



MAYARA DE SOUZA MIRANDA

**AVALIAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE
QUITOSANA/NANOFIBRILA DE CELULOSE E TiO₂ PARA
EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

**LAVRAS – MG
2021**

MAYARA DE SOUZA MIRANDA

**AVALIAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE QUITOSANA/NANOFIBRILA DE
CELULOSE E TiO₂ PARA EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Maria Lucia Bianchi

Orientadora

LAVRAS-MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Miranda, Mayara Souza de.

Avaliação de filmes híbridos de quitosana/nanofibrila de celulose e TiO₂ para embalagens flexíveis / Mayara Souza de Miranda. - 2021.

63 p. : il.

Orientador(a): Maria Lucia Bianchi.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Biopolímeros. 2. Filmes híbridos. 3. Embalagens Sustentáveis. I. Bianchi, Maria Lucia. II. Título.

MAYARA DE SOUZA MIRANDA

**AVALIAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE QUITOSANA/NANOFIBRILA DE
CELULOSE E TiO₂ PARA EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

**EVALUATION OF CHITOSAN/NANOFIBRILL CELLULOSE AND TiO₂ HYBRID
FILMS FOR FLEXIBLE PACKAGING**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Doutorado.

APROVADA em 22 de outubro de 2021.

Dr. Jonas Leal Neto	(DQI-UFLA)
Dra. Josefina Aparecida de Souza	(DQI-UFLA)
Dr. Juliano Elvis de Oliveira	(DEG-UFLA)
Dr. Mario Guimarães Junior	(CEFET-MG)

Dra. Maria Lucia Bianchi

Orientadora

LAVRAS-MG

2021

Aos meus pais, minha irmã e meu sobrinho.

DEDICO

AGRADECIMENTO

À Deus, por seu imensurável amor, bondade e misericórdia. Que até aqui me sustentou e amparou em todos os momentos. Em meio a tempos tão difíceis nesses últimos dois anos de pandemia, tantos medos e anseios, até mesmo sobre nossa sobrevivência, a Tua Graça me alcançou.

Aos meus pais, Altamiro e Maria Antônia, por todo cuidado, amor, paciência, dedicação e orações. Sem o apoio deles eu jamais conseguiria.

À minha irmã, Maíra, minha alma gêmea, por estar sempre ao meu lado vibrando na mesma sintonia!

Ao meu amado sobrinho, meu filho do coração, Miguel, por seu carinho e por transbordar meu coração de tanto amor!

Ao meu "filhinho" Theo, meu gatinho (risos), que literalmente ficou ao meu lado e até em cima do computador. Mas são esses seres que na maioria das vezes alegram e trazem leveza para nossos dias.

A minha prima, Carla, pela amizade, amor, carinho, companheirismo, por estar presente em todos os momentos da minha vida mesmo longe!

Agradeço a minha amada psicóloga e amiga (mãezinha do coração), Mariana, que também viveu todo processo comigo, por todas conversas, suporte, ensinamentos, amizade, carinho e cuidados!

As minhas amigas do coração Larissa, Jeanny, Érica e Ana Lú, que mesmo distantes, cada uma seguindo seu caminho, não deixamos de nos falar um só dia no nosso grupo (risos). Já são mais de 15 anos de amizade, compartilhando a vida! Obrigada por tudo, meninas!

Aos amigos do laboratório que me auxiliaram nas pesquisas, em especial a Janaína, Stéfany, Pedro, Camila, Cris e Will.

À Malu, minha orientadora, por todos esses anos de convivência, nosso encontro foi muito antes da graduação, lá no Bic Júnior... obrigada pela confiança, paciência e compreensão. Pelos direcionamentos, ensinamentos e por sua amizade! Gratidão por tudo, sempre! Vai estar sempre em meu coração...

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Química, ao Programa de Pós-graduação em Agroquímica, ao CAPQ, pela oportunidade e estrutura.

À CAPES; ao CNPq e a FAPEMIG

*“Dono de toda ciência, sabedoria e poder
Oh dá-me de beber, da água da fonte da vida
Antes que o haja houvesse
Ele já era Deus
Se revelou ao seus
Do crente ao ateu
Ninguém explica Deus”*

Canção de Preto no Branco

RESUMO

A busca pelo desenvolvimento de embalagens sustentáveis inteligentes, produzidas por meio da utilização de matérias-primas renováveis amplia-se constantemente, não somente pelas questões ambientais, mas também pela crescente demanda de alimentos mais frescos e minimamente processados. Dessa forma, a utilização de biopolímeros como a quitosana (Q) e a nanofibrila de celulose (NFC) tem apresentado um elevado potencial no desenvolvimento de filmes biodegradáveis em substituição aos plásticos convencionais, provenientes de combustíveis fósseis como o petróleo. A nanofibrila de celulose é utilizada como material de reforço, aumentando a resistência mecânica dos filmes. Além disso, outros compostos podem ser adicionados à base dos filmes, sejam orgânicos ou inorgânicos, a fim de melhorar ou até mesmo gerar outras propriedades, como por exemplo, ação antimicrobiana e antioxidante. Assim, o TiO_2 vem sendo estudado como um componente que, ao ser incorporado aos filmes de quitosana/nanofibrila de celulose, promovem inibição bacteriana. À vista disso, nesse trabalho foram preparados filmes híbridos de Q/ TiO_2 /NFC em diferentes concentrações para avaliar seu potencial para aplicação em embalagens flexíveis para alimentos. A caracterização dos filmes foi feita por análise termogravimétrica (TGA), Infravermelho (FTIR), Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Difração de Raios X (DRX). Também foram analisadas propriedades físico-químicas, umidade, permeabilidade ao vapor de água, propriedade óptica, ação antioxidante e antibacteriana dos filmes. Os resultados mostraram que a incorporação da NFC e do TiO_2 foram eficientes para melhorar as propriedades dos filmes pois, houve diminuição da umidade (filme controle Q1: 21,34; híbrido Q1T6N5: 14,59) da permeabilidade ao vapor de água (filme controle: Q1,5: $3,09 \times 10^{-14}$; híbrido: $2,35 \times 10^{-14}$), tornando-os mais resistentes. Além disso, por meio das caracterizações foi possível observar que houve interação física entre os constituintes nas amostras de filmes. A adição do TiO_2 apresentou resultado satisfatório, por inibir a propagação das duas bactérias em estudo (*E. coli* e *S. aureus*) em alguns filmes. Enquanto o filme controle Q1 não inibiu a proliferação da *S. aureus*, o híbrido Q1T2N1 apresentou um halo de inibição de 9,0 mm. Diante disso, o material híbrido produzido mostrou-se promissor para o desenvolvimento de embalagens de alimentos sustentáveis ativas.

Palavras-chave: biopolímeros, filmes híbridos, embalagens sustentáveis.

ABSTRACT

The search for the development of smart sustainable packaging produced using renewable raw materials is constantly increasing not only because of environmental issues, but also because of the growing demand for fresher and minimally processed foods. Therefore, the use of biopolymers such as chitosan (Q) and cellulose nanofibril (NFC) has a high potential in the development of biodegradable films replacing conventional plastics from fossil fuels such as petroleum. Cellulose nanofibril is used as a reinforcing material, increasing the mechanical strength of the films. In addition, other compounds can be added to the base of the films, whether organic or inorganic, in order to improve or even generate other properties such as, for example, antimicrobial and antioxidant action. Thus, TiO₂ has been studied as a component that, when incorporated into chitosan/cellulose nanofibril films, promotes bacterial inhibition. In this research, hybrid films of Q/TiO₂/NFC were prepared at different concentrations to evaluate their potential for application in food packaging. The characterization of the films was made by thermogravimetric analysis (TAG), Infrared (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-Ray Diffraction (XRD). Physical-chemical properties, moisture, water vapor permeability, optical properties, antioxidant and antibacterial action of the films were also analyzed. The results showed that the incorporation of NFC and TiO₂ were efficient to improve the properties of the films as there was a decrease in moisture (control film Q1: 21.34; hybrid Q1T6N5: 14.59) of the water vapor permeability (control film : Q1,5: 3.09×10^{-14} ; hybrid: 2.35×10^{-14}), making them more resistant. Furthermore, through the characterizations it was possible to observe that there was physical interaction between the constituents in the film samples. The addition of TiO₂ showed satisfactory results, as it inhibited the propagation of the two bacteria under study (*E. coli* and *S aureus*) in some films. While the Q1 control film did not inhibit *S aureus* proliferation, the Q1T2N1 hybrid showed a 9.0 mm inhibition halo. Therefore, the hybrid material produced proved to be promising for the development of active sustainable food packaging.

Keywords: biopolymers, hybrid films, sustainable packaging.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 Comparação entre a estrutura da quitina e da quitosana.....	4
Figura 2 Estrutura de uma cadeia de celulose destacando o monômetro glicose e o dímero celobiose	6
Figura 3 Micrografias de transmissão de nanofibrilas de celulose preparadas a partir de fibras de <i>Opuntia ficus-indica</i>	8
Figura 4 Estrutura do TiO ₂ : Anatase (A), Rutilo (B) e Broquita (C)	10

SEGUNDA PARTE

Artigo

Figura 1 Imagens dos filmes produzidos sendo Q – quitosana, N- nanofibrila de celulose e os respectivos números igual a massa em g e volume em mL, T – TiO ₂ e respectivos números igual a % de TiO ₂	31
Figura 2 Micrografia das superfícies dos filmes de NFC (a) e Q1,5 (b) com resolução de 700X	32
Figura 3 Micrografia das amostras dos filmes híbridos (a) 50X e (b) 500X.....	33
Figura 4 Espectros na região de infravermelho do filme controle Q e dos híbridos	35
Figura 5 Curva TGA do filme de quitosana – Q (filme controle).....	36
Figura 6 Curva TGA dos filmes híbridos	36
Figura 7 Difratoogramas obtidos das amostras Q1T2N1, Q1T2N5, Q1T6N1, Q1T6N5, Q2T2N1	37
Figura 8 Difratoogramas obtidos das amostras Q2T2N5, Q2T6N1, Q2T6N5, Q1,5T4N1,5-1, Q1,5T4N1,5-2, Q1,5T4N1,5-3	38
Figura 9 Médias e valores de desvio padrão de transmissão da luz em comprimento de onda de 600 nm dos filmes.....	43
Figura 10 Médias da atividade antioxidante dos filmes de quitosana e dos filmes híbridos....	44

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

Artigo

Tabela 1 Ensaios experimental gerado pelo planejamento fatorial completo	26
Tabela 2 Valores de Umidade e Solubilidades dos filmes controle de Q e dos filmes híbridos	40
Tabela 3 Valores médios de permeabilidade de vapor de água (PVA) das amostras	41
Tabela 4 Efeitos dos filmes sobre o crescimento das bactérias <i>E. Coli</i> e <i>S. Aureus</i>	46

LISTA DE ABREVIATURAS

CMI	Concentração mínima inibitória
DRX	Difração de raios X
E coli	Escherichia coli
FTIR	Espectroscopia na Região de Infravermelho
NFC	Nanofibrila de celulose
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
Q	Quitosana
S aureus	Staphylococcus aureus
TGA	Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Material híbrido	3
2.2 Quitosana	4
2.3 Celulose	6
2.3.1 Nanofibrila de celulose	7
2.4 Dióxido de Titânio (TiO₂)	9
2.5 Embalagens sustentáveis	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
SEGUNDA PARTE - ARTIGO	21
ARTIGO	21
Avaliação de filmes híbrido de quitosana/nanofibrilas de celulose e TiO₂ para embalagens flexíveis	21
Evaluation of chitosan/nanofibrill films from cellulose and TiO₂ hybrid films for flexible packagins	21

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O estudo de novos materiais, como híbridos orgânico-inorgânicos, tem despertado grande interesse devido às suas aplicações atuais e potenciais em diversas áreas, uma vez que podem agrupar características químicas, ópticas e mecânicas úteis. Comumente, pesquisas envolvendo estes materiais têm destacado o uso de matrizes orgânicas obtidas a partir de polímeros sintéticos, como vinílicos, de condensação ou poliolefinas preenchidas com constituintes inorgânicos passivos como silicatos e outros (REN et al, 2021).

Um exemplo, seria a combinação de acetato de vinila com metacrilato de alumínio para uso como sensores em aplicações eletroquímicas na quantificação de analitos orgânicos e inorgânicos (FERREIRA, 2014).

As matrizes poliméricas derivadas de petróleo apresentam desvantagens por se tratar de uma matéria-prima não renovável, que conseqüentemente ocasiona inúmeros problemas ambientais, tais como geração de resíduos, poluição, dentre outros, além de demandar um elevado custo em seu processo de obtenção.

Todavia, existe hoje a necessidade de desenvolver produtos sem a geração de resíduos tóxicos, que não sejam prejudiciais ao meio ambiente ou à saúde humana, que sejam economicamente viáveis e de fácil tratamento, além de serem biodegradáveis e/ou recicláveis. À vista disso, a bioeconomia circular que é uma forma de produção fundamentada na utilização de matérias-primas renováveis e de origem não fóssil, compromete-se em liderar a iminente onda emergente do desenvolvimento econômico global, tendo como base produtos recicláveis, matérias primas renováveis, energia renovável, processos biológicos, organismos naturais ou geneticamente modificados, fermentação, biologia molecular e biotecnologia.

Exemplos de polímeros biodegradáveis são a quitosana e a celulose. Estudos recentes se direcionam na obtenção de diferentes híbridos de quitosana e/ou celulose com aplicações em várias áreas, seja para atuarem como matriz ou suporte para outro componente (THAKUR et al, 2015; AZMANA et al, 2021).

A celulose, por exemplo, pode exercer o papel de material de reforço para a matriz de quitosana, melhorando suas propriedades mecânicas e assim, ambas serem suporte para outro constituinte, como o dióxido de titânio, dando origem a um único material com propriedades complementares e diferenciadas. Os híbridos podem apresentar diversas formas, como filmes

finos, membranas, aerogéis, pós, dentre outros (JOSÉ, PRADO, 2005; THAKUR VK, THAKUR MK, 2015).

Os materiais à base de titânio destacam-se devido ao seu elevado índice de refração e propriedades de absorção de UV. O dióxido de titânio é utilizado na purificação de água contaminada, por atuar como filtro; nos cosméticos para pele como bloqueadores solares, devido a capacidade de absorção de luz UV e demais aplicações em várias áreas do conhecimento, sendo assim, considerado um material promissor. É classificado como um material quimicamente estável, não tóxico, antimicrobiano e que apresenta baixo custo (ZHANG et al, 2017; TASPIKA et al, 2020).

Nessa perspectiva, este trabalho insere-se em uma área de pesquisa que propõe o desenvolvimento de novos materiais que compreende os três eixos da sustentabilidade, ou seja, ambiental, social e economicamente viável. Assim, tem-se por objetivo a obtenção de filmes biodegradáveis à base de quitosana incorporados com dióxido de titânio e nanofibrilas de celulose.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Material híbrido

Materiais híbridos são constituídos pela combinação de componentes orgânicos e inorgânicos que, comumente, apresentam propriedades complementares e formam um único material com propriedades distintas daquelas que lhe deram origem (JOSÉ; PRADO, 2005; SALAS et al., 2014; MINELLA et al., 2017). A principal ideia relacionada ao desenvolvimento de materiais híbridos reporta-se em aproveitar as melhores propriedades de cada um dos componentes que constitui o material. Esse procedimento consiste em diminuir ou até mesmo descartar as desvantagens que cada componente inorgânico ou orgânico possui, assegurando que essa modificação possibilite a produção de novos materiais com uma melhor eficiência e novas propriedades úteis (CAVALIERI et al., 2014; CHANG; ZHANG, 2011; MALUCELLI et al., 2014; SMALL; JOHNSTON, 2009; TAN et al., 2016).

De maneira geral, esses materiais podem ser preparados de três formas: por incorporação física dos constituintes, por meio de ligações químicas entre os componentes e pela combinação dos dois tipos de interação descritas anteriormente (JOSÉ; PRADO, 2005; MALUCELLI et al., 2014).

Há inúmeros precursores que podem ser utilizados na produção dos híbridos (polímeros, cerâmicas, sílica, óxidos, metais) e que possibilitam desenvolver projetos em diversas áreas (ALHASSEN et al., 2014). Os híbridos nanoestruturados exibem, pelo menos, um dos componentes em escala nanométrica (AZMANA et al., 2021). A dispersão do componente nanométrico é maior devido a mobilidade das estruturas e interação com espaços da matriz (KO; CHOI, 2013). Alguns componentes são muito utilizados na produção de híbridos como os polímeros naturais, por exemplo, a celulose e a quitosana (TAN et al., 2016, AZMANA, 2021).

A composição destes materiais permite uma alternativa para a produção de novos materiais multifuncionais, que apresentam imenso potencial, com uma grande faixa de aplicações tecnológicas devido às suas propriedades ópticas, mecânicas e térmicas.

Ismail e colaboradores (2019), produziram filmes híbridos orgânico-inorgânico a partir de nanofibrilas de celulose (NFC), nanossílica e quitosana para aplicação em embalagens de alimentos. Os resultados mostraram que a adição de nanofibrilas de celulose aprimorou as propriedades dos filmes. Esses filmes mostraram boas propriedades mecânicas. Com a incorporação da nanossílica em diferentes porcentagens, constatou-se que as propriedades mecânicas melhoraram até a adição de 5% em massa da nanossílica, acima disso houve

aglomeração do material, o que fez com que essa propriedade piorasse. Já para estabilidade térmica, quanto mais nanossílica, mais estáveis termicamente os filmes se tornaram. A adição da nanossílica também modificou a absorção de luz na região UV, tornando os filmes mais responsivos à luz UV, e dessa forma, apropriados para melhorar o material da embalagem.

Dessa forma, materiais híbridos contendo quitosana vem sendo aplicados na produção de filmes e revestimentos para embalagens de alimentos.

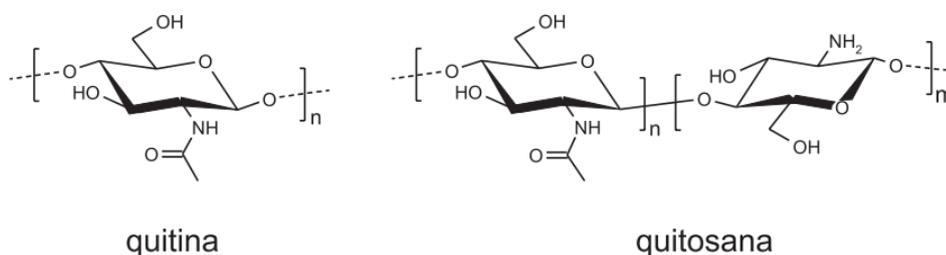
2.2 Quitosana

Derivada da quitina, a quitosana é um subproduto de manejo e processamento de crustáceos, peixes e frutos do mar. Assim, tanto a quitina quanto a quitosana são obtidas, principalmente, por meio dos resíduos da indústria pesqueira. Atualmente, uma preocupação da indústria de pesca refere-se ao destino apropriado para seus resíduos, de forma que os acometimentos ao meio ambiente sejam cada vez menores (KUMAR, MUKHERJEE, DUTTA, 2020; MOURA et al., 2006).

A quitosana é um copolímero composto por unidades de 2-glucosamina e N-acetil-2-glucosamina de natureza antibacteriana, não-tóxica e biodegradável, produzida por meio da desacetilação da quitina, principal componente estrutural dos invertebrados marinhos. Também encontrada na cutícula de insetos e na parede celular de alguns fungos e leveduras, sendo assim, um dos polímeros naturais mais abundantes no mundo (HEIN et al, 2008; KAI et al, 2016, NASUTION et al, 2021).

A partir da reação de desacetilação da quitina é possível obter a quitosana (Figura 1). Durante a reação, os grupamentos acetoamido ($-\text{NHCOCH}_3$) são transformados em grupos aminos ($-\text{NH}_2$), em graus variados, e dão origem à quitosana (CAMPANA-FILHO et al, 2007). Assim, quando a quitosana é solubilizada em ácidos orgânicos (ácido acético, fórmico, cítrico) e inorgânico (ácido clorídrico), resulta em soluções viscosas que são capazes de formar filmes.

Figura 1 – Comparação entre a estrutura da quitina e da quitosana



Nas últimas décadas têm sido estudadas várias aplicações para a quitosana. Por se tratar de um polímero natural, biodegradável, tem sido proposta para diversos usos, tais como na agricultura, conservação de alimentos, saúde e proteção ambiental.

As propriedades físicas e químicas da quitosana permitem a preparação de materiais poliméricos de diferentes formas como fibras, filmes, géis, esponjas, pérolas ou mesmo nanopartículas (PEREIRA et al, 2014). Desta forma, a quitosana pode ser utilizada para a produção de filmes biodegradáveis, sendo uma alternativa para os sintéticos comercialmente disponíveis.

Duran e Kahve (2020), desenvolveram um revestimento de quitosana com embalagem a vácuo com o intuito de aumentar o prazo de validade da carne bovina. Em seus estudos foram analisadas bactérias aeróbicas mesofílicas totais (TMAB), *Stapylococcus aureus*, bactérias do ácido láctico (LBA), os valores do ácido tiobarbitúrico (TBA) e o conteúdo total de nitrogênio básico volático (TVB-N) na carne de boi. Os resultados mostraram que o revestimento de quitosana diminuiu os valores de TMAB, LAB e TVB-N e foi capaz de inibir todos os *S. aureus* em até 15 dias de armazenamento. Priyadarshi e colaboradores (2018), prepararam filmes de quitosana incorporados com óleo essencial de semente de damasco em diferentes concentrações para aplicação ativa (constituintes que interagem diretamente com o produto) em embalagens de alimentos. Os resultados exibiram que os filmes incorporados com o óleo tiveram suas propriedades físico-químicas aprimoradas. Os filmes também apresentaram excelentes propriedades antioxidantes e antimicrobianas em comparação aos filmes puros de quitosana, inibindo satisfatoriamente o desenvolvimento de fungos em fatias de pão embaladas. Khalifa e colaboradores (2016), produziram filmes de quitosana incorporados com extratos de azeite afim de melhorar a estabilidade do prazo de validade da maçã e do morango. Seus estudos mostraram que a adição do extrato aumentou as atividades antifúngicas e antibacterianas contra as cepas testadas, reduzindo significativamente o declínio gradual de ambos os frutos revestidos em suas características microbiológicas.

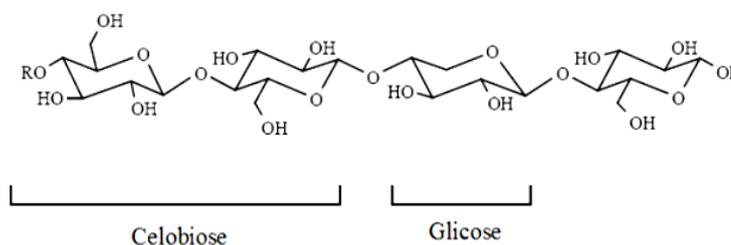
Contudo, há a necessidade de utilizar a quitosana associada a outros constituintes, pois ela apresenta algumas desvantagens como à baixa área superficial e propriedades térmicas e mecânicas precárias. Dessa forma, são utilizados reforços que possam melhorar estas propriedades como, por exemplo, as nanofibrilas de celulose que atuam como material de reforço nos filmes a base de quitosana. (THAKUR; THAKUR, 2015 e SHEN; KAMDEM, 2015). Além de outros componentes, sejam eles orgânicos ou inorgânicos que irão potencializar as atividades dos filmes produzidos.

2.3 Celulose

A celulose $(C_6H_{10}O_5)_n$ é um polímero de cadeia longa composto de um só monômero (glicose), classificado como polissacarídeo ou carboidrato de característica fibrosa, que se localiza na parede das células das plantas. Extraída da madeira, é a base para fabricação de papel, sendo que as indústrias também a utilizam para a fabricação de certos tipos de vernizes, filmes, seda artificial e diversos produtos químicos. A celulose possui elevado potencial para se tornar uma alternativa aos recursos fósseis para a produção sustentável de insumos químicos e combustíveis. (ONDA; OCHI E YANAGISAWA, 2008).

A estrutura da celulose (Figura 2) se forma pela união de moléculas de D-glicose (uma hexose) por meio de ligações β -1,4-glicosídicas, com alto grau de polimerização e elevada massa molar, principalmente, em sua forma cristalina que confere a alta resistência ao rompimento de suas ligações por substâncias químicas (YAO-BING; FU, 2013).

Figura 2 – Estrutura de uma cadeia de celulose destacando o monômetro glicose e o dímero celobiose



Há uma gama de interesse no uso da celulose como fonte de energia e materiais renováveis. Um ponto recente desta atividade vem do reconhecimento de que, por meio de tratamentos químicos e mecânicos adequados, é possível produzir materiais fibrosos com uma ou duas dimensões na faixa nanométrica a partir de qualquer fonte natural de celulose. Os termos “nanocelulose” ou “nanomaterial de celulose” são agora usados para uma variedade de materiais derivados da celulose com pelo menos uma dimensão na faixa nanométrica (Raghuwanshi e Garnier, 2019). A nanocelulose é ainda classificada em três: nanocelulose bacteriana (NCB), celulose nanocristalina (CNC) e celulose nanofibrilada ou nanofibrilas de celulose (NFC).

Os materiais à base de nanocelulose são sustentáveis, renováveis, recicláveis e não tóxicos. (DUFRESNE, 2017).

2.3.1 Nanofibrila de celulose

As nanofibrilas de celulose (NFC), são extensos e flexíveis emaranhados de fibrilas, que apresentam comprimento e largura médios, respectivamente, de 5 a 20 μm e de 10 a 100 nm (PEREIRA et al, 2014; XU et al, 2014). Obtidas por meio da desintegração ou fibrilação de macrofibras de celulose (CHINGA-CARRASCO, 2011), as NFC são moderadamente degradadas, possuem elevadas razão de aspecto (relação do comprimento pelo diâmetro de uma fibra) e área superficial específica, além de grande resistência mecânica à tração, flexibilidade e plasticidade (AHOLA et al, 2008).

O isolamento das nanofibrilas de celulose a partir de suspensões de fibras branqueadas por meio de forte cisalhamento mecânico foi inicialmente introduzido por Turbak, Snyder e Sandberg (1983). As NFC podem ser obtidas de tratamento mecânico constituído por refinação e processos de homogeneização a alta pressão ou por meio de um moinho microprocessador (fibrilador) denominado Moinho de Grinder que, a partir da força de cisalhamento sobre a celulose, ocasiona a quebra das ligações de hidrogênio, separando os feixes de microfibras da estrutura da parede celular (SIRÓ; PLACKETT, 2010; GARDNER et al., 2008; KOLAKOVIC et al., 2011; SYVERUD et al., 2011; SILVA et al, 2019).

Na preparação de NFC necessita-se de uma grande quantidade de água e o produto final precisa ser conservado em suspensão aquosa para evitar aglomeração irreversível (POZADA et al, 2020). Quando em suspensão aquosa, as NFC desenvolvem um emaranhamento (Figura 3), de modo a apresentar alta viscosidade e comportamento de um gel, mesmo a baixas concentrações (AHOLA et al, 2008; MISSOUM, BELGACEM, BRAS, 2013). Essas características, relacionadas à capacidade de retenção de água, podem ser relacionadas à elevada área específica superficial e à superior razão de aspecto das nanoestruturas. Desse modo, pode-se apontar que, comparativamente a um mesmo volume de fibras de celulose nativa, há um superior número de ligações de hidrogênio, devido ao aumento de grupos hidroxilas na superfície do nanomaterial (MISSOUM, BELGACEM, BRAS, 2013).

Figura 3 - Micrografias de transmissão de nanofibrilas de celulose preparadas a partir de fibras de *Opuntia ficus-indica*



Fonte: DUFRESNE et al. (2017).

As NCF exibem boa flexibilidade, tenacidade e são mecanicamente resistentes. Essas especificidades mecânicas precisas são intrínsecas das nanofibrilas de celulose em virtude de sua morfologia fibrosa longa, que permite formar redes de fibras interconectadas e possibilita o suporte de morfologias mais complexas no decorrer do processo de modelagem (LAMM et al, 2021).

Segundo Missoum, Belgacem e Bras (2013) as nanofibrilas de celulose apresentam duas principais desvantagens: a acentuada intensidade das ligações de hidrogênio entre nanofibrilas, que proporciona uma elevada estabilidade ao gel aquoso produzido e, concomitantemente, a sua alta hidrofiliabilidade, o que pode limitar a utilização desse nanomaterial em revestimentos de papel ou em compósitos.

Mesmo com os desafios apresentados, esse nanomaterial tem sido extensivamente empregado para a obtenção de novos materiais, especialmente devido a sua elevada resistência mecânica à tração, plasticidade e, por conseguinte, potencialidade como material de reforço (PANTHAPULAKKAL; SAIN, 2012).

De acordo com Thomas e colaboradores (2020), as NFC podem ser aplicadas em vários setores, como energia, mineração e óleo, tintas e revestimentos, químicos de adesivos e alimentícios.

As NFC foram descritas em muitos artigos e livros (DUFRESNE, 2013; NECHYPORCHUK, BELGACEM, BRAS, 2016; LAVOINE et al, 2012; KLEMM et al, 2011) e exibem várias propriedades adicionais em comparação com as fibras de celulose, que

as tornam úteis em aplicações como embalagens (LAVOINE et al, 2012; SAINI et al, 2016), pintura, eletrônica impressa (HOENG, DENNEULIN, BRAS 2016), papel (BRODIN, GREGERSEN, SYVERUD, 2010), compósitos (OKSMAN, et al, 2016) e medicina (JORFI, 2015). De fato, como as NFC têm pelo menos uma dimensão em nanoescala, elas possuem uma área específica alta e um comportamento semelhante a gel na água. Apesar do conhecimento dessas características, a industrialização da NFC só foi conseguida muito recentemente graças ao menor consumo de energia durante o tratamento mecânico. Tradicionalmente produzido usando um homogeneizador (DINAND, CHANZY, VIGNON, 1999; WANG et al, 2015), um microfluidificador (TAIPALE et al, 2010) ou um moinho (JOSSET et al, 2014; NECHYPORCHUK, PIGNON E BELGACEM, 2015), a produção de NFC consome energia significativa devido ao seu grande número de grupos hidroxila de superfície, que geram grandes interações de ligações de hidrogênio entre as nanofibrilas. Na última década, numerosos estudos conseguiram diminuir o consumo de energia e facilitaram a nanofibrilação. Dessa forma, o aumento da demanda por novos materiais com propriedades físicas e mecânicas adaptadas faz da nanofibrila de celulose um material interessante para aplicações avançadas em diferentes áreas do conhecimento.

Muitas pesquisas vêm sendo realizadas utilizando-se a nanofibrilas de celulose como material de reforço para embalagens de alimentos biodegradáveis. Vähä-Nissi (2017), desenvolveu e avaliou filmes de multicamadas usando polietileno provenientes de fontes renováveis com um revestimento fino de nanofibrila de celulose oxidada por 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil. Os resultados mostraram-se promissores no que se refere a barreira de oxigênio para embalagens de produtos secos e embalagens de atmosfera modificada (MAP). As avelãs moídas que foram embaladas com MAP juntamente com as películas em multicamadas apresentaram maior proteção em relação a oxidação adicional durante o tempo de armazenamento usado neste estudo.

Em outro trabalho, os autores utilizaram nanofibrila de celulose da cenoura e quitosana para produzir filmes compósitos. Os compósitos de nanofibrila de cenoura e quitosana exibiram atividade antimicrobiana, principalmente atividade fungistática e bacteriostática (SZYMANKAS- CHARGOT, et al. 2019).

2.4 Dióxido de Titânio (TiO₂)

O dióxido de titânico (TiO₂), tem se destacado como um dos materiais mais promissores, por apresentar elevado índice de refração e propriedades de absorção de UV.

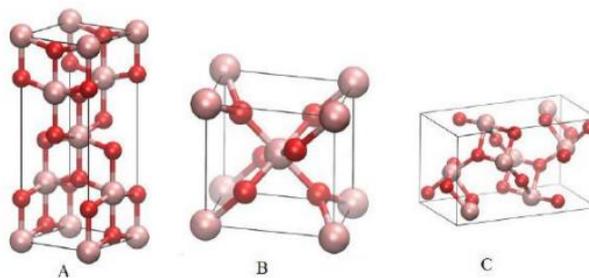
Assim é um material que atrai muita atenção devido às suas características químicas e físicas que permitem aplicações em diversas áreas (RIYAPAN et al., 2016).

É um material procedente do titânio, um dos elementos mais abundantes do planeta, sendo considerado cem vezes mais farto que o cobre e somente cinco vezes menos que o ferro. O titânio possui forma de metal sólido em temperatura ambiente, é mais leve que o ferro e pode ser encontrado em alguns minerais (ZHANG et al, 2012).

Encontrado na natureza, principalmente na forma do mineral ilmenita (óxido de ferro e titânio – FeTiO_3), pode ser modificado por duas rotas diferentes (WU et al., 2020; XIONG et al., 2013). A primeira ocorre por meio do tratamento da ilmenita com ácido sulfúrico quente, que resulta na formação de sulfatos de titânio, Fe (II) e Fe (III), sendo estes últimos, retirados por centrifugação, após resfriamento. A solução final é purificada e hidrolisada para produzir TiO_2 puro (SASIKUMAR et al., 2004). A segunda forma de obtenção consiste em combinar o minério com cloro gasoso sob aquecimento, convertendo-se em CO_2 e um material esponjoso rico em TiCl_4 . O produto da reação é submetido à destilação fracionada, em que os diferentes precursores do dióxido de titânio são hidrolisados, formando dióxido de titânio puro (EL-HAZEK et al., 2007).

O TiO_2 pode apresentar-se sob a forma de três polimorfos cristalinos diferentes na natureza (Figura 4): anatase, rutilo e broquita. O Rutilo é a mais comum e mais estável do dióxido de titânio, anatase e broquita são fases metaestáveis e se transformam em rutilo quando aquecidas (ORENDORZ et al., 2007).

Figura 4 - Estrutura do TiO_2 : Anatase (A), Rutilo (B) e Broquita (C)



Fonte: MOELLMANN et al. (2012).

As propriedades físicas e químicas do TiO_2 dependem da fase cristalina, tamanho e forma das partículas, área superficial e grau de cristalinidade (TAN et al., 2016).

Um aspecto importante em relação ao dióxido de titânio é que ele possui uma excelente resistência à ataques químicos, boa estabilidade térmica e alto índice de refração inerente e propriedades de absorção de UV. São largamente usados como revestimentos fotoativos ou protetores ópticos em razão às suas notáveis propriedades catalíticas, mecânicas, ópticas e semicondutoras (SCHÜTZ et al., 2012; JIANG et al, 2021).

Dessa forma, o dióxido de titânio vem sendo amplamente pesquisado nas últimas duas décadas. O material é considerado muito versátil e vem sendo utilizado para várias aplicações como composição de painéis fotovoltaicos, sensores eletrônicos, revestimento contra corrosão e também no desenvolvimento de embalagens para conservação de alimentos, ou seja, embalagens multifuncionais, com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e mecânicas satisfatórias (KAEWKLIN, et al., 2018; LAN, 2021).

Kaewklin e colaboradores (2018), desenvolveram um trabalho com o objetivo de produzir filmes nanocompósitos de quitosana e dióxido de titânio para ampliar a vida útil de conservação de frutos de tomate. Os resultados mostraram que os filmes apresentaram maior resistência à tração e propriedades de barreira quando comparados com o filme de quitosana (filme controle). Além disso, nos tomates embalados com os filmes nanocompósitos ocorreram poucas mudanças de qualidade em relação àqueles que foram envolvidos com o filme controle de quitosana. Dessa forma, o filme nanocompósito apresentou atividade de fotodegradação do etileno quando exposto a luz UV que, por conseguinte, retardou o processo de amadurecimento e as mudanças de qualidade, estendendo a vida de armazenamento dos tomates. As modificações na qualidade dos frutos climatéricos são provocadas e reguladas pelo etileno, ou seja, este atua principalmente no amadurecimento de frutos.

Já Xing e colaboradores (2020) pesquisaram o efeito de revestimentos compósitos de quitosana e dióxido de titânio na qualidade pós-colheita e características físico-químicas de frutos de manga. No estudo foi possível constatar que as mangas que foram revestidas com filme compósito apresentaram menor perdas ocasionadas pela deterioração e dispersão da água, retardando o pico da respiração e assim, mantendo a firmeza dos frutos. Os resultados indicam que o revestimento de quitosana e TiO_2 pode ser usado como uma tecnologia eficiente na conservação da qualidade dos frutos da manga durante o armazenamento.

Outros trabalhos com resultados semelhantes e satisfatórios podem ser reportados da literatura, como por exemplo, Siripatrawan e Kaewklin (2018), que produziram e analisaram

filmes nanocompósitos de quitosana e TiO_2 como embalagens ativas na eliminação de etileno e atividade antimicrobiana. Li (2019), que avaliou a influência do dióxido de titânio e o óleo de cravo em filmes de quitosana e amido. Qiao e colaboradores (2019), estudaram o efeito dos filmes de quitosana com TiO_2 , timol e tween na qualidade dos frutos de melão.

Verifica-se com estes estudos a crescente demanda em se produzir filmes derivados de materiais de base biológica que apresente funções ativas e características peculiares, que sejam viáveis economicamente, ambientalmente e assim capaz de substituir embalagens derivadas do petróleo, por embalagens sustentáveis.

2.5 Embalagens sustentáveis

As embalagens exibem uma extensa variedade de materiais e formas que constituem parte do nosso dia-dia. Seu objetivo fundamental é preservar o produto e as características dos alimentos, por meio das propriedades de barreira em relação aos fatores externos, como oxigênio, umidade, luz e micro-organismos, acondicionando o produto sem modificações prejudiciais durante o transporte e armazenamento (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Contudo, as embalagens de alimentos usuais derivadas de fontes não renováveis, tornaram-se um problema na hora do descarte. O consumo de produtos alimentícios industrializados que precisam de embalagens, ocasiona o aumento de resíduos sólidos e, por conseguinte, o impacto ambiental negativo. A maior parte destes resíduos permanecem por milhares de anos no ambiente, gerando não só problemas ambientais, como também econômicos e sociais (RAHMANI, et al., 2013; HAN, YU e WANG, 2018; GAN e CHOW, 2018). Apesar das embalagens tradicionais terem colaborado abundantemente com os primeiros avanços de distribuição dos alimentos, elas já não são mais tão eficientes para atender as reivindicações dos consumidores, como alimentos frescos, produtos mais próximos ao natural, minimamente processados, incluindo menos conservantes e que sejam seguros, além das demandas ambientais que se referem a reciclagem e diminuição desse tipo de resíduo (SOARES, et al. 2009).

Os alimentos frescos e minimamente processados passaram a ser opções de consumo de grande procura devido a proposta de boa alimentação, saúde e tempo mínimo de preparo.

A conservação e qualidade desses alimentos estão diretamente ligadas às condições de armazenamento. Dependendo do tipo de embalagem utilizada os produtos podem sofrer com as ações do ambiente externo. Dessa forma, processos fisiológicos podem ser estimulados, como por exemplo, perda de água, elevação nas taxas de respiração e transpiração, que

resultam no crescimento da microflora e contribui para a maturação, envelhecimento, deterioração e diminuição da vida útil (SHARMA, 2021). Assim, as embalagens para esses tipos de alimentos precisam ser ambientalmente amigáveis, possibilitando uma melhor conservação dos aspectos nutricionais e sensoriais dos alimentos, além de ser adequada para um descarte ecológico.

Atualmente as embalagens agregam novas funções, como transferir informações, estimular o interesse de compra e mais recentemente tem-se usado embalagens ativas e inteligentes, que interagem tanto com o produto quanto com o consumidor. As embalagens podem ser ativas e inteligentes ao mesmo tempo. A ativa, influencia ativamente no alimento por apresentar aditivos que atuam no produto de forma desejável, apresentando como propósito, prolongar a vida de prateleira, proteger, preservar as propriedades sensoriais, tais como, aparência, aroma, consistência, textura e flavor. Já as embalagens inteligentes permitem a interação com o consumidor, além de oferecer proteção ao alimento orientam os clientes acerca das condições de consumo, por meio de sensores de qualidade (LANDIM, et al., 2016).

Dessa forma, o grande consumo tem levado a competitividade entre as empresas por inovações. Na maioria das vezes essa inovação está relacionada ao melhoramento à resistência mecânica com as propriedades de barreiras a aromas, gases e novos meios de sistemas de fechamento, trazendo maior praticidade, preservação dos alimentos e segurança para os consumidores (LANDIM, et al., 2016).

Uma possibilidade mais sustentável são as embalagens plásticas produzidas por meio de bases biológicas, ou seja, materiais que são parcialmente derivados da biomassa, animal ou vegetal (PHILP et al., 2013; BROCKHAUS, PETERSEN, KERSTEN, 2016). Segundo Arikan e Ozsoy (2015), a utilização de bioplásticos para embalagens aumenta em torno de 20 a 25% por ano, mostrando que as matérias primas renováveis se tornam cada vez mais uma alternativa viável aos materiais de base fóssil, principalmente quando os produtos de base biológicas são biodegradáveis (KARAN et al., 2019). Dessa maneira, pesquisas nessa área crescem constantemente em busca de resultados que sejam satisfatórios e que possam contribuir, de forma positiva, no aperfeiçoamento desses tipos de embalagens.

Qin e colaboradores (2020), por exemplo, desenvolveram películas para embalagens ativas e inteligentes, à base de amido e álcool polivinílico incorporadas com extrato da casca da pitaya vermelha, que é rica em betalaína. Os resultados mostraram que os filmes incorporados com o extrato da casca da pitaya apresentaram-se mais compactos. Além disso,

houve melhora nas propriedades de barreira ao vapor de água, absorção de luz UV-vis, antioxidante e antimicrobiana dos filmes. Os filmes foram testados em camarões frescos, monitorando a decomposição dos mesmos.

Outro estudo recente, foi realizado com o intuito de verificar as modificações nos filmes de quitosana, quando da adição de óxido de grafeno e óxido de zinco. Os filmes nanocompósitos apresentaram melhores propriedades mecânicas e térmicas quando comparados aos filmes de quitosana. Houve um aumento significativo no módulo de Young, propriedade mecânica que mede a rigidez de um material sólido, de 1549,43 a 2527,72 MPa. Os filmes com óxido de grafeno exibiram uma aparência mais escura devido à cor marrom do óxido. Dessa forma, esses filmes poderiam ser usados para proteger os alimentos contra a luz UV (TERZIOGLU et al., 2020).

Shahbazi e Shavisi (2018), utilizaram quitosana, nanofibrilas de celulose e extrato de própolis para produzir filmes ativos com o objetivo de prolongar o prazo de validade de carne picada. Os filmes mostraram resultados satisfatórios para inibir o crescimento microbiano bem como a oxidação das proteínas e lipídios da carne.

REFERÊNCIAS

- AHOLA, S. et al. Effect of polymer adsorption on cellulose nanofibril water binding capacity and aggregation. **BioResources**, n. 3, p. 1315–1328, 2008.
- ALHASSEN, H. et al. Organic/Hybrid Nanoparticles and Single-Walled Carbon Nanotubes: Preparation Methods and Chiral Applications. **Chirality**, v. 26, n. 11, p. 683–691, 2014.
- ARIKAN, E.B., OZSOY, H.D. A review: investigation of bioplastics. **Civil Engineering and Architecture**, v. 9, p.188–192, 2015.
- AZMANA, M. et al. A review on chitosan and chitosan-based bionanocomposites: Promising material for combatting global issues and its applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.185, p.832–848, 2021.
- BRODIN F, GREGERSEN O, SYVERUD K. Cellulose nanofibrils: challenges and possibilities as a paper additive or coating material: a review. **Nord Pulp PapRes J**, v.29, p.156–166, 2014.
- BROCKHAUS, S., PETERSEN, M., KERSTEN, W. A crossroads for bioplastics: exploring product developers' challenges to move beyond petroleum-based plastics. **J. Clean. Prod.** v.127, p.84–95, 2016.
- CAMPANA-FILHO, S. P. et al. Extração, estrutura e propriedades de α e β -quitina. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644–650, 2007.
- CAVALIERI, F. et al. Nanomedicines for antimicrobial interventions. **Journal of Hospital Infection**, v. 88, n. 4, p. 183–190, 2014.
- CHANG, C.; ZHANG, L. Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 40–53, 2011
- CHINGA-CARRASCO, G. Cellulose fibres, nanofibrils and microfibrils: The morphological sequence of MFC components from a plant physiology and fibre technology point of view. **Nanoscale Research Letters**, v. 6, n.1, p. 417, 2011.
- DINAND E, CHANZY H, VIGNON RM. Suspensions of cellulose microfibrils from sugar beet pulp. **Food Hydrocoll**, v.13, p.275–283, 1999.
- DUFRESNE, A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science.**, v.29, p.1–8, 2017.
- DUFRESNE A. Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. **Mater Today**, v.16, p.220–227, 2013.
- DURAN, A.; KAHVE, H. The effect of chitosan coating and vacuum packaging on the microbiological and chemical properties of beef. **Meat Science**, 162, 2020.
- EL-HAZEK, N. et al. Hydrometallurgical criteria for TiO₂ leaching from Rosetta ilmenite by hydrochloric acid. **Hydrometallurgy**, v. 87, n. 1-2, p. 45-50, 2007.

FERREIRA, G. Híbridos orgânico-inorgânicos a partir de íons metálicos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Brasília – UnB, 2014.

GARDNER, D. J. et al. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 22, n. 5–6, p. 545–567, 2008.

GAN, I.; CHOW, W. Antimicrobial poly(lactic acid)/cellulose bionanocomposite for food packaging application: A review. **Food Packaging and Shelf Life**, v.17, p. 50-161, 2018.

HAN, Y.; YU, M.; WANG, L. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 35-42, 2018.

HEIN, S. et al. Chitosan composites for biomedical applications: status, challenges and perspectives. **Materials Science and Technology**, v. 24, n. 9, p. 1053–1061, 2008.

HOENG F, DENNEULIN A, BRAS J. Use of nanocellulose in printed electronics: a review. **Nanoscale**, v.8, 13131–13154, 2016.

ISMAIL, M. et al. Hybrid films of cellulose nanofibrils, chitosan and nanosilica—Structural, thermal, optical, and mechanical properties, **Carbohydrate Polymers**, v. 218, p.87–94, 2019.

JIANG, Y. et al. Effect of annealing temperature on wettability of TiO₂/PDA thin films. **Surface & Coatings Technology**, v.411, 2021.

JORFI M, FOSTER EJ. Recent advances in nanocellulose for biomedical applications. **J Appl Polym Sci**, v.132, p.1-19, 2015.

JOSÉ, N. M.; PRADO, L. A. S. D. A. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: Preparação e algumas aplicações. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 281–288, 2005.

JOSSET, S. et al. Energyconsumption of the nanofibrillation of bleached pulp, wheat straw and recycled newspaper through a grinding process. **Nord Pulp Pap Res J**, v.29, p.167–75, 2014.

KAI, Dan et al. Towards lignin-based functional materials in a sustainable world. **Green Chemistry**, v. 18, n. 5, p. 1175-1200, 2016.

KAEWKLIN, P. et al. Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, 2018.

KARAN, H. et al. Green bioplastics as part of a circular bioeconomy. **Trends Plant Sci.** v.24, n.3, p.237–249, 2019.

KHALIFA, I. et al. Improving the shelf-life stability of apple and strawberry fruits applying chitosan-incorporated olive oil processing residues coating. **Food Packaging and Shelf Life**, v.9, p.10–19, 2016.

KLEMM D et al, Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. **Angew Chem Int;** v.50, p.5438-5466, 2011.

KO, Y. G.; CHOI, U. S. Diverse applications of fibers surface-functionalized with nano- and microparticles. **Composites Science and Technology**, v. 79, p. 77–86, 2013.

KOLAKOVIC, R. et al. Spray-Dried Cellulose Nanofibers as Novel Tablet Excipient. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 4, p. 1366–1373, 2011.

KUMAR, S.; MUKHERJEE, A.; DUTTA, J. Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 196-209, 2020.

LAMM, M. et al. Recent Advances in Functional Materials through Cellulose Nanofiber Templating. **Adv. Mater**, v. 33, p. 1-20, 2021.

LAN, W. Development of red apple pomace extract/chitosan-based films reinforced by TiO₂ nanoparticles as a multifunctional packaging material. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.168, p.105–115, 2021.

LANDIM, A. et al. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. **Polímeros**, n.26, p.82-92, 2016.

LAVOINE, N. et al. Microfibrillated cellulose – its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. **Carbohydr Polym**, v.90, p.735, 2012.

LI, W. Influence of Nano Titanium Dioxide and Clove Oil on Chitosan–Starch Film Characteristics. **Polymer**, v.11, p.1418, 2019.

MALUCELLI, G. et al. Materials engineering for surface-confined flame retardancy. **Materials Science and Engineering R: Reports**, v. 84, n. 1, p. 1–20, 2014.

MINELLA, M.; FABBRI, D.; CALZA, P.; MINERO, C. Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry, v.6, p.11-17, 2017.

MISSOUM, K., BELGACEM, M., BRAS, J. Nanofibrillated Cellulose Surface Modification: A Review. **Materials**, v. 6, p. 1745–1766, 2013.

MOELLMANN, J. et al. A DFT-D study of structural and energetic properties of TiO₂ modifications. **Journal of physics: condensed matter**, v.24, p. 424206, 2012.

MOURA, C. et al. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo de escala piloto. **Vetor**, v. 16, p.37-45, 2006.

NASUTION, H. et al. The role of amphiphilic chitosan in hybrid nanocellulose–reinforced polylactic acid biocomposite. **Polym Adv Technol**. v.32, p.3446–3457, 2021.

NECHYPORCHUK O, BELGACEM MN, BRAS J. Production of cellulose nanofibrils: a review of recent advances. **Ind Crops Prod**, v.93 p.2–25, 2016.

NECHYPORCHUK O, PIGNON F, BELGACEM MN. Morphological properties of nanofibrillated cellulose produced using wet grinding as an ultimate fibrillation process. **J Mater Sci**, v.50, p.531–541, 2015.

OKSMAN, K. et al. Review of the recent developments in cellulose nanocomposite processing. *Compos Part Appl Sci Manuf*, v.83, p.2–18, 2016.

ONDA, A.; OCHI, T.; YANAGISAWA, K.; Selective hydrolysis of cellulose into glucose over solid acid catalysts. *Green Chemistry*, v. 10, p. 1033–1037, 2008.

ORENDORZ, A. et al. Phase transformation and particle growth in nanocrystalline anatase TiO₂ films analysed by X-ray diffraction and Raman spectroscopy. *Surface Science*, v. 601, p. 4390-4394, 2007.

PANTHAPULAKKAL, S.; SAIN, M. Preparation and Characterization of Cellulose Nanofibril Films from Wood Fibre and Their Thermoplastic Polycarbonate Composites. *International Journal of Polymer Science*, p.1–6, 2012.

PEREIRA, F. V.; PAULA, E. L; MESQUITA, J. P; LUCAS, A. A; MANO, V. Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofição. *Química Nova*, v. 33, n. 9, p. 1980–1986, 2014.

PHILP, J.C. et al. Bioplastics science from a policy vantage point. *New Biotechnol.* v.30, n.6, p.635–646, 2013.

PRIYADARSHI, R. et al. Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material. *Food Hydrocolloids*, v. 85, p.158–166, 2018.

POZADA, P. et al. Drying and redispersion of plant cellulose nanofibers for industrial applications: a review. *Cellulose*, v.27, p.10649–10670, 2020.

QIAO, G. et al. Effect of Chitosan/Nano-Titanium Dioxide/Thymol and Tween Films on Ready-to-Eat Cantaloupe Fruit Quality. *Coatings*, v.9, p.828, 2019.

QIN, Y. et al. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. *Food Hydrocolloids*, v.100, 2020.

RAGHUWANSHI, V. S.; GARNIER, G. Characterisation of hydrogels: linking the nano to the microscale. *Chemical & Biological Engineering*, v.274, p.1-18, 2019.

REN, Z. et al. Flexible Sensors Based on Organic–Inorganic Hybrid Materials. *Adv. Mater. Technol*, v.6, 2021.

RAHMANI, E. et al. On the mechanical properties of concrete containing waste PET particles. *Construction & Building Materials*, v.47, p.1302-1308, 2013.

RIYAPAN, S. et al. Preparation of improved Ag-Pd/TiO₂ catalysts using the combined strong electrostatic adsorption and electroless deposition methods for the selective hydrogenation of acetylene. *Catalysis Science & Technology*, v. 6, p. 5608-5617, 2016.

SAINI S, YÜCEL FALCO C.; BELGACEM MN, BRAS J. Surface cationized cellulose nanofibrils for the production of contact active antimicrobial surfaces. *Carbohydr Polym*, v.135. p.239–247, 2016.

SALAS, C. et al. Nanocellulose properties and applications in colloids and interfaces. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 383–396, 2014.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. et al. (2002). **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ ITAL

SASIKUMAR, C. et al. Effect of mechanical activation on the kinetics of sulfuric acid leaching of beach sand ilmenite from Orissa, India. **Hydrometallurgy**, v. 75, n. 1-4, p. 189-204, 2004.

SCHÜTZ, C. et al. Hard and Transparente films formed by nanocellulose-TiO₂ nanoparticle hydrids. **Plos One**, v 7. P. 1-6, 2012.

SHARMA, P. Variation in quality and acceptability of minimally processed garlic in response to γ -irradiation and packaging during refrigerated storage. **Radiation Physics and Chemistry**, v.180, 2021.

SHAHBAZI, Y.; SHAVISI, N. A novel active food packaging film for shelf-life extension of minced beef meat. **J Food Saf**, v.38, 2018.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 289–296, 2015.

SILVA, J. et al. Inorganic-organic bio-nanocomposite films based on Laponite and Cellulose Nanofibers (CNF) **Appl. Clay Sci**, 168, 435, 2019.

SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. **Cellulose**, v. 17, n. 3, p. 459–494, 2010.

SIRIPATRAWAN, U.; KAEWKLIN, P. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v.84. p.125-134, 2018.

SMALL, A. C.; JOHNSTON, J. H. Novel hybrid materials of magnetic nanoparticles and cellulose fibers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 331, n. 1, p. 122–126, 2009.

SOARES, N. et al. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Ceres**, v.56, n.4, p.370-378, 2009.

SZYMANSKA-CHARGOT, M. et al. Influence of chitosan addition on the mechanical and antibacterial properties of carrot cellulose nanofibre film. **Cellulose** v. 26, p. 9613–9629, 2019.

SYVERUD, K. et al. 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.

TAIPALE, T. et al. Effect of microfibrillated cellulose and fines on the drainage of kraft pulp suspension and paper strength. **Cellulose**, v.17, p.1005–1020, 2010.

TAN, X. et al. Biochar-based nano-composites for the decontamination of wastewater: A review. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 318–333, 2016.

THAKUR VK, THAKUR MK. Recent advances in green hydrogels from lignin: a review. **Int J Biol Macromol**. v.72, p.834–47, 2015.

TASPIKA, M. et al. Influence of TiO₂/Ag particles on the properties of chitosan film. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v.11, p.9, 2020.

TERZIOGLU, P. et al. Graphene oxide and zinc oxide decorated chitosan nanocomposite biofilms for packaging applications. **J Polym Eng**. v.40, n.2, p.152–157, 2020.

THOMAS, P. et al. Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**. v.110, 2020.

TURBAK, A. F., SNYDER, F. W.; SANDBERG, K. R. Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: Properties, uses, and commercial potential. **Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium**, v.37, p.815–827, 1983.

VÄHÄ-NISSI, M. Cellulose nanofibrils in biobased multilayer films for food packaging. **J. Appl. Polym. Sci**. p. 1-8, 2017.

WANG, S. et al. Choline chloride/urea as an effective plasticizer for production of cellulose films. **Carbohydr Polym**, v.117, p.133–139, 2015.

WU, N. et al. Effect of chitosan/Nano-TiO₂ composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 263, 2020.

XING, Y. et al. Effect of chitosan/Nano-TiO₂ composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v.263, 2020.

XIONG, X. et al. Preparation of TiO₂ from ilmenite using sulfuric acid decomposition of the titania residue combined with separation of Fe³⁺ with EDTA during hydrolysis. **Advanced Powder Technology** v. 24, n. 1, p. 60-67, 2013.

XU, X. et al. Comparison between cellulose nanocrystal and cellulose nanofibril reinforced poly(ethylene oxide) nanofibers and their novel shish-kebab-like crystalline structures. **Macromolecules**, v.47, p.3409–3416, 2014.

YAO-BING, H.; FU, Y. Hydrolysis of cellulose to glucose by solid acid catalysts. **Green Chemistry**, v. 15, p. 1095–1111, 2013

ZHANG, R. et al. Mesoporous titania: From synthesis to application. **Nano Today**, v.7, n.4, p.344-366, 2012.

ZHANG, X. et al. Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**. v. 169, p. 101-107, 2017.

SEGUNDA PARTE - ARTIGO**ARTIGO****Avaliação de filmes híbridos de quitosana/nanofibrila de celulose e TiO₂****Evaluation of hybrid films produced from chitosan with titanium dioxide and cellulose nanofiber**

Artigo redigido conforme norma da revista Química Nova

Mayara de S. Miranda^{a*}, Camila M. Abras^a, Laura F. Ferreira^b, Maria Lucia Bianchi^a
Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras – MG, Brasil
Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, 37200-000,
Lavras – MG, Brasil
*e-mail: mayara_s_m@hotmail.com

Resumo

Neste estudo, foram avaliados o efeito da incorporação de nanofibrilas de celulose (NFC) e TiO_2 em filmes de quitosana (Q) para aplicação em embalagens de alimentos. Os filmes híbridos de Q/ TiO_2 /NFC produzidos em diferentes concentrações, foram caracterizados por meio de análise Termogravimétrica (TG), Infravermelho (FTIR), Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Difração de Raios X (DRX). Além das caracterizações também foram analisadas as propriedades físico-químicas das amostras dos filmes por meio dos testes de solubilidade, umidade, permeabilidade ao vapor de água, propriedade óptica, ação antioxidante e atividade antimicrobiana. Os resultados mostram que a NFC e o TiO_2 estavam bem dispersos na matriz dos filmes e que a adição destes constituintes melhorou as propriedades físico-químicas dos filmes, diminuindo a barreira de vapor de água (filme controle: Q1,5: $3,09 \times 10^{-14}$; híbrido: $2,35 \times 10^{-14}$), a umidade (filme controle Q1: 21,34; híbrido Q1T6N5: 14,59), tornando-os assim mais resistentes em relação aos filmes controle. A incorporação do TiO_2 , apresentou resultados satisfatórios para atividades antibacterianas, para as duas bactérias em estudo (*E. Coli* e *S aureus*). Enquanto o filme controle Q1 não inibiu a proliferação da *S aureus*, o híbrido Q1T2N1 apresentou um halo de inibição de 9,0 mm.

Palavras-Chave: biopolímeros, filmes híbridos, embalagens sustentáveis.

Abstract

In this research, the effect of incorporating cellulose nanofibrils (NFC) and TiO₂ in chitosan (Q) films for application in food packaging was evaluated. The Q/TiO₂/NFC hybrid films produced at different concentrations were characterized by Thermogravimetric (TG), Infrared (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM), and X-Ray Diffraction (XRD) analysis. In addition to the characterizations, the physicochemical properties of the film samples were also analyzed through tests of solubility, moisture, water vapor permeability, optical property, antioxidant action and antimicrobial activity. The results show that NFC and TiO₂ were well dispersed in the matrix of the films and that the addition of these constituents improved the physicochemical properties of the films, reducing the water vapor barrier to water (control film: Q1.5: 3.09×10^{-14} ; hybrid: 2.35×10^{-14}), moisture (control film Q1: 21.34; hybrid Q1T6N5: 14.59), thus making them more resistant compared to control films. TiO₂ incorporation showed satisfactory results for antibacterial activities for the two bacteria under study (*E. Coli* and *S aureus*). While the Q1 control film did not inhibit *S aureus* proliferation, the Q1T2N1 hybrid showed a 9.0 mm inhibition halo.

Keywords: biopolymers, hybrid films, sustainable packaging.

1 Introdução

Nos últimos anos, o desenvolvimento de materiais com base em matérias-primas renováveis, tem incitado crescente interesse devido às suas notáveis propriedades atreladas à sua sustentabilidade e baixo custo. Biopolímeros combinados com componentes inorgânicos, denominados materiais híbridos, possibilitam a produção de compostos alternativos aos plásticos derivados do petróleo. Esses materiais híbridos podem ser utilizados para vários fins, inclusive na preparação de embalagens.¹

Os híbridos são materiais que consistem em dois ou mais constituintes misturados a nível molecular. Estes são divididos principalmente em duas categorias: moléculas orgânicas ou polímeros embutidos em substratos inorgânicos e componentes orgânicos enxertados por ligações químicas em redes inorgânicas.²

A quitosana e a nanofibrila de celulose são biopolímeros provenientes da quitina e da celulose, respectivamente. Possuem propriedades ecologicamente sustentáveis, como por exemplo, biodegradabilidade e não-toxicidade. Com uma variedade de aplicações, a quitosana vem sendo largamente utilizada para o desenvolvimento de filmes e aplicação em embalagens de alimentos sustentáveis. Entretanto, os filmes de quitosana exibem baixa resistência, são quebradiços e necessitam da incorporação de um constituinte que possa melhorar as suas propriedades mecânicas. Assim, as nanofibrilas de celulose estão sendo exploradas como materiais de reforço para os filmes a base de quitosana, proporcionando maior rigidez e resistência.^{3,4}

Contudo, hoje além de embalagens ambientalmente corretas necessita-se que essas sejam apropriadas aos tipos dos alimentos que serão embalados, apresentando funções ativas e inteligentes, ou seja, que contenha, em sua constituição, compostos capazes de intervir, por exemplo, na decomposição do produto.

Estudos relacionados a incorporação de TiO_2 nos filmes biodegradáveis mostram que esse composto é capaz de ativar funções que promovem melhorias nos filmes, principalmente no que se refere a maturação de alguns frutos e a redução microbiana, pois ele atua como um adsorvedor, reduzindo a concentração de etileno, composto que promove a maturação do fruto, assim, o processo de senescência se torna mais lento e há um aumento na vida de prateleira do produto.⁵

Dessa forma, esse trabalho tem por objetivo a obtenção de filmes a base de quitosana/nanofibrila de celulose, incorporados com dióxido de titânio, para aplicação em embalagens alimentícias sustentáveis com funções ativas.

2 Experimental

Materiais

Quitosana - massa molar: 100,000 – 300,000 g mol⁻¹ (Acros Organics), Dióxido de Titânio (P25 Degussa), polpa celulósica branqueada de Eucalipto, ácido acético PA 97% (Vetec), Glicerol.

Síntese dos materiais

Preparação da Nanofibrilas de celulose (NFC)

As nanofibrilas de celulose (NFC) foram obtidas por fibrilação mecânica da polpa celulósica branqueada de Eucalipto, utilizando um moinho microfibrilador (Grinder) modelo Supermasscolloider Masuko Sangyo (MKCA6-3; Masuko Sangyo Co. Ltd.) em 1500 rpm. O ajustamento que se refere a distância entre as pedras de carboneto de silício do moinho Grinder foi ajustada de acordo com a metodologia de Nakagaito e Yano (2005) adaptada. A polpa celulósica foi imersa em água destilada, na concentração 1% (m/v), durante 72 horas, para garantir a hidratação e o inchaço, formando uma suspensão. Posteriormente, a suspensão foi inserida no Grinder por 30 vezes formando, no final, um gel.⁶

Preparação dos filmes

Para preparar a solução filmogênica, a quitosana em pó foi dissolvida em solução de ácido acético 0,2 mol L⁻¹. O glicerol foi utilizado como agente plastificante e o volume de 1,5 mL (1,89 g) foi fixado para todas as amostras. Os filmes controle de quitosana foram feitos variando-se somente a massa de quitosana em 1,0; 1,5 e 2,0 g.

As matrizes de quitosana incorporadas ou não com a nanofibrilas de celulose e o TiO₂ foram produzidas segundo o método de evaporação do solvente (Método Casting). Em béqueres, foram misturados os constituintes dos filmes, em proporções determinadas (Tabela 1), em que foram submetidos ao ultrassom de sonda (probe ultrasound) Eco-Sonics Lavadoras Ultrassônicas – 500W, a 60% de amplitude por 10 minutos. Posteriormente, essas

soluções foram agitadas magneticamente por 2 horas a temperatura ambiente e novamente submetidas ao ultrassom de sonda por 10 minutos para melhor homogeneização e incorporação do TiO₂. As soluções filmogênicas foram vertidas em placas de petri (poliestireno) e mantidas em repouso à temperatura ambiente por aproximadamente 5 ou 6 dias para a formação dos filmes.

Na Tabela 1 são apresentadas as várias composições dos filmes híbridos preparados totalizando 11 filmes.

Tabela 1 Ensaio experimental gerado pelo planejamento fatorial completo

Limites	Variáveis		
	Quitosana (g)	TiO ₂ (%)*	NFC (mL)
Limite inferior (-)	1,0	2	1,0
Ponto central (0)	1,5	3	3,0
Limite superior (+)	2,0	6	5,0

Ensaio**	Quitosana (g)	TiO ₂ (%) *	NFC (mL)
Q1T2N1	1,0	2 (0,02 g)	1,0
Q1T2N5	1,0	2 (0,02 g)	5,0
Q1T6N1	1,0	6 (0,06 g)	1,0
Q1T6N5	1,0	6 (0,06 g)	5,0
Q2T2N1	2,0	2 (0,04 g)	1,0
Q2T2N5	2,0	2 (0,04 g)	5,0
Q2T6N1	2,0	6 (0,12 g)	1,0
Q2T6N5	2,0	6 (0,12 g)	5,0
Q1,5T4N1,5-1	1,5	4 (0,06 g)	1,5
Q1,5T4N1,5-2	1,5	4 (0,06 g)	1,5
Q1,5T4N1,5-3	1,5	4 (0,06 g)	1,5

*Porcentagem de TiO₂ em relação a massa da quitosana

** Volume de 1,5 mL (1,89 g) de glicerol foi fixado para todas as amostras

Caracterização

O estudo morfológico das superfícies dos filmes foi realizado por meio da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As micrografias foram obtidas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura modelo LEO EVO 40XVP (Carl Zeiss SMT), a tensão de 25kV, localizado no departamento de Fitopatologia da UFLA. Os espectros de FTIR das amostras foram realizadas na Central de Análise e Prospecção Química, no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras em equipamento ATR VARIAN 660 Pike Technologies, utilizando varredura de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹, 32 sobreposições e resolução de 4 cm⁻¹. Foi utilizada a técnica de reflexão total atenuada (ATR). A estabilidade térmica e o perfil de degradação térmica das amostras foram acompanhados por meio da variação da perda de massa em função do aumento da temperatura em um analisador termomecânico Shimadzu DTG-60AH Simultâneos DTA-TG Apparatus. As análises foram realizadas sob ar sintético, a uma vazão constante de 50 mL.min⁻¹, no intervalo de 25° a 900°C, com taxa de aquecimento 10°C.min⁻¹.⁷ As análises de Difração de Raios X foram realizadas no difratômetro LabX XDR-6000 – Shimadzu, na Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba.

Propriedades Físico-química

Teor de umidade

A umidade dos filmes foi determinada por secagem em estufa. Os filmes foram cortados e colocados em placas de petri e aquecidos a 105 °C por 24 h, foram feitas pesagens antes e depois da secagem. Os valores de umidade forão determinados em relação ao peso inicial e o peso perdido durante a secagem pela Equação 1.⁸

$$\%U = \frac{p_i - p_f}{p_i} \times 100 \quad (1)$$

Em que, U% é a porcentagem de umidade calculada, p_i é a massa inicial e p_f é a massa após a secagem.

Solubilidade

As amostras dos filmes foram cortadas em tamanho padrão de 2 cm², pesadas e imersas em 50 mL de água destilada sob agitação por 24 h. Após este período, os sólidos

foram recolhidos e secos em estufa a 50°C, durante 48 horas, e posteriormente, pesados. A porção dos filmes solubilizada em água foi calculada, segundo a Equação 2.⁹

$$\%MS = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (2)$$

Em que: MS% é a porcentagem de material solubilizado; m_i é massa inicial (g) da amostra e m_f é massa final (g) da amostra.

Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada por gravimetria pelo método padrão utilizando norma ASTM E 96-00.¹⁰ As amostras foram cortadas com um raio de aproximadamente 5,00 mm e colocadas entre a tampa e os frascos de vidro âmbar da célula de permeabilidade. O conjunto frasco de vidro com tampa + amostras + sílica-gel foram pesados e posteriormente, o conjunto foi acondicionado em dessecador com 100% de umidade relativa.

Para determinação da taxa transporte de vapor de água, foram realizadas pesagens de 24 em 24h durante 15 dias. Foi gerada uma reta com os valores de ganho de massa em função do tempo e a inclinação da reta foi ajustada por regressão linear ($R^2 > 0,9$), e a taxa de transporte de vapor de água (TTVA, g/h/m²) foi calculada a partir da inclinação da reta dividida pela área de permeação dos filmes (m²). A PVA do filme foi calculada segundo a Equação 3:

$$PVA = \frac{TTVA \cdot \delta}{\Delta P} \quad (3)$$

Em que δ é a espessura dos filmes e ΔP é a diferença de pressão de vapor interna e externa da capsula: $\Delta P = S \cdot (R1 - R2)$. Em que S é a pressão de vapor saturado na temperatura do teste (2809 kPa), R1 é a UR do lado externo da cápsula (90%) e R2 é a UR dentro da cápsula que continha sílica (0%).

Propriedade óptica

Para determinação da transparência dos filmes, foi medida a porcentagem de transmitância (%T) a 600 nm usando um espectrofotômetro GBC UV/VIS 918 (Shimadzu, Tokyo, Japão).¹¹ A transparência (T_{600}) foi calculada pela Equação 4:

$$T_{600} = \frac{(\text{Log \%T})}{\delta} \quad (4)$$

onde δ é a espessura do filme (mm).

Ação Antioxidante

Para avaliação da ação antioxidante dos filmes foi utilizado o método de eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), adotando a metodologia de Byun *et al.*¹² Foram cortados 0,2 g de filme em pedaços pequenos e adicionados em 2 mL de metanol 80% (v/v) em tubos de ensaio revestidos com papel alumínio para evitar a entrada de luz. A mistura foi agitada em Vortex por três minutos e permaneceu em repouso a temperatura ambiente por três horas, em ambiente escuro. Posteriormente, foram agitadas novamente por três minutos em Vortex. Foi coletado 0,1 mL do extrato metanólico e adicionado em 3,9 mL de DPPH a 0,1 mM em metanol 80% (v/v) também em tubos de ensaio revestidos com papel alumínio e agitou-se em Vortex por um minuto. A mistura ficou novamente em repouso em ambiente sem a presença de luz por 30 min. Para quantificação da atividade sequestradora de radicais foi medida a absorbância das soluções a 517 nm em espectrômetro (SPECTROPHOTOMETER SP 2000UV), usando o metanol 80% com DPPH 0,1 mM como controle. A atividade antioxidante (%AA) foi calculada pela diferença entre absorbâncias medidas da solução DPPH com a amostra e o controle, dividido pelo controle.

Atividade Antimicrobiana

Os micro-organismos estudados foram *Escherichia coli* (EPEP 055) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565). As espécies utilizadas foram adquiridas da Coleção de Cultura de Micro-organismos do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA e a atividade

antibacteriana dos filmes foram realizadas no Laboratório de Micotoxinas e Micologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA.

Ativação das culturas bacterianas

As bactérias foram ativadas a partir de cepas-padrões purificadas em meios de identificação específicos, mantidas em eppendorfs contendo meio de congelamento glicerol (150 mL), peptona (5 g), extrato de levedura (3 g), NaCl (5 g) e água (100 mL) em pH $7,2 \pm 7,4$, sob refrigeração (-4°C). Para ativação das culturas de bactérias, as cepas foram repicadas em 5 mL de caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 37°C , por 24 horas (NCCLS, 2003a, b).^{13,14} Após a ativação das bactérias, uma alíquota desse meio foi transferida para um tubo contendo 9 mL de caldo de soja triptica (TSB) até alcançar a turbidez de referência de uma solução-padrão McFarland de 0,5 resultando numa solução de cultura contendo 10^8 UFC mL^{-1} . O controle de turbidez foi verificado utilizando-se um espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) a 625 nm, em um intervalo de 0,08 a 0,1 Å. A solução de inóculo obtida pela escala de McFarland foi diluída em TSB para conter 10^7 UFC mL^{-1} .^{13,14}

Teste de difusão em ágar

O potencial antibacteriano dos filmes foi avaliado pelo método de difusão em disco em meio sólido de acordo com as normas do National Committee for Laboratory Standards.^{13,14} Cinquenta microlitros da solução bacteriana (10^8 UFC mL^{-1}) de cada inóculo foi transferida para placas de Petri contendo meio Agar Mueller Hinton pela técnica de espalhamento em superfície com o auxílio da alça de Drigalski. Foram colocados na superfície, as amostras dos filmes em forma de disco de 5mm de diâmetro e um disco de papel-filtro estéril também com 5 mm de diâmetro com 10 μL do controle positivo cloranfenicol ($14 \mu\text{L mL}^{-1}$). As placas foram incubadas em BOD a 37°C por 24 horas. Após este período, os halos de inibição foram medidos diametralmente opostos e as análises foram realizadas com três repetições.

3 Resultados e Discussão

As amostras dos filmes foram preparadas com quitosana e incorporadas com nanofibrilas de celulose e dióxido de titânio. A seguir, são apresentadas as imagens dos filmes (Figura 1) sendo possível observar seus aspectos visuais.

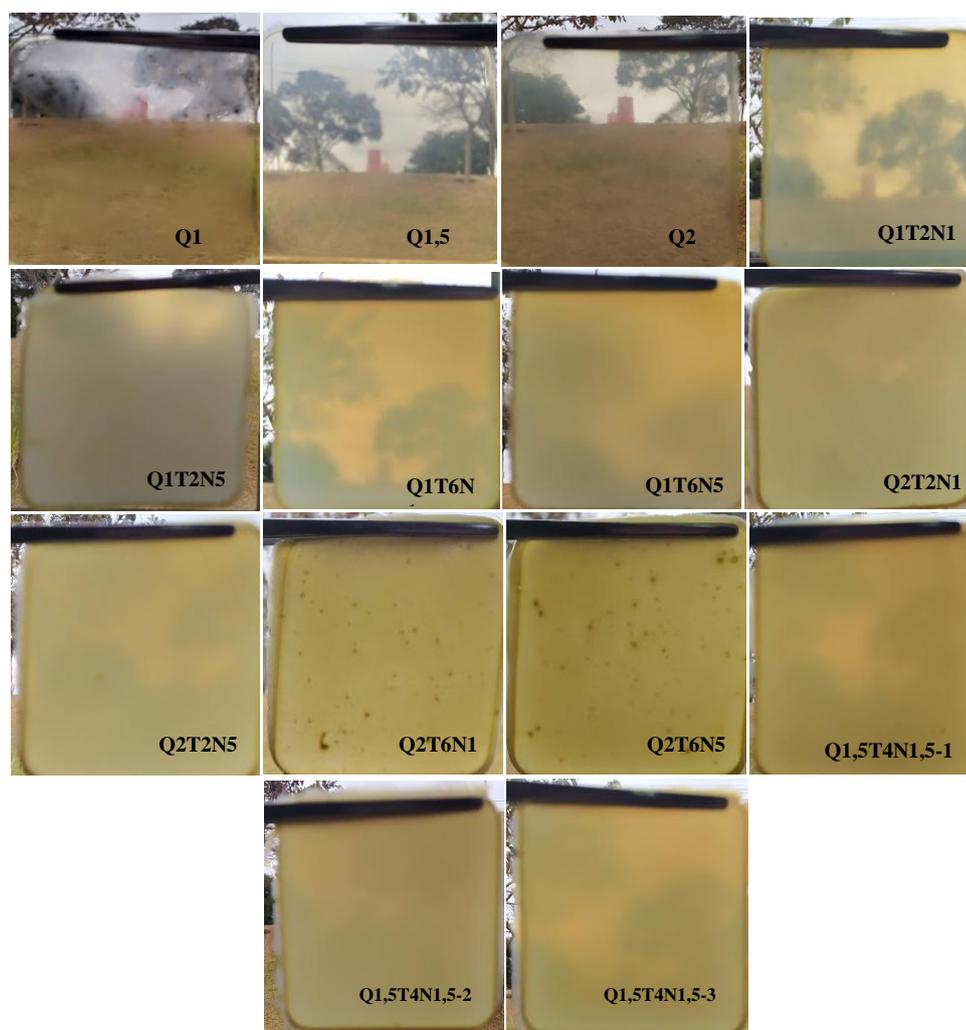


Figura 1 Imagens dos filmes produzidos sendo Q – quitosana, N- nanofibrila de celulose e os respectivos números igual a massa em g e volume em mL, T – TiO_2 e respectivos números igual a % de TiO_2

Fonte: Autores (2021)

Os filmes Q1, Q1,5 e Q2 (Figura 1) foram produzidos utilizando somente quitosana (variando sua concentração) e glicerol (1,5 mL (1,89 g) para todas as amostras). Já os filmes híbridos (Figura 1) além da quitosana e o glicerol possuem TiO_2 e NFC em diferentes

quantidades. Nota-se que os filmes preparados somente com a quitosana e glicerol apresentaram maior transparência e homogeneidade quando comparados aos filmes híbridos.

De maneira geral, a olho nú, todos os filmes apresentaram-se homogêneos e com boa dispersão de seus constituintes. Entretanto, observa-se que nos filmes Q2T6N1 e Q2T6N5 (Figura 1) houve uma separação entre a solução de quitosana e as partículas de TiO_2 . Essas aglomerações ocorreram pelo fato dessas amostras apresentarem maior massa de TiO_2 (0,12g) por filme em sua composição (Tabela 1). Além disso, as partículas de TiO_2 não foram distribuídas uniformemente na quitosana.

O estudo das estruturas dos filmes é um fator importante para investigar a presença de seus constituintes, a NFC como material de reforço e o TiO_2 , bem como suas rugosidades e imperfeições. Assim, foram selecionadas algumas amostras dos filmes para realização da análise de MEV. As Figuras 2 e 3 mostram as imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e da fratura transversal das amostras.

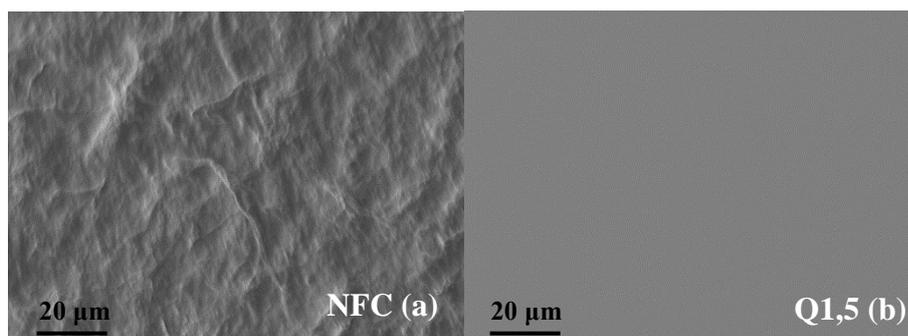


Figura 2 Micrografia das superfícies dos filmes de NFC (a) e Q1,5 (b) com resolução de 700X

Fonte: Autores (2021)

Observa-se que o filme de NFC (Figura 2) não apresenta fissuras ou poros, pesquisas realizadas em relação aos mecanismos e efeitos de filmes produzidos com 100% de nanofibrilas de celulose mostraram que essas características resultam em um bom efeito de preenchimento na estrutura dos filmes híbridos, que podem contribuir nos resultados de impedimento dos filmes contra oxigênio, vapor de água e luz.¹⁵ O filme (controle) de quitosana Q1,5 (Figura 2) apresentou superfície lisa, homogênea e contínua, sem a presença de rachaduras ou poros.

Ao analisar as amostras dos filmes presente na Figura 3, nota-se que, de uma maneira geral, os híbridos apresentaram estruturas compactas, entretanto a adição de NFC e TiO_2 na matriz polimérica de quitosana provocou alterações em suas estruturas. Pequenas

imperfeições na superfície dessas amostras podem ser observadas e podem estar relacionadas com o TiO_2 disperso, quitosana não solubilizada, bolhas de ar ou por partículas de poeira.

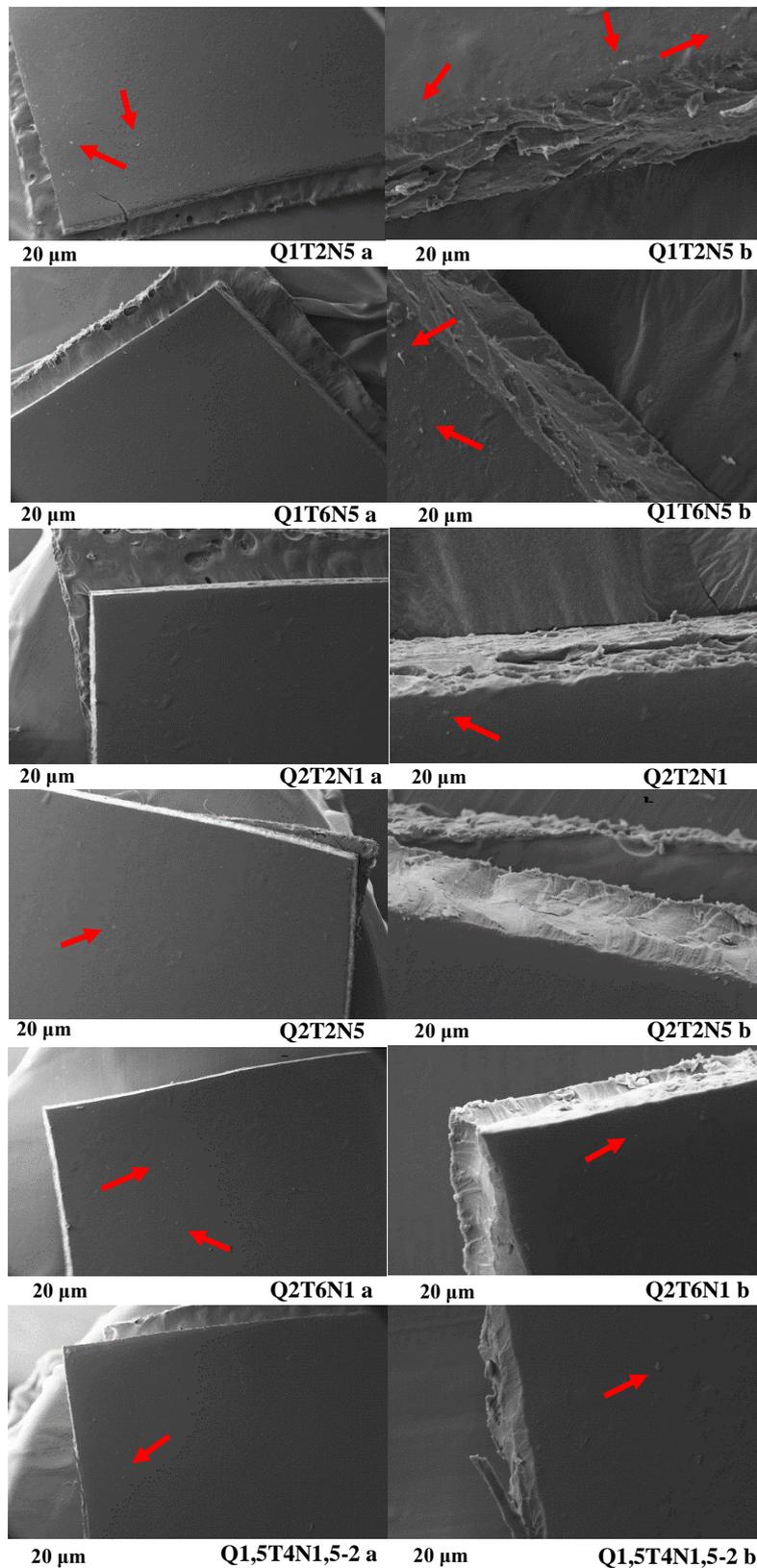


Figura 3 Micrografia das amostras dos filmes híbridos (a) 50X e (b) 500X

Fonte: Autores (2021)

Avaliando as imagens (Figura 3), observa-se que a amostra Q1T6N5 (b) mostra maior irregularidade na superfície do filme, alguns pontos brancos podem ser vistos e relacionados ao TiO_2 , um maior número de nanofibrilas foram observadas na superfície e apresentam-se fortemente incorporadas aos filmes. Segundo, Li *et al.*,¹⁶ o número de grânulos nas estruturas dos filmes aumentam a medida em que se aumenta a concentração de TiO_2 em sua constituição.

As amostras Q2T2N1e Q2T2N5 (Figura 3) apresentam a mesma quantidade de quitosana e TiO_2 variando somente a quantidade de NFC. A amostra Q2T6N1 e Q1,5T4N1,5-2 tem quantidades diferentes de TiO_2 (Figura 3), no entanto nota-se pouca diferença morfológica ao comparar suas imagens. Apesar das amostras apresentarem heterogeneidade, possuem pouca rugosidade e não apresentam fissuras.¹¹

Na Figura 4 são apresentados os espectros de infravermelho para os diferentes filmes. Ao analisar os espectros, observa-se que as bandas características da quitosana estão presentes em todas as amostras de filmes, e que não houve uma variação significativa nas intensidades das bandas. Nota-se uma banda larga em, aproximadamente 3270 cm^{-1} , que corresponde à vibração alongamento do grupo OH livre, presente tanto na estrutura da quitosana, quanto na estrutura das nanofibrilas de celulose e NH proveniente da quitosana. Segundo Khan *et al.*,¹⁷ a banda de NH geralmente é mais fina e a de OH mais larga. No entanto, como existe uma grande quantidade de ligações de hidrogênio, a banda de NH e de OH se sobrepõe e ficam bastante largas.^{18,19}

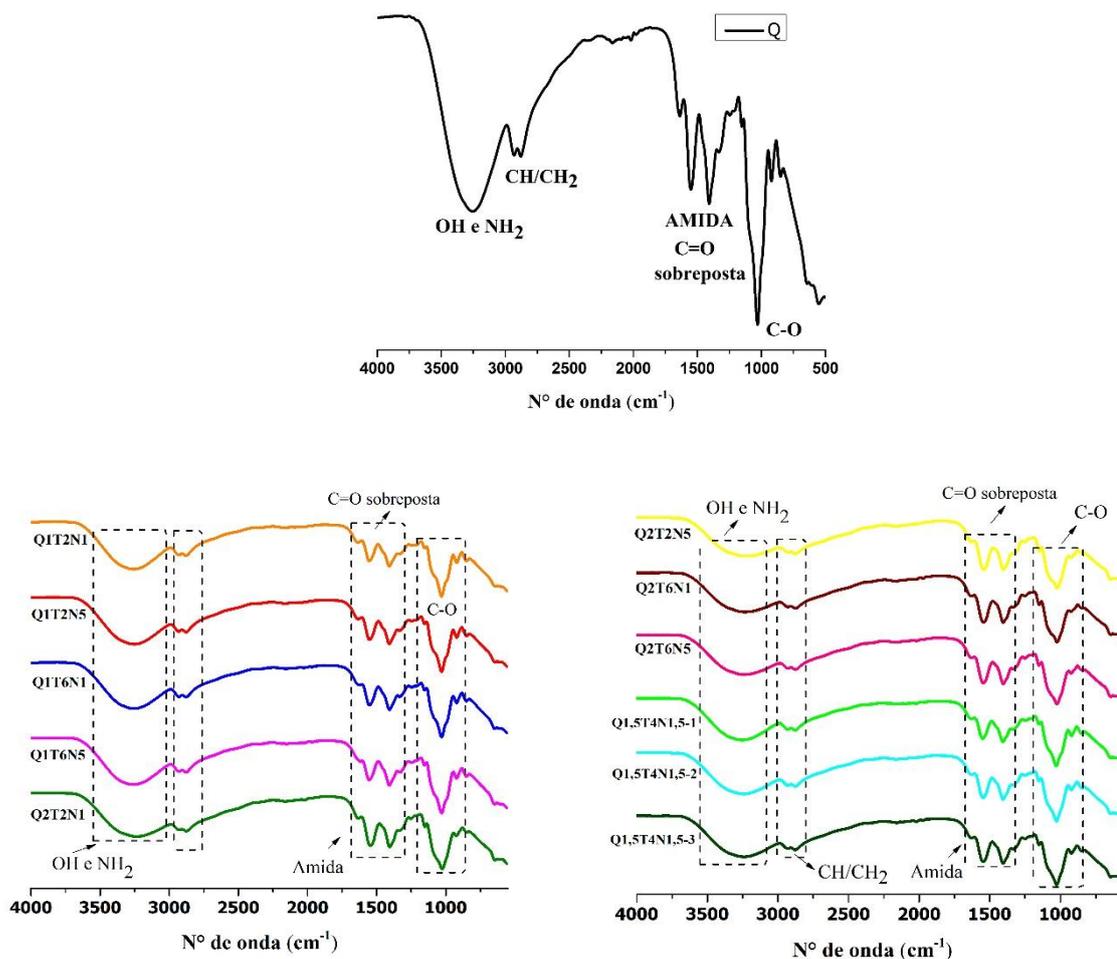


Figura 4 Espectros na região de infravermelho do filme controle Q e dos híbridos

Fonte: Autores (2021)

Em 2944 cm^{-1} há uma banda atribuída ao estiramento vibracional simétrico e assimétrico dos grupos CH_2 . Três bandas são observadas em 1641 , 1548 e 1408 cm^{-1} atribuída a amida-I, amida-II e amida-III, respectivamente, sobreposta à banda de $\text{C}=\text{O}$.^{20,21} As bandas em 950 cm^{-1} a 1030 cm^{-1} se referem alongamento de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$. A incorporação de TiO_2 não alterou as intensidades das bandas, nenhum deslocamento, aparecimento ou desaparecimento de banda foi evidenciado, o que demonstra apenas uma possível formação de interação física entre as nanopartículas e a matriz de biopolímeros. Pesquisas com resultados semelhantes foram relatadas na literatura, relacionadas à interação de outras nanopartículas com uma matriz de biopolímero.^{16,22,23,24}

A estabilidade térmica dos materiais preparados foi investigada por meio da termogravimetria (TGA) e são apresentados nas Figuras 5 e 6.

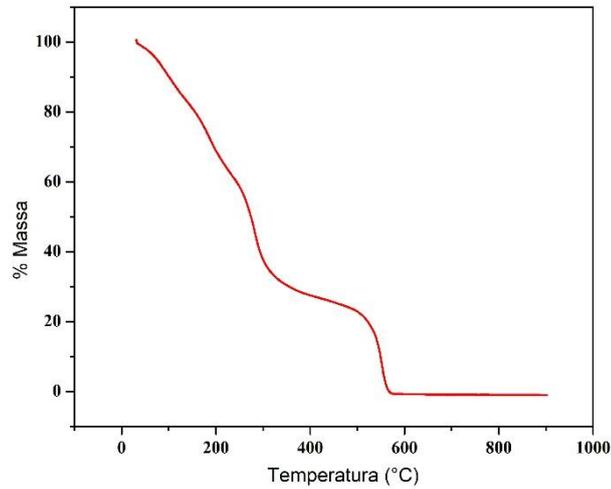


Figura 5 Curva TGA do filme de quitosana – Q (filme controle).

Fonte: Autores (2021)

Três etapas no processo de decomposição térmica foram observadas para o filme de quitosana, variando de 30-125 °C (15%), 125-350 °C (32%) , 350-559 °C (53%), associados à evaporação de água e solvente, decomposição de frações de menor massa molar, como o glicerol e decomposição das macromoléculas de quitosana, respectivamente.^{18, 25}

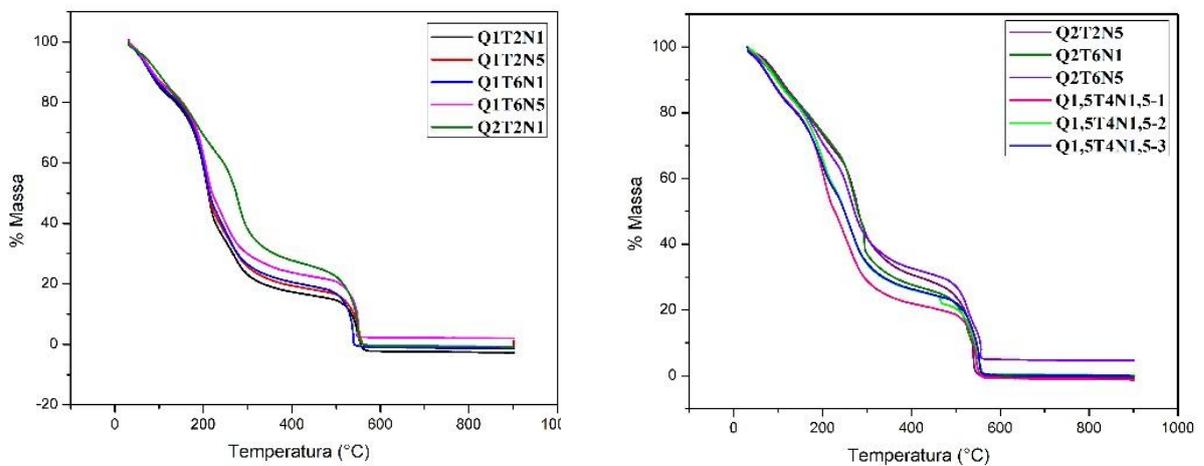


Figura 6 Curva TGA dos filmes híbridos

Fonte: Autores (2021)

As curvas das amostras de filmes presentes na Figura 6, apresentaram comportamentos semelhantes à de Q (Figura 5), indicando que a adição de nanofibrilas de celulose e dióxido de titânio não afetou a estabilidade térmica dos filmes. De maneira geral, para as curvas da Figura 6, ocorre perda de massa correspondente água e solvente, seguido de um evento que pode ser indicativo da fração de baixa massa molar e voláteis, aproximadamente em 130 °C (20%). A maior perda de massa dos filmes híbridos foi observada na faixa de 290 a 550°C (43%), referente as macromoléculas de Q e NFC, que formam a matriz polimérica dos filmes híbridos.¹

Com o intuito de identificar o TiO₂ presente nas diferentes amostras de filmes, foi realizada a análise por Difração de Raios X.

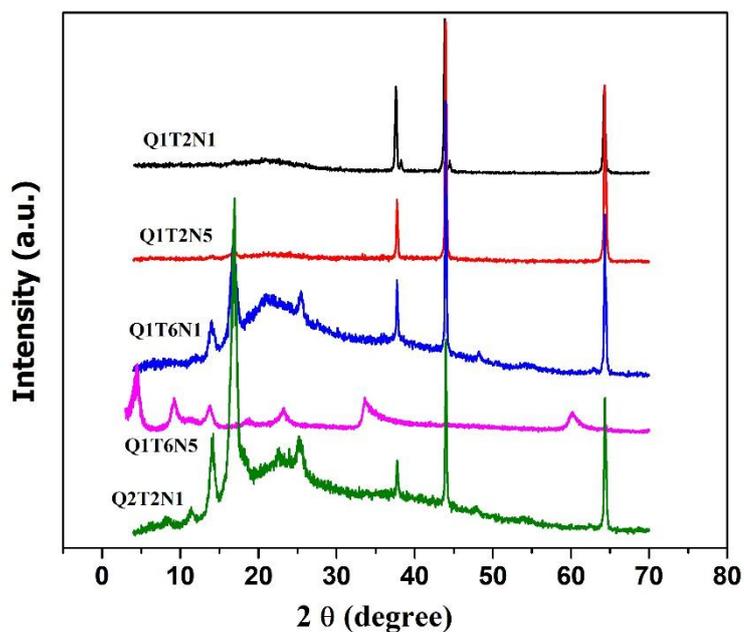


Figura 7 Difratoogramas obtidos das amostras Q1T2N1, Q1T2N5, Q1T6N1, Q1T6N5, Q2T2N1

Fonte: Autores (2021)

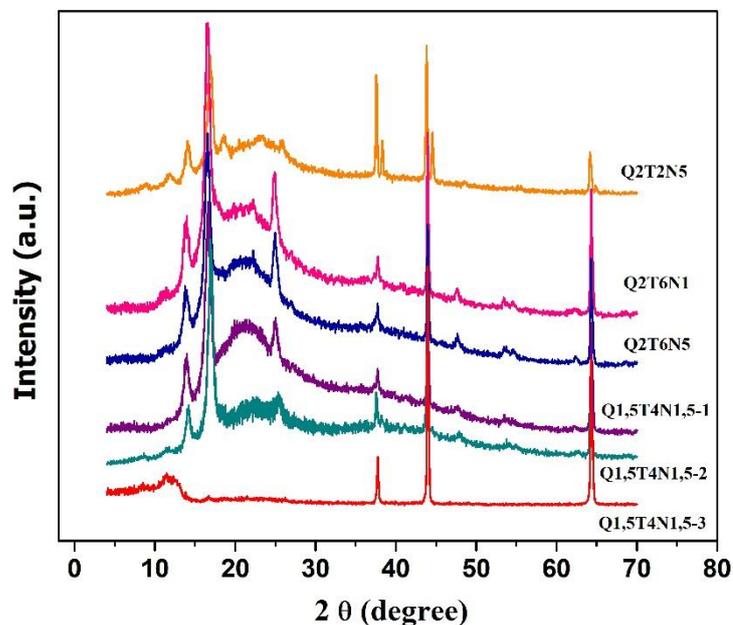


Figura 8 Difratomogramas obtidos das amostras Q2T2N5, Q2T6N1, Q2T6N5, Q1,5T4N1,5-1, Q1,5T4N1,5-2, Q1,5T4N1,5-3

Fonte: Autores (2021)

Nas Figuras 7 e 8, encontram-se os difratogramas dos filmes híbridos que foram produzidos. Picos entre $13,1^\circ$ e $18,0^\circ$ são correlacionados a semicristalinidade da quitosana.²⁶ Picos acentuados em torno de $16,9^\circ$ (correspondentes a semicristalinidade da quitosana) podem ser observados para as amostras Q2T2N1, Q2T2N5, Q2T6N1, Q2T6N5, Q1,5T4N1,5-1, Q1,5T4N1,5-2. Entretanto nas amostras Q1T2N1, Q1T2N5 e Q1,5T4N1,5-3 (Figura 10) não foi possível visualizar este evento nessa faixa. As ligações de hidrogênio entre a quitosana e o TiO_2 podem causar rupturas a rede da quitosana e amplificar sua região amorfa, ocasionando diminuição da cristalinidade do filme.²⁷

Picos de difração em torno de $25,2^\circ$ e $37,7^\circ$ foram identificados nos filmes, e são correspondentes às nanopartículas de TiO_2 .²⁸ Estes resultados evidenciam que houve boa dispersão das nanopartículas de TiO_2 em algumas amostras quando estas foram incorporadas na matriz polimérica dos filmes. Sendo este um fator importante para preservar a homogeneidade dos filmes, também observada na imagem da Figura 1.

Estudos referentes as propriedades físicas da matriz polimérica e dos filmes híbridos foram realizados. Na Tabela 2 encontram-se os valores médios para umidade e solubilidade dos filmes controle de quitosana e dos híbridos produzidos.

Ao analisar os valores apresentados para umidade (Tabela 2), observa-se que a medida em que aumenta a quantidade de NFC e TiO_2 o teor de umidade dos filmes híbridos reduz. Esse fato pode ser comprovado por meio das amostras Q1T6N5 e Q2T6N5 que possuem maior quantidade de NFC e TiO_2 (Tabela 1) e apresentaram menor teor de umidade (Tabela 2). Nota-se ainda que a maioria amostras dos filmes que foram preparadas com a mesma quantidade de Q e TiO_2 variando-se apenas a NFC, o teor de umidade é menor para a amostra que contem mais NFC. Isso pode ser evidenciado, quando comparamos por exemplo, as amostras Q1T6N1 com a Q1T6N5 e a Q2T2N1 com a Q2T2N5 (Tabela 1). Apenas os filmes Q2T6N1 e Q2T6N5 apresentaram comportamento diferente. A quitosana, por apresenta natureza hidrofílica, é sensível à água, o que restringe, de modo considerável, sua eficiência no controle da transferência de umidade e na conservação da estrutura integral.²⁹ Segundo Aljawish *et al.*,³⁰ em análise de filmes de quitosana, altos valores de umidade podem ocorrer devido à sua grande natureza hidrofílica e fortes ligações entre as moléculas de água e seus grupos funcionais (-OH, -NH₂) por ligações de hidrogênio. Assim, muitas pesquisas constataram que a incorporação de nanomateriais, como por exemplo, nanocristais e nanofibrilas de celulose, nanopartículas de TiO_2 , dentre outros, à matriz da quitosana, estão sendo utilizados como revestimento de polímeros para melhorar suas propriedades e limitações.^{31,32}

Tabela 2 Valores de Umidade e Solubilidade dos filmes controle de Q e dos filmes híbridos

Amostras	Umidade	Solubilidade
	%	%
Q1	21,34 ± 2,55	58,41 ± 1,01
Q1,5	21,57 ± 1,07	35,17 ± 0,05
Q2	22,50 ± 0,56	34,20 ± 0,17
Q1T2N1	17,64 ± 0,30	56,02 ± 1,01
Q1T2N5	17,21 ± 0,59	56,43 ± 0,15
Q1T6N1	16,35 ± 0,56	54,63 ± 0,55
Q1T6N5	14,59 ± 0,79	53,41 ± 0,30
Q2T2N1	16,91 ± 0,96	35,05 ± 0,47
Q2T2N5	13,72 ± 0,17	29,66 ± 0,02
Q2T6N1	13,33 ± 0,16	30, 67 ± 0,20
Q2T6N5	14,41 ± 0,08	35,99 ± 0,20
Q1,5T4N1,5-1	15,26 ± 0,17	51,80 ± 0,32
Q1,5T4N1,5-2	16,97 ± 0,17	45, 48 ± 0,08
Q1,5T4N1,5-3	16,10 ± 0,01	49,38 ± 0,07

Fonte: Autores (2021)

Os resultados para o teste de solubilidade (Tabela 2) mostraram que o filme controle Q1 foi o que mais solubilizou em água (58,41%), o que já era esperado por este apresentar uma menor massa de quitosana. Ao comparar com os híbridos nota-se que as amostra de Q1T2N1 a Q1T2N5 (Tabela 2) exibiu valores próximos ao controle Q1. O mesmo pode ser observado para as amostras de Q2T2N1 a Q2T6N5 (Tabela 2) que apresentaram resultados similares ao filme controle Q2. Um fator que pode influenciar na solubilidade dos filmes é o tipo de plastificante utilizado, pesquisas mostram que a adição do glicerol pode aumentar, de maneira significativa, a solubilidade dos filmes por ele apresentar características hidrofílicas.³³ Em todas as amostras foi adicionado 1,5 mL de glicerol.

De maneira geral, pode-se dizer que a presença do TiO₂ e da NFC provocou uma diminuição na solubilidade dos filmes em água, uma vez que o TiO₂ é insolúvel em água e a

NFC pode formar ligações de hidrogênio com a matriz de quitosana, aumentando assim suas interações, conforme observado nos espectros de FTIR. O estudo da solubilidade dos filmes tornam-se importantes pelo fato de várias de suas aplicações implicar em contato com meios aquosos. Além disso, a mudança na composição dos filmes mostra como podem influenciar nesta propriedade.

Outra propriedade importante e bastante estudada em filmes biodegradáveis é a permeabilidade ao vapor de água (PVA), que mostra o potencial de barreira ao vapor de água dos filmes. Segundo Yu *et al.*¹⁵, quanto menor o valor de PVA, menor o vapor de água que transpassa os filmes, apontando que estes possuem uma barreira de vapor de água mais resistente.

Ao analisar os valores de PVA para os filmes controles e os híbridos produzidos (Tabela 3) observa-se que em alguns casos houve a diminuição do PVA ao incorporar a NFC e o TiO₂. Nota-se que os híbridos (amostra Q1,5T4N1,5-1, Q1,5T4N1,5-2 e Q1,5T4N1,5-3) preparados a partir de Q1,5 (controle) apresentaram valores menores de PVA. Estudos relatam que ocorre uma diminuição do valor de PVA pela adição de nanofibrilas de celulose devido aos mecanismos e efeitos deste componente à base da matriz polimérica de quitosana.¹⁵

Tabela 3 Valores médios de permeabilidade de vapor de água (PVA) das amostras

Amostras	PVA
	g.s ⁻¹ .m ⁻¹ .Pa ⁻¹
Q1	$2,22 \times 10^{-14} \pm 5,48 \times 10^{-15}$
Q1,5	$3,09 \times 10^{-14} \pm 3,36 \times 10^{-15}$
Q2	$2,96 \times 10^{-14} \pm 1,15 \times 10^{-15}$
Q1T2N1	$2,20 \times 10^{-14} \pm 2,19 \times 10^{-15}$
Q1T2N5	$2,47 \times 10^{-14} \pm 6,06 \times 10^{-15}$
Q1T6N1	$2,98 \times 10^{-14} \pm 9,43 \times 10^{-16}$
Q1T6N5	$2,35 \times 10^{-14} \pm 5,26 \times 10^{-16}$
Q2T2N1	$3,44 \times 10^{-14} \pm 2,46 \times 10^{-15}$
Q2T2N5	$2,75 \times 10^{-14} \pm 8,29 \times 10^{-16}$
Q2T6N1	$3,05 \times 10^{-14} \pm 7,97 \times 10^{-15}$
Q2T6N5	$2,93 \times 10^{-14} \pm 2,08 \times 10^{-15}$

Q1,5T4N1,5-1	$2,73 \times 10^{-14} \pm 1,22 \times 10^{-15}$
Q1,5T4N1,5-2	$2,41 \times 10^{-14} \pm 1,10 \times 10^{-16}$
Q1,5T4N1,5-3	$2,35 \times 10^{-14} \pm 1,20 \times 10^{-15}$

Fonte: Autores (2021)

Quando se faz uma comparação entre uma amostra e outra, por exemplo amostra Q1T6N1 e amostra Q1T6N5, que apresentam mesma quantidade de quitosana, mesma concentração de TiO₂, mas variação na quantidade de NFC, nota-se que a amostra Q1T6N5 que tem cinco vezes mais NFC em sua composição, mostrou menor valor de PVA (Tabela 3). O mesmo ocorre entre as amostras Q2T2N1 e Q2T2N5 e as amostras Q2T6N1 e Q2T6N5. Essa diminuição dos valores de PVA pode ser explicada pelo fato das nanofibrilas de celulose formarem uma rede, conduzindo a contínuas ligações de hidrogênio, que diminuem a difusão de vapor de água.^{11,17,34}

Outro fator relevante que pode ser avaliado é a variação da quantidade de TiO₂ em amostras que apresentam mesma quantidade de Q e NFC. Observa-se que houve diminuição no valor de PVA quando da concentração de TiO₂ é aumentada, como nas amostras Q1T2N5 e Q1T6N5 e amostras Q2T2N1 e Q2T6N1 (Tabela 3). De acordo com He et al.³⁵ e Lian *et al.*,³⁶ esses resultados podem estar associados ao fato de o TiO₂ ser insolúvel em água e dessa forma impedir os microcaminhos do vapor de água na estrutura da rede de filmes. Outras pesquisas evidenciaram que o TiO₂ é capaz de interagir com grupos -NH e -OH hidrofílicos da quitosana, reduzindo a disponibilidade desses grupos para a sorção de vapor de água na superfície do filme.^{16,37,38,39}

Com o propósito de verificar a ação do TiO₂ e da NFC em relação a propriedade óptica dos filmes, devido ao preenchimento desses constituintes à matriz polimérica de quitosana, foi realizada análise de transmissão óptica para avaliar o grau de transparência e opacidade dessas amostras.

Na Figura 11, são apresentados os valores de transmissão de luz, para os filmes controle e os híbridos produzidos.

A transparência, opacidade e homogeneidade dos filmes são fatores essenciais para estabelecer a eficiência destes materiais atuarem como revestimentos. Somente o tipo de aplicação destinada ao material é que vai determinar se é melhor obter um filme mais transparente ou mais opaco. Esses fatores dependem essencialmente de sua aplicação final.

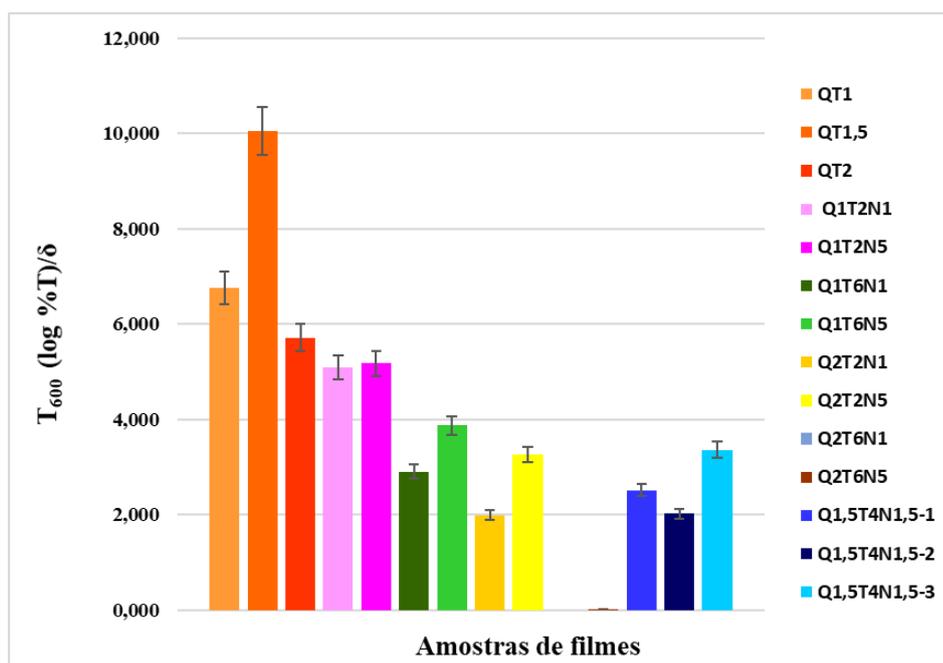


Figura 9 Médias e valores de desvio padrão de transmissão da luz em comprimento de onda de 600 nm dos filmes

Figura 9 Médias e valores de desvio padrão de transmissão da luz em comprimento de onda de 600 nm dos filmes

Fonte: Autores (2021)

Nota-se que os filmes controle (Q1, Q1,5 e Q2), sem adição de NFC e TiO₂ são mais transparentes que os híbridos produzidos. Observa-se também que Q1,5 apresentou maior transparência que Q1 e Q2, ou seja, o aumento na quantidade de quitosana utilizada também ocasiona mudanças na opacidade dos filmes. É possível verificar que tanto o TiO₂, quanto a NFC contribuem para a diminuição da transparência dos filmes. Esse desempenho pode ser explicado pelo fato de existir uma fase dispersa e não miscível junto a matriz de quitosana que, consequentemente, contribui para o aumento da opacidade devido às diferenças no índice de refração das fases, tamanhos das partículas e concentração (Alexandre et al, 2016).

Nas amostras Q2T6N1 e Q2T6N5 verifica-se que ambos os filmes apresentaram transparência próximo a zero. Essas amostras são as que possuem maior concentração de Q, NFC e TiO₂. Esse resultado pode ser atribuído aos aglomerados de TiO₂, como mostrado nas imagens da Figura 1 e também do MEV (Figura 3). A maior opacidade nos filmes também pode ter relação com a formação de uma teia pelas nanofibrilas de celulose que impede a transmitância de luz.¹¹ De acordo com Zhang *et al.*,⁴⁰ a incorporação de nanopartículas de

TiO₂ na matriz de quitosana reduz a transmitância na região da luz visível. Resultados semelhantes ao efeito da concentração do TiO₂ na transmitância óptica dos filmes também foram relatados em pesquisas.^{41,42}

O estudo da atividade antioxidante (Figura 12) e antimicrobiana (Tabela 4) dos filmes foi realizado com o objetivo de investigar se a incorporação do TiO₂ à matriz polimérica de quitosana, exibiria resultados positivos para esse tratamento.

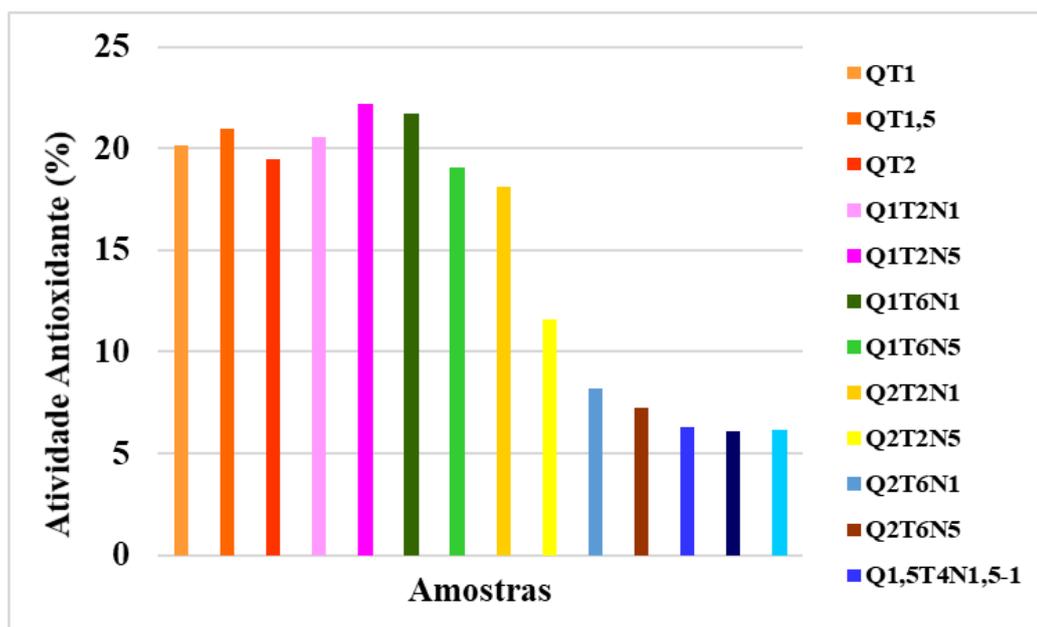


Figura 10 Médias da atividade antioxidante dos filmes de quitosana e dos filmes híbridos

Fonte: Autores (2021)

Ao analisar a Figura 12, nota-se que todos os filmes apresentaram atividades antioxidante, no entanto os valores foram relativamente baixos quando comparados a valores encontrados na literatura. Os filmes controles Q1, Q1,5 e Q2 apresentaram aproximadamente 20% de atividade antioxidante. Da mesma forma, quando o TiO₂ foi adicionado ao filme a atividade continuou baixa, as amostras Q1T2N1, Q1T2N5 e Q1T6N1 mantiveram-se próximas dos valores dos filmes controle, em que o filme Q1T2N5 foi o que apresentou maior atividade. Entretanto, à medida que a concentração do TiO₂ aumenta, a atividade antioxidante diminui. Resultados semelhantes foram evidenciados por Li *et al.*,¹⁶ que constataram que o TiO₂ indicou baixa atividade antioxidante, sendo necessário a utilização de um outro constituinte para melhorar a atividade de seus filmes. Ainda segundo os autores, ao incorporar

óleo de cravo em suas amostras houve um aumento significativo na atividade antioxidante dos filmes.

Os efeitos da atividade antibacteriana dos filmes de quitosana e os híbridos produzidos sobre as bactérias Gram-negativa e Gram-positiva, que apresentaram halo de inibição estão dispostos na Tabela 4.

Ao analisar os valores referentes ao halo de inibição sobre as bactérias, por meio do teste de difusão em ágar, observa-se que a *E. Coli* foi mais suscetível ao teste que a *S. aureus*. Os filmes de quitosana (filmes controle, Q1, Q1,5 e Q2) foram capazes de inibir a propagação da *E. coli* e à medida que a concentração de Q aumentou, maior foi a inibição. De acordo com Silva et al.,⁴³ uma das diversas características da quitosana que a distingue de outros polissacarídeos destaca-se a atividade antimicrobiana. A concentração mínima inibitória (CMI) para o filme de quitosana foi Q1(10,00) ou seja, o filme com menor concentração de quitosana em sua composição apresentou resultado satisfatório para inibir a proliferação da bactéria *E. coli*.

Quando avaliamos a inibição da *E. coli* por meio dos filmes que foram incorporados com TiO₂ e NFC, nota-se que, embora em algumas amostras tenha ocorrido uma pequena diminuição no halo de inibição, ainda assim essas foram capazes de interromper a propagação da bactéria. As amostras Q1T2N1, Q1T2N5 e Q2T6N1, por exemplo, que diferem tanto na concentração de Q, TiO₂ e NFC, apresentaram o mesmo valor de inibição (9,47). Isso demonstra que a amostra Q1T2N1 exibiu CMI suficiente para conter a difusão da *E. coli*. A amostra Q1T6N5, que apresentou menor halo de inibição (8,30) é a amostra com menor quantidade de Q e maior concentração de TiO₂ e NFC. Já a amostra Q2T2N5, foi a que apresentou melhor efeito de inibição para *E. coli*, com maior concentração de Q e NFC e menor concentração TiO₂. A amostra Q1T6N1, como pode ser visto na Tabela 4, não apresentou inibição para nenhuma das duas bactérias (*E. coli* e *S. aureus*).

Tabela 4 Efeitos dos filmes sobre o crescimento das bactérias *E. Coli* e *S. Aureus*

Presença de halo de inibição (mm)		
Gram	Bactérias	
	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>
	-	+
Q1	10,00	NI
Q1,5	10,70	NI
Q2	11,30	NI
Q1T2N1	9,47	9,00
Q1T2N5	9,47	9,87
Q1T6N1	NI	NI
Q1T6N5	8,30	9,00
Q2T2N1	11,20	NI
Q2T2N5	12,00	NI
Q2T6N1	9,47	10,90
Q2T6N5	9,97	9,73
Q1,5T4N1,5-1	9,23	9,43
Q1,5T4N1,5-2	9,57	10,60
Q1,5T4N1,5-3	9,18	9,33
CL	20,67	16,87

Legenda: NI – Não ocorreu inibição; CL – Cloranfenicol.

No teste realizado para *S. aureus*, nota-se que os filmes de quitosana (Q1, Q1,5, Q2) não foram capazes de inibir a proliferação da bactéria, esse fato pode ter ocorrido pela diferença na estrutura das bactérias e também devido a sua resistência. Nesse estudo a bactéria *S. aureus*, mostrou-se mais resistente aos tratamentos com os filmes. Interessante notar que após a incorporação do TiO₂ e NFC aos filmes, algumas amostras apresentaram resultados positivos e significativos para impedir a difusão da bactéria. Os filmes Q1T2N1 e Q1T6N5, exibiram o mesmo efeito de inibição (9,0), constatando que a concentração mínima inibitória (CMI) foi para a amostra Q1T2N1, ou seja, mesmo em menores concentrações, foi possível controlar o crescimento da bactéria no meio. Já os filmes Q2T6N1 e Q1,5T4N1,5-2, foram os

que apresentaram melhor efeito de inibição para *S. aureus* (10,90 e 10,60 respectivamente). Essas amostras são as que apresentam maior quantidade de Q e TiO₂. De modo diferente, as amostras Q2T2N1 e Q2T2N5, que apresentam a maior concentração de Q e menor de TiO₂ não mostram atividade antibacteriana. Moreira *et al.*,⁴⁴ salientam em seus estudos que *S. aureus* vem sendo isolado de alimentos, sendo motivo essencial de intoxicação alimentar. Com extensa disseminação, meios para eliminar *S. aureus* são inviáveis, assim, é preciso controlar sua contaminação e crescimento posterior nos alimentos.

Pesquisas realizadas utilizando-se o TiO₂ juntamente com a quitosana demonstram resultados significativos. Li *et al.*,¹⁶ estudaram a influência do TiO₂ e óleo de cravo em filmes de quitosana e amido, os testes antimicrobianos mostraram que a incorporação do TiO₂ aumentou satisfatoriamente a área de inibição das bactérias testadas (*S. aureus* e *E. coli*) e os melhores efeitos foram para as amostras como maior concentração de TiO₂. Ainda segundo os autores, esses efeitos melhoraram quando houve a introdução do óleo de cravo nos filmes. Xing *et al.*,³¹ fizeram um revestimento para frutos de manga a base de quitosana e dióxido de titânio, onde este levou a formação de um filme na superfície da manga em que foi possível observar os indicadores fisiológicos e bioquímicos. Os testes exibiram resultados eficientes na conservação das qualidades dos frutos, pois o filme formado sobre a superfície da manga impediu a infecção por patógenos, diminuindo, dessa forma, a ocorrência de deterioração no período de armazenamento.

Diante dos resultados apresentados neste trabalho e estudos realizados por diversos pesquisadores, constata-se que a incorporação de nanomateriais nos sistemas de embalagem de alimentos à base de quitosana, como por exemplo o TiO₂ e a NFC, são importantes pois atuam como barreira a contaminações físicas, químicas e microbiológicas.

4 Conclusão

Neste trabalho, nanopartículas de TiO₂ e nanofibrilas de celulose (NFC) foram incorporados em matriz polimérica de quitosana para produzir filmes para aplicação em embalagem de alimentos. Os resultados mostraram que a adição desses constituintes melhorou as propriedades físico-químicas dos filmes, tornando-os mais resistentes. A adição de TiO₂, exibiu efeitos satisfatórios para atividades antibacterianas, sendo que os filmes com menores concentração apresentaram CMI para as duas bactérias em estudo (*E. Coli* e *S. aureus*). Entretanto, a transparência dos filmes diminuiu, porém, a opacidade não é um

problema, tornando-se viável a partir da aplicação da embalagem para determinado tipo de alimento. A ação antioxidante diminuiu com a incorporação do TiO₂ ratificando a necessidade da inclusão de um agente antioxidante nos mesmos para melhorar esta propriedade. O MEV mostrou que o TiO₂ e a NFC estavam bem dispersos nos filmes. Os espectros de FTIR mostraram que algumas interações ocorreram entre TiO₂, NFC e a matriz dos filmes. Dessa forma, os filmes híbridos produzidos apresentaram boas propriedades físico-químicas e biológicas, proporcionando uma alternativa com potencial para novas embalagens que possibilite uma maior conservação de alimentos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Departamento de Química, a CAPQ (Central de Análise e Prospecção Química) e ao Programa de Pós-graduação em Agroquímica da Universidade Federal de Lavras onde está pesquisa foi desenvolvida. Aos outros departamentos da Universidade que possibilitaram a realização de várias análises, Departamento de Ciência dos Alimentos, Laboratório de Embalagens, Laboratório de Micotoxinas e Micologia, Departamento de Fitopatologia e o Departamento de Física. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001” ou em inglês “This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001”.

REFERÊNCIAS

1. Ismail, M. Y.; Patanen, M.; Sirviö, J. A.; Visanko, M.; Ohigashi, T.; Kosugi, N.; Huttula, M.; Liimatainen, H.; *Carbohydr. Polym.* **2019**, *218*, 94
2. Ren, Z.; Yang, J.; Qi, D.; Sonar, P.; Liu, L.; Lou, L.; Shen, G.; Wei, Z. *Adv. Mater. Technol.* **2021**, *6*, 9.
3. Silva, J.; Barud, H. S.; Meneguim, A. B.; Constantino, V. R. L.; Ribeiro, J.L. S.; *Appl. Clay Sci.* **2019**, *168*, 435.
4. Lin, D.; Yang, Y.; Wang, J.; Yan, W.; Wu, Z.; Chen, H.; Zhang, Q.; Wu, D.; Qin, W.; Tu, Z.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *154*, 123–133
5. Taspika, M.; Desiati, R. D.; Mahardika, M.; Sugiarti, E.; Abral, H.; *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* **2020**, *11*, 9.
6. Nakagaito, A. N.; Yano, H.; *Appl. Phys. A: Mater. Sci. Process.* **2005**, *80*, 159.
7. Tonoli, G. H. D.; Teixeira, E. M.; Corrêa, A. C.; Marconcini, J. M.; Caixeta, L. A.; Pereira-da-Silva, M. A.; Mattoso, L. H. C.; *Carbohydr. Polym.* **2012**, *89*, 88.

8. Tappi Method T412 om-02. 2002. "Moisture in pulp, paper and paperboard." Test methods of the technical association of the pulp and paper industry 2002-2003.
9. Gontard, N.; Duchez, C.; Cuq, Jean-Louis.; Guilbert, S.; *International Journal of Food Science e Technology*. **1994**, 29, 50.
10. American Society for testing and materials. **ASTM E 96-00**: standard test methods for water vapor transmission of materials. Philadelphia: ASTM, 2000a.
11. Guimarães, M.; Botaro, V. R.; Novack, K. M.; Teixeira, F. G.; Tonoli, G. H. D.; *Ind. Crops Prod.* **2015**, 70, 83.
12. Byun, Y., Kim, Y. T., Whiteside, S.; *J. Food Eng.* **2010**, 100, 244.
13. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238 486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003a.
14. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003b.
15. Yu, Z.; Alsammarráie, F. K.; Nayigiziki, F. X.; Vardhanabhuti, W. W. B.; Mustapha, A.; Lin, M.; *Food Res. Int.* 2017. 99, 172.
16. Li, W.; Zheng, K.; Chen H.; Feng, S.; Wang, W.; Qin, C.; *Polymers*, **2019**, 11, 1418.
17. Khan, A.; Khan, R. A.; Salmieri, S.; Tien, C. L.; Riedl, B.; Bouchard, J.; Chauve, G.; Tan, V.; Kamal, M. R.; Lacroix, M.; *Carbohydr. Polym.* **2012**, 90, 1608.
18. Cai, Z.; Kim, J.; *Smart Mater. Struct.* **2008**, 17, 8.
19. Schwanninger M.; Rodrigues, J. C.; Pereira, H.; Hinterstoisser, B.; *Vib. Spectrosc.* **2004**, 36 40.
20. Wang, S. F.; Shen, L.; Zhang, W.; Tong, Yue-Jin.; *Biomacromolecules*. **2005**, 6, 3072.
21. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 7 ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2006.
22. Nafchi, A.M.; Moradpour, M.; Saeidi, M.; Alias, A.K.; *Food Sci. Technol.* **2014**, 58, 149.
23. Nafchi, A.M.; Nassiri, R.; Sheibani, S.; Ariffn, F.; Karim, A.A.; *Carbohydr. Polym.* **2013**, 96, 239.
24. Marvizadeh, M. M.; Oladzadabbasabadi, N.; Nafchi, A. M.; Jokar, M. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, 99, 7.
25. Zhang. W.; Chen, J.; Chen, Y.; Xia, W.; Xiong, X. L.; Wang, H. *Carbohydr. Polym.* **2016**, 138, 65.
26. Kittur, F. S.; Kumar, A. B. V.; Tharanathan, R. N.; *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 1283.
27. Lan, W.; Wang, S.; Zhang, Z.; Liang, X.; Liu, X.; Zhang, J.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, 168, 115.
28. Zhang, X.; Liu, Y.; Yong, H.; Qin, Y.; Liu, J.; Liu, J.; *Food Hydrocoll.* **2019**, 94, 92.
29. Xing, Y.; Yang, H.; Guo, X.; Bi, X.; Liu, X.; Xu, Q.; Wang, Q.; Li, W.; Li, X.; Shui, Y.; Chen, C.; Zheng, Y.; *Sci. Hort.*, **2020**, 263, 135.
30. Aljawish, A.; Muniglia, L.; Chevalot, I.; *Biotechnol Prog.* **2016**, 32, 500.
31. Deng, Z.; Jung, J.; Simonsen, J.; Whang, Y.; Zhao, Y.; *J. Food Sci.* **2017** 82,462.
32. Lin, B.; Luo Y.; Teng, Z.; Zhang, B.; Zhou, B.Wang, Q. - *Food Science and Technology*, **2015**, 63, 1213.
33. Garcia, M., Pinotti, A., Martino, M., Zaritzky, N.; *Carbohydr. Polym.* **2006**, 56, 345.
34. Kaushik, A.; Singh, M.; Verma, G.; *Carbohydr. Polym.*, **2010**, 82, 345.
35. He, Q.; Zhang, Y.; Cai, X.; Wang, S.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, 84, 160.
36. Lian, Z.; Zang, Y.; Zhao, Y. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* **2016**, 33, 153.

37. Al-Sagheer, F.; Merchant, S.; *Carbohydr. Polym.* **2011**, *85*, 362.
38. Li, Y.; Jiang, Y.; Liu, F.; Ren, F.; Zhao, G.; Leng, X.; *Food Hydrocolloids.* **2011**, *25*, 1104.
39. Siripatrawan, U.; Kaewklin, P.; *Food Hydrocolloids.* **2018**, *84*, 134.
40. Zhang, X.; Xiao, G.; Wang, Y.; Zhao, Y.; Su, H.; Tan, T.; *Carbohydr. Polym.* **2017**, *v. 169*, 107.
41. Wang, X.; Du, Y.; Luo, J.; Lin, B.; Kennedy, J. F.; *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 49.
42. Silva, H.; Santos, K.; *Quim. Nova*, **(2006)**, *29*, 776-785.
43. Moreira, B.; Azola, J.; Gouvêa, C.; *Rev. Saúde e Biol.*, **2018**, *13*, 52.