, além de dar origem a filmes comestíveis.

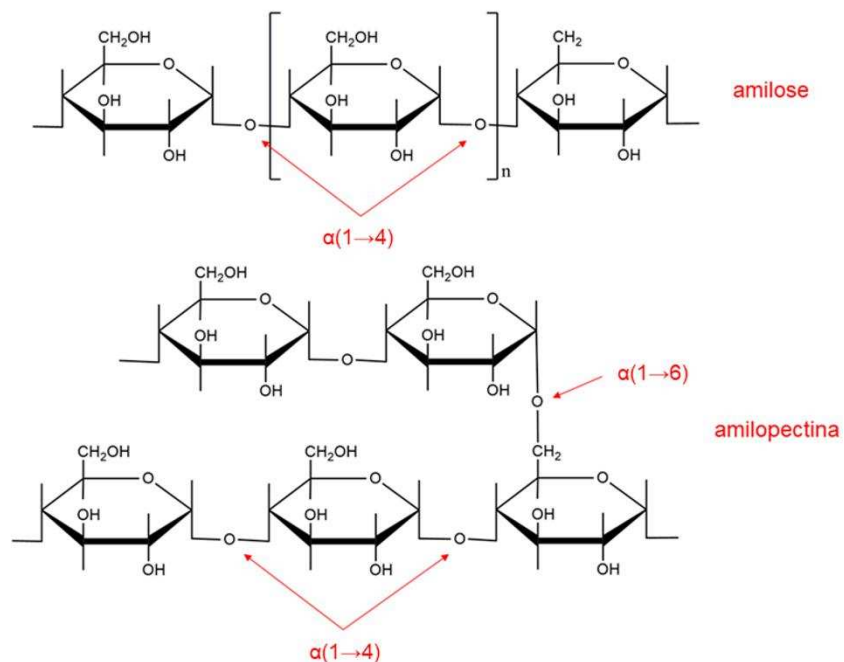


Figura 5. Estrutura química da amilose e da amilopectina.

A produção de filmes de amido pode ser feita tanto por *casting* quanto por extrusão. Para produção de filmes por *casting*, a aplicação de água em temperaturas entre 65 e 90 °C se faz necessária, para promover o intumescimento dos grânulos, levando a solubilidade parcial da amilopectina, promovendo a fusão dos domínios cristalinos e liberando a amilose (JIMENEZ et al., 2012). Para promover a redução das forças intermoleculares e melhorar a processabilidade do amido, o uso de plastificantes se faz necessário, permitindo a produção de filmes por extrusão e dando origem ao chamado amido termoplástico (amido + plastificante + calor).

Diferentes fontes de amido podem dar origem a filmes com diferentes características uma vez que a proporção amilose e amilopectina exerce influência sobre as propriedades finais dos filmes. Entre os principais tipos de amido utilizados para produção de filmes plásticos, o amido de milho, além de ser altamente disponível e possuir baixo custo, dá origem a filmes com boa barreira ao oxigênio e boa flexibilidade, porém possuem alta sensibilidade à umidade, limitada capacidade de alongamento e elevada fragilidade fazendo com que exista a necessidade de aplicação de plastificantes, mesmo em filmes produzidos por *casting*. Os plastificantes mais indicados para serem empregados em filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, que proporcionarão a estes materiais uma melhoria nas suas propriedades mecânicas e de processabilidade (MALI et al., 2010). Outra alternativa muito utilizada para filmes de amido consiste no desenvolvimento de blendas que permitam a melhoria das propriedades de desempenho, mantendo sua biodegradabilidade.

2.4.1.2. Acetato de celulose (AC):

É um éster de celulose, formado pela substituição dos grupamentos hidroxila das cadeias da celulose por grupos acetato (Figura 6), muito utilizado para fabricação de filmes fotográficos, tecidos para vestuário, membranas porosas, revestimento para papel, adesivos e filtros de grande absorção, como filtros de cigarro (MORAES et al., 2015; RUDAZ e BUDTOVA, 2013).

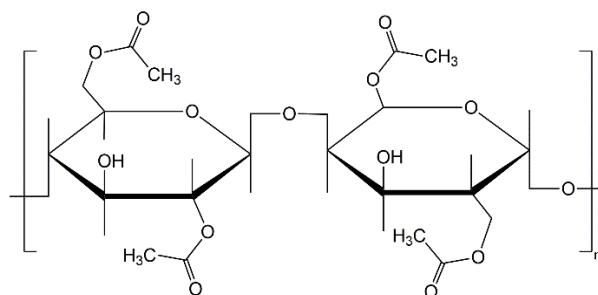


Figura 6. Acetato de celulose.

Os filmes de AC podem ser produzidos tanto por *casting* quanto por extrusão, sendo o primeiro método o mais utilizado. Os filmes de AC possuem boa barreira ao oxigênio, boa resistência à tração e reduzido alongamento, elevada transparência, e baixa barreira ao vapor de água. Devido à elevada rigidez/baixa flexibilidade do AC, a adição de plastificantes também se faz necessária para melhorar a processabilidade e as propriedades de desempenho (GUTIÉRREZ *et al.*, 2012; QUINTERO *et al.*, 2014).

2.4.1.3. Alginato:

É um polissacarídeo natural obtido de algas da classe *Phaeophyceae*, por meio de tratamento alcalino. Apesar de também ser encontrado no exopolissacarídeo de bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, o alginato de origem vegetal é a única fonte comercial deste polímero (PAWAR e EDGAR, 2012).

O alginato é um copolímero constituído por monômeros dos ácidos β -D-manurônico (M) e α -D-glucorônico (G) ligados entre si por ligações glicosídicas. Sua habilidade em formar géis se deve à presença de grupos carboxílicos que tendem a formar ligações iônicas intermoleculares com cátions polivalentes, principalmente o Ca^{2+} , formando uma rede tridimensional (BENAVIDES *et al.*, 2012). O alginato tem grande aplicação em indústrias farmacêuticas, de alimentos e de papel e celulose, principalmente devido à suas propriedades coloidais como capacidade espessante, emulsificante, estabilizante, geleificante e de formação de filmes, entre outras. A produção de filmes de alginato se dá principalmente pelo método *casting*, sendo necessária a adição do Ca^{2+} à solução filmogênica para promover a formação da estrutura tridimensional do

filme por reticulação física. Os filmes de alginato são comestíveis, apresentam boa resistência mecânica, boa transparência, porém baixa resistência à umidade devido à sua elevada hidrofobicidade. O uso de Ca^{2+} permite a obtenção de filmes com melhores resistência mecânica, rigidez e barreira à umidade.

2.4.1.4. Pectina:

É um polissacarídeo aniônico presente na parede celular de algumas plantas superiores, onde contribui para estrutura e rigidez (CAZÓN et al., 2017). As principais fontes de pectina são as cascas de frutas cítricas e polpa de maçã. A pectina é formada por monômeros do ácido D-galacturônico unidos por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, podendo apresentar diferentes graus de metilação nos ácidos carboxílicos (ESPITIA et al., 2014). Dependendo do grau de substituição dos grupos carboxila – por grupos metoxila nos monômeros do ácido D-galacturônico – a pectina pode ser classificada como de baixa metoxilação (substituição menor que 50%) e alta metoxilação (substituição maior que 50%). A pectina de baixa metoxilação tende a formar gel na presença de íons polivalentes, já a pectina de alta metoxilação tende a formar gel em meio ácido na presença de açúcares. Os filmes de pectina são produzidos principalmente por *casting* utilizando água como solvente. De forma geral, os filmes apresentam boa barreira a gases, porém baixa resistência à umidade. Assim como os filmes de alginato, os filmes e revestimentos de pectina são comestíveis.

2.4.2. Origem animal:

2.4.2.1. Quitosana:

É um polissacarídeo catiônico obtido a partir da desacetilação, por hidrólise básica, da quitina, carboidrato obtido principalmente do exoesqueleto de crustáceos, como caranguejos, camarões e lagostas. A quitosana é um polímero semicristalino constituído por monômeros de D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina unidos por ligações $\beta(1\rightarrow4)$ (Figura 7) (DOPPALAPUDI et al., 2014). Durante a desacetilação ocorre o rompimento das ligações N-acetil,

originando os grupamentos amínicos livres e, conseqüentemente, gerando sua natureza catiônica.

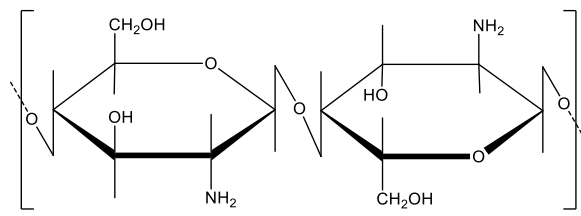


Figura 7. Quitosana.

É utilizada na produção de cosméticos, engenharia de tecidos, liberação controlada de medicamentos e suplementos alimentares, entre outros (CROISIER e JÉRÔME, 2013). Sua atividade antimicrobiana, bem como sua boa capacidade de formação de filmes, biodegradabilidade e não toxicidade, fazem com que a quitosana seja muito utilizada em escala laboratorial para produção de filmes plásticos, produzidos principalmente pelo método *casting*, no qual algum ácido fraco, na grande maioria dos casos, ácido acético, é utilizado como solvente (van den BROEK *et al.*, 2015). As propriedades dos filmes de quitosana sofrem influência do pH do solvente, grau de desacetilação, tipo de ácido e tipo de plastificante. O principal plastificante utilizado para produção de filmes de quitosana é o glicerol (EPURE *et al.*, 2011). De forma geral, os filmes de quitosana apresentam boas propriedades mecânicas, boa barreira ao oxigênio, porém baixa resistência à umidade (CAZÓN *et al.*, 2016).

2.4.3. Micro-organismos:

Os polímeros deste grupo são produzidos por bactérias a partir de vários substratos de carbono. Os polímeros mais conhecidos pertencem à família dos polihidroxialcanoatos (PHA), sendo o principal representante o poli(β-hidroxibutirato) (PHB):

2.4.3.1. Poli(β-hidroxibutirato) (PHB):

É um poliéster (Figura 8) altamente cristalino e biodegradável sintetizado por micro-organismos, como a bactéria *Alcaligenes eutrophus*. De forma geral, essas bactérias passam a produzir e armazenar PHB, como reserva de carbono,

quando são submetidas a algum tipo de estresse, por exemplo por ausência de nutrientes essenciais (CORRE et al., 2012).

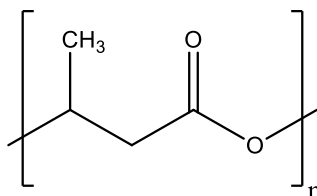


Figura 8. Poli(β -hidroxibutirato).

Os filmes de PHB podem ser produzidos por *casting*, usando solventes orgânicos, ou extrusão. Sua temperatura de fusão se encontra entre 173 e 180 °C e temperatura de transição vítrea por volta de 5 °C. O PHB dá origem a filmes rígidos e quebradiços, fazendo com que a adição de plastificantes seja necessária durante o processamento. O elevado custo de produção do PHB limita sua aplicação na indústria farmacêutica para liberação controlada de fármacos (LUCKACHAN et al., 2011).

2.4.4. Biotecnologia:

Embora estes polímeros tenham origem essencialmente agrícola, eles são classificados nesse grupo por serem sintetizados a partir de monômeros produzidos pela fermentação de biomassa por bactérias.

2.4.4.1. Poli(ácido láctico) (PLA):

É um poliéster termoplástico alifático linear sintetizado a partir da polimerização do ácido láctico (Figura 9), obtido pela fermentação, após hidrólise, do amido.

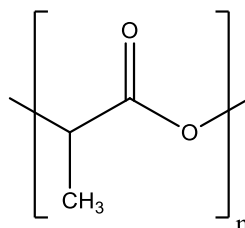


Figura 9. Poli(ácido láctico).

Embora suas propriedades, possam variar de acordo com o tamanho da cadeia e a proporção entre os enantiômeros L e D do ácido lático, de forma geral, os filmes de PLA apresentam excelente transparência, boa resistência a umidade e boa barreira ao oxigênio. Porém possuem propriedades mecânicas limitadas, alta fragilidade e baixa processabilidade (VALDÉS et al., 2014). Pelo elevado custo, o PLA é aplicado principalmente em áreas médicas para liberação controlada de fármacos e engenharia de tecidos (LUCKACHAN et al., 2011).

3. ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DAS PROPRIEDADES DOS BIOPOLÍMEROS

É notável que grande parte dos novos materiais que vêm sendo pesquisados para desenvolvimento de filmes e embalagens para alimentos possuem em comum a habilidade de ser biodegradado. Como apontado anteriormente, a sustentabilidade é, cada vez mais, levada em consideração entre a comunidade científica e a sociedade como um todo ao redor do mundo. Contudo, existe uma relação inversamente proporcional entre o desempenho e a biodegradabilidade de um material, ou seja, materiais biodegradáveis, de forma geral, apresentam baixo desempenho mecânico, térmico e de barreira, entre outros, limitando consideravelmente sua aplicação comercial (VARTIAINEN *et al.*, 2014).

Dessa forma, estratégias para melhorar as propriedades desses materiais têm sido constantemente pesquisadas (IMRE e PUKÁNSZKY, 2013). Entre as principais estratégias utilizadas, duas estão diretamente ligadas ao presente trabalho e serão brevemente abordadas a seguir.

3.1. Blendas poliméricas:

Blenda polimérica pode ser definida como uma mistura física de dois ou mais polímeros sem que ocorra reação química intencional entre seus constituintes, predominando interações intermoleculares (CANEVAROLO JR., 2013). O grande interesse na produção de blendas se baseia na possibilidade de aliar características desejáveis de um material, como baixo custo e

biodegradabilidade, com as características de outro material, como resistência a umidade e boas propriedades mecânicas, conferindo aos mesmos novas propriedades anteriormente ausentes ou limitadas (BRANDELERO *et al.*, 2011; IMRE e PUKÁNSZKY, 2013; OLIVATO *et al.*, 2013a; OLIVATO, *et al.*, 2013b).

Apesar de ser um processo relativamente antigo, a produção de blendas voltou a ganhar força nos últimos anos exatamente pelo crescente uso de biopolímeros para desenvolvimento de novos materiais juntamente com a necessidade de promover melhoria em suas propriedades. Como o interesse atual em blendas envolve principalmente biopolímeros é importante que todos os componentes sejam biodegradáveis para que a biodegradabilidade da blenda seja mantida, mesmo que em taxas reduzidas (IMRE e PUKÁNSZKY, 2013; SIONKOWSKA *et al.*, 2014).

De forma geral, a produção de blendas é um processo rápido, que permite elevada produtividade e controle menos exigente, quando comparado com a copolimerização, por exemplo, reduzindo consideravelmente o custo do material (IMRE e PUKÁNSZKY, 2013). Porém, um dos maiores desafios associado à produção de blendas poliméricas está relacionado à compatibilidade e miscibilidade dos seus componentes, sendo estas determinantes para a estrutura e propriedades dos filmes. Com isso, muitas vezes outras alternativas são necessárias para obtenção de melhorias mais significativas, como aplicação de compatibilizantes e/ou adição de cargas de reforço.

3.2. Adição de cargas:

Cargas são definidas como “materiais sólidos, não solúveis, que podem ser adicionados aos polímeros em quantidades suficientes para diminuir os custos e/ou alterar suas propriedades” (RABELO e PAOLI, 2013). Apesar de já serem utilizadas desde o século XIX, ainda hoje as cargas têm sido aplicadas em polímeros com o objetivo de melhorar, entre outras, propriedades mecânicas e de barreira, e passaram a despertar interesse ainda maior com os avanços na área de nanotecnologia, dando origem aos nanocompósitos (RODRÍGUEZ *et al.*, 2012; ROMERO *et al.*, 2013; OLIVATO *et al.*, 2015).

Os nanocompósitos podem ser definidos como material proveniente da mistura de dois ou mais componentes, onde existe uma fase contínua,

compreendendo a matriz polimérica e uma fase dispersa – a “nanocarga” – que apresenta pelo menos uma de suas dimensões em tamanho nanométrico (AZEREDO, 2009). Entre todas as nanocargas utilizadas como reforço de polímeros, uma característica é comum, a elevada área interfacial, que permite que a interação carga-polímero seja mais intensa, promovendo significativas melhorias nas propriedades, mesmo quando adicionada em quantidades muito pequenas. Entre os tipos de nanocargas estudados como reforço para filmes e embalagens e que apresentaram resultados satisfatórios merecem destaque: nanopartículas de zinco (ESPITIA *et al.*, 2013; VICENTINI *et al.*, 2010); nanopartículas de dióxido de titânio (OLEYAEI *et al.*, 2016; SHAILI *et al.*, 2015); grafeno e nanotubos de carbono (JOSE *et al.*, 2015; MASSOUMI *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2010) as nanoargilas, como a montmorilonita (POLA *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2017); nanopartículas de amido (DAI *et al.*, 2015; TEODORO *et al.*, 2015), nanopartículas de quitosana (ANTONIOU *et al.*, 2015; LOREVICE *et al.*, 2016) e; os nanocristais (CNC) e nanofibrilas (CNF) de celulose (ALVES *et al.*, 2017; CAMPOS *et al.*, 2017; MAIA *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2014; SANTANA *et al.*, 2017). Particularmente, os últimos quatro tipos de nanopartículas têm sido o foco principal da grande maioria dos trabalhos desenvolvidos na área nos últimos anos, pois tendem a manter o intuito sustentável relacionado ao uso de polímeros biodegradáveis. Sendo assim, o desenvolvimento de nanocompósitos permite a obtenção de novos materiais com propriedades diferenciadas para que, enfim, materiais biopoliméricos possam ganhar maior amplitude de aplicação no mercado de filmes e embalagens.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como enfatizado anteriormente, a crescente preocupação com o impacto ambiental promovido pelo uso dos materiais plásticos derivados do petróleo, faz com que o uso de biopolímeros ganhe cada vez mais importância. É notável que o desenvolvimento de materiais biodegradáveis e sua comercialização é uma tendência mundial. O uso desses materiais biodegradáveis resulta em inúmeras vantagens, como menor acúmulo de materiais em lixões, rios e oceanos,

aumento da vida útil de aterros sanitários, menor poluição de águas superficiais e subterrâneas. Porém, a evolução nas propriedades e performance desses materiais ainda se faz necessária. Os recentes avanços, apesar de significativos, ainda são muito limitados para gerar competição com os polímeros derivados do petróleo. Assim sendo, o contínuo investimento em pesquisa e desenvolvimento de novos materiais biodegradáveis tem demanda crescente. O uso de novas tecnologias, como as nanocargas, combinadas com estratégias bem difundidas, como a produção de blendas poliméricas, pode ser o caminho para que melhorias mais impactantes sejam obtidas, permitindo a redução dos custos, aumento do desempenho e, conseqüente, maior aplicação no mercado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J. S.; DOS REIS, K. C.; MENEZES, E. G. T.; PEREIRA, F. V.; PEREIRA, J. Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 215-222, 2015.

ANTONIOU, J.; LIU, F.; MAJEED, H.; ZHONG, F. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 44 p. 309-319, 2015.

Associação Brasileira de Embalagem – ABRE. Disponível em <<http://www.abre.org.br/setor/apresentacao-do-setor/a-embalagem/>>. Acessado em 05/10/2017a.

Associação Brasileira de Embalagem – ABRE. Disponível em:<<http://www.abre.org.br/setor/dados-de-mercado/>>. Acessado em 05/10/2017b.

BASF. **Ficha de produtos: Ecoflex**, 2003. Disponível em <https://www.plasticsportal.net/wa/plasticsEU/portal/show/content/products/biodegradable_plastics/biodegradable_polymers>. Acesso em: 11 de julho de 2017.

BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 232-239, 2012.

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

BRASKEM, 2017. Disponível em < <http://www.braskem.com/site.aspx/Como-e-Produzido>>. Acesso em: 30 de julho de 2017.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 6(2), 127-139, 2011.

CAMPOS, A.; SENA NETO, A. R.; RODRIGUES, V. B.; LUCHESI, B. R.; MOREIRA, F. K. V.; CORREA, A. C.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Bionanocomposites produced from cassava starch and oil palm mesocarp cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate Polymers**, v. 175, p. 330-336, 2017.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 3ª ed. São Paulo: Artliber Editora, 2013.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

CORRE, Y. M.; BRUZAUD, S.; AUDIC, J. L.; GROHENS, Y. Morphology and functional properties of commercial polyhydroxyalkanoates: A comprehensive and comparative study. **Polymer Testing**, v. 31, n. 2, p. 226-235, 2012.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013.

DAI, L.; QIU, C.; XIONG, L.; SUN, Q. Characterization of corn starch-based films reinforced with taro starch nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 174, p. 82-88, 2015.

DOPPALAPUDI, S.; JAIN, A.; KHAN, W.; DOMB, A. J. Biodegradable polymers—an overview. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 25, n. 5, p. 427-435, 2014.

EPURE, V.; GRIFFON, M.; POLLET, E.; AVEROUS, L. Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 947-952, 2011.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. D. F. F.; TEÓFILO, R. F.; COIMBRA, J. S. D. R.; VITOR, D. M.; BATISTA, R. A.; FERREIRA, S. O.; DE ANDRADE, N. J.; MEDEIROS, E. A. A. Physical–mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 199-208, 2013.

FISCHER S.; THUMMLER, K.; VOLKERT, B.; HETTRICH, K.; SCHMIDT, I.; FISCHER KLAUS. Properties and application of cellulose acetate. **Macromolecular Symposia**, v. 262, p. 89-96, 2008.

GUTIÉRREZ, M. C.; ROSA, P. T. V.; DE PAOLI, M. A.; FELISBERTI, M. I. Biocompósitos de acetato de celulose e fibras curtas de Curauá tratadas com CO₂ supercrítico. **Polímeros**, v. 22, p. 295-302, 2012.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 6, p. 1215-1233, 2013.

JIMENEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: A review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012.

JOSE, J.; DE, S. K.; ALMA'ADEED, M. A. A.; DAKUA, J. B.; SREEKUMAR, P. A.; SOUGRAT, R.; AL-HARTHI, M. A. Compatibilizing role of carbon nanotubes in poly(vinyl alcohol)/starch blend. **Starch - Stärke**, n. 67, n. 1-2, p. 147-153, 2015.

LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: a review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 12, p. 3484-3504, 2009.

LI, W.; WU, Q.; ZHAO, X.; HUANG, Z.; CAO, J.; LI, J.; LIU, S. Enhanced thermal and mechanical properties of PVA composites formed with filamentous nanocellulose fibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 403-410, 2014.

LOREVICE, M. V.; OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 732-740, 2016.

LUCKACHAN, G. E.; PILLAI, C. K. S. Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, n. 3, p. 637-676, 2011.

MAIA, T. H. S.; LAROCCA, N. M.; BEATRICE, C. A. G.; MENEZES, A. J.; FREITAS SIQUEIRA; G., PESSAN; L. A., DUFRESNE, A.; FRANÇA, M. P.; ALMEIDA LUCAS, A. Polyethylene cellulose nanofibrils nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 173, p. 50-56, 2017.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHIDA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MASSOUMI, B.; JAFARPOUR, P.; JAYMAND, M.; ENTEZAMI, A. A. Functionalized multiwalled carbon nanotubes as reinforcing agents for poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl alcohol)/starch nanocomposites: synthesis, characterization and properties. **Polymer International**, v. 64, n. 5, p. 689-695, 2015.

MITSAK, A. G.; KEMPPAINEN, J. M.; HARRIS, M. T.; HOLLISTER, S. J. Effect of Polycaprolactone Scaffold Permeability on Bone Regeneration In Vivo. **Tissue Engineering Part A**, v. 17, n. 13-14, p. 1831-1839, 2011.

MORAES, A. C. M.; ANDRADE, P. F.; DE FARIA, A. F.; SIMÕES, M. B.; SALOMÃO, F. C. C. S.; BARROS, E. B.; GONÇALVES, M. D. C.; ALVES, O. L. Fabrication of transparent and ultraviolet shielding composite films based on graphene oxide and cellulose acetate. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 217-227, 2015.

OJEDA, T. Polymers and the Environment. In: YILMAZ, F. (ed.). **Polymer Science**. Croatia: Intech, p.1, 2013.

OLEYAEI, S. A.; ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; MOAYEDI, A. A. Synergistic reinforcing effect of TiO₂ and montmorillonite on potato starch nanocomposite films: Thermal, mechanical and barrier properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 253-262, 2016.

OLIVATO, J. B.; MARINI, J; POLLET, E.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E.; AVEROUS, L. Elaboration, morphology and properties of starch/polyester nano-biocomposites based on sepiolite clay. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 250-256, 2015.

OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; BILCK, A. P.; YAMASHITA, F; OLIVEIRA, L. M. Starch/polyester films: simultaneous optimisation of the properties for the production of biodegradable plastic bags. **Polímeros**, v. 23, p. 32-36, 2013a.

OLIVATO, J. B.; MULLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E.; NOBREGA, M. M. Study of the compatibilizer effect in the properties of starch/polyester blends. **Polímeros**, v. 23, p. 346-351, 2013b.

PAWAR, S. N.; EDGAR, K. J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**, v. 33, n. 11, p. 3279-3305, 2012.

QUINTERO, R. I.; GALOTTO, M. J.; RODRIGUEZ, F.; GUARDA, A. Preparation and characterization of cellulose acetate butyrate/organoclay nanocomposites produced by extrusion. **Packaging Technology and Science**, v. 27, n. 6, p. 495-507, 2014.

RABELO, M.; PAOLI, M. A. **Aditivação de termoplásticos**. São Paulo: Artliber Editora, 357 p., 2013.

RODRÍGUEZ, F. J.; GALOTTO, M. J.; GUARDA, A.; BRUNA, J. E. Modification of cellulose acetate films using nanofillers based on organoclays. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 262-268, 2012.

ROMERO, R. B.; FERRAREZI, M. M. F.; LEITE, C. A. P.; ALVES, R. M. V.; GONÇALVES, M. C. Influence of the layered silicate type on the structure, morphology and properties of cellulose acetate nanocomposites. **Cellulose**, v. 20, n. 2, p. 675-686, 2013.

RUDAZ, C.; BUDTOVA, T. Rheological and hydrodynamic properties of cellulose acetate/ionic liquid solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1966-1971, 2013.

SANTANA, J. S.; DO ROSÁRIO, J. M.; POLA, C. C.; OTONI, C. G.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 12, p. 44637, 2017.

SHAILI, T.; ABDORREZA, M. N.; FARIBORZ, N. Functional, thermal, and antimicrobial properties of soluble soybean polysaccharide biocomposites reinforced by nano TiO₂. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 726-731, 2015.

SIONKOWSKA, A.; LEWANDOWSKA, K.; PLANECKA, A.; SZARSZEWSKA, P.; KRASINSKA, K.; KACZMAREK, B.; KOZLOWSKA, J. Biopolymer Blends as Potential Biomaterials and Cosmetic Materials. **Key Engineering Materials**, v. 583, p. 95-100, 2013.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.

TANG, X.; ALAVI, S. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 7-16, 2011.

TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; CARVALHO, G. M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 126, p. 9-16, 2015.

VALDÉS, A.; MELLINAS, A. C.; RAMOS, M.; GARRIGÓS, M. C.; JIMÉNEZ A. Natural additives and agricultural wastes in biopolymer formulations for food packaging. **Frontiers in Chemistry**, v. 2, n. 6, 2014.

van den BROEK, L. A. M.; Knoop, R. J. I.; Kappen, F. H. J.; Boeriu, C. G. Chitosan films and blends for packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 237-242, 2015.

VARTIAINEN, J.; VAHA-NISSI, M.; HARLIN, A. Biopolymer Films and Coatings in Packaging Applications – A Review of Recent Developments. **Materials Sciences and Applications**, v. 5, n.10, 2014.

VICENTINI, D. S.; SMANIA, A.; LARANJEIRA, M. C. M. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, n. 4, p. 503-508, 2010.

WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, v. 35, n. 10, p. 1217-1256, 2010.

YANG, X.; LI, L.; SHANG, S.; TAO, X. M. Synthesis and characterization of layer-aligned poly(vinyl alcohol)/graphene nanocomposites. **Polymer**, v. 51, n. 15, p. 3431-3435, 2010.

ZHANG, L.; WANG, H.; JIN, C.; ZHANG, R.; LI, L.; LI, X.; JIANG, S. Sodium lactate loaded chitosan-polyvinyl alcohol/montmorillonite composite film towards active food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 42, p. 101-108, 2017.

CAPÍTULO II

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE BLENDAS DE AMIDO DE MILHO/PVOH INCORPORADOS COM NANOCRISTAIS E NANOFIBRILAS DE CELULOSE

RESUMO

Objetivou-se desenvolver e caracterizar filmes nanocompósitos a partir de blenda polimérica biodegradável à base de amido de milho/poli(vinil álcool) (PVOH) incorporados com nanocristais de celulose (CNC) e nanofibrilas de celulose (CNF) de acordo com um delineamento composto central, otimizando a concentração das nanoceluloses em relação às propriedades de desempenho utilizando a função desejabilidade. Os filmes nanocompósitos foram avaliados quanto às suas propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), permeabilidade ao oxigênio (PO_2), morfologia, transparência e resistência térmica. Os filmes foram produzidos por meio do método casting, utilizando 70% de amido plastificado (70% amido + 30% glicerol) e 30% PVOH. O processo de produção dos filmes resultou em boa dispersão das nanoceluloses na matriz polimérica, permitindo que a interação entre os CNC e as CNF promovessem aumento significativo na resistência à tração e rigidez dos filmes nanocompósitos. A incorporação de CNC e CNF aumentou significativamente a barreira a luz dos filmes bem como permitiu a obtenção da máxima barreira ao vapor de água dentro dos limites estudados, ao mesmo tempo que foi observada a necessidade de maiores concentrações de CNC para promover a redução na PO_2 . Além disso, os filmes com maiores concentrações de CNC e CNF apresentaram maior estabilidade térmica. O filme nanocompósito com formulação ótima foi obtido com 5,83% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) de CNF, e apresenta boas características para o desenvolvimento de embalagens sustentáveis, podendo ainda receber a adição de compostos ativos para aumentar seu potencial de aplicação.

Palavras-chave: Desejabilidade, polímero biodegradável, nanocelulose, propriedades mecânicas, barreira, resistência térmica.

1. INTRODUÇÃO

Filmes produzidos a partir de biopolímeros correspondem a uma crescente e promissora classe de materiais para aplicação em embalagens. Estes materiais têm atraído a atenção de muitos pesquisadores devido à crescente preocupação com os impactos causados ao meio ambiente (DUFRESNE e CASTAÑO, 2017). Entre os biopolímeros com potencial para produção de embalagens, características como origem renovável, elevada disponibilidade, baixo custo e alta taxa de biodegradabilidade, fazem com que o amido receba notável destaque nas últimas décadas (CAZÓN *et al.*, 2017; IBRAHIM *et al.*, 2014). Por outro lado, assim como a maioria dos biopolímeros, o amido apresenta propriedades mecânicas, térmicas e de barreira inferiores à dos polímeros derivados do petróleo, limitando sua aplicação comercial (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

Nesse contexto, a mistura física de um biopolímero, como o amido, com outros polímeros, faz com que seja possível aliar as características desejáveis dos materiais utilizados, resultando num material com propriedades melhoradas. Muitas blendas envolvendo o uso do amido e outros polímeros biodegradáveis como quitosana (BOF *et al.*, 2016), celulose (MORAES *et al.*, 2017), poli(ácido láctico) (PLA) (AKRAMI *et al.*, 2016), poli(ϵ -caprolactona) (PCL) (ORTEGA-TORO *et al.*, 2016) e poli(vinil álcool) (PVOH) (AYDIN *et al.*, 2016; CANO *et al.*, 2016; TIAN *et al.*, 2017), são reportados na literatura, sendo a compatibilidade entre os polímeros, um dos principais fatores responsáveis pelo sucesso ou não da blenda polimérica.

O PVOH é um polímero biodegradável derivado do petróleo que, teoricamente, apresenta elevado potencial para produção de blendas poliméricas com o amido, visto que interações de hidrogênio tendem a serem formadas entre os grupamentos hidroxila presentes ao longo das cadeias de ambos (RAHMAN *et al.*, 2010). A mistura de PVOH com o amido permite que grande parte das limitações sejam corrigidas, como redução do custo do PVOH e aumento de sua taxa de biodegradação, além da melhoria nas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira dos filmes de amido (ABDULLAH *et al.*, 2017).

Porém, a sensibilidade à umidade das formulações contendo amido e PVOH, muitas vezes compromete sua aplicação, por exemplo, por promover redução significativa na resistência mecânica (TANG e ALAVI, 2011).

Uma alternativa adotada para superar as limitações dos biopolímeros e melhorar ainda mais suas propriedades consiste na aplicação de nanotecnologia, principalmente por meio da incorporação de nanopartículas na matriz polimérica para atuarem como agentes de reforço, dando origem aos nanocompósitos (SOUZA *et al.*, 2016). Os nanocompósitos podem ser definidos como material produzido a partir da mistura de dois ou mais componentes, onde existe uma fase contínua, compreendendo a(as) matriz(es) polimérica(s) e uma fase dispersa que apresenta pelo menos uma de suas dimensões em tamanho nanométrico e/ou pelo menos uma de suas propriedades apresenta-se alterada quando comparada as suas propriedades no tamanho normal (MONDAL, 2017; RHIM *et al.*, 2013). O grande interesse nestes materiais se deve ao fato de algumas nanopartículas serem capazes de interagir com a matriz polimérica alterando suas propriedades, podendo conferir novas características ou melhorar as características já existentes, por exemplo, atuando na redução da permeabilidade ao vapor de água e gases, aumentando a resistência à tração e a rigidez, bem como a estabilidade térmica (AZEREDO *et al.*, 2017).

Os nanomateriais derivados da celulose são biodegradáveis, não tóxicos, e ricos em grupamentos hidroxila capazes de interagir com matrizes poliméricas e reforçá-las, mesmo quando adicionados em baixas concentrações, uma vez que possuem elevada área interfacial, além de serem obtidos a partir do carboidrato de maior disponibilidade no meio ambiente, fazendo com que a matéria prima seja de baixo custo (DUFRESNE, 2017; MONDAL, 2017). As nanoceluloses vem sendo aplicadas nas mais diversas áreas da ciência, como pele artificial e cartilagem em engenharia de tecidos, modificadores de textura, aerogéis, dispositivos eletrônicos flexíveis e, obviamente, como reforço de polímeros para produção de filmes e embalagens biodegradáveis, uma vez que apresentam baixa densidade e elevada razão de aspecto (relação entre o comprimento e a largura) (AZEREDO *et al.*, 2017; KARGARZADEH *et al.*, 2017).

Os dois tipos de nanomateriais extraídos da celulose são as nanofibrilas de celulose (CNF) e os nanocristais de celulose (CNC). O processo de obtenção

das CNF se inicia com a desagregação mecânica das fibras celulósicas, que são constituídas por microfibrilas de celulose, que por sua vez são constituídas por fibrilas elementares de onde as CNFs são obtidas (Figura 10). Durante o processo de obtenção das CNFs é comum que um agente oxidante, normalmente o 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO), seja utilizado antes da desintegração mecânica para promover a alteração da carga superficial, contribuindo para a estabilidade e evitando formação de aglomerados (HABIBI *et al.*, 2010). Em geral, as CNFs são caracterizadas por serem semicristalinas, ou seja, possuem regiões cristalinas e amorfas, apresentarem comprimento micrométrico e largura variando entre 3 e 100 nm (DUFRESNE, 2017).

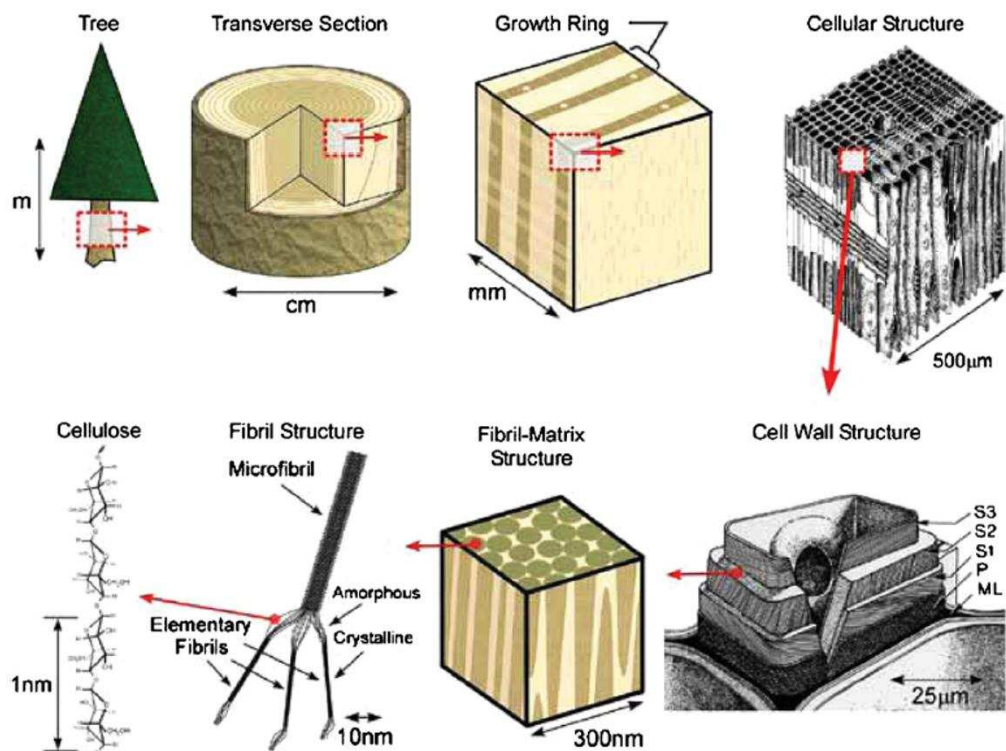


Figura 10. Esquema *top-down* da localização das nanoceluloses. Fonte: Postek *et al.* (2011).

Por sua vez, os CNC são obtidos, principalmente, a partir da hidrólise ácida da polpa de celulose branqueada. Neste método são aplicados ácidos fortes, principalmente o ácido sulfúrico, para clivar os domínios amorfos das fibrilas elementares, enquanto os domínios cristalinos permanecem intactos nas condições empregadas, devido ao elevado grau de compactação de suas

moléculas (JULKAPLI e BAGHERI, 2017). Variações entre as dimensões, características morfológicas e superficiais e grau de cristalinidade dos CNC dependem da fonte de celulose e das condições sob as quais a extração é conduzida (DUFRESNE, 2017). Porém, de forma geral, os CNC possuem formato similar ao de uma agulha com comprimento variando de 50 a 500 nm e diâmetro variando de 3 a 30 nm (AZEREDO et al., 2017). Além disso, os CNC são caracterizados pela elevada rigidez (entre 100 e 150 GPa), proveniente de sua estrutura altamente cristalina (MONDAL, 2017).

As nanoceluloses são largamente empregadas para melhorar as propriedades mecânicas, de barreira, térmicas e reológicas de diversos sistemas poliméricos, como filmes à base de amido (ALVES *et al.*, 2015; CAMPOS *et al.*, 2017; SANTANA *et al.*, 2017); blenda de amido/PVOH (CANO *et al.*, 2015; PRIYA *et al.*, 2014); pectina (CHAICHI *et al.*, 2017); alginato de sódio (HUQ *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2017); PVOH (LI *et al.*, 2014; ROWE *et al.*, 2016); quitosana (KHAN *et al.*, 2012), entre outros. Porém, estudos avaliando simultaneamente os efeitos do CNC e da CNF em matrizes poliméricas ainda é extremamente limitado e merece atenção, como enfatizado por Ferrer *et al.* (2017). Assim sendo, até o momento, estudos envolvendo a avaliação simultânea dos efeitos da incorporação de CNC e CNF e a otimização da concentração das mesmas nas propriedades de filmes à base de blenda polimérica de amido de milho e PVOH não foram encontrados.

Desta forma, com a realização deste trabalho, objetivou-se desenvolver e caracterizar filmes nanocompósitos a partir de blenda polimérica biodegradável à base de amido de milho plastificado com glicerol e poli(vinil álcool) (PVOH) incorporados com nanocristais (CNC) e nanofibrilas de celulose (CNF) com potencial aplicação em embalagens de alimentos, de acordo com um delineamento composto central, otimizando a concentração das nanoceluloses em relação às propriedades de desempenho dos filmes utilizando a análise de desejabilidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Amido de milho ($\sim 28 \pm 2\%$ amilose) foi adquirido da Unilever (Rotterdam, Holanda). Poli (vinil álcool) (PVOH) ($P_M = 85,000 - 124,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, 99% hidrolizado), glicerol (GLI) ($M_M = 92.09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Os CNC foram adquiridos do Laboratório de Produtos Florestais do Departamento de Agricultura dos EUA (USDA, Madison, WI, EUA) comercializado pela Universidade do Maine (Orono, ME, EUA), produzidos por meio de hidrólise ácida de polpa de celulose originária de mistura de *Pinus* spp. As CNF, produzidas por separação mecânica a partir de polpa de celulose de Eucalipto, foram doadas pela empresa Suzano Papel e Celulose (São Paulo, SP, Brasil).

2.2. Produção dos filmes nanocompósitos

Uma blenda de amido de milho/PVOH foi utilizada como matriz polimérica e os filmes foram produzidos pelo método casting. Para produção da blenda, o PVOH (30% m/m) foi solubilizado em 100 mL de água desionizada a $75 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e mantido nesta temperatura por 5 h sob agitação a 500 rpm em frasco tampado (Suspensão 1). Em seguida, amido de milho plastificado (70% m/m – 70% amido e 30% glicerol) foi adicionado a 50 mL de água desionizada (Suspensão 2), homogeneizados, adicionados a suspensão 1 e, então, mantidos sob as mesmas condições de aquecimento ($75 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e agitação (500 rpm) durante 20 min. Então, as suspensões de CNC e CNF foram adicionadas e homogeneizadas (500 rpm) por 5 min sem aquecimento. Para produção das suspensões de CNC e CNF, diferentes concentrações de ambos (Tabela 1) foram misturadas com 50 mL de água desionizada e homogeneizada em um sonicador de ponta DES 500 (Unique Group, Indaiatuba, SP, Brazil) durante 20 min usando uma probe de 1,3 μm de diâmetro e 400 W de potência. Finalmente, as formulações filmogênicas foram vertidas em placas de vidro (18 x 34 cm) e mantidas a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e $53 \pm 5\%$ UR por 72 h para evaporação do solvente.

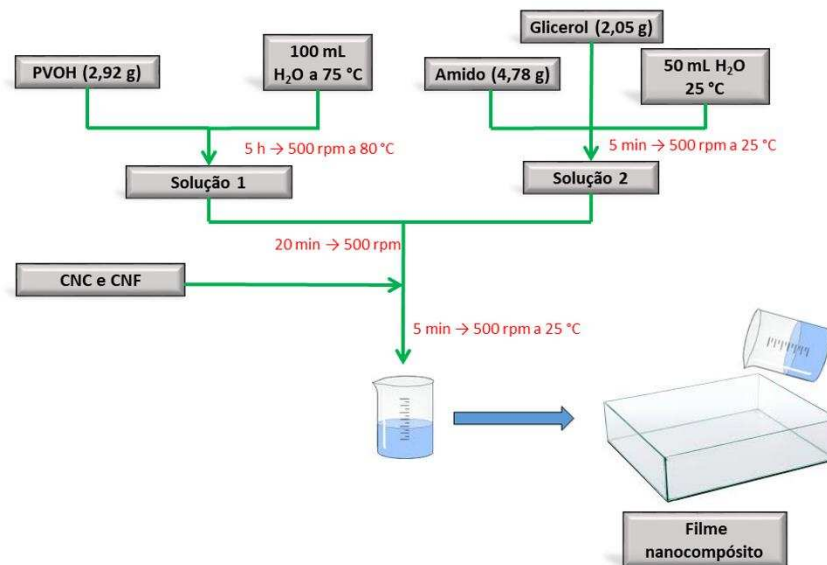


Figura 11. Fluxograma de produção dos filmes nanocompósitos.

Um filme controle – sem adição de CNF e CNC – também foi produzido nas mesmas condições para permitir a comparação quando necessário.

2.3. Delineamento de otimização e função desejabilidade

A otimização da formulação do filme nanocompósito foi realizada por meio da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). Um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) (Tabela 1) foi utilizado para estudar o efeito combinado do CNC e do CNF nas propriedades dos filmes nanocompósitos. Os modelos estatísticos representando a influência do CNC e do CNF nas propriedades (espessura, resistência a tração, alongamento na ruptura, módulo de elasticidade, permeabilidade ao vapor de água, permeabilidade ao oxigênio, transmissão de luz, rugosidade média) dos filmes nanocompósitos foi obtido e validado usando análise de variância (ANOVA) com 5% de nível de significância. Os cálculos foram realizados com auxílio do *software* Statistica 13.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, EUA).

Ao final, a função de desejabilidade (DERRINGER e SUICH, 1980) foi utilizada para realizar a otimização simultânea das variáveis resposta significativas. As variáveis resposta estimadas para cada análise realizada no presente trabalho foram transformadas em um valor desejável (d_i) pela função de desejabilidade utilizando a Equação 1.

$$d_i = \begin{cases} 0 & \hat{y}_i \leq y_{i \min} \\ \left[\frac{\hat{y}_i - y_{i \min}}{y_{i \max} - y_{i \min}} \right] & y_{i \min} < \hat{y}_i < y_{i \max} \\ 1 & \hat{y}_i \geq y_{i \max} \end{cases} \quad (1)$$

Onde $y_{i \min}$ e $y_{i \max}$ correspondem aos valores mínimo e máximo, respectivamente, e o \hat{y}_i é o valor aceitável. Os valores de d_i variam no intervalo de $0 \leq d_i \leq 1$, sendo que o valor de desejabilidade tende a aumentar com o aumento da resposta correspondente. Os valores das desejabilidades individuais foram combinados utilizando a Equação 2, gerando a desejabilidade global (D), que é a média geométrica dos valores desejáveis individuais.

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_k)^{1/k} \quad (2)$$

Desta forma, quanto maior for o valor de D , maior a desejabilidade da resposta, ou seja, o valor máximo de D corresponde a solução otimizada.

2.4. Caracterização das celuloses nanocristalina e nanofibrilada

2.4.1. Difração de Raios-X (XRD)

Os difratogramas foram obtidos com auxílio de um XRD X'Pert PRO (PANalytical, Almelo, Holanda) utilizando radiação de Co ($K\alpha$ $\lambda = 1.78890$ Å), operando a 40 kV e 30 mA. As amostras foram analisadas em ângulos de difração (2θ) variando entre 5° e 40° com velocidade de varredura de $2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$. A análise foi realizada no Laboratório de Mineralogia do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

O índice de cristalinidade (IC) foi calculado de acordo com Segal *et al.* (1962) utilizando a Equação 3.

$$IC = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (3)$$

Onde o valor I_{002} é a intensidade do pico a $22,5^\circ$ associado com o plano cristalino (002) e I_{am} é a intensidade do pico a $18,3^\circ$ associado a fração amorfa da celulose.

2.4.2. Espalhamento dinâmico de luz

O potencial zeta e tamanho aparente das nanoceluloses foram analisados utilizando um ZetaSizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Inc., Worcesterstershire, RU) a 25°C usando laser a 633 nm e ângulo de leitura de 90° . Os valores médios foram obtidos a partir de três leituras independentes.

2.4.3. Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (ATR-FTIR)

Os espectros ATR-FTIR foram obtidos com auxílio de um FTIR Thermo Nicolet 6700 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), equipado com acessório de reflectância total atenuada, na faixa de número de onda de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} , utilizando 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} para cada espectro.

2.4.4. Morfologia das nanoceluloses

A morfologia das nanoceluloses foi avaliada por meio da análise de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) com auxílio de um microscópio Zeiss EM 109 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemanha) operando a 80 kV. Inicialmente, as amostras de nanoceluloses foram suspensas (0,05%, m/m) em água desionizada Milli-Q (Millipore Corporation, Burlington, MA, EUA) e homogeneizadas em ultrassom por 5 min a 400 W de potência. Em seguida, as suspensões foram colocadas sobre *grids* de cobre de 300 *mesh*, contrastados com solução de acetato de uranila (2%, m/v) e, então, observados no TEM utilizando ampliações de 30 e 50 kx à 80 kV. A análise foi realizada no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (NMM-UFV). O comprimento e a largura média das nanoceluloses foram obtidos com auxílio do software *ImageJ*, obtido a partir da média de 100 leituras.

2.5. Caracterização dos filmes nanocompósitos

2.5.1. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A análise de TEM foi realizada utilizando um microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemanha) operando a 80 kV. Inicialmente, as amostras dos filmes foram emblocadas em resina *Spurr* e então cortadas com ultramicrotomo Power Tome-X (RMC Products, Tucson, AZ, EUA) para obtenção dos cortes ultrafinos (espessura entre 50 e 90 nm). Em seguida, os cortes ultrafinos foram coletados em *grids* de cobre de 300 *mesh*, contrastados com solução de acetato de uranila (2%, m/v) e, então, observados no TEM utilizando ampliações de 30 e 50 kx à 80 kV. A análise foi realizada no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (NMM-UFV).

2.5.2. Rugosidade de superfície

A rugosidade média de superfície foi avaliada com auxílio de um perfilômetro 3D Bruker CountourGT (Billerica, MA, EUA). As imagens foram obtidas em uma área de 475 x 625 μm dos filmes e a rugosidade média foi expressa em μm .

2.5.3. Espessura

A espessura dos filmes foi obtida com auxílio de um micrômetro digital ID-C112XB (Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japão) em 10 pontos aleatório de cada amostra (POLA *et al.*, 2016).

2.5.4. Resistência mecânica

Resistência à tração (RT), alongamento na ruptura (AR) e Módulo de Young (MY) dos filmes nanocompósitos foram determinados utilizando a Máquina Universal de Testes Mecânicos Instron 3367 (Instron Corporation, Norwood, MA, EUA) equipado com célula de carga de 1 kN, de acordo com a ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Foram utilizadas separação entre garras de 50 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ e distância inicial entre garras de 100 mm. Sete corpos de prova (150 x 25 mm) foram avaliados para cada repetição de cada tratamento.

2.5.5. Permeabilidade a vapor de água (PVA)

PVA foi determinada pelo método gravimétrico de acordo com a ASTM E96 / E96 – 14 (ASTM, 2014) com algumas modificações. As amostras foram cortadas em círculos ($\varnothing = 82,3$ mm) e montadas em cápsulas de poli(metil metacrilato) contendo 10 mL de solução saturada de cloreto de lítio (Vetec Química, Duque de Caxias, RJ, Brasil) em seu interior, conferindo, aproximadamente, 11% de umidade relativa (UR). Os filmes foram selados às cápsulas com parafina para assegurar que a difusão da umidade ocorresse exclusivamente através do filme. Então, as cápsulas foram armazenadas em câmara climática modelo 420 CLDTS (Ethicktechnology, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil) e mantidas a 25 ± 2 °C e $75 \pm 5\%$ UR. Oito pesagens foram realizadas periodicamente para cada cápsula após a difusão alcançar o estado estacionário. Os valores de PVA foram reportados em $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$.

2.5.6. Permeabilidade ao Oxigênio (PO₂)

A PO₂ dos filmes nanocompósitos foram determinadas com auxílio de um *Gas Permeability Tester*, modelo VAC-V1 (Labthink Instruments Co., Shandong, China) de acordo com a ASTM D1434-09 (ASTM, 2009). As amostras foram previamente acondicionadas a 50% de UR e 23 °C por 48 h, e fixadas na célula de permeação de gás formando uma barreira selada entre os dois compartimentos. O oxigênio inicial presente na câmara foi removido dos dois compartimentos por vácuo durante 8 h. Em seguida, foi liberado o fluxo de oxigênio no compartimento superior, sendo determinada a quantidade permeada para o compartimento inferior. Os valores de PO₂ foram reportados em $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$.

2.5.7. Transmissão de luz

A luz transmitida pelas amostras foi analisada utilizando um espectrofotômetro UV/VIS (Modelo UV-1800, Shimadzu Co. Kyoto, Japão). Amostras retangulares (3 x 4 cm) foram posicionadas diretamente no suporte para filmes do espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em porcentagem de transmitância em 600 nm por 100 μm (T_{600}), representando a transparência dos filmes.

2.5.8. Termogravimetria (TGA)

A estabilidade térmica e o perfil de decomposição dos filmes nanocompósitos foram determinadas com auxílio de um analisador termogravimétrico DTG-60 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Amostras de 5 mg dos filmes foram aquecidos de 25 °C até 800 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C·min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio (50 mL·min⁻¹). A medida da perda de massa foi realizada em função da temperatura.

2.5.9. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de DSC foi realizada utilizando um calorímetro DSC 60 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Amostras dos filmes (3 mg) foram pesadas e seladas em “painéis” de alumínio. Cada amostra foi aquecida de -50 à 250 °C utilizando taxa de aquecimento de 10 °C·min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio (30 mL·min⁻¹). A energia envolvida nos eventos térmicos foi medida em função da temperatura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização das nanoceluloses

O conhecimento das propriedades das partículas utilizadas como reforço de um polímero é determinante para avaliação dos efeitos causados e para suportar a discussão sobre as novas características possivelmente conferidas ao material. Assim sendo, os principais resultados obtidos da caracterização das nanoceluloses são descritos a seguir.

Os difratogramas obtidos para os CNC e CNF e utilizados para calcular o IC podem ser observados na Figura 12. O pico de difração referente ao plano cristalino 002 foi observado em ambas amostras a, aproximadamente, $2\theta = 22.6^\circ$. Este pico é referente a celulose nativa e, como é indicativo da cristalinidade do material, apresentou intensidade muito maior no CNC quando comparado a CNF (ABDOLLAHI *et al.*, 2013).

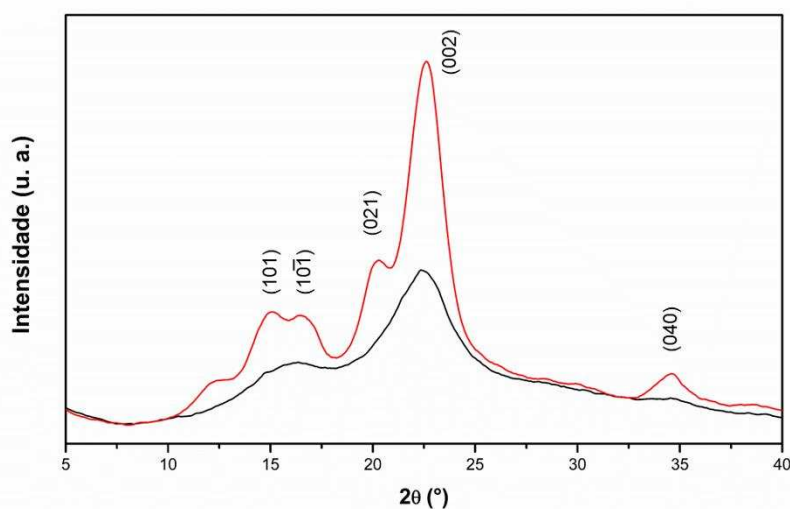


Figura 12. Difrátogramas de raios-x dos nanocristais de celulose (CNC, —) e das nanofibrilas de celulose (CNF, —).

Como descrito anteriormente a intensidade do pico cristalino foi relacionada com a intensidade referente aos domínios amorfos – menor intensidade observada entre os picos dos planos cristalinos 101 e 002 – para obtenção do IC. O IC dos CNC e das CNF foi de 87,61% e 66,08%, respectivamente. Como esperado o IC dos CNC foi superior às CNF, uma vez que foram submetidos ao processo de hidrólise ácida para clivagem dos domínios amorfos e isolamento dos domínios cristalinos (ABDOLLAHI *et al.*, 2013). Acredita-se que a adição de materiais com elevado grau de organização estrutural, caso estes venham a interagir intimamente com a matriz polimérica, seja capaz de melhorar as características de desempenho dos biopolímeros, seja por transferência de exigências mecânicas ou aumento da barreira a permeação, entre outros (HABIBI *et al.*, 2010; QAZANFARZADEH e KADIVAR, 2016).

Os valores de potencial zeta dos CNC e das CNF foram $-56,60 \pm 0,26$ mV e $-26,30 \pm 1,50$ mV, respectivamente. A carga superficial líquida negativa apresentada em ambas nanoceluloses é originada pelo processo de extração no qual os grupamentos OH são expostos pelo rompimento da estrutura fibrilar (EL MIRI *et al.*, 2015). Além disso, a utilização de agentes oxidativos durante o processo de isolamento das CNFs promove a formação de grupamentos carboxila em sua superfície (ZHOU *et al.*, 2012). No CNC, por sua vez, além da exposição dos grupamentos OH também ocorre o processo de enxertia de

grupos sulfatos, provenientes da hidrólise ácida, no qual ácido sulfúrico é utilizado para obtenção dos domínios cristalinos (HABIBI *et al.*, 2010). De acordo com Morais *et al.* (2013), suspensões de nanoceluloses apresentando valores superiores a 25 mV, em módulo, são consideradas estáveis cineticamente. Os valores de potencial zeta observados são importantes para a obtenção da estabilidade da suspensão das nanoceluloses durante o processo de produção dos filmes, reduzindo, por exemplo, a incidência de aglomerações e sedimentação, como observado a seguir pela análise de microscopia.

As micrografias das nanoceluloses, bem como os histogramas referentes aos tamanhos medidos a partir das micrografias, podem ser observadas nas Figuras 13 e 14.

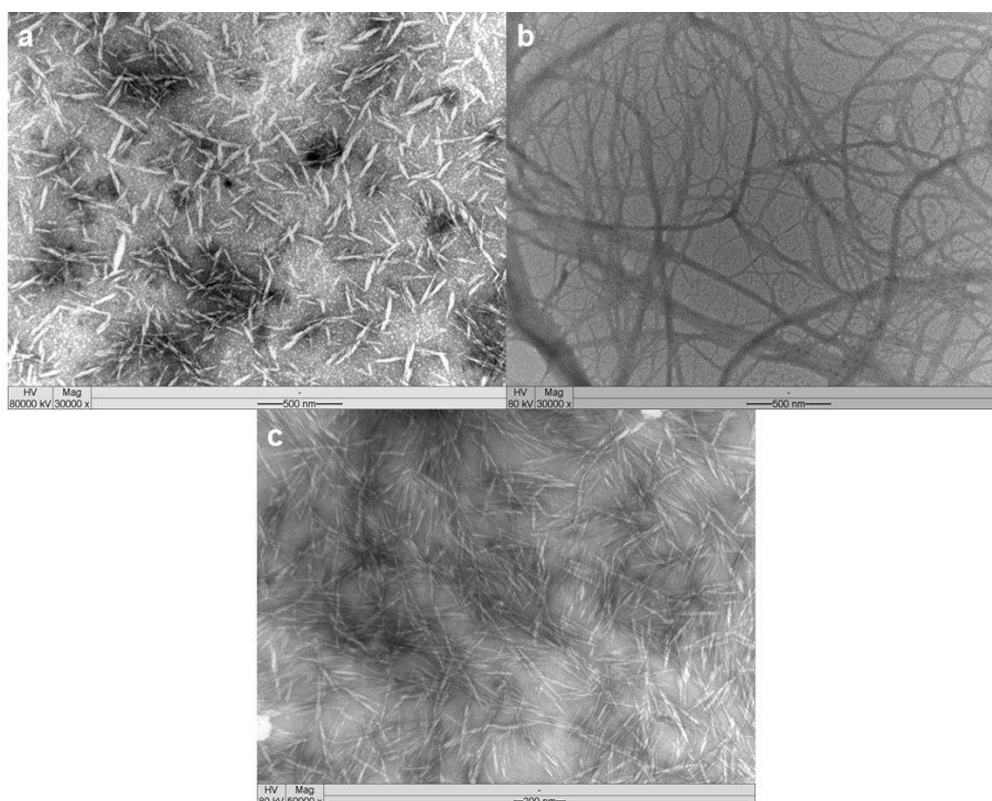


Figura 13. Fotomicrografias obtidas por TEM da (a) suspensão de nanocristais de celulose (CNC) na magnificação 30 kx; (b) suspensão de nanofibrilas (CNF) de celulose na magnificação de 30 kx; (c) filme nanocompósito contendo 3,0% (m/m) de CNF e 0,6% (m/m) de CNF – ponto central do delineamento composto central rotacional (DCCR) – na magnificação 50 kx; usando 80 kV.

As CNFs apresentaram formato similar ao de tubos cilíndricos formando uma espécie de rede entrelaçada, apresentando largura média de $17,95 \pm 8,48$

nm. Por se originar de uma fibrila elementar, compostas de domínios cristalinos e amorfos, as CNF apresentam comprimentos em valores micrométricos (DUFRESNE, 2017), e por isso a avaliação por imagem se torna limitada pela difícil determinação das extremidades, como pode ser observado na Figura 13b.

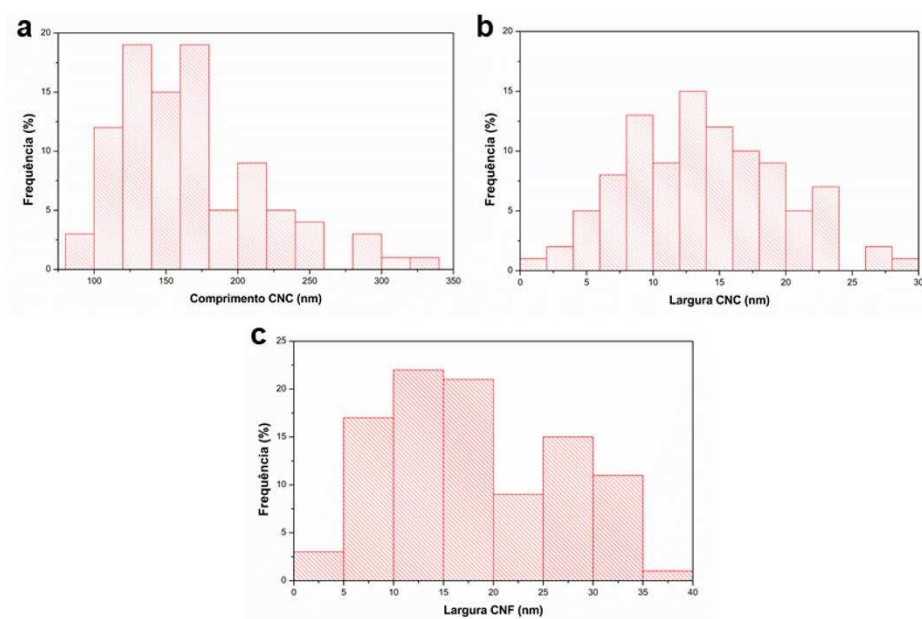


Figura 14. Histogramas da distribuição de comprimento e largura dos nanocristais de celulose (CNC; a, b) e largura das nanofibrilas de celulose (CNF; c) obtidos a partir de 100 leituras com o software *ImageJ*.

Os CNC apresentaram formato similar ao de agulhas com comprimento médio de $167,88 \pm 51,45$ nm, enquanto a largura média foi de $13,93 \pm 5,83$ nm. O comprimento médio obtido para os CNCs foi similar ao valor do comprimento aparente obtido por espalhamento dinâmico de luz ($154,66 \pm 0,97$ nm), que apesar de ser uma técnica desenvolvida para avaliação de partículas esféricas, demonstrou-se capaz de fornecer resultados relevantes para determinação do tamanho de CNCs. A razão de aspecto calculada para os CNC do presente estudo foi de 12,05. De acordo com Kargarzadeh *et al.* (2017), CNCs que apresentam razão de aspecto superior a 10 são potencialmente eficientes para melhorar as propriedades mecânicas de nanocompósitos, uma vez que tendem a se confinar entre as cadeias poliméricas de forma mais eficiente, aumentando a capacidade de transferência de estresse mecânico, por exemplo. Variações no comprimento e largura das nanoceluloses se dão de acordo com a fonte da qual

são obtidas e com o processo de obtenção, principalmente para o caso do CNC (HABIBI *et al.*, 2010; OUN e RHIM, 2016). De forma geral os valores observados no presente estudo são similares a faixa de comprimento e largura reportadas por outros autores para CNC obtidos por hidrólise ácida (BONDESON *et al.*, 2006; CHO e PARK, 2011; MANDAL e CHAKRABARTY, 2014).

Os espectros no infravermelho das nanoceluloses podem ser observados na Figura 15. As nanoceluloses apresentaram uma larga banda de absorção entre 3700 e 3050 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento dos grupamentos hidroxilas presentes em grande quantidade na cadeia de celulose (REDDY e RHIM, 2014).

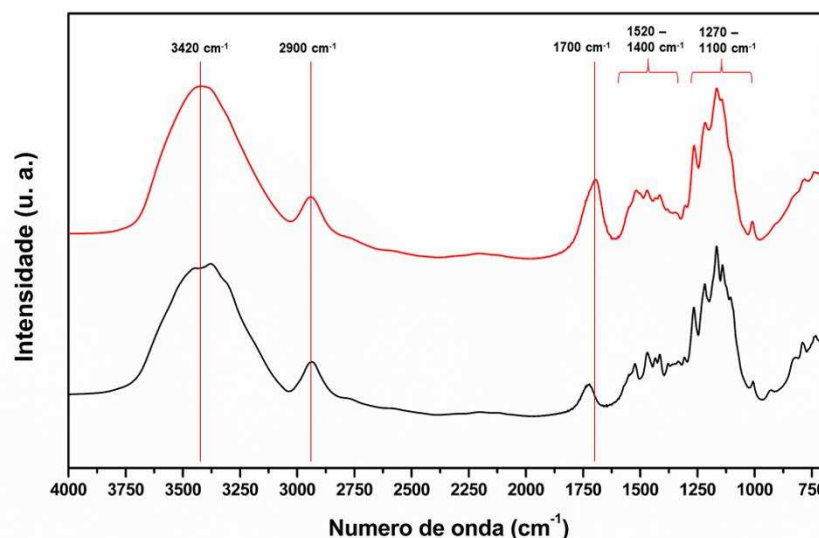


Figura 15. Espectros FTIR-ATR das nanofibrilas de celulose (CNF, —) e dos nanocristais de celulose (CNC, —).

Da mesma forma, tanto o CNC quanto a CNF apresentaram um pico em 2900 cm^{-1} , o qual é atribuído ao estiramento simétrico de C-H das cadeias da celulose (REDDY e RHIM, 2014). Outro pico com grande intensidade foi observado em 1700 cm^{-1} no espectro da CNF. Segundo Pereira *et al.* (2014) esse pico é referente ao estiramento O-H da água absorvida pela CNF, juntamente com o estiramento da C=O. Além disso, de acordo com Jiang e Hsieh (2013) na CNF ocorre a sobreposição deste pico com a vibração assimétrica da COO^- , provenientes do processo oxidativo utilizado durante a preparação da mesma ou ainda da eventual presença de resíduos de hemicelulose (SYVERUD

et al., 2011). O mesmo pico também foi observado no espectro do CNC, porém com menor intensidade e deslocamento em direção a maiores valores de número de onda, indicando menor quantidade de água absorvida, possivelmente, pela maior intensidade da interação intermolecular presente nas regiões cristalinas. Alguns picos sobrepostos e de menor intensidade foram observados entre 1520 e 1400 cm^{-1} e estão relacionados a vibração angular do CH_2 . De acordo com Wang *et al.* (2017) esta vibração angular é proveniente da vibração da banda cristalina da celulose, o que explica a maior intensidade no espectro do CNC. Outros picos de maior intensidade foram observados entre 1270 e 1100 cm^{-1} e correspondem ao estiramento dos C-O-C das ligações glicosídicas da celulose (SHANKAR e RHIM, 2016). A intensidade destes picos é maior no espectro do CNC pois, como estes foram submetidos à hidrólise utilizando ácido sulfúrico, há sobreposição com estiramentos assimétricos do S=O que ocorrem entre 1410 e 1290 cm^{-1} e simétricos, que ocorrem de 1205 a 1100 cm^{-1} (BARBOSA, 2007; MORAIS *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2014).

3.2. Caracterização dos filmes nanocompósitos

3.2.1. Microscopia eletrônica de transmissão e perfilometria

A TEM é a principal forma de avaliar a dispersão das nanoceluloses na matriz polimérica. Como fica evidente as nanoceluloses se apresentaram dispersas com considerável homogeneidade ao longo dos filmes nanocompósitos (Figura 13c). Também foi possível observar pontos onde há maior concentração das nanoceluloses, porém não foram observadas formações de grandes aglomerações nos filmes. A boa dispersão observada é atribuída ao processo de homogeneização ultrasônico utilizado durante a produção dos filmes nanocompósitos, o qual permitiu a formação da suspensão de nanoceluloses, sem que aglomerados ou material decantado pudessem ser observados e assim se mantiveram quando adicionados na formulação filmogênica. As melhorias nas propriedades de desempenho dos filmes, principalmente mecânicas e de barreira, são obtidas quando as nanoceluloses se encontram aleatoriamente dispersas ao longo da matriz poliméricas e sem a

formação de aglomerados, pois estes podem ser fonte de tensões pré-formadas e podem dar origem a falhas no material (MONDAL, 2017).

A rugosidade média da superfície (RU) dos filmes nanocompósitos desenvolvidos não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) com a adição de CNC e CNF nos níveis estudados (Tabela 1). Sendo assim, o Teste t foi aplicado para comparar o valor médio da rugosidade média de superfície dos filmes nanocompósitos ($2,89 \pm 1,35 \mu\text{m}$) com o filme controle ($2,72 \pm 0,51 \text{ mm}$), não sendo observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre elas. Dessa forma, mesmo com a adição de componentes de elevada cristalinidade, a rugosidade média dos filmes nanocompósitos, de forma geral, não foi alterada. Como pôde ser observado na Figura 16, as amostras apresentaram regiões com picos e outras com vales, porém a variação de altura entre o ponto mais baixo e mais alto, manteve-se similar.

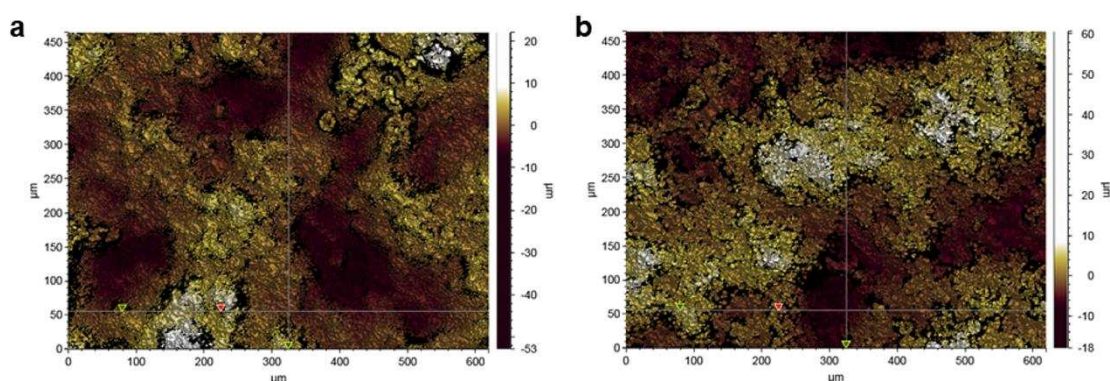


Figura 16. Micrografias do perfil topográfico do (a) filme nanocompósito contendo 3% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) CNF – ponto central do delineamento composto central rotacional – e; (b) filme controle – sem adição de CNC e CNF. Magnificação de 10x em área de 475 x 625 μm .

Esses resultados são um indicativo de que não só o processo de produção é eficiente para obtenção de filmes com homogeneidade na superfície, mas também que a dispersão das nanoceluloses foi alcançada no interior da matriz polimérica de forma eficiente, como também observado pela análise TEM, sem comprometer a rugosidade dos filmes.

3.2.2. Espessura e resistência mecânica

Os resultados da caracterização mecânica dos filmes nanocompósitos podem ser observados na Tabela 1 para cada variável resposta estudada de acordo com a correspondente combinação dos níveis das variáveis dependentes CNC e CNF. Os valores observados para cada variável resposta foram utilizados para análise do DCCR.

O modelo de regressão para a espessura foi não significativo ($p > 0,05$) entre os filmes nanocompósitos produzidos baseado no DCCR, indicando boa homogeneidade no processo de produção dos mesmos. Desta forma, Teste t foi aplicado para comparar o valor médio da espessura dos filmes nanocompósitos ($135,89 \pm 5,18 \mu\text{m}$) com o filme controle ($87,85 \pm 11,31 \mu\text{m}$), apresentando diferença significativa ($p < 0,05$). O aumento de 57% na espessura dos filmes nanocompósitos em relação ao filme controle se deveu à incorporação do CNC e da CNF na matriz polimérica. O aumento da espessura com o aumento da quantidade de nanocelulose incorporada também foi observada por Shankar e Rhim (2016) ao estudarem o desenvolvimento de nanocompósitos à base de ágar incorporados com CNC. De acordo com esses autores, o aumento da espessura está diretamente relacionado com o aumento da quantidade de partículas sólidas na matriz polimérica, porém também é influenciado pelo processo de produção. O mesmo comportamento foi reportado previamente por outros autores ao avaliar o efeito do CNC e CNF na espessura de filmes nanocompósitos (ALVES *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2017).

Entre as propriedades mecânicas de um filme, a resistência à tração, o alongamento e o módulo de elasticidade são as três propriedades mais utilizadas como indicadores do desempenho mecânicos. A resistência à tração fornece informação sobre a máxima tensão suportada pelo material até o momento da ruptura, quando o mesmo é tracionado. Já o alongamento indica a habilidade do material de incrementar seu comprimento antes de sofrer a ruptura. Por sua vez, o módulo de elasticidade atua como um indicativo da rigidez do mesmo (CANEVAROLO JR., 2007).

Tabela 1. Concentração de nanocristais de celulose (CNC) e nanofibrilas de celulose (CNF) nas formulações filmogênicas à base de amido/PVOH e resultados observados da caracterização das propriedades dos diferentes filmes.

TRT ^a	CNC (%) ^b	CNF (%) ^b	ESP (µm)	RT (MPa)	AR (mm)	ME (MPa)	PVA (kg·m ⁻¹ ·s ⁻¹ ·Pa ⁻¹)x10 ⁷	PO ₂ (kg·m ⁻¹ ·s ⁻¹ ·Pa ⁻¹)x10 ¹⁹	T _{600nm} (%)	RU (µm)
13c	3,0 (0)	0,6 (0)	138,46	7,81	191,44	162,02	4,59	7,09	61,89	2,56
9c	3,0 (0)	0,6 (0)	138,91	7,84	196,74	121,46	5,06	5,79	70,85	3,07
8	3,0 (0)	1,17 (+1,41)	129,23	7,26	133,38	113,73	6,16	7,01	52,81	6,73
1	1,0 (-1)	0,2 (-1)	135,31	7,26	163,87	128,42	5,73	5,53	62,70	2,10
11c	3,0 (0)	0,6 (0)	135,80	7,25	197,12	108,15	5,04	7,39	57,11	2,75
4	5,0 (+1)	1,0 (+1)	136,91	9,22	211,38	207,45	5,49	5,59	61,02	2,58
2	5,0 (+1)	0,2 (-1)	129,87	7,14	184,50	150,67	5,16	1,58	63,34	1,62
10c	3,0 (0)	0,6 (0)	136,43	7,87	238,65	108,63	4,63	6,51	52,73	2,06
7	3,0 (0)	0,03 (-1,41)	128,93	5,82	184,82	95,10	6,59	4,83	72,70	2,55
6	5,89 (+1,41)	0,6 (0)	131,23	7,39	207,31	149,02	5,90	3,82	73,35	2,43
3	1,0 (-1)	1,0 (+1)	139,37	5,29	134,89	63,41	5,38	5,28	52,69	4,46
12c	3,0 (0)	0,6 (0)	147,49	6,97	167,85	125,22	4,79	5,39	58,00	2,93
5	0,17 (-1,41)	0,6 (0)	138,74	5,95	144,60	76,16	5,65	5,85	48,73	2,26

^aTratamento. ^bConcentrações de CNC e CNF foram adicionadas em relação ao peso da massa polimérica, multiplicado por 100 para gerar os valores em porcentagem. ESP: espessura; RT: resistência à tração; AR: alongamento na ruptura; ME: módulo de elasticidade; PVA: permeabilidade ao vapor de água; PO₂: permeabilidade ao oxigênio; T_{600nm}: transmissão de luz a 600 nm; RU: rugosidade aparente.

Os modelos de regressão ajustados para representar a influência do CNC e CNF sobre a resistência máxima à tração e módulo de elasticidade foram significativos ($p < 0,05$) para os filmes nanocompósitos produzidos, ao mesmo tempo que apresentaram falta de ajuste não significativa ($p > 0,05$; Tabela 2).

Tabela 2. Coeficientes de regressão estimados para resistência máxima à tração (RT), módulo de elasticidade (ME), permeabilidade ao vapor de água (PVA) e permeabilidade ao oxigênio (PO₂).

Variáveis independentes*	RT (MPa)	ME (MPa)	PVA (kg·m ⁻¹ ·s ⁻¹ ·Pa ⁻¹)x10 ⁷	PO ₂ (kg·m ⁻¹ ·s ⁻¹ ·Pa ⁻¹)x10 ¹⁹
Constante	7,549	125,096	4,821	6,435
CNC	0,730	33,666	-0,014	-0,813
CNF	0,269	2,264	-0,079	0,853
CNC ²	-0,283	0,992	0,318	-1,021
CNF ²	-0,349	-3,096	0,618	-0,478
CNCxCNF	1,012	30,448	0,169	1,065
Regressão	F ^a	6,240	4,234	7,538
	p ^b	0,016	0,043	0,010
FAJ	F ^a	3,264	6,4757	0,779
	p ^b	0,142	0,321	0,564

*CNF: nanofibrilas de cellulose; CNC: nanocristais de cellulose; FAJ: falta de ajuste do modelo. Valores em negrito e itálico são significativos a $\alpha = 0.05$. ^aTeste F. ^bvalor p.

A resistência à tração foi influenciada pelo efeito linear e positivo do CNC ($p < 0.05$), indicando que quanto maior a concentração de CNC no filme nanocompósito maior a resistência à tração dos mesmos (Figura 17a). Além disso, o coeficiente significativo e positivo da interação CNCxCNF indica a existência de um efeito sinérgico entre esses dois componentes, aumentando a resistência à tração dos filmes nanocompósitos.

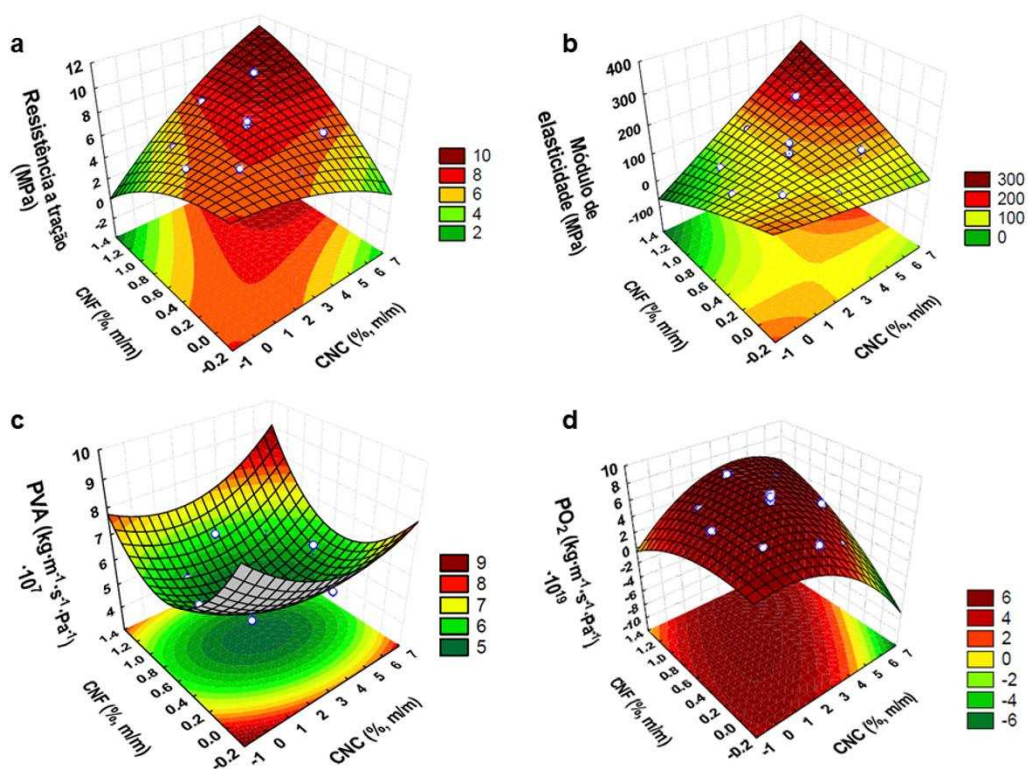


Figura 17. Superfícies de respostas referêntes a: (a) resistência à tração (MPa); (b) módulo de elasticidade (MPa); (c) permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$) $\times 10^7$ e; (d) permeabilidade ao oxigênio (PO₂, $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$) $\times 10^{19}$, dos filmes nanocompósitos desenvolvidos.

Da mesma forma, o módulo de elasticidade também foi influenciado pelo efeito linear e positivo do CNC ($p < 0.05$) indicando a ocorrência do aumento da rigidez do material com o aumento da concentração do mesmo (Figura 17b). O coeficiente da interação também foi significativo e positivo reforçando a ocorrência do efeito sinérgico do CNC e CNF no aumento da rigidez dos filmes nanocompósitos. O efeito do CNC no aumento da resistência à tração e módulo de elasticidade dos filmes nanocompósitos é atribuído a formação de um complexo de elevada e íntima interação entre as nanoceluloses e a matriz polimérica por meio de pontes de hidrogênio, dessa forma, quando o estresse mecânico é aplicado ocorre a efetiva transferência de exigência entre os componentes do complexo formado (MONDAL, 2017; NOSHIRVANI *et al.*, 2017). O reforço mecânico nos nanocompósitos é diretamente dependente das propriedades das nanoceluloses, principalmente, área interfacial, razão de aspecto, tipo de interação interfacial e forma de incorporação na matriz

polimérica (DUFRESNE, 2017). Cargas com elevada razão de aspecto, como a do CNC (12,05), permitem o ganho de reforço mecânico pela dispersão deste componente com enorme área interfacial por entre as cadeias da blenda polimérica. Tal dispersão na blenda polimérica está relacionada com a técnica utilizada para produção dos filmes, na qual foi utilizado um homogeneizador ultrasônico para garantir a dispersão das nanoceluloses na formulação filmogênica.

De acordo com Habibi *et al.* (2010) a incorporação de CNC em filmes nanocompósitos por *casting* permite a obtenção de satisfatório reforço mecânico, uma vez que durante o lento processo de evaporação do solvente, o movimento Browniano permite o rearranjo dos CNC, resultando no rearranjo dos mesmos juntamente com as cadeias poliméricas. Por apresentar grande quantidade de grupamentos OH, assim como a blenda polimérica, o CNC consegue interagir fortemente com as cadeias do polímero aumentando a compactação das cadeias dando origem a uma estrutura contínua, na qual o estresse é distribuído de forma mais uniforme, restringindo parcialmente sua mobilidade e, conseqüentemente, aumentando a resistência à tração e a rigidez dos filmes (AZEREDO *et al.*, 2017; DUFRESNE, 2017; HABIBI *et al.*, 2010).

Apesar da CNF não ter exercido efeito significativo, individualmente, o possível reforço promovido pela sua adição na matriz polimérica se deu, basicamente, da mesma forma que o CNC. Além disso, a CNF possui a particularidade de formar emaranhados ao longo da matriz polimérica, nos quais houve interação tanto com o polímero quanto com os CNCs incorporados, resultando no efeito sinérgico observado no presente estudo (DUFRESNE, 2017).

O aumento na rigidez e na resistência devido à incorporação de CNC observado no presente trabalho estão de acordo com resultados reportados por diversos autores, mesmo utilizando diferentes matrizes poliméricas, tais como amido (CAMPOS *et al.*, 2017; SANTANA *et al.*, 2017); PVOH (PEREIRA *et al.*, 2014); alginato de sódio (ABDOLLAHI *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2017); e pectina (CHAICHI *et al.*, 2017), entre outros.

O alongamento na ruptura (AR) dos filmes nanocompósitos desenvolvidos não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) com a adição de CNC e CNF

nos níveis estudados. Sendo assim, o Teste t foi aplicado para comparar o valor médio do AR dos filmes nanocompósitos ($181,27 \pm 31,31$ mm) com o filme controle ($116,24 \pm 15,03$ mm), sendo observada diferença significativa entre elas.

A presença de CNC/CNF na matriz polimérica promoveu o incremento de aproximadamente 56% na capacidade de alongamento dos filmes nanocompósitos em relação ao controle. Este comportamento também foi observado por Mandal e Chakrabarty (2014) ao avaliar a incorporação de CNC em filmes de PVOH. De acordo com esses autores a elevada capacidade de retenção de água do CNC e CNF resultou na ocorrência do efeito plastificante por parte das nanoceluloses. Da mesma forma, Chaichi *et al.* (2017) observaram aumento na AR de filmes de pectina incorporados com CNC. Os autores atribuíram o aumento na AR a efetiva transferência de estresse mecânico do polímero para o CNC. Pela CNF possuir partes amorfas e cristalinas, acredita-se que esta tenha exercido efeito determinante no aumento da AR dos filmes nanocompósitos, visto que os emaranhados de CNF contendo regiões amorfas, conferem a esta maior capacidade de deformação quando comparado ao, puramente cristalino, CNC (AZEREDO *et al.*, 2017).

Levando em consideração a demanda mecânica pela qual uma embalagem de alimentos é submetida ao longo da vida útil do produto, melhorias nas propriedades mecânicas, como as obtidas no presente estudo, são extremamente importantes para aumentar as possibilidades de aplicação dos filmes nanocompósitos.

3.2.3. Permeabilidade a vapor de água (PVA)

O modelo de regressão ajustado para representar a influência do CNC e CNF sobre a permeabilidade ao vapor de água foi significativo ($p < 0.05$) para os filmes nanocompósitos produzidos e apresentou falta de ajuste não significativa (Tabela 2). De acordo com os coeficientes da regressão da superfície de resposta os efeitos quadráticos do CNC e da CNF foram significativos e positivos, indicando a existência de curvatura na superfície de resposta. Como é possível observar na Figura 16c, com a adição das nanoceluloses a PVA atingiu um valor mínimo ($4,59 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\cdot 10^7$) a partir do qual a mesma aumentou

quadraticamente com o aumento da concentração do CNC e CNF na matriz polimérica.

A dispersão do CNC e da CNF ao longo da matriz polimérica é capaz de promover a formação de um caminho tortuoso, aumentando o percurso de difusão das moléculas de água através do filme e, conseqüentemente, reduzindo a permeabilidade (FERRER *et al.*, 2017). A capacidade de formação de tal caminho tortuoso se deve, exatamente, à elevada razão de aspecto apresentada pelas nanoceluloses, como foi observado nas análises morfológicas descritas anteriormente. Além disso, a formação de interações de hidrogênio entre CNC e CNF e os componentes da blenda polimérica contribuem para a compactação e formação de uma estrutura coesa, reduzindo os espaços vazios entre as cadeias poliméricas, resultando na redução da difusividade da água pelo filme (ABDOLLAHI *et al.*, 2013).

Comportamento similar foi reportado por outros autores (QAZANFARZADEH e KADIVAR, 2016; REDDY e RHIM, 2014; SANTANA *et al.*, 2017). Ao avaliar a incorporação de nanoceluloses em filmes de PVOH, Mandal e Chakrabarty (2014) observaram que, com o aumento da concentração de nanoceluloses incorporadas houve, inicialmente, a redução da PVA, que na seqüência atingiu valor mínimo e em seguida passou a aumentar proporcionalmente. De acordo com estes autores as interações intermoleculares entre as nanocelulose e a matriz polimérica, por meio de interações de hidrogênio reduz os sítios livres para interação com as moléculas de água aumentando, então, a resistência à sua difusão. Da mesma forma Chaichi *et al.* (2017) reportaram redução na PVA de filmes de pectina incorporados com CNC. Porém, com o aumento da concentração de CNC incorporado nos filmes, a PVA passou a aumentar proporcionalmente. Os autores atribuíram tal comportamento a formação de agregados de CNC, dando origem a espaços vazios e caminhos preferenciais que aceleraram a difusão de moléculas de água na matriz polimérica fazendo com que permeassem não apenas por difusão, mas também por capilaridade.

3.2.4. Permeabilidade ao oxigênio (PO₂)

O modelo de regressão ajustado para representar a influência do CNC e CNF sobre a permeabilidade ao oxigênio foi significativo para os filmes nanocompósitos produzidos apresentando ainda, falta de ajuste não significativa (Tabela 2). De acordo com os coeficientes da regressão da superfície de resposta o efeito linear do CNC foi significativo ($p < 0,05$) e negativo indicando que com o aumento da concentração de CNC na matriz polimérica ocorreu a redução da PO₂ através dos filmes nanocompósitos. Além disso, como o coeficiente quadrático foi significativo e negativo, há uma curvatura na superfície de resposta no sentido da redução da PO₂. O coeficiente linear da CNF foi significativo e positivo indicando que a presença de maiores concentrações de CNF resulta no aumento da PO₂ dos filmes nanocompósitos. A interação CNC/CNF também foi significativa e positiva, indicando efeito antagonístico entre ambos. Como pode ser observado na superfície (Figura 17d) a PO₂ tendeu a ser menor em maiores concentrações de CNC e menores concentrações de CNF.

Na literatura, a CNF é frequentemente descrita por apresentar os melhores resultados na redução da permeabilidade ao oxigênio (FERRER *et al.*, 2017). Ao comparar as propriedades de barreira da CNF e CNC, Belbekhouche *et al.* (2011) reportaram a CNF como a nanocelulose mais eficiente na limitação da permeação de oxigênio em filmes de celulose microfibrilada. De acordo com os autores, tal fato se deveu a maior capacidade da CNF de formar emaranhados na matriz polimérica aumentando a tortuosidade. Porém, esse comportamento não foi observado no presente estudo, onde o CNC se apresentou determinante para redução da PO₂. Mondragon *et al.* (2015) também observaram redução na PO₂ de filmes de gelatina, especialmente quando as concentrações de CNC entre 5 e 10% (m/m) foram adicionadas.

Os CNC apresentam tamanho e formato mais uniforme do que a CNF, facilitando sua disposição entre as cadeias poliméricas. Dessa forma, acredita-se que a barreira proporcionada pelos CNC apresenta menor permeabilidade quando comparada com a CNF, devido a esta última apresentar regiões desordenadas uma vez que também é constituída por domínios amorfos (FERRER *et al.*, 2017). Assim sendo, a elevada cristalinidade do CNC, bem como seu reduzido e uniforme tamanho, a tornam mais eficiente no

preenchimento dos espaços vazios entre as cadeias e, com isso, na formação de um caminho tortuoso para passagem das moléculas de O₂ (NAIR *et al.*, 2014). Além disso, a difusividade pela matriz polimérica é altamente dependente da molécula permeante, que nesse caso não interage tanto com as cadeias poliméricas como a molécula de água, fazendo com que as três etapas relacionadas ao processo de difusão de uma molécula através do filme, ou seja, adsorção, difusão e dessorção, ocorram em taxas mais elevadas (FERRER *et al.*, 2017).

3.2.5. Transmissão de luz

A transmissão de luz não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os filmes nanocompósitos desenvolvidos. Desta forma, Test t foi aplicado para comparar o valor médio da transmissão de luz dos filmes nanocompósitos ($60,60 \pm 8,03\%$) com o filme controle ($73,30 \pm 0,24\%$), sendo observada diferença significativa entre elas. A presença de CNC e CNF na matriz polimérica promoveu redução de aproximadamente 17% na transmissão de luz dos filmes compósitos em relação ao filme controle.

A dispersão do CNC e da CNF na matriz polimérica, como evidenciado pelos resultados da TEM, bem como a maior compactação das cadeias devido as interações de hidrogênio entre as mesmas e as nanoceluloses, promoveram o aumento da barreira a passagem da luz, reduzindo a transparência dos filmes (ALVES *et al.*, 2015). Segundo Pereda *et al.* (2011) as nanoceluloses aleatoriamente dispersas nos filmes nanocompósitos são capazes de espalhar a luz incidente reduzindo a quantidade total transmitida. Além disso, a formação de uma fase contínua e uma fase dispersa origina variações nos índices de refração, contribuindo para a barreira a luz.

A redução da transmissão de luz também foi observada por Qazanfarzadeh e Kadivar (2016) ao avaliar a incorporação de CNC em filmes nanocompósitos de isolado protéico de soro de leite. Os autores atribuíram a redução na transmissão de luz ao espalhamento de luz promovido pelos CNC dispersos ao longo do filme. Li *et al.* (2014) observaram redução de quase 40% na transmissão de luz de nanocompósitos de PVOH incorporados com 10% (m/m) de CNF. De acordo com os autores a limitada dispersão das CNF nos

filmes produzidos foi responsável pela considerável redução da transmissão de luz observada. A redução na transmissão de luz pela incorporação de CNC e CNF já foi reportada não apenas em matrizes biopoliméricas como alginato de sódio (ABDOLLAHI *et al.*, 2013), quitosana (LI *et al.*, 2009), caseinato de sódio (PEREDA *et al.*, 2011), mas também em derivadas do petróleo como polietileno (MAIA *et al.*, 2017). Uma vez que a luz pode desencadear uma série de processos que comprometem a vida útil do alimento, como oxidação lipídica, por exemplo, o aumento da barreira de luz, dependendo da aplicação, é altamente desejável (XU *et al.*, 2017).

3.2.6. Termogravimetria (TGA)

A estabilidade térmica dos filmes nanocompósitos produzidos foi avaliada por TGA (Figura 18). Os tratamentos TRT 6 (maior concentração de CNC – 5,89%), TRT 8 (maior concentração de CNF – 1,17%), ponto central (3,0% CNC e 0,6% CNF) e filme controle foram escolhidos para avaliação e comparação do comportamento térmico dos filmes nanocompósitos. De forma, geral três eventos principais foram observados nos filmes.

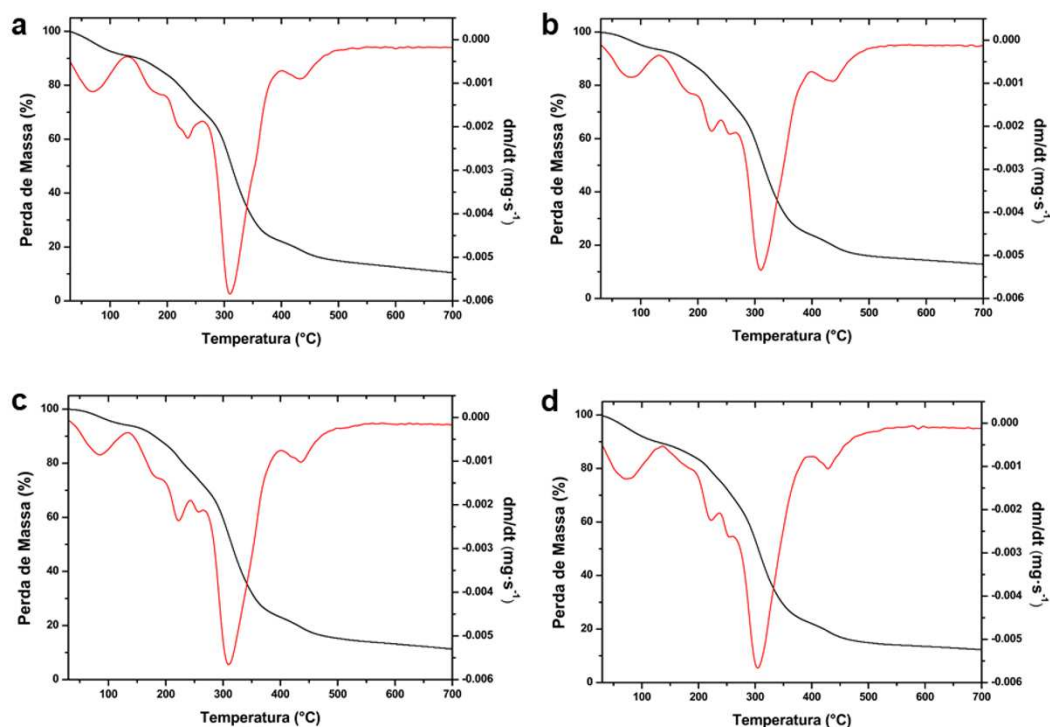


Figura 18. Curva termogravimétrica (TGA, —) e sua correspondente primeira derivada (DTG, —) referente aos filmes: (a) T6 – 5,89% CNC e 0,6% de CNF;

(b) T8 – 3,0% CNC e 1,17% de CNF; (c) ponto central do delineamento composto central rotacional (DCCR) – 3,0% CNC e 0,6% de CNF; (d) filme controle – sem incorporação de CNC e CNF.

O primeiro evento térmico de maior destaque apresentou temperatura de máxima taxa de variação de massa (T_{max}) entre, aproximadamente, 65 e 85 °C, dependendo do filme nanocompósito. Essa primeira perda de massa corresponde a dessorção e evaporação da água adsorvida pelos filmes, uma vez que os componentes da blenda polimérica possuem elevada afinidade à água (MONTERO *et al.*, 2017). Nesse estágio o filme controle (Figura 17d) apresentou a maior perda de massa, equivalente a 10,44% de sua massa inicial, provavelmente devido a ausência de nanoceluloses interagindo com os grupamentos OH da cadeia polimérica, permitindo maior adsorção de água na superfície do filme e entre as cadeias mais externas. A porcentagem de perda de massa nesse primeiro evento é similar a reportada para filmes de PVOH (MANDAL e CHAKRABARTY, 2014) e blendas de amido de ervilha e PVOH (CANO *et al.*, 2015). Já nos filmes nanocompósitos, a perda de umidade nessa etapa foi inferior, devido a maior interação entre os grupamentos OH das nanocelulose e cadeia polimérica como descrito anteriormente.

A estabilidade térmica dos filmes nanocompósitos foi mantida até temperaturas próximas de 135 °C, a partir da qual o segundo evento térmico dos filmes teve início. Este segundo evento térmico está relacionado principalmente à reações de desidratação da cadeia principal, seguida pela formação de compostos voláteis, cisão e despolimerização, resultando na decomposição do PVOH (MANDAL e CHAKRABARTY, 2014). Da mesma forma, nessa faixa de temperatura ocorreu a decomposição das moléculas de amilose e de amilopectina do amido devido à quebra das ligações glicosídicas como também observado por Moraes *et al.* (2017) e por Garcia *et al.* (2014). Um pequeno pico pode ser observado em torno de 230 °C e pode ser atribuído à degradação do glicerol, uma vez que se ligar as cadeias de PVOH e amido altera sua estrutura reduzindo seu ponto de ebulição (290 °C) (RAHMAN *et al.*, 2010). A presença das nanoceluloses aumentou a T_{max} do segundo evento térmico em relação ao filme controle. Além disso, os filmes nanocompósitos T6 (5,86% CNC e 0,60% CNF) e T8 (3,0% CNC e 1,17% CNF) apresentaram os maiores aumentos na

resistência térmica, sendo o primeiro o que apresentou maior valor de T_{max} . A maior estabilidade térmica observada foi devida ao aumento de domínios cristalinos no polímero proveniente da dispersão dos CNC e CNF, bem como a interação entre as mesmas e a matriz polimérica por interações de hidrogênio (DUFRESNE e CASTAÑO, 2017). A elevada organização dos domínios cristalinos eleva a resistência térmica dos filmes além de limitar a difusão dos gases liberados durante a degradação térmica. Chang *et al.* (2010) observaram aumento na temperatura de máxima taxa de degradação térmica com a incorporação de CNC em filmes de amido de trigo. Os autores justificaram o aumento na resistência térmica pela forte interação entre os CNC e o amido de trigo. Li *et al.* (2014) observaram aumento de mais de 16 °C na T_{max} de filmes nanocompósitos a base de PVOH, quando estes receberam a incorporação de 10% (m/m) de CNF. Por sua vez, Cho e Park (2011) observaram aumento proporcional da temperatura de degradação térmica com aumento da concentração de CNC em filmes de PVOH. Possivelmente, o pequeno pico observado em torno de 225 °C refere-se a degradação térmica das porções ricas em glicerol utilizado com plastificante do amido de milho, como também observado por Montero *et al.* (2017). Este resultado enfatiza o reforço térmico promovido pelo CNC uma vez que no filme nanocompósito T6 (5,89% CNC e 0,60% CNF), este mesmo evento foi observado em 235 °C. Ao final do segundo evento térmico a perda de massa dos filmes foi em torno de 76%.

Um terceiro evento térmico ainda ocorreu, tendo início em temperaturas próximas a 400 °C. Este evento é relacionado a degradação dos subprodutos gerados durante as reações ocorridas anteriormente na degradação térmica, como materiais carbonáceos, ocorrendo liberação de CO₂ e CO (MANDAL e CHAKRABARTY, 2014).

3.2.7. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A influência das nanoceluloses na fusão dos filmes são apresentadas na Figura 19. Da mesma forma que para a análise de TGA, os filmes nanocompósitos TRT 6, TRT 8, ponto central e controle foram selecionados para avaliação e comparação do comportamento térmico na análise de DSC. De forma geral, as curvas calorimétricas dos filmes nanocompósitos produzidos

apresentaram comportamento similar, porém com variação nas temperaturas de início, pico e fim do evento térmico em função das diferentes concentrações de nanoceluloses (Tabela 3).

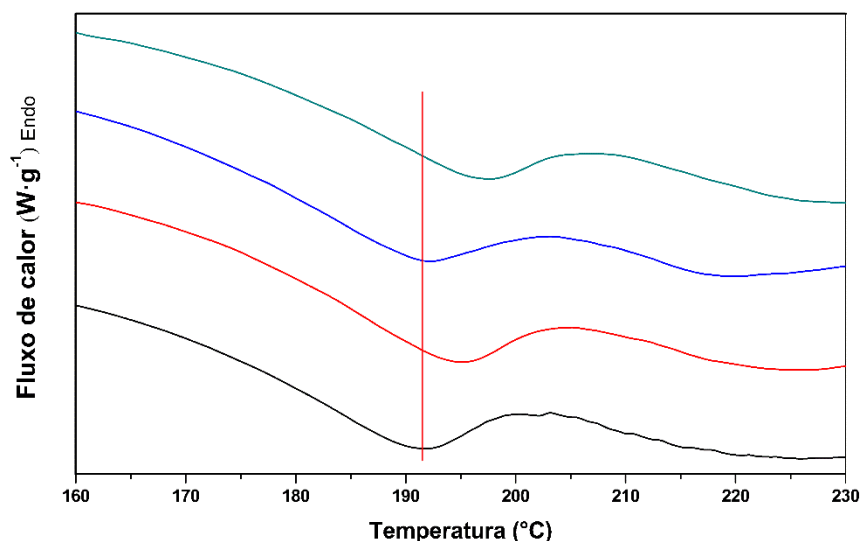


Figura 19. Curvas de DSC dos filmes: sem incorporação de CNC e CNF (controle, —); filme nanocompósito do ponto central do delineamento composto central rotacional (DCCR) – 3,0% CNC e 0,6% de CNF (T11, —); filme nanocompósito com 3,0% CNC e 1,17% de CNF (T8, —); e filme nanocompósito com 5,89% CNC e 0,6% de CNF (T6, —).

Durante a isoterma de aquecimento dos filmes foi possível observar apenas um evento endotérmico ocorrendo em temperaturas entre 175 e 204 °C, aproximadamente. Esta transição primária é atribuída à fusão das regiões cristalinas da blenda polimérica de amido e PVOH. Com o aumento da incorporação das nanoceluloses na blenda polimérica houve o deslocamento do pico deste evento para temperaturas mais elevadas, uma vez que a proporção de regiões cristalinas foi aumentada, principalmente com maiores níveis de CNC, como pode ser observado para os filmes T6 (5,89% CNC e 0,60% CNF) e T11 (3,0% CNC e 0,60% CNF). Estes resultados reforçam a intensa interação ocorrida entre a matriz polimérica e as nanoceluloses, como descrito nas seções anteriores.

Tabela 3. Temperatura inicial (T_{mi}), de pico (T_{mp}) e final (T_{mf}) da fusão dos filmes desenvolvidos.

TRT*	T_{mi} (°C)	T_{mp} (°C)	T_{mf} (°C)
6	178,30	197,10	203,45

8	175,20	192,09	200,23
11(c)	177,63	195,25	201,77
Controle	175,33	191,33	199,11

TRT: tratamento; TRT 6: filme nanocompósito contendo a maior concentração de CNC (5,89% CNC e 0,6% de CNF); TRT 8: filme nanocompósito contendo a maior concentração de CNF (3,0% CNC e 1,17% de CNF); TRT 11(c): filme nanocompósito do ponto central do DCCR (3,0% CNC e 0,6% de CNF); TRT controle: filme sem incorporação de CNC e CNF.

A presença das nanoceluloses e a elevada interação entre elas e a matriz polimérica promove a compactação das cadeias além de elevar os domínios cristalinos, fazendo com que maiores temperaturas sejam necessárias para vencer as forças intermoleculares existentes nas porções cristalinas e destruir a estrutura empacotada das mesmas, resultando na fusão do material (CANEVAROLO JR., 2013). Noshirvani *et al.* (2017) também observaram aumento na temperatura de fusão de filmes de amido de batata e PVOH de 212 para 227 °C com a incorporação de 3 a 20% (m/m) de CNC obtidos de algodão. Os autores atribuíram o aumento na temperatura de fusão ao aumento do grau de cristalinidade da matriz polimérica dos filmes nanocompósitos. Resultados similares são descritos em outras matrizes poliméricas adicionadas de nanoceluloses, como PVOH (DAS *et al.*, 2010), amido de mandioca (SANTANA *et al.*, 2017), pectina (CHAICHI *et al.*, 2017), poli(tetrametileno adipato-co-tereftalato) (PTMAT) (GEORGE *et al.*, 2011).

3.2.8. Otimização pela função desejabilidade

A otimização simultânea da composição dos filmes nanocompósitos foi realizada utilizando apenas as variáveis respostas que apresentaram modelos significativos de acordo com a metodologia de superfície de resposta, ou seja, resistência máxima à tração, módulo de elasticidade, permeabilidade ao vapor de água e permeabilidade ao oxigênio. Dessa forma, a otimização foi conduzida com objetivo de se obter o filme nanocompósito com maior resistência à tração e rigidez e menores permeabilidades a vapor de água e oxigênio.

De acordo com a função desejabilidade, dentro dos limites estudados, o filme nanocompósito com as melhores características de acordo com as propriedades levadas em consideração pode ser obtido pela incorporação de

aproximadamente 5,83% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) de CNF em relação à massa da blenda polimérica (Figura 20).

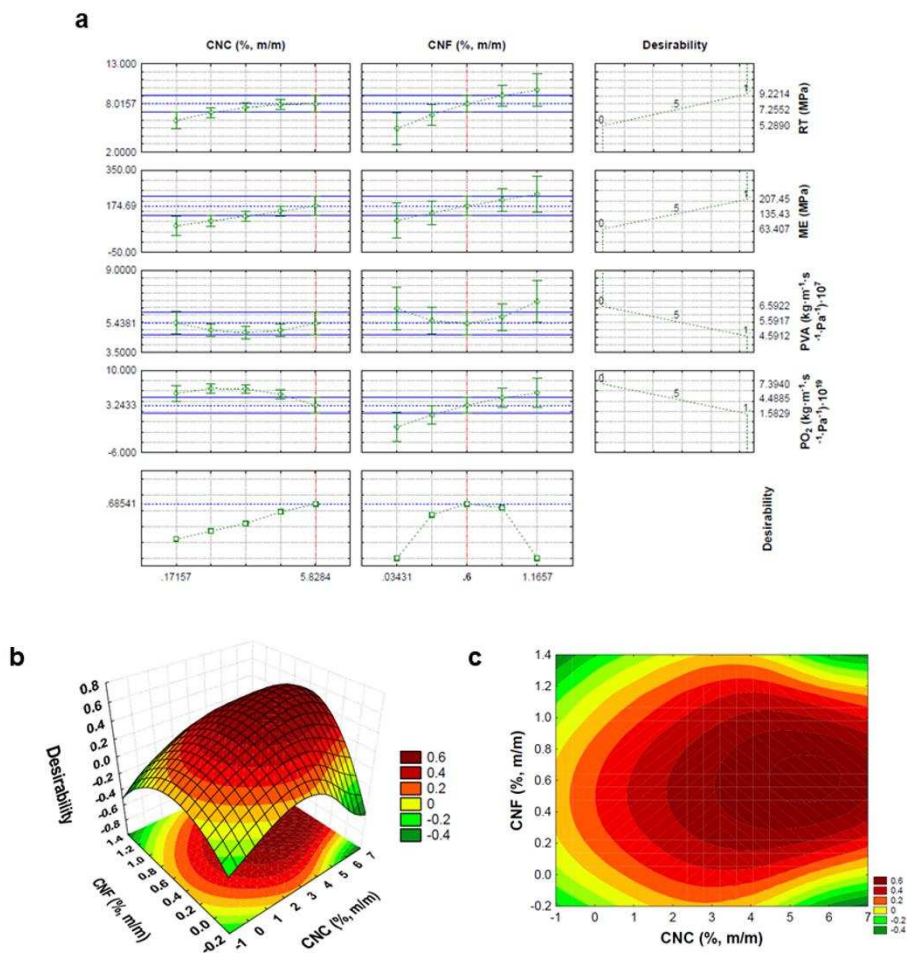


Figura 20. Otimização simultânea dos resultados de resistência à tração (MPa), módulo de elasticidade (MPa), permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \times 10^7$) e permeabilidade ao oxigênio (PO_2 , $\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \times 10^9$) dos filmes nanocompósitos desenvolvidos representados pelo (a) perfil de desejabilidade e (b, c) superfícies de resposta em função das concentrações de CNC e CNF.

4. CONCLUSÃO

Filmes nanocompósitos à base de blenda polimérica de amido/PVOH foram otimizados com sucesso, em relação às concentrações de CNC e CNF incorporadas, utilizando delineamento composto central e a função desejabilidade. A incorporação de CNC e CNF nos filmes promoveu melhorias significativas nas propriedades mecânicas, com destaque para o aumento da

rigidez e resistência à tração, nas propriedades de barreira, principalmente ao vapor de água – que é uma das principais limitações de filmes de amido/PVOH –, bem como aumentou de forma considerável a resistência térmica dos filmes nanocompósitos. A formulação ótima, em relação às propriedades de desempenho, foi obtida com 5,83% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) de CNF. Apesar de ter sido utilizada uma faixa de concentração envolvendo os melhores valores reportados na literatura para CNC, o valor ótimo observado de CNC foi igual ao nível máximo utilizado. Desta forma, estudos envolvendo maiores intervalos de CNC se fazem necessários, para verificar a possibilidade de maiores melhorias nos filmes. O estudo das propriedades básicas de um filme e o conhecimento de seu desempenho são fundamentais para estimativa do potencial para uso como embalagem de alimentos. Pelas características apresentadas pelo filme nanocompósito desenvolvido no presente estudo, acredita-se que o mesmo consiste em uma boa alternativa como material sustentável para o desenvolvimento de embalagens, apresentando potencial para pesquisas envolvendo sua funcionalização, com intuito de desenvolvimento de embalagens ativas, bem como aplicação em contato com alimentos para avaliação da vida útil de alimentos, considerando qualidade e segurança dos alimentos.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M.; ALBOOFETILEH, M.; BEHROOZ, R.; REZAEI, M.; MIRAKI, R. Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 54, p. 166-173, 2013.

ABDULLAH, Z. W.; DONG, Y.; DAVIES, I. J.; BARBHUIYA, S. PVA, PVA Blends, and Their Nanocomposites for Biodegradable Packaging Application. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 56, n. 12, p. 1307-1344, 2017.

ALVES, J. S.; DOS REIS, K. C.; MENEZES, E. G. T.; PEREIRA, F. V.; PEREIRA, J. Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 215-222, 2015.

ASTM – AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. **Standard Test Method for Determination Gas Permeability Characteristics of Plastic Film and Sheeting**. D1434-82. Philadelphia: ASTM, 2009.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard Test Method for Tensile Properties Thin Plastic Sheeting**, D882-12 Philadelphia: ASTM, p. 11, 2012.

ASTM – AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for water vapor transmission of materials**. E 96/E 96 M - 05. Philadelphia: ASTM, p. 11, 2014.

AZEREDO, H. M. C.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 664-671, 2017.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 188 p. 2007.

BELBEKHOUCHE, S.; BRAS, J.; SIQUEIRA, G.; CHAPPEY, C.; LEBRUN, L.; KHELIFI, B.; MARAIS, S.; DUFRESNE, A. Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1740-1748, 2011.

BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. **Cellulose**, v. 13, n. 2, p. 171, 2006.

CAMPOS, A.; SENA NETO, A. R.; RODRIGUES, V. B.; LUCHESI, B. R.; MOREIRA, F. K. V.; CORREA, A. C.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Bionanocomposites produced from cassava starch and oil palm mesocarp cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate Polymers**, v. 175, p. 330-336, 2017.

CANEVAROLO JR., S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 448 p., 2007.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber Editora, 280 p., 2013.

CANO, A.; FORTUNATI, E.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; KENNY, J. M. Effect of cellulose nanocrystals on the properties of pea starch–poly(vinyl alcohol) blend films. **Journal of Materials Science**, v. 50, n. 21, p. 6979-6992, 2015.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

CHAICHI, M.; HASHEMI, M.; BADI, F.; MOHAMMADI, A. Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 167-175, 2017.

CHANG, P. R.; JIAN, R.; ZHENG, P.; YU, J.; MA, X. Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 301-305, 2010.

CHO, M.-J.; PARK, B.-D. Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 36-40, 2011.

DAS, K.; RAY, D.; BANERJEE, C.; BANDYOPADHYAY, N. R.; SAHOO, S.; MOHANTY, A. K.; MISRA, M. Physicomechanical and Thermal Properties of Jute-Nanofiber-Reinforced Biocopolyester Composites. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 6, p. 2775-2782, 2010.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DUFRESNE, A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 29, p. 1-8, 2017.

DUFRESNE, A.; CASTAÑO, J. Polysaccharide nanomaterial reinforced starch nanocomposites: A review. **Starch - Stärke**, v. 69, n. 1-2, p. 1500307, 2017.

EL MIRI, N.; ABDELOUAHDI, K.; BARAKAT, A.; ZAHOUILY, M.; FIIHRI, A.; SOLHY, A.; EL ACHABY, M. Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 156-167, 2015.

FERRER, A.; PAL, L.; HUBBE, M. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 574-582, 2017.

GARCIA, P. S.; GROSSMANN, M. V. E.; SHIRAI, M. A.; LAZARETTI, M. M.; YAMASHITA, F.; MULLER, C. M. O.; MALI, S. Improving action of citric acid as compatibiliser in starch/polyester blown films. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 305-312, 2014.

GEORGE, J.; RAMANA, K. V.; BAWA, A. S.; SIDDARAMAIAH. Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 1, p. 50-57, 2011.

GUIMARÃES, M.; BOTARO, V. R.; NOVACK, K. M.; TEIXEIRA, F. G.; TONOLI, G. H. D. Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 72-83, 2015.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.

HUQ, T.; SALMIERI, S.; KHAN, A.; KHAN, R. A.; LE TIEN, C.; RIEDL, B.; FRASCHINI, C.; BOUCHARD, J.; URIBE-CALDERON, J.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1757-1763, 2012.

JIANG, F.; HSIEH, Y.-L. Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 32-40, 2013.

JULKAPLI, N. M.; BAGHERI, S. Progress on nanocrystalline cellulose biocomposites. **Reactive and Functional Polymers**, v. 112, p. 9-21, 2017.

KARGARZADEH, H.; MARIANO, M.; HUANG, J.; LIN, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A.; THOMAS, S. Recent developments on nanocellulose reinforced polymer nanocomposites: A review. **Polymer**, 2017.

KHAN, A.; KHAN, R. A.; SALMIERI, S.; LE TIEN, C.; RIEDL, B.; BOUCHARD, J.; CHAUVE, G.; TAN, V.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1601-1608, 2012.

LI, Q.; ZHOU, J.; ZHANG, L. Structure and properties of the nanocomposite films of chitosan reinforced with cellulose whiskers. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 47, n. 11, p. 1069-1077, 2009.

LI, W.; WU, Q.; ZHAO, X.; HUANG, Z.; CAO, J.; LI, J.; LIU, S. Enhanced thermal and mechanical properties of PVA composites formed with filamentous nanocellulose fibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 403-410, 2014.

MAIA, T. H. S.; LAROCCA, N. M.; BEATRICE, C. A. G.; MENEZES, A. J.; FREITAS SIQUEIRA, G.; PESSAN, L. A.; DUFRESNE, A.; FRANÇA, M. P.; ALMEIDA LUCAS, A. Polyethylene cellulose nanofibrils nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 173, p. 50-56, 2017.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Studies on the mechanical, thermal, morphological and barrier properties of nanocomposites based on poly(vinyl alcohol) and nanocellulose from sugarcane bagasse. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 462-473, 2014.

MONDAL, S. Review on Nanocellulose Polymer Nanocomposites. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, p. 1-15, 2017.

MONDRAGON, G.; PEÑA-RODRIGUEZ, C.; GONZÁLEZ, A.; ECEIZA, A.; ARBELAIZ, A. Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose. **European Polymer Journal**, v. 62, p. 1-9, 2015.

MONTERO, B.; RICO, M.; RODRÍGUEZ-LLAMAZARES, S.; BARRAL, L.; BOUZA, R. Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic

starch films from tuber, cereal and legume. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1094-1104, 2017.

MORAES, A. R. F.; POLA, C. C.; BILCK, A. P.; YAMASHITA, F., TRONTO, J.; MEDEIROS, E. A. A.; SOARES, N. F. F. Starch, cellulose acetate and polyester biodegradable sheets: Effect of composition and processing conditions. **Materials Science and Engineering: C**, v. 78, p. 932-941, 2017.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. D. F.; SOUZA FILHO, M. D. S. M.; NASCIMENTO, L. D.; NASCIMENTO, D. M.; CASSALES, A. R. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 229-235, 2013.

NAIR, S. S.; ZHU, J., DENG, Y.; RAGAUSKAS, A. J. High performance green barriers based on nanocellulose. **Sustainable Chemical Processes**, v. 2, n. 1, p. 23, 2014.

NOSHIRVANI, N.; HONG, W.; GHANBARZADEH, B.; FASIHI, H.; MONTAZAMI, R. Study of cellulose nanocrystal doped starch-polyvinyl alcohol bionanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017.

OUN, A. A.; RHIM, J.-W. Characterization of nanocelluloses isolated from Ushar (*Calotropis procera*) seed fiber: Effect of isolation method. **Materials Letters**, v. 168, p. 146-150, 2016.

PEREDA, M.; AMICA, G.; RÁCZ, I.; MARCOVICH, N. E. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 1, p. 76-83, 2011.

PEREIRA, A. L. S.; NASCIMENTO, D. M.; SOUZA FILHO, M. D. S.; M., MORAIS, J. P. S.; VASCONCELOS, N. F.; FEITOSA, J. P. A.; BRÍGIDA, A. I. S.; ROSA, M. D. F. Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 165-172, 2014.

POLA, C. C.; MEDEIROS, E. A. A.; PEREIRA, O. L.; SOUZA, V. G. L.; OTONI, C. G.; CAMILLOTO, G. P.; SOARES, N. F. F. Cellulose acetate active films incorporated with oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 9, p. 69-78, 2016.

POSTEK, M. T.; VLADÁR, A.; DAGATA, J.; FARKAS, N.; MING, B.; WAGNER, R.; RAMAN, A.; MOON, R. J.; SABO, R.; WEGNER, T. H.; BEECHER, J. Development of the metrology and imaging of cellulose nanocrystals. **Measurement Science and Technology**, v. 22, n. 2, 2011.

PRIYA, B.; GUPTA, V. K.; PATHANIA, D.; SINGHA, A. S. Synthesis, characterization and antibacterial activity of biodegradable starch/PVA composite

films reinforced with cellulosic fibre. **Carbohydrate Polymers**, v. 109, p. 171-179, 2014.

QAZANFARZADEH, Z.; KADIVAR, M. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1134-1140, 2016.

RAHMAN, W. A. W. A.; SIN, L. S.; RAHMAT, A. R.; SAMAD, A. A. Thermal behaviour and interactions of cassava starch filled with glycerol plasticized polyvinyl alcohol blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 805-810, 2010.

REDDY, J. P.; RHIM, J.-W. Characterization of bionanocomposite films prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 480-488, 2014.

ROWE, A. A.; TAJVIDI, M.; GARDNER, D. J. Thermal stability of cellulose nanomaterials and their composites with polyvinyl alcohol (PVA). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, n. 3, p. 1371-1386, 2016.

SANTANA, J. S.; DO ROSÁRIO, J. M.; POLA, C. C.; OTONI, C. G.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 12, p. 44637, 2017.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the x-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, 1962.

SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Preparation of nanocellulose from micro-crystalline cellulose: The effect on the performance and properties of agar-based composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 135, p. 18-26, 2016.

SYVERUD, K.; CHINGA-CARRASCO, G.; TOLEDO, J.; TOLEDO, P. G. A comparative study of Eucalyptus and Pinus radiata pulp fibres as raw materials for production of cellulose nanofibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 3, p. 1033-1038, 2011.

WANG, L.-F.; SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 201-208, 2017.

XU, Y.; SCALES, A.; JORDAN, K.; KIM, C.; SISMOUR, E. Starch nanocomposite films incorporating grape pomace extract and cellulose nanocrystal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 6, p. 44438, 2017.

ZHOU, Y. M.; FU, S. Y.; ZHENG, L. M.; ZHAN, H. Y. Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films. **eXPRESS Polymer Letters**, v. 6, n. 10, p. 794-804, 2012.

CAPITULO III

*NANOCOMPÓSITO ANTIMICROBIANO À BASE DE AMIDO E POLI(VINIL
ÁLCOOL) INCORPORADOS COM NANOCRISTAL DE CELULOSE E NISINA*

RESUMO

Com a realização deste trabalho, objetivou-se desenvolver e caracterizar nanocompósitos ativos antimicrobianos à base de blenda polimérica biodegradável de amido de milho/poli(vinil álcool) (PVOH) incorporados com nisina (NIS) e nanocristais de celulose (CNC) e demonstrar seu potencial para uso como embalagem ativa para alimentos. Os filmes desenvolvidos foram avaliados de acordo com suas propriedades mecânicas de resistência à tração (RT), alongamento na ruptura (AR), módulo de elasticidade (ME), bem com sua barreira a permeação de oxigênio (PO₂) e transmissão de luz. A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada contra as bactérias patogênicas *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Os nanocompósitos ativos desenvolvidos apresentaram significativo efeito antimicrobiano contra as três bactérias patogênicas testadas. Os CNC não só aumentaram a rigidez e a resistência à tração dos filmes, mas também diminuíram significativamente a PO₂ dos mesmos. A NIS atuou como plastificante na matriz polimérica, aumentando o AR dos filmes. A presença de CNC e NIS aumentou a barreira a passagem de luz dos filmes. Os nanocompósitos ativos apresentaram bom desempenho *in vitro* e capacidade para serem aplicados em estudos envolvendo a conservação de alimentos.

Palavras-chave: embalagem ativa, patógenos, bacteriocina, nanocelulose, filme biodegradável, blenda polimérica.

1. INTRODUÇÃO

Nanocompósitos compreendem uma nova classe de materiais que vem sendo constantemente estudada para aplicação em embalagens de alimentos. Atualmente, a grande maioria dos nanocompósitos desenvolvidos tem em comum a aplicação de um ou mais polímeros biodegradáveis em sua composição, pois os mesmos passam a possuir o apelo sustentável (DUFRESNE e CASTAÑO, 2017). Porém, como a maioria desses materiais apresentam propriedades de desempenho limitadas, a adição de nanopartículas de reforço é uma alternativa que permite corrigir algumas dessas limitações, aumentando as possibilidades de aplicação desses materiais (REDDY *et al.*, 2014).

Entre as principais nanopartículas aplicadas como carga de reforço de polímeros biodegradáveis, os nanocristais de celulose (CNC) são umas das mais estudadas atualmente. Os CNC são obtidos a partir da polpa de celulose, por meio de hidrólise ácida utilizando ácidos fortes, principalmente o sulfúrico, para promover a clivagem dos domínios amorfos presentes nas fibrilas elementares da celulose, e isolar os domínios cristalinos (HABIBI *et al.*, 2010).

Os CNC são caracterizados por possuir estrutura altamente cristalina, devido ao elevado grau de compactação de suas moléculas, serem atóxicos, biodegradáveis e possuírem elevada área interfacial (AZEREDO *et al.*, 2017). Estes apresentam formato similar a uma agulha com comprimento variando entre 50 e 500 nm e largura entre 3 e 50 nm, o que gera elevados valores de razão de aspecto (relação entre o comprimento e a largura) (MONDAL, 2017).

Devido à baixa densidade e grande disponibilidade de grupamentos hidroxila, os CNCs apresentam grande potencial para utilização como agente de reforço em matrizes poliméricas, mesmo quando aplicados em baixas concentrações (AZEREDO *et al.*, 2017; DUFRESNE, 2017), conforme reportado por (CANO *et al.*, 2015; QAZANFARZADEF *et al.*, 2016; SANTANA *et al.*, 2017; SLAVUTSKY e BERTUZZI, 2014; WANG *et al.*, 2017), de forma que sua aplicação e avaliação em diferentes condições atrai cada vez mais interesse.

Concomitantemente ao desenvolvimento desses novos materiais para produção de filmes e aplicação como embalagens, sua funcionalização é cada

vez mais explorada na área de tecnologia de embalagens, dando origem às embalagens ativas. Estas podem ser definidas como tipos de embalagens que, além das funções básicas das embalagens tradicionais, interagem com o alimento e/ou com o ambiente ao seu redor de forma intencional, com o objetivo de aumentar a vida útil e/ou melhorar alguma propriedade físico-química, sensorial, nutricional ou microbiológica do produto, por meio da liberação de compostos ativos para o *headspace* da embalagens ou para o alimento, contato direto com a superfície do mesmo ou absorção de compostos indesejáveis (ESPITIA *et al.*, 2014). Entre os diversos tipos de compostos antimicrobianos utilizados em embalagens ativas, destacam-se ácidos orgânicos, óleos essenciais e peptídeos antimicrobianos (FANG *et al.*, 2017).

Os peptídeos antimicrobianos atraem grande atenção de diversas áreas da ciência como as biomédicas e de alimentos, nas quais são usadas como barreira química ao desenvolvimento de micro-organismos, uma vez que, de forma geral, possuem reduzida tendência a gerar resistência bacteriana (ALMEIDA, 2014). A nisina (NIS) é um dos peptídeos antimicrobianos mais populares, sendo utilizada em diversos segmentos da indústria de alimentos ao redor do mundo. Ela é classificada como GRAS pela *Food and Drug Administration* (FDA) (USFDA, 2000) e no Brasil pode ser aplicada em queijos pasteurizados (ANVISA, 1996). Essa bacteriocina é produzida por estirpes da bactéria *Lactococcus lactis*, sendo composta por 34 aminoácidos, possuindo massa molar de 3,5 kDa e natureza anfifílica (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016a). Por se tratar de um peptídeo catiônico, acredita-se que sua ação antimicrobiana é iniciada a partir da atração eletrostática com os componentes negativamente carregados da membrana externa, como o ácido lipoteicoico presente na superfície das bactérias *Gram-positivas* (ESPITIA *et al.*, 2012).

A incorporação de NIS em embalagens para alimentos pode ser realizada tanto por incorporação direta na matriz polimérica (CORREA *et al.*, 2017; MEIRA *et al.*, 2017; SHIROODI *et al.*, 2016) quanto por revestimento ou imobilização na superfície do polímero (CHOLLET *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2011) apresentando a vantagem de não influenciar o odor, cor e sabor tanto do filme quanto do alimento, de forma tão pronunciada como outros conservantes naturais, como os óleos essenciais, e de ser efetiva mesmo quando incorporada

em baixas concentrações. Porém, apesar da NIS já vir sendo utilizada comercialmente como conservante em laticínios, além de ser muito estudada como composto antimicrobiano para embalagens ativas (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016b), a demanda por filmes sustentáveis e ativos que apresentem propriedades de desempenho e aplicabilidade em larga escala viáveis ainda é limitado (ATARÉS e CHIRALT, 2016; ROMANI *et al.*, 2017).

Desta forma, com a realização deste projeto, objetivou-se desenvolver e caracterizar filmes ativos antimicrobianos a partir de blenda polimérica biodegradável à base de amido de milho/PVOH incorporados com NIS e melhorar suas propriedades de desempenho por meio da adição de CNC, dando origem a nanocompósitos ativos com potencial uso como embalagem ativa antimicrobiana para alimentos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Amido de milho ($\sim 28 \pm 2\%$ amilose) foi adquirido da Unilever (Rotterdam, Netherlands). Poli (vinil álcool) (PVOH) ($P_M = 85,000 - 124,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, 99% hidrolizado) e glicerol (GLI) ($M_M = 92.09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Nisina foi adquirida da Handary (NisinA[®], $\geq 96\%$ wt., Handary S.A., Bruxelas, Belgium). CNC foi adquirido do Laboratório de Produtos Florestais do Departamento de Agricultura dos EUA (USDA, Madison, WI, EUA) comercializado pela Universidade do Maine (Orono, ME, EUA), produzidos por meio de hidrólise ácida de polpa de celulose originária de mistura de *Pinus* spp.

2.2. Produção dos filmes

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 2^2 com três repetições, sendo as concentrações de NIS e CNC os dois fatores quantitativos avaliados.

A produção dos filmes foi realizada por meio da técnica *casting* (SOARES e HOTCHKISS, 1998), sendo utilizada uma blenda de amido de milho e PVOH como base polimérica. Para produção da blenda, o PVOH (30% m/m) foi

solubilizado em 100 mL de água desionizada a 75 ± 2 °C e mantido nesta temperatura por 5 h sob agitação a 500 rpm em frasco tampado (suspensão 1). Em seguida, o amido de milho plastificado (70% m/m – 70% amido e 30% glicerol) foi adicionado a 50 mL de água desionizada (suspensão 2), homogeneizados, adicionados a suspensão 1 e, então, agitados por 20 min a 500 rpm, com manutenção da temperatura a 75 ± 2 °C. Nas formulações contendo CNC e NIS (Tabela 4), os mesmos foram adicionados após os 20 min de agitação e homogeneizados a 500 rpm por 5 min. Finalmente, a formulação filmogênica foi vertida em placas de vidro (18 x 34 cm) e mantida em câmara climática a 23 ± 2 °C e $50 \pm 5\%$ umidade relativa (UR) por 72 h para secagem. Um filme controle, sem adição de NIS e CNC, também foi produzido para permitir a comparação quando necessário.

Tabela 4. Formulações filmogênicas dos filmes ativos à base de blenda polimérica de amido de milho e PVOH.

Formulação filmogênica ^a	PVOH (g)	Amido (g)	GLI (g)	NIS (%) ^b	CNC (%) ^b
F1	2,92	4,78	2,05	2,5	0,0
F2	2,92	4,78	2,05	2,5	2,5
F3	2,92	4,78	2,05	10,0	0,0
F4	2,92	4,78	2,05	10,0	2,5
Controle	2,92	4,78	2,05	0,0	0,0

^aAs formulações filmogênicas foram obtidas por meio de um esquema fatorial 2². PVOH: poli(vinil) álcool; GLI: glicerol; NIS: nisina; CNC: nanocristais de celulose. ^bValores calculados em relação a massa da blenda polimérica.

2.3. Caracterização dos filmes

2.3.1. Espessura

A espessura dos filmes nanocompósitos foi analisada com auxílio de um micrômetro digital, modelo ID-C112XB (Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japão). O valor médio da espessura foi calculado com base em 5 medidas realizadas em pontos aleatórios de cada amostra.

2.3.2. Propriedades mecânicas

Resistência à tração (RT), alongamento na ruptura (AR) e módulo de elasticidade (ME) dos filmes nanocompósitos foram determinados utilizando a Máquina Universal de Testes Mecânicos Instron 3367 (Instron Corporation, Norwood, MA, EUA) equipado com uma célula de carga de 1 kN, de acordo com a ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Dez corpos de prova (15 x 2,5 cm) foram avaliados para cada repetição utilizando velocidade de separação de garras de 50 mm·min⁻¹ e distância inicial de 100 mm.

2.3.3. Permeabilidade ao oxigênio (PO₂)

PO₂ dos filmes foi determinada utilizando um Analisador de Permeabilidade a Gases VAC-V1 (Labthink Instruments Co., Shandong, China) de acordo com a metodologia ASTM D1434-09 (ASTM, 2009) a 25 ± 1 °C. Amostras dos filmes nanocompósitos (100 mm de diâmetro) foram previamente acondicionadas a 23 ± 2 °C e 50 ± 5% de UR e, então, fixadas na célula de permeação de gás formando uma barreira selada entre dois compartimentos. Cada tratamento foi avaliado em triplicata por cada repetição. Os resultados foram expressos em kg·m⁻¹·s⁻¹·Pa⁻¹.

2.3.4. Transmissão de luz

A luz transmitida pelos filmes foi analisada utilizando um espectrofotômetro UV/VIS (Modelo UV-1800, Shimadzu Co. Kyoto, Japão). Amostras retangulares (3 x 4 cm) foram posicionadas diretamente no suporte para filmes do espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em porcentagem de transmitância em 600 nm (T₆₀₀).

2.3.5. Atividade antimicrobiana

Os micro-organismos patogênicos *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Bacillus cereus* (ATCC 14579) foram usados para avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos filmes nanocompósitos ativos. As bactérias armazenadas a -80 °C foram ativadas por duas vezes em caldo *Tryptic Soy Broth* (TSB, Acumedia, Baltimore, MD, EUA) e incubadas por 24 h a 35 °C. A seguir, as bactérias foram estriadas em ágar não

seletivo *Tryptic Soy Agar* (TSA, Acumedia, Baltimore, MD, EUA) e incubadas por 24 h a 35 °C para isolamento das colônias. Colônias isoladas foram selecionadas das placas de TSA e suspensas em solução salina estéril (0,85%, m/v). A suspensão bacteriana foi ajustada de acordo com a turbidez da solução padrão de McFarland 0,5 (correspondente a concentração bacteriana de 10^8 UFC·mL⁻¹) e plaqueadas para confirmar a concentração inicial.

A atividade antimicrobiana dos filmes nanocompósitos foi avaliada por meio do método de difusão em ágar (CLSI, 2012). Placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (BD, Nova Jersey, EUA), para *B. cereus* e *S. aureus*, e ágar Oxford (BD, Nova Jersey, EUA), para *L. monocytogenes*, foram inoculadas com a suspensão de bactérias na concentração de 10^4 UFC·mL⁻¹ e esgotadas com auxílio de alça de Drygalski. Uma vez inoculadas, as placas receberam discos ($\varnothing = 10$ mm) dos filmes nanocompósitos ativos. Em seguida, as placas foram incubadas por 24 h a 32 °C e os halos de inibição medidos com auxílio de um paquímetro. Todas as amostras foram testadas em triplicata.

2.3.6. Análise estatística

As médias das variáveis resposta observadas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) seguido por análise de regressão utilizando nível de confiança de 95%. As comparações qualitativas foram realizadas por Teste t, utilizando nível de confiança de 95%. As análises foram realizadas utilizando o software Statistica 13.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.1. Resistência mecânica

Propriedades como resistência à tração (RT), alongamento na ruptura (AR) e módulo de elasticidade (ME), são comumente utilizadas para avaliar o desempenho mecânico de filmes plásticos, sendo extremamente importantes para determinação do potencial de aplicação de determinado material para produção de embalagens (ESPITIA et al., 2014).

A espessura não diferiu significativamente ($p > 0,05$) em função das diferentes concentrações de NIS e CNC incorporadas no filme ativo. O valor médio da espessura dos filmes ativos foi de $136,01 \pm 6,25 \mu\text{m}$, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparado ao filme controle ($130,68 \pm 5,68 \mu\text{m}$).

Alterações na espessura de filmes adicionados de CNC e produzidos por *casting* são comuns e possuem vários relatos na literatura (ALVES *et al.*, 2015; SHANKAR e RHIM, 2016; WANG *et al.*, 2017) da mesma forma que a adição de NIS em filmes produzidos pelo mesmo processo também são frequentes (IMRAN *et al.*, 2010; SEBTI *et al.*, 2007). A uniformidade nos valores de espessuras dos filmes ativos, mesmo quando comparados ao filme controle é um indicativo da padronização obtida pelo processo de produção utilizado (ESPITIA *et al.*, 2013). Além disso, a homogeneidade na espessura é de grande interesse, pois além da espessura exercer influência nas propriedades dos filmes de forma geral, o filme ativo manteve similar ao controle, porém com propriedades antimicrobianas e maior desempenho mecânico que ser'ao discutidos em seguida.

O alongamento na ruptura (AR) dos filmes ativos foi influenciado significativamente ($p < 0,05$) pela presença da NIS e do CNC (Tabela 5). Os coeficientes de regressão da NIS e do CNC foram positivo e negativo, respectivamente. Com o aumento da concentração de NIS houve aumento do AR dos filmes. Isso foi devido ao efeito plastificante desempenhado pela NIS na matriz polimérica, o qual reduziu a força das interações intermoleculares, permitindo que as cadeias ganhassem mais mobilidade e, conseqüentemente, passassem a esticar mais antes da ruptura (IMRAN *et al.*, 2010). Basch *et al.* (2013) também observaram efeito plastificante da NIS ao avaliar sua incorporação em filmes de amido de mandioca produzidos por *casting*. Da mesma forma, Ollé Resa *et al.* (2014) reportaram o efeito plastificante da NIS ao interagir com a cadeia polimérica de filmes de amido, aumentando a capacidade de alongamento e reduzindo o módulo de elasticidade dos mesmos. O CNC promoveu efeito contrário ao da NIS, reduzindo o AR dos filmes ativos. Ao avaliar a incorporação de CNC em filmes de amido de milho, Slavustky e Bertuzzi (2014) também observaram redução significativa no AR dos filmes e relacionaram tal resultado ao aumento da rigidez dos filmes, promovido pela interação das

cadeias poliméricas do amido e PVOH com os CNC. O mesmo comportamento foi observado também por outros autores (AZEREDO et al., 2010; KHAN et al., 2012; PEREDA et al., 2011).

Tabela 5. Coeficientes de regressão estimados para alongamento na ruptura (AR), módulo de elasticidade (ME), transmissão de luz (T_{600nm}) e halo de inibição das bactérias *Listeria monocytogenes* (LM), *Bacillus cereus* (BC) e *Staphylococcus aureus* (SA).

FV ^a	AR (mm)	ME (MPa)	T _{600nm} (%)	Halo de inibição		
				LM	BC	SA
Modelo	5,78	11,37	19,69	6,57	20,14	14,68
F (p)	(0,021)	(0,003)	(0,000)	(0,015)	(0,000)	(0,001)
Efeitos	Coef. (p)	Coef. (p)	Coef. (p)	Coef. (p)	Coef. (p)	Coef. (p)
Cte.	126,62 (0,000)	168,29 (0,000)	36,90 (0,000)	21,73 (0,000)	17,96 (0,000)	20,97 (0,000)
NIS	17,88 (0,027)	-63,12 (0,006)	-4,02 (0,006)	4,79 (0,001)	6,50 (0,000)	4,43 (0,000)
CNC	-20,42 (0,015)	77,75 (0,002)	-7,34 (0,000)	0,79 (0,426)	1,92 (0,068)	1,18 (0,126)
NISxCNC	-5,02 (0,471)	-7,02 (0,694)	-0,04 (0,966)	-0,042 (0,966)	2,00 (0,06)	-0,15 (0,834)
R ² _{aj}	58,66	73,89	83,60	76,77	88,31	84,62

^aFonte de variação. R²_{aj}: coeficiente de determinação ajustado. F (p): Valor do Teste F e da probabilidade de significância (p) calculados. Coef (p): Valores dos coeficientes de regressão calculados e da probabilidade de significância (p). Cte: Intercepto. NISxCNC: coeficiente da interação. Valores em negrito e itálico foram significativos ao nível de significância (α) de 0,05.

Da mesma forma que para a espessura, a incorporação dos diferentes níveis de NIS e CNC não gerou diferença significativa na resistência à tração (RT) dos filmes ativos. O valor médio da RT dos filmes ativos foi de $8,31 \pm 1,07$ MPa e não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do filme controle ($7,65 \pm 0,28$ MPa). Inicialmente, era esperado que a presença do CNC promovesse aumento significativo na RT dos filmes ativos, pois com sua grande área interfacial, é capaz de interagir intimamente com a matriz polimérica recebendo parte do estresse mecânico transferido do filme, quando o mesmo é submetido à tração (MONDAL, 2017). Porém, baseado nos resultados observados do presente trabalho, acredita-se que a quantidade de CNC adicionada não foi suficiente para promover o aumento significativo da RT. De acordo Cho e Park (2011), o aumento significativo na RT de filmes de PVOH só passou a ocorrer após a incorporação de CNC em concentrações em torno de 5% (m/m).

O módulo de elasticidade (ME) dos filmes ativos foi influenciado de forma significativa ($p < 0,05$) pela presença da NIS e do CNC (Tabela 5). O coeficiente de regressão da NIS foi negativo enquanto o do CNC foi positivo indicando efeito inverso no ME dos filmes ativos. O ME é um indicativo da rigidez do material, conseqüentemente, com a adição de uma carga altamente cristalina como o CNC e sua interação com a matriz do polímero é esperado que ocorra o aumento da rigidez, como também observados anteriormente por outros autores (ABDOLLAHI *et al.*, 2013; CHAICHI *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2014; SANTANA *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017). Os CNCs tendem a interagir por interações de hidrogênio com as cadeias poliméricas, elevando a compactação das mesmas, com conseqüente limitação da mobilidade, o que gera aumento na rigidez do material (AZEREDO *et al.*, 2017). Por outro lado, como a NIS apresentou efeito plastificante nos filmes ativos, houve aumento na mobilidade das cadeias, como discutido anteriormente e, com isso, redução na rigidez dos filmes ativos.

3.1.2. Permeabilidade ao oxigênio (PO₂)

A PO₂ não diferiu ($p > 0,05$) em função das diferentes concentrações de NIS e CNC incorporadas no filme ativo. O valor médio da PO₂ dos filmes ativos foi de $6,08 \pm 1,62 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\times 10^{19}$, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao filme controle ($16,64 \pm 5,36 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\times 10^{19}$). Pelos efeitos promovidos pela NIS e CNC nas propriedades mecânicas dos filmes ativos, acredita-se que a redução da PO₂ se deu em função, principalmente, da dispersão do CNC na matriz polimérica, processo que foi facilitado pelo efeito plastificante da NIS. Com a maior mobilidade das cadeias poliméricas, o posicionamento dos CNCs nos espaços vazios, presentes entre elas, foi facilitado durante o processo de formação dos filmes e, com isso, o preenchimento da matriz polimérica foi mais eficiente, resultando na formação de um caminho com maior tortuosidade que reduz a taxa de difusão do O₂ (NAIR *et al.*, 2014). O mesmo comportamento foi observado por Mondragon *et al.* (2015) ao avaliarem a incorporação de CNC em filmes de pectina produzidos por *casting*. De acordo com os autores, a PO₂ foi reduzida, devido à necessidade das moléculas de O₂ percorrerem caminhos mais longos através dos filmes,

devido à barreira gerada pelos altamente cristalinos CNC dispersos aleatoriamente na matriz.

A melhoria na barreira a gases, como observada nos filmes ativos desenvolvidos no presente estudo, é de grande importância para a conservação dos produtos embalados, uma vez que o contato com O₂ pode desencadear uma série de reações oxidativas, seguidas por alterações nutricionais e sensoriais que comprometem a qualidade final do produto, além de promover o desenvolvimento de micro-organismos aeróbios (MEIRA *et al.*, 2014).

3.1.3. Transmissão de luz

A capacidade de transmissão de luz pelos filmes ativos foi influenciada significativamente ($p < 0,05$) pela presença da NIS e do CNC (Tabela 5). Os coeficientes de regressão da NIS e do CNC foram negativos, indicando que com o aumento da concentração de ambos ocorre o aumento da barreira a passagem de luz através dos filmes ativos. O aumento das regiões cristalinas presentes no filme ativo, pela adição do CNC, juntamente com a maior compactação das cadeias promovida pela elevada interação dos CNC com a matriz polimérica, incrementam a barreira à passagem da luz, aumentando o espalhamento e/ou absorção da mesma (ALVES *et al.*, 2015). Juntamente com o efeito dos CNCs, a presença da NIS nos filmes ativos aumenta a complexidade da matriz polimérica, que passa a apresentar diferentes índices de refração, contribuindo para o aumento da barreira. De forma similar ao constatado no presente estudo, Qazanfarzadeh e Kadivar (2016) observaram espalhamento de luz por parte dos CNCs presentes em filmes à base de isolado protéico de soro de leite, resultando na redução da transmissão de luz através dos mesmos. Por sua vez, Imran *et al.* (2010), observaram redução na transparência de filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) incorporados com NIS. Esses autores relacionaram a redução na transmissão de luz com heterogeneidade dos índices de refração dos filmes, quando comparados com o filme controle.

Da mesma forma que o O₂ pode comprometer a qualidade de produtos embalados, a luz pode desencadear processos oxidativos, comprometendo a vida útil do alimento. Com isso, embalagens com elevada barreira à luz são

altamente desejáveis para determinados tipos de produtos mais susceptíveis a tais alterações, como os ricos em lipídios (XU *et al.*, 2017).

3.1.4. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes ativos foi influenciada significativamente ($p < 0,05$) pela incorporação da NIS contra todas as bactérias patogênicas testadas (Tabela 5). A presença de CNC não exerceu efeito significativo ($p > 0,05$) sobre a atividade antimicrobiana dos filmes desenvolvidos. O coeficiente de regressão da NIS foi positivo, indicando, como esperado, que quanto maior a quantidade de NIS incorporada no filme ativo, maior tende a ser o halo de inibição do crescimento das bactérias. O filme controle também não foi capaz de inibir o crescimento das bactérias testadas, como pode ser observado na Figura 20.

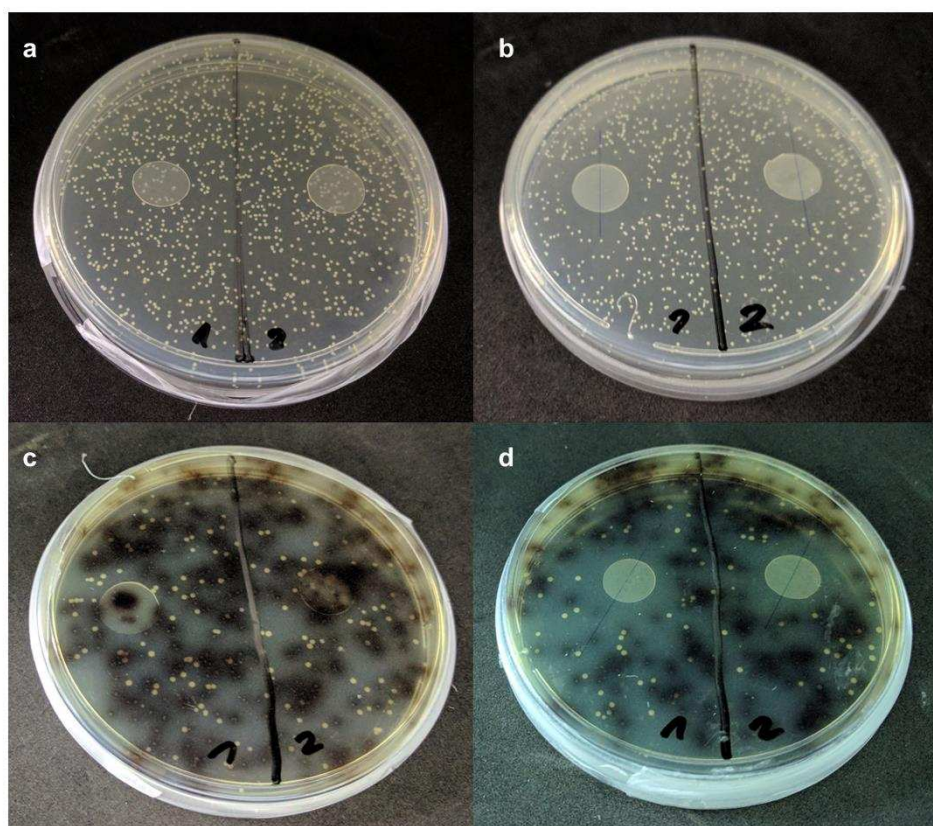


Figura 21. Atividade antimicrobiana dos filmes ativos à base de blenda de amido/PVOH contra *S. aureus*: (a) controle (0% NIS e 0% CNC) e (b) incorporado com 10% (m/m) NIS; *L. monocytogenes*: (c) controle e (d) incorporado com 10% NIS.

O mecanismo de ação antimicrobiana da NIS está relacionado com sua interação e desestabilização da membrana citoplasmática. A NIS, por ser positivamente carregada, interagiu eletrostaticamente com os grupos fosfolipídicos negativamente carregados presentes na membrana citoplasmática, como o ácido lipoteicoico (ESPITIA *et al.*, 2012). Além disso, essa interação também foi favorecida pela relação entre a extremidade hidrofóbica N-terminal da NIS e a membrana. Ambas interações promoveram inserção da NIS na membrana citoplasmática, originando poros por meio dos quais ocorreu a perda do material celular e alterações fisiológicas, levando a morte da célula bacteriana (ARAUZ *et al.*, 2009; GHARSALLAOUI *et al.*, 2016a). O efeito antimicrobiano da NIS contra bactérias patogênicas *Gram*-positivas têm sido reportado na literatura mesmo quando incorporada em diferentes matrizes poliméricas, como filmes de amido (BHATIA e BHARTI, 2015; SANJURJO *et al.*, 2006), gelatina (BOELTER e BRANDELLI, 2016), caseína (BOELTER e BRANDELLI, 2016), blenda de quitosana/PVOH (WANG *et al.*, 2015), PVOH (MARCOS *et al.*, 2013) de poli(ácido lático) (PLA) (SALMIERI *et al.*, 2014), caseinato de sódio (CAO-HOANG *et al.*, 2010), entre outras.

A estratégia de aplicação de compostos antimicrobianos por meio de filmes ativos permite que a vida útil do alimento seja prolongada sem a necessidade da adição excessiva de conservantes químicos durante o processamento do mesmo. A difusão dos compostos antimicrobianos incorporados na embalagem é gradativa e seu efeito se dá principalmente na superfície do alimento, local onde há predominância do crescimento microbiano (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016b).

4. CONCLUSÃO

Filmes nanocompósitos ativos incorporados com NIS e CNC com potencial para aplicação na conservação de alimentos foram desenvolvidos com sucesso. A eficiência no controle do crescimento de *L. monocytogenes*, *B. cereus* e *S. aureus* enfatizaram o potencial de aplicação dos filmes

desenvolvidos como alternativa para conservação de alimentos contra o crescimento de bactérias *Gram*-positivas.

A incorporação dos CNC nos filmes, resultou no aumento significativo da rigidez e resistência à tração dos mesmos, o que amplia a possibilidade de formas de aplicação desses filmes. Além disso, a maleabilidade e extensibilidade dos filmes não foi comprometida, uma vez que a NIS desempenhou efeito plastificante na matriz polimérica, aumentando o AR dos filmes.

As propriedades de barreira ao oxigênio e a luz também foram melhoradas pela presença da NIS e dos CNCs. Ainda assim, maiores estudos são necessário para avaliação em contato direto com alimentos destes filmes, bem como as possíveis alterações sofridas por parte do produto acondicionado. Com a elevada complexidade relacionada a presença de tantos componentes em um filme nanocompósito, associada a complexidade intrínseca aos alimentos, estudos futuros envolvendo a determinação da distribuição exata dos componentes ao longo do filme, bem como o processo de difusão dos mesmos para a superfície dos alimentos são de extrema importância.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M.; ALBOOFETILEH, M.; BEHROOZ, R.; REZAEI, M.; MIRAKI, R. Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 54, p. 166-173, 2013.

ALMEIDA, G.W.R. **Termodinâmica da biofuncionalização de nanotubos de carbono de paredes múltiplas com nisina visando nanocompósitos ativos**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p.93, 2014.

ALVES, J. S.; DOS REIS, K. C.; MENEZES, E. G. T.; PEREIRA, F. V.; PEREIRA, J. Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 215-222, 2015.

ANVISA. **Uso da nisina com a função de conservador para queijos pasteurizados**. Portaria DETEN/MS nº 29, de 22 de janeiro de 199. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Portaria%2Bn%2B29%2Bde%2B22%2Bde%2Bjaneiro%2Bde%2B1996.pdf/8b0c3906-aa5b-4f16-ad1c-544b7c9e2586>. Acesso em: 15 de maio de 2017.

ARAUZ, L. J.; JOZALA, A. F.; MAZZOLA, P. G.; VESSONI PENNA, T. C. Nisin biotechnological production and application: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 3, p. 146-154, 2009.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016.

AZEREDO, H. M. C.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 664-671, 2017.

AZEREDO, H.; MATTOSO, L. H. C.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MUNFORD, M. L.; WOOD, D.; MCHUGH, T. H. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. **Journal of Food Science**, v. 75, p. N1–N7, 2010.

BHATIA, S.; BHARTI, A. Evaluating the antimicrobial activity of Nisin, Lysozyme and Ethylenediaminetetraacetate incorporated in starch based active food packaging film. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3504-3512, 2015.

BOELTER, J. F.; BRANDELLI, A. Innovative bionanocomposite films of edible proteins containing liposome-encapsulated nisin and halloysite nanoclay. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 740-747, 2016.

CANO, A.; FORTUNATI, E.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; KENNY, J. M. Effect of cellulose nanocrystals on the properties of pea starch–poly(vinyl alcohol) blend films. **Journal of Materials Science**, v. 50, n. 21, p. 6979-6992, 2015.

CAO-HOANG, L.; CHAINE, A.; GRÉGOIRE, L.; WACHÉ, Y. Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control *Listeria* in artificially contaminated cheese. **Food Microbiology**, v. 27, n. 7, p. 940-944, 2010.

CHAICHI, M.; HASHEMI, M.; BADI, F.; MOHAMMADI, A. Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 167-175, 2017.

CHO, M. J.; PARK, B. D. Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 36-40, 2011.

CHOLLET, E.; SWESI, Y.; DEGRAEVE, P.; SEBTI, I. Monitoring nisin desorption from a multi-layer polyethylene-based film coated with nisin-loaded HPMC film and diffusion in agarose gel by an immunoassay (ELISA) method and a numerical modeling. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 208-214, 2009.

CORREA, J.P.; MOLINA, V.; SANCHEZ, M.; KAINZ, C.; EISENBERG, P.; MASSANI, M.B. Improving ham shelf life with a polyhydroxybutyrate/polycaprolactone biodegradable film activated with nisin. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 11, p. 31-39, 2017.

COSTA, F.; CARVALHO, I.F.; MONTELARO, R.C.; GOMES, P.; MARTINS, M.C.L. Covalent immobilization of antimicrobial peptides (AMPs) onto biomaterial surfaces. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 4, p. 1431-1440, 2011.

DUFRESNE, A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 29, p. 1-8, 2017.

DUFRESNE, A.; CASTAÑO, J. Polysaccharide nanomaterial reinforced starch nanocomposites: A review. **Starch - Stärke**, v. 69, n. 1-2, p. 1500307, 2017.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; COIMBRA, J. S. R.; ANDRADE, N. J.; CRUZ, R. S.; MEDEIROS, E. A. A. Bioactive Peptides: Synthesis, Properties, and Applications in the Packaging and Preservation of Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 11: 187–204, 2012.

ESPITIA, P. J. P.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; DU W. X.; TEÓFILO, R. F.; SOARES, N. F. F.; MCHUGH, T. H. Optimal antimicrobial formulation and physical-mechanical properties of edible films based on açai and pectin for food preservation. **Food Packag Shelf Life**, v. 2, n. 1, p. 38–49, 2014.

FANG, Z.; ZHAO, Y.; WARNER, R. D.; JOHNSON, S. K. Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p. 60-71, 2017.

GHARSALLAOUI, A.; OULAHAL, N.; JOLY, C.; DEGRAEVE, P. Nisin as a Food Preservative: Part 1: Physicochemical Properties, Antimicrobial Activity, and Main Uses. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 8, p. 1262-1274, 2016a.

GHARSALLAOUI, A.; OULAHAL, N.; JOLY, C.; DEGRAEVE, P. Nisin as a Food Preservative: Part 2: Antimicrobial Polymer Materials Containing Nisin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 8, p. 1275-1289, 2016b.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.

IMRAN, M.; EL-FAHMY, S.; REVOL-JUNELLES, A. M.; DESOBRY, S. Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 2, p. 219-225, 2010.

KHAN, A.; KHAN, R. A.; SALMIERI, S.; LE TIEN, C.; RIEDL, B.; BOUCHARD, J.; CHAUVE, G.; TAN, V.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Mechanical and barrier

properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 1601–1608, 2012.

MARCOS, B.; AYMERICH, T.; GARRIGA, M.; ARNAU, J. Active packaging containing nisin and high pressure processing as post-processing listericidal treatments for convenience fermented sausages. **Food Control**, v. 30, p. 325–330, 2013.

MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; JARDIM, A. I.; SCHEIBEL, J. M.; DE OLIVEIRA, R. V. B.; BRANDELLI, A. Polypropylene/Montmorillonite Nanocomposites Containing Nisin as Antimicrobial Food Packaging. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 11, p. 3349-3357, 2014.

MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; WERNER, J. O.; BRANDELLI, A. A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 561-570, 2017.

MONDAL, S. Review on Nanocellulose Polymer Nanocomposites. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, p. 1-15, 2017.

MONDRAGON, G.; PEÑA-RODRIGUEZ, C.; GONZÁLEZ, A.; ECEIZA, A.; ARBELAIZ, A. Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose. **European Polymer Journal**, v. 62, p. 1-9, 2015.

NAIR, S. S.; ZHU, J., DENG, Y.; RAGAUSKAS, A. J. High performance green barriers based on nanocellulose. **Sustainable Chemical Processes**, v. 2, n. 1, p. 23, 2014.

OLLÉ RESA, C. P.; JAGUS, R. J.; GERSCHENSON, L. N. Effect of natamycin, nisin and glycerol on the physicochemical properties, roughness and hydrophobicity of tapioca starch edible films. **Materials Science and Engineering: C**, v. 40, p. 281-28, 2014.

PEREDA, M.; AMICA, G.; RÁCZ, I.; MARCOVICH, N. E. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 1, p. 76-83, 2011.

PEREIRA, A. L. S.; NASCIMENTO, D. M.; SOUZA FILHO, M. D. S.; M., MORAIS, J. P. S.; VASCONCELOS, N. F.; FEITOSA, J. P. A.; BRÍGIDA, A. I. S.; ROSA, M. D. F. Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 165-172, 2014.

QAZANFARZADEH, Z.; KADIVAR, M. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1134-1140, 2016.

REDDY, J. P.; RHIM, J.-W. Characterization of bionanocomposite films prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 480-488, 2014.

ROMANI, V. P.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; MARTINS, V. G. Active and sustainable materials from rice starch, fish protein and oregano essential oil for food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 268-274, 2017.

SALMIERI, S.; ISLAM, F.; KHAN, R. A.; HOSSAIN, F. M.; IBRAHIM, H. M. M.; MIAO, C.; HAMAD, W. Y.; LACROIX, M. Antimicrobial nanocomposite films made of poly(lactic acid)-cellulose nanocrystals (PLA-CNC) in food applications: part A – effect of nisin release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in ham. **Cellulose**, v. 21, p. 1837-1850, 2014.

SANJURJO, K.; FLORES, S.; GERSCHENSON, L.; JAGUS, R. Study of the performance of nisin supported in edible films. **Food Research International**, v. 39, n. 6, p. 749-754, 2006.

SANTANA, J. S.; DO ROSÁRIO, J. M.; POLA, C. C.; OTONI, C. G.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 12, p. 44637, 2017.

SEBTI, I.; CHOLLET, E.; DEGRAEVE, P.; NOEL, C.; PEYROL, E. Water sensitivity, antimicrobial, and physicochemical analyses of edible films based on HPMC and/or chitosan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 693–699, 2007.

SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Preparation of nanocellulose from micro-crystalline cellulose: The effect on the performance and properties of agar-based composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 135, p. 18-26, 2016.

SHIROODI, S.G.; NESAEI, S.; OVISSIPOUR, M.; AL-QADIRI, H.M.; RASCO, B.; SABLANI, S. Biodegradable polymeric films incorporated with nisin: characterization and efficiency against *Listeria monocytogenes*. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 6, p. 958-969, 2016.

SLAVUTSKY, A. M.; BERTUZZI, M. A. Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 53-61, 2014.

SOARES, N. F. F.; HOTCHKISS, J. K. Bitterness reduction in grapefruit juice through active packaging. **Packaging Technology and Science**, v. 11, p. 9-18, 1998.

USFDA – U.S. **Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notice 000065**. CFSAN/Office of Food Additive Safety. 2000. Disponível em:

<<https://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm266587.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2017.

WANG, H.; ZHANG, R.; ZHANG, H.; JIANG, S.; LIU, H.; SUN, M.; JIANG, S. Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly(vinyl alcohol). **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 64-71, 2015.

WANG, L. F.; SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 201-208, 2017.

XU, Y.; SCALES, A.; JORDAN, K.; KIM, C.; SISMOUR, E. Starch nanocomposite films incorporating grape pomace extract and cellulose nanocrystal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 6, p. 44438, 2017.

CONCLUSÃO GERAL

Com a crescente preocupação relacionada a questões ambientais e desenvolvimento sustentável, novas opções de materiais biodegradáveis para produção de filmes plásticos com potencial de aplicação comercial são cada vez mais valorizadas na área de tecnologia de embalagens.

Os filmes nanocompósitos à base de blenda polimérica de amido/PVOH incorporados com CNC e CNF desenvolvidos no presente trabalho tiveram sua composição otimizada (5,83% (m/m) de CNC e 0,6% (m/m) de CNF) com sucesso por meio da função desejabilidade.

Melhorias significativas nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e na estabilidade térmica dos filmes nanocompósitos foram obtidas com a incorporação das nanoceluloses. Da mesma forma, os filmes ativos antimicrobianos envolvendo incorporação de NIS e CNC foram desenvolvidos com sucesso.

Os filmes ativos apresentaram eficiência no controle do crescimento de *L. monocytogenes*, *B. cereus* e *S. aureus in vitro*. A incorporação dos CNC e NIS promoveu melhoria nas propriedades mecânicas e de barreira ao oxigênio dos filmes ativos. Pelas características apresentadas pelos filmes aqui desenvolvidos, acredita-se que os mesmos apresentam-se como boas alternativas à substituição aos materiais plásticos tradicionais, demonstrando grande potencial para aplicação *in vivo* em futuras pesquisas envolvendo a avaliação da vida útil dos produtos embalados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M.; ALBOOFETILEH, M.; BEHROOZ, R.; REZAEI, M.; MIRAKI, R. Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 54, p. 166-173, 2013.

ABDULLAH, Z. W.; DONG, Y.; DAVIES, I. J.; BARBHUIYA, S. PVA, PVA Blends, and Their Nanocomposites for Biodegradable Packaging Application. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 56, n. 12, p. 1307-1344, 2017.

ALMEIDA, G.W.R. **Termodinâmica da biofuncionalização de nanotubos de carbono de paredes múltiplas com nisina visando nanocompósitos ativos**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p.93, 2014.

ALVES, J. S.; DOS REIS, K. C.; MENEZES, E. G. T.; PEREIRA, F. V.; PEREIRA, J. Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 215-222, 2015.

ANTONIOU, J.; LIU, F.; MAJEED, H.; ZHONG, F. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 44 p. 309-319, 2015.

ANVISA. **Uso da nisina com a função de conservador para queijos pasteurizados**. Portaria DETEN/MS nº 29, de 22 de janeiro de 199. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Portaria%2Bn%2B29%2Bde%2B22%2Bde%2Bjaneiro%2Bde%2B1996.pdf/8b0c3906-aa5b-4f16-ad1c-544b7c9e2586>. Acesso em: 15 de maio de 2017.

ARAUZ, L. J.; JOZALA, A. F.; MAZZOLA, P. G.; VESSONI PENNA, T. C. Nisin biotechnological production and application: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 3, p. 146-154, 2009.

Associação Brasileira de Embalagem – ABRE. Disponível em <<http://www.abre.org.br/setor/apresentacao-do-setor/a-embalagem/>>. Acessado em 05/10/2017a.

Associação Brasileira de Embalagem – ABRE. Disponível em: <<http://www.abre.org.br/setor/dados-de-mercado/>>. Acessado em 05/10/2017b.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard Test Method for Tensile Properties Thin Plastic Sheeting**, D882-12 Philadelphia: ASTM, p. 11, 2012.

ASTM – AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for determination gas permeability characteristics of plastic film and sheeting**. D1434-82. Philadelphia: ASTM, 2009.

ASTM – AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for water vapor transmission of materials**. E 96/E 96 M - 05. Philadelphia: ASTM, p. 11, 2014.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016.

AZEREDO, H. M. C de. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, p. 1240-1253, 2009.

AZEREDO, H. M. C.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 664-671, 2017.

AZEREDO, H.; MATTOSO, L. H. C.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MUNFORD, M. L.; WOOD, D.; MCHUGH, T. H. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. **Journal of Food Science**, v. 75, p. N1–N7, 2010.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 188 p. 2007.

BASF. **Ficha de produtos: Ecoflex**, 2003. Disponível em < https://www.plasticsportal.net/wa/plasticsEU/portal/show/content/products/biodegradable_plastics/biodegradable_polymers >. Acesso em: 11 de julho de 2017.

BELBEKHOUCHE, S.; BRAS, J.; SIQUEIRA, G.; CHAPPEY, C.; LEBRUN, L.; KHELIFI, B.; MARAIS, S.; DUFRESNE, A. Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1740-1748, 2011.

BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 232-239, 2012.

BHATIA, S.; BHARTI, A. Evaluating the antimicrobial activity of Nisin, Lysozyme and Ethylenediaminetetraacetate incorporated in starch based active food packaging film. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3504-3512, 2015.

BOELTER, J. F.; BRANDELLI, A. Innovative bionanocomposite films of edible proteins containing liposome-encapsulated nisin and halloysite nanoclay. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 740-747, 2016.

BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. **Cellulose**, v. 13, n. 2, p. 171, 2006.

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

BRASKEM, 2017. Disponível em < <http://www.braskem.com/site.aspx/Como-e-Produzido>>. Acesso em: 30 de julho de 2017.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 6(2), 127-139, 2011.

CAMPOS, A.; SENA NETO, A. R.; RODRIGUES, V. B.; LUCHESI, B. R.; MOREIRA, F. K. V.; CORREA, A. C.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Bionanocomposites produced from cassava starch and oil palm mesocarp cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate Polymers**, v. 175, p. 330-336, 2017.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber Editora, 280 p., 2013.

CANEVAROLO JR., S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 448 p., 2007.

CANO, A.; FORTUNATI, E.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; KENNY, J. M. Effect of cellulose nanocrystals on the properties of pea starch–poly(vinyl alcohol) blend films. **Journal of Materials Science**, v. 50, n. 21, p. 6979-6992, 2015.

CAO-HOANG, L.; CHAINE, A.; GRÉGOIRE, L.; WACHÉ, Y. Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control *Listeria* in artificially contaminated cheese. **Food Microbiology**, v. 27, n. 7, p. 940-944, 2010.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

CHAICHI, M.; HASHEMI, M.; BADI, F.; MOHAMMADI, A. Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 167-175, 2017.

CHANG, P. R.; JIAN, R.; ZHENG, P.; YU, J.; MA, X. Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 301-305, 2010.

CHO, M. J.; PARK, B. D. Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 36-40, 2011.

CHOLLET, E.; SWESI, Y.; DEGRAEVE, P.; SEBTI, I. Monitoring nisin desorption from a multi-layer polyethylene-based film coated with nisin-loaded HPMC film and diffusion in agarose gel by an immunoassay (ELISA) method and a numerical modeling. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 208-214, 2009.

CORRE, Y. M.; BRUZAUD, S.; AUDIC, J. L.; GROHENS, Y. Morphology and functional properties of commercial polyhydroxyalkanoates: A comprehensive and comparative study. **Polymer Testing**, v. 31, n. 2, p. 226-235, 2012.

CORREA, J.P.; MOLINA, V.; SANCHEZ, M.; KAINZ, C.; EISENBERG, P.; MASSANI, M.B. Improving ham shelf life with a polyhydroxybutyrate/polycaprolactone biodegradable film activated with nisin. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 11, p. 31-39, 2017.

COSTA, F.; CARVALHO, I.F.; MONTELARO, R.C.; GOMES, P.; MARTINS, M.C.L. Covalent immobilization of antimicrobial peptides (AMPs) onto biomaterial surfaces. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 4, p. 1431-1440, 2011.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013.

DAI, L.; QIU, C.; XIONG, L.; SUN, Q. Characterization of corn starch-based films reinforced with taro starch nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 174, p. 82-88, 2015.

DAS, K.; RAY, D.; BANERJEE, C.; BANDYOPADHYAY, N. R.; SAHOO, S.; MOHANTY, A. K.; MISRA, M. Physicomechanical and Thermal Properties of Jute-Nanofiber-Reinforced Biocopolyester Composites. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 6, p. 2775-2782, 2010.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DOPPALAPUDI, S.; JAIN, A.; KHAN, W.; DOMB, A. J. Biodegradable polymers—an overview. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 25, n. 5, p. 427-435, 2014.

DUFRESNE, A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 29, p. 1-8, 2017.

DUFRESNE, A.; CASTAÑO, J. Polysaccharide nanomaterial reinforced starch nanocomposites: A review. **Starch - Stärke**, v. 69, n. 1-2, p. 1500307, 2017.

EL MIRI, N.; ABDELOUAHDI, K.; BARAKAT, A.; ZAHOUILY, M.; FIIHRI, A.; SOLHY, A.; EL ACHABY, M. Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose

nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 156-167, 2015.

EPURE, V.; GRIFFON, M.; POLLET, E.; AVEROUS, L. Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 947-952, 2011.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. D. F. F.; TEÓFILO, R. F.; COIMBRA, J. S. D. R.; VITOR, D. M.; BATISTA, R. A.; FERREIRA, S. O.; DE ANDRADE, N. J.; MEDEIROS, E. A. A. Physical-mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 199-208, 2013.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; COIMBRA, J. S. R.; ANDRADE, N. J.; CRUZ, R. S.; MEDEIROS, E. A. A. Bioactive Peptides: Synthesis, Properties, and Applications in the Packaging and Preservation of Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 11: 187–204, 2012.

ESPITIA, P. J. P.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; DU W. X.; TEÓFILO, R. F.; SOARES, N. F. F.; MCHUGH, T. H. Optimal antimicrobial formulation and physical-mechanical properties of edible films based on açai and pectin for food preservation. **Food Packag Shelf Life**, v. 2, n. 1, p. 38–49, 2014.

FANG, Z.; ZHAO, Y.; WARNER, R. D.; JOHNSON, S. K. Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p. 60-71, 2017.

FERRER, A.; PAL, L.; HUBBE, M. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 574-582, 2017.

FISCHER S.; THUMMLER, K., VOLKERT, B.; HETTRICH, K., SCHMIDT, I.; FISCHER KLAUS. Properties and application of cellulose acetate. **Macromolecular Symposia**, v. 262, p. 89-96, 2008.

GARCIA, P. S.; GROSSMANN, M. V. E.; SHIRAI, M. A.; LAZARETTI, M. M.; YAMASHITA, F.; MULLER, C. M. O.; MALI, S. Improving action of citric acid as compatibiliser in starch/polyester blown films. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 305-312, 2014.

GEORGE, J.; RAMANA, K. V.; BAWA, A. S.; SIDDARAMAIAH. Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 1, p. 50-57, 2011.

GHARSALLAOUI, A.; OULAHAL, N.; JOLY, C.; DEGRAEVE, P. Nisin as a Food Preservative: Part 1: Physicochemical Properties, Antimicrobial Activity, and Main Uses. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 8, p. 1262-1274, 2016a.

GHARSALLAOUI, A.; OULAHAL, N.; JOLY, C.; DEGRAEVE, P. Nisin as a Food Preservative: Part 2: Antimicrobial Polymer Materials Containing Nisin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 8, p. 1275-1289, 2016b.

GUIMARÃES, M.; BOTARO, V. R.; NOVACK, K. M.; TEIXEIRA, F. G.; TONOLI, G. H. D. Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 72-83, 2015.

GUTIÉRREZ, M. C.; ROSA, P. T. V.; DE PAOLI, M. A.; FELISBERTI, M. I. Biocompósitos de acetato de celulose e fibras curtas de Curauá tratadas com CO₂ supercrítico. **Polímeros**, v. 22, p. 295-302, 2012.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.

HUQ, T.; SALMIERI, S.; KHAN, A.; KHAN, R. A.; LE TIEN, C.; RIEDL, B.; FRASCHINI, C.; BOUCHARD, J.; URIBE-CALDERON, J.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1757-1763, 2012.

IMRAN, M.; EL-FAHMY, S.; REVOL-JUNELLES, A. M.; DESOBRY, S. Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 2, p. 219-225, 2010.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 6, p. 1215-1233, 2013.

JIANG, F.; HSIEH, Y.-L. Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 32-40, 2013.

JIMENEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: A review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012.

JOSE, J.; DE, S. K.; ALMA'ADEED, M. A. A.; DAKUA, J. B.; SREEKUMAR, P. A.; SOUGRAT, R.; AL-HARTHI, M. A. Compatibilizing role of carbon nanotubes in poly(vinyl alcohol)/starch blend. **Starch - Stärke**, n. 67, n. 1-2, p. 147-153, 2015.

JULKAPLI, N. M.; BAGHERI, S. Progress on nanocrystalline cellulose biocomposites. **Reactive and Functional Polymers**, v. 112, p. 9-21, 2017.

KARGARZADEH, H.; MARIANO, M.; HUANG, J.; LIN, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A.; THOMAS, S. Recent developments on nanocellulose reinforced polymer nanocomposites: A review. **Polymer**, 2017.

KHAN, A.; KHAN, R. A.; SALMIERI, S.; LE TIEN, C.; RIEDL, B.; BOUCHARD, J.; CHAUVE, G.; TAN, V.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1601-1608, 2012.

LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: a review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 12, p. 3484-3504, 2009.

LI, Q.; ZHOU, J.; ZHANG, L. Structure and properties of the nanocomposite films of chitosan reinforced with cellulose whiskers. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 47, n. 11, p. 1069-1077, 2009.

LI, W.; WU, Q.; ZHAO, X.; HUANG, Z.; CAO, J.; LI, J.; LIU, S. Enhanced thermal and mechanical properties of PVA composites formed with filamentous nanocellulose fibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 403-410, 2014.

LOREVICE, M. V.; OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 732-740, 2016.

LUCKACHAN, G. E.; PILLAI, C. K. S. Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, n. 3, p. 637-676, 2011.

MAIA, T. H. S.; LAROCCA, N. M.; BEATRICE, C. A. G.; MENEZES, A. J.; FREITAS SIQUEIRA, G.; PESSAN, L. A.; DUFRESNE, A.; FRANÇA, M. P.; ALMEIDA LUCAS, A. Polyethylene cellulose nanofibrils nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 173, p. 50-56, 2017.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHIDA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Studies on the mechanical, thermal, morphological and barrier properties of nanocomposites based on poly(vinyl alcohol) and nanocellulose from sugarcane bagasse. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 462-473, 2014.

MARCOS, B.; AYMERICH, T.; GARRIGA, M.; ARNAU, J. Active packaging containing nisin and high pressure processing as post-processing listericidal treatments for convenience fermented sausages. **Food Control**, v. 30, p. 325–330, 2013.

MASSOUMI, B.; JAFARPOUR, P.; JAYMAND, M.; ENTEZAMI, A. A. Functionalized multiwalled carbon nanotubes as reinforcing agents for poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl alcohol)/starch nanocomposites: synthesis, characterization and properties. **Polymer International**, v. 64, n. 5, p. 689-695, 2015.

MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; JARDIM, A. I.; SCHEIBEL, J. M.; DE OLIVEIRA, R. V. B.; BRANDELLI, A. Polypropylene/Montmorillonite Nanocomposites Containing Nisin as Antimicrobial Food Packaging. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 11, p. 3349-3357, 2014.

MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; WERNER, J. O.; BRANDELLI, A. A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 561-570, 2017.

MITSAK, A. G.; KEMPPAINEN, J. M.; HARRIS, M. T.; HOLLISTER, S. J. Effect of Polycaprolactone Scaffold Permeability on Bone Regeneration In Vivo. **Tissue Engineering Part A**, v. 17, n. 13-14, p. 1831-1839, 2011.

MONDAL, S. Review on Nanocellulose Polymer Nanocomposites. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, p. 1-15, 2017.

MONDRAGON, G.; PEÑA-RODRIGUEZ, C.; GONZÁLEZ, A.; ECEIZA, A.; ARBELAIZ, A. Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose. **European Polymer Journal**, v. 62, p. 1-9, 2015.

MONTERO, B.; RICO, M.; RODRÍGUEZ-LLAMAZARES, S.; BARRAL, L.; BOUZA, R. Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1094-1104, 2017.

MORAES, A. C. M.; ANDRADE, P. F.; DE FARIA, A. F.; SIMÕES, M. B.; SALOMÃO, F. C. C. S.; BARROS, E. B.; GONÇALVES, M. D. C.; ALVES, O. L. Fabrication of transparent and ultraviolet shielding composite films based on graphene oxide and cellulose acetate. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 217-227, 2015.

MORAES, A. R. F.; POLA, C. C.; BILCK, A. P.; YAMASHITA, F.; TRONTO, J.; MEDEIROS, E. A. A.; SOARES, N. F. F. Starch, cellulose acetate and polyester biodegradable sheets: Effect of composition and processing conditions. **Materials Science and Engineering: C**, v. 78, p. 932-941, 2017.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. D. F.; SOUZA FILHO, M. D. S. M.; NASCIMENTO, L. D.; NASCIMENTO, D. M.; CASSALES, A. R. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 229-235, 2013.

NAIR, S. S.; ZHU, J.; DENG, Y.; RAGAUSKAS, A. J. High performance green barriers based on nanocellulose. **Sustainable Chemical Processes**, v. 2, n. 1, p. 23, 2014.

NOSHIRVANI, N.; HONG, W.; GHANBARZADEH, B.; FASIHI, H.; MONTAZAMI, R. Study of cellulose nanocrystal doped starch-polyvinyl alcohol bionanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017.

OJEDA, T. Polymers and the Environment. In: YILMAZ, F. (ed.). **Polymer Science**. Croatia: Intech, p.1, 2013.

OLEYAEI, S. A.; ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; MOAYEDI, A. A. Synergistic reinforcing effect of TiO₂ and montmorillonite on potato starch nanocomposite films: Thermal, mechanical and barrier properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 253-262, 2016.

OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; BILCK, A. P.; YAMASHITA, F.; OLIVEIRA, L. M. Starch/polyester films: simultaneous optimisation of the properties for the production of biodegradable plastic bags. **Polímeros**, v. 23, p. 32-36, 2013a.

OLIVATO, J. B.; MARINI, J.; POLLET, E.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E.; AVEROUS, L. Elaboration, morphology and properties of starch/polyester nano-biocomposites based on sepiolite clay. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 250-256, 2015.

OLIVATO, J. B.; MULLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E.; NOBREGA, M. M. Study of the compatibilizer effect in the properties of starch/polyester blends. **Polímeros**, v. 23, p. 346-351, 2013b.

OLLÉ RESA, C. P.; JAGUS, R. J.; GERSCHENSON, L. N. Effect of natamycin, nisin and glycerol on the physicochemical properties, roughness and hydrophobicity of tapioca starch edible films. **Materials Science and Engineering: C**, v. 40, p. 281-28, 2014.

OUN, A. A.; RHIM, J.-W. Characterization of nanocelluloses isolated from Ushar (*Calotropis procera*) seed fiber: Effect of isolation method. **Materials Letters**, v. 168, p. 146-150, 2016.

PAWAR, S. N.; EDGAR, K. J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**, v. 33, n. 11, p. 3279-3305, 2012.

PEREDA, M.; AMICA, G.; RÁCZ, I.; MARCOVICH, N. E. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 1, p. 76-83, 2011.

PEREIRA, A. L. S.; NASCIMENTO, D. M.; SOUZA FILHO, M. D. S.; M., MORAIS, J. P. S.; VASCONCELOS, N. F.; FEITOSA, J. P. A.; BRÍGIDA, A. I. S.; ROSA, M. D. F. Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 165-172, 2014.

PEREIRA, A. L. S.; NASCIMENTO, D. M.; SOUZA FILHO, M. D. S.; M., MORAIS, J. P. S.; VASCONCELOS, N. F.; FEITOSA, J. P. A.; BRÍGIDA, A. I. S.; ROSA, M. D. F. Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 165-172, 2014.

POLA, C. C.; MEDEIROS, E. A. A.; PEREIRA, O. L.; SOUZA, V. G. L.; OTONI, C. G.; CAMILLOTO, G. P.; SOARES, N. F. F. Cellulose acetate active films incorporated with oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 9, p. 69-78, 2016.

POSTEK, M. T.; VLADÁR, A.; DAGATA, J.; FARKAS, N.; MING, B.; WAGNER, R.; RAMAN, A.; MOON, R. J.; SABO, R.; WEGNER, T. H.; BEECHER, J. Development of the metrology and imaging of cellulose nanocrystals. **Measurement Science and Technology**, v. 22, n. 2, 2011.

PRIYA, B.; GUPTA, V. K.; PATHANIA, D.; SINGHA, A. S. Synthesis, characterization and antibacterial activity of biodegradable starch/PVA composite films reinforced with cellulosic fibre. **Carbohydrate Polymers**, v. 109, p. 171-179, 2014.

QAZANFARZADEH, Z.; KADIVAR, M. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1134-1140, 2016.

QUINTERO, R. I.; GALOTTO, M. J.; RODRIGUEZ, F.; GUARDA, A. Preparation and characterization of cellulose acetate butyrate/organoclay nanocomposites produced by extrusion. **Packaging Technology and Science**, v. 27, n. 6, p. 495-507, 2014.

RABELO, M.; PAOLI, M. A. **Aditivação de termoplásticos**. São Paulo: Artliber Editora, 357 p., 2013.

RAHMAN, W. A. W. A.; SIN, L. S.; RAHMAT, A. R.; SAMAD, A. A. Thermal behaviour and interactions of cassava starch filled with glycerol plasticized polyvinyl alcohol blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 805-810, 2010.

REDDY, J. P.; RHIM, J.-W. Characterization of bionanocomposite films prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 480-488, 2014.

RODRÍGUEZ, F. J.; GALOTTO, M. J.; GUARDA, A.; BRUNA, J. E. Modification of cellulose acetate films using nanofillers based on organoclays. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 262-268, 2012.

ROMANI, V. P.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; MARTINS, V. G. Active and sustainable materials from rice starch, fish protein and oregano essential oil for food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 268-274, 2017.

ROMERO, R. B.; FERRAREZI, M. M. F.; LEITE, C. A. P.; ALVES, R. M. V.; GONÇALVES, M. C. Influence of the layered silicate type on the structure, morphology and properties of cellulose acetate nanocomposites. **Cellulose**, v. 20, n. 2, p. 675-686, 2013.

ROWE, A. A.; TAJVIDI, M.; GARDNER, D. J. Thermal stability of cellulose nanomaterials and their composites with polyvinyl alcohol (PVA). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, n. 3, p. 1371-1386, 2016.

RUDAZ, C.; BUDTOVA, T. Rheological and hydrodynamic properties of cellulose acetate/ionic liquid solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1966-1971, 2013.

SALMIERI, S.; ISLAM, F.; KHAN, R. A.; HOSSAIN, F. M.; IBRAHIM, H. M. M.; MIAO, C.; HAMAD, W. Y.; LACROIX, M. Antimicrobial nanocomposite films made of poly(lactic acid)-cellulose nanocrystals (PLA-CNC) in food applications: part A – effect of nisin release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in ham. **Cellulose**, v. 21, p. 1837-1850, 2014.

SANJURJO, K.; FLORES, S.; GERSCHENSON, L.; JAGUS, R. Study of the performance of nisin supported in edible films. **Food Research International**, v. 39, n. 6, p. 749-754, 2006.

SANTANA, J. S.; DO ROSÁRIO, J. M.; POLA, C. C.; OTONI, C. G.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 12, p. 44637, 2017.

SANTANA, J. S.; DO ROSÁRIO, J. M.; POLA, C. C.; OTONI, C. G.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 12, p. 44637, 2017.

SEBTI, I.; CHOLLET, E.; DEGRAEVE, P.; NOEL, C.; PEYROL, E. Water sensitivity, antimicrobial, and physicochemical analyses of edible films based on HPMC and/or chitosan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 693–699, 2007.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the x-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, 1962.

SHAILI, T.; ABDORREZA, M. N.; FARIBORZ, N. Functional, thermal, and antimicrobial properties of soluble soybean polysaccharide biocomposites reinforced by nano TiO₂. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 726-731, 2015.

SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Preparation of nanocellulose from micro-crystalline cellulose: The effect on the performance and properties of agar-based composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 135, p. 18-26, 2016.

SHIROODI, S.G.; NESAEI, S.; OVISSIPOUR, M.; AL-QADIRI, H.M.; RASCO, B.; SABLANI, S. Biodegradable polymeric films incorporated with nisin: characterization and efficiency against *Listeria monocytogenes*. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 6, p. 958-969, 2016.

SIONKOWSKA, A.; LEWANDOWSKA, K.; PLANECKA, A.; SZARSZEWSKA, P.; KRASINSKA, K.; KACZMAREK, B.; KOZLOWSKA, J. Biopolymer Blends as Potential Biomaterials and Cosmetic Materials. **Key Engineering Materials**, v. 583, p. 95-100, 2013.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.

SLAVUTSKY, A. M.; BERTUZZI, M. A. Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 53-61, 2014.

SOARES, N. F. F.; HOTCHKISS, J. K. Bitterness reduction in grapefruit juice through active packaging. **Packaging Technology and Science**, v. 11, p. 9-18, 1998.

SYVERUD, K.; CHINGA-CARRASCO, G.; TOLEDO, J.; TOLEDO, P. G. A comparative study of Eucalyptus and Pinus radiata pulp fibres as raw materials for production of cellulose nanofibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 3, p. 1033-1038, 2011.

TANG, X.; ALAVI, S. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 7-16, 2011.

TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; CARVALHO, G. M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 126, p. 9-16, 2015.

USFDA – U.S. **Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notice 000065**. CFSAN/Office of Food Additive Safety. 2000. Disponível em:

<<https://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm266587.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2017.

VALDÉS, A.; MELLINAS, A. C.; RAMOS, M.; GARRIGÓS, M. C.; JIMÉNEZ A. Natural additives and agricultural wastes in biopolymer formulations for food packaging. **Frontiers in Chemistry**, v. 2, n. 6, 2014.

van den BROEK, L. A. M.; Knoop, R. J. I.; Kappen, F. H. J.; Boeriu, C. G. Chitosan films and blends for packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 237-242, 2015.

VARTIAINEN, J.; VAHA-NISSI, M.; HARLIN, A. Biopolymer Films and Coatings in Packaging Applications – A Review of Recent Developments. **Materials Sciences and Applications**, v. 5, n.10, 2014.

VICENTINI, D. S.; SMANIA, A.; LARANJEIRA, M. C. M. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, n. 4, p. 503-508, 2010.

WANG, H.; ZHANG, R.; ZHANG, H.; JIANG, S.; LIU, H.; SUN, M.; JIANG, S. Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly(vinyl alcohol). **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 64-71, 2015.

WANG, L. F.; SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 201-208, 2017.

WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, v. 35, n. 10, p. 1217-1256, 2010.

XU, Y.; SCALES, A.; JORDAN, K.; KIM, C.; SISMOUR, E. Starch nanocomposite films incorporating grape pomace extract and cellulose nanocrystal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 6, p. 44438, 2017.

YANG, X.; LI, L.; SHANG, S.; TAO, X. M. Synthesis and characterization of layer-aligned poly(vinyl alcohol)/graphene nanocomposites. **Polymer**, v. 51, n. 15, p. 3431-3435, 2010.

ZHANG, L.; WANG, H.; JIN, C.; ZHANG, R.; LI, L.; LI, X.; JIANG, S. Sodium lactate loaded chitosan-polyvinyl alcohol/montmorillonite composite film towards active food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 42, p. 101-108, 2017.

ZHOU, Y. M.; FU, S. Y.; ZHENG, L. M.; ZHAN, H. Y. Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films. **eXPRESS Polymer Letters**, v. 6, n. 10, p. 794-804, 2012.