

**Produção de nanopartículas de quitosana e aplicação como revestimento em blendas de amido de mandioca e poli(ácido láctico)**

**Production of chitosan nanoparticles and application as coating in starch and poly(lactic acid) sheets**

**Producción de nanopartículas de quitosán y aplicación como revestimiento en hojas de almidón de yuca y poli (ácido láctico)**

Recebido: 19/08/2020 | Revisado: 21/08/2020 | Aceito: 24/08/2020 | Publicado: 28/08/2020

**Marcella Vitoria Galindo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7486-7315>

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

E-mail: [rpmarcella@hotmail.com](mailto:rpmarcella@hotmail.com)

**Isabela dos Santos Paglione**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7683-8227>

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil

E-mail: [isabela\\_paglione@hotmail.com](mailto:isabela_paglione@hotmail.com)

**Alexandre Rodrigo Coelho**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5744-5666>

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil

E-mail: [arcoelho@utfpr.edu.br](mailto:arcoelho@utfpr.edu.br)

**Fernanda Vitória Leimann**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6230-9597>

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil

E-mail: [fernandaleimann@utfpr.edu.br](mailto:fernandaleimann@utfpr.edu.br)

**Marianne Ayumi Shirai**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0795-6358>

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil

E-mail: [marianneshirai@utfpr.edu.br](mailto:marianneshirai@utfpr.edu.br)

**Resumo**

A quitosana é um biopolímero com ampla aplicação na área cosmética, têxtil, alimentícia e na agricultura. Neste trabalho nanopartículas de quitosana (NPQ) foram sintetizadas por

gelificação iônica e foram utilizadas no recobrimento de laminados a base de blenda de amido e poli(ácido láctico) (TPS/PLA) produzidas por extrusão termoplástica. Nas NPQ determinou-se o diâmetro médio, a morfologia por microscopia eletrônica de transmissão e a atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Penicillium expansum* e *Aspergillus ochraceus*. Nos laminados de TPS/PLA recobertos com NPQ foram determinadas as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor de água. As NPQ foram produzidas com êxito através do método de gelificação iônica, o diâmetro médio foi de 146,9 nm, o índice de polidispersão foi de 0,281 e apresentaram morfologia esférica. As NPQ não apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos estudados. Entretanto, sua aplicação como recobrimento em laminados extrusados de TPS/PLA não alteraram as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água e a espessura.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana; Gelificação iônica; Extrusão termoplástica; Material biodegradável.

### Abstract

Chitosan is a biopolymer with wide application in the cosmetic, textile, food and agriculture areas. In this work chitosan nanoparticles (CNP) was produced by ionic gelation and used as coating in starch (TPS) and poly(lactic acid) (PLA) sheets produced by thermoplastic extrusion. In the CNP the average diameter, the morphology by transmission electronic microscopy and the antimicrobial activity against the microorganism *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Penicillium expansum* and *Aspergillus ochraceus* were determined. In the TPS/PLA sheets coated with CNP the mechanical properties and water vapor permeability (WVP) were determined. The CNP were successfully produced by ionic gelation method, the average diameter was 146.9 nm, the polydispersity index was 0.281 and showed spherical shape. The CNP did not show antimicrobial activity against the microorganism studied. Furthermore, their use as a coating on TPS/PLA sheets did not alter the mechanical and water vapor barrier properties and thickness.

**Keywords:** Antimicrobial activity; Ionic gelation; Thermoplastic extrusion; Biodegradable material.

### Resumen

El quitosano es un biopolímero de amplia aplicación en las áreas cosmética, textil, alimentaria y agrícola. En este trabajo, se sintetizaron nanopartículas de quitosano (NPQ) mediante gelificación iónica y se utilizaron para recubrir laminados a base de mezclas de almidón y poli

(ácido láctico) (TPS/PLA) producidos por extrusión termoplástica. En las NPQ se determinó el diámetro medio, la morfología por microscopía electrónica de transmisión y la actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Penicillium expansum* y *Aspergillus ochraceus*. En laminados de TPS/PLA cubiertos con NPQ, se determinaron las propiedades mecánicas y la permeabilidad al vapor de agua. Los NPQ se produjeron con éxito mediante el método de gelificación iónica, el diámetro promedio fue de 146,9 nm, el índice de polidispersión fue de 0,281 y presentó morfología esférica. Los NPQ no mostraron actividad antimicrobiana frente a los microorganismos estudiados. Sin embargo, su aplicación como recubrimiento sobre laminados extruidos de TPS/PLA no modificó las propiedades mecánicas y la barrera al vapor de agua y el espesor.

**Palabras clave:** Actividad antimicrobiana; Gelificación iónica; Extrusión termoplástica; Material biodegradable.

## 1. Introdução

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da desacetilação da quitina, composta por unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose unidas por ligações do tipo  $\beta$  (1-4). O grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) presente em sua estrutura, quando em meio ácido, apresenta cargas positivas devido à sua protonação ( $\text{NH}_3^+$ ). Geralmente é encontrada em carapaças de crustáceos (caranguejo, lagosta e camarões) e insetos, podendo ser produzida também por fungos *Aspergillus niger*, *Mucor rouxii* e *Penicillium notatum* (Abdou et al., 2008; Elsabee & Abdou, 2013).

A quitosana possui grande potencial para ser utilizada na produção de embalagens alimentícias e como veículo para liberação controlada de fármacos e aditivos, podendo ser empregada em diferentes formas, tais como microesferas, flocos, nanopartículas, fibras e filmes. A crescente aplicação da quitosana na forma de nanopartículas se deve ao fato de esta ser um polissacarídeo natural, abundante, biodegradável e com atividade antimicrobiana (Agulló et al., 2003; Lorevice et al., 2014; Mohamed et al., 2020; Ravi Kumar, 2000; Rodrigues et al., 2020; Sullivan et al., 2018).

Acredita-se que a atividade antimicrobiana da quitosana ocorre através da interação eletrostática entre as cargas positivas de grupos amino presentes na estrutura da quitosana e a carga negativa na superfície da célula bacteriana, interferindo no funcionamento da membrana e impedindo sua multiplicação. Além disso, a quitosana pode afetar a morfogênese da parede celular e interferir diretamente sobre a atividade de enzimas responsáveis pelo crescimento de

fungos (Pedro et al., 2013; Ravi Kumar, 2000). A atividade antimicrobiana de quitosana e nanopartículas de quitosana (NPQ) foi descrita com sucesso frente a diferentes microrganismos (Du et al., 2009; Qi et al., 2004).

Diferentes métodos de produção de NPQ encontram-se disponíveis na literatura, sendo que a técnica de gelificação iônica apresenta algumas vantagens, pois as nanopartículas são obtidas em condições que não envolvem o uso de solventes orgânicos tóxicos e altas temperaturas de processo. Este método é baseado na interação eletrostática entre o grupamento amino da quitosana e as cargas negativas de um poliânion, como o tripolifosfato de sódio (TPP). Devido à complexação das cargas opostas, a quitosana sofre gelificação iônica e precipita formando partículas esféricas (Calvo et al., 1997; Kumari et al., 2010).

Pesquisas sobre o uso de blendas contendo polímeros biodegradáveis, como o amido e o poli (ácido láctico) (PLA), vem ganhando destaque no setor de embalagens para alimentos, pois ambos os materiais são biodegradáveis e provenientes de fonte renovável (Pizzoli et al., 2016; Reis et al., 2018; Shirai et al., 2015). Frente aos benefícios ambientais propostos pelo uso dessas blendas, a viabilidade econômica e tecnológica destes materiais seria incrementada se estes além de possuírem a função de proteger os alimentos de agentes externos, atuassem como uma embalagem ativa, que se caracterizam por alterarem as condições do ambiente ao redor do alimento para prolongar a sua vida útil, mantendo as propriedades sensoriais, nutricionais e de segurança do produto (Yam et al., 2005).

Muitos estudos relatam a aplicação das NPQ em filmes (Ju et al., 2020; Lorevice et al., 2014; Lorevice et al., 2016; Moura et al., 2009) e compósitos (Chang et al., 2010) produzidos pela técnica de casting e nenhum trabalho foi encontrado sobre a incorporação destas em materiais a base de amido termoplástico (TPS) e PLA obtidos pelo processo de extrusão. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi de sintetizar nanopartículas de quitosana pela técnica de gelificação iônica e utilizar no recobrimento de superfície de laminados de TPS/PLA produzidos por extrusão plana (calandragem). As NPQ foram caracterizadas quanto à distribuição de tamanho, morfologia e atividade antimicrobiana e nos laminados contendo NPQ foi determinada a propriedade mecânica e a permeabilidade ao vapor de água.

## **2. Metodologia**

### **2.1 Material**

As nanopartículas foram sintetizadas utilizando-se quitosana de baixa massa molecular

(Sigma Aldrich, EUA) com grau de desacetilação de 85%, tripolifosfato de sódio (Vetec, Brasil) e ácido acético glacial (Vetec, Brasil). Para as análises microbiológicas foram utilizados Ágar Batata Dextrose (Neogen, Brasil), caldo e ágar Müeller Hinton (Himedia, Índia), peptona bacteriológica (Himedia, Índia) e Tween 80 (LabMaster, Brasil). Os laminados foram produzidos utilizando amido de mandioca nativo (Indemil, Brasil), PLA Ingeo 4043D (Natureworks LLC, Cargill, EUA) e glicerol (Dinâmica, Brasil).

## 2.2 Produção de nanopartículas de quitosana

As NPQ foram sintetizadas pela técnica de gelificação iônica de acordo com Calvo et al. (1997) e Neves et al. (2015), com algumas modificações. O volume de 8 mL da solução de TPP (1 mg/mL) foi adicionado por gotejamento e sob agitação magnética a 15 mL de solução de quitosana (2 mg/mL), previamente dissolvida em ácido acético 0,1 M e com pH ajustado para 4,4. Após a adição de TPP, as soluções foram mantidas sob agitação magnética, a temperatura ambiente durante 1 hora. A concentração de quitosana e TPP ao final do processo foi de 1,3 mg/mL e 0,3 mg/mL. A proporção de quitosana e TPP, bem como as condições de processo foram definidas por testes preliminares.

## 2.3 Caracterização das nanopartículas de quitosana

O tamanho médio das NPQ foi determinado por dispersão de luz dinâmica (DLS, Malvern Zetasizer Nano S). A morfologia das NPQ foi avaliada por microscopia eletrônica de transmissão (JEOL, JEM-1011 a 80 kV). A solução de NPQ foi gotejada sobre um grid de cobre (200 Mesh, Electron Microscopy Sciences) previamente recoberto com colódio. O grid contendo a NPQ foi mantido em dessecador para secagem até o momento da análise.

## 2.4 Atividade antimicrobiana das nanopartículas de quitosana

A atividade antimicrobiana das NPQ foi determinada pela técnica de difusão em poço, utilizando as bactérias *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), e os fungos *Penicillium expansum* n. 2 e *Aspergillus ochraceus* isolado de frutos de café e proveniente de cultura monospórica. Para o ensaio com as bactérias, inicialmente estas foram reativadas em caldo Müeller Hinton a 35-37°C por 24 horas, até alcançar ou exceder a turbidez de uma solução padrão de McFarland com escala de 0,5. Em

seguida, placas de Petri contendo ágar Müeller Hinton foram adicionados da suspensão bacteriana e poços foram feitos com um cilindro de aço inoxidável estéril (diâmetro de 6 mm), e os mesmos foram preenchidos com 0,1 mL de solução de NPQ. As placas foram incubadas a 35-37 °C por 24-48 horas e observou-se a formação de halo de inibição. Para a atividade antifúngica, repiques das cepas de *P. expansum* e *A. ochraceus* foram mantidas a 27°C por 5 dias. Os esporos foram padronizados na concentração de  $1 \times 10^5$  mL/esporos com solução de Tween 80 e contagem em câmara de Neubauer. Após a padronização, os esporos foram semeados em placas de Petri contendo ágar batata dextrose (BDA) e poços foram feitos com auxílio de um cilindro de aço inoxidável estéril (diâmetro de 6 mm) e os mesmos foram preenchidos com 0,1 mL de solução de NPQ. As placas foram incubadas a 27°C por 5 dias e observou-se a presença ou ausência de halo de inibição.

## **2.5 Produção dos laminados de TPS/PLA**

O laminado de TPS e PLA foi produzido de acordo com Shirai et al. (2015) e consistiu em 50% (m/m) de PLA, 37,5% (m/m) de amido de mandioca e 12,5% (m/m) de glicerol. Inicialmente foi feita a homogeneização dos componentes da blenda em extrusora dupla rosca co-rotacional (marca BGM, modelo D-20, Brasil), empregando-se as seguintes condições: diâmetro das roscas de 20 mm, L/D 35, velocidade dos parafusos de 100 rpm, velocidade do alimentador de 30 rpm e perfil de temperatura 100 / 180 / 180 / 180 / 180°C. Em uma segunda etapa, os extrudados obtidos na forma de perfis cilíndricos foram peletizados e processados na mesma extrusora dupla rosca acoplada a uma calandra laminadora (AX - Plásticos, Brasil). O perfil de temperatura empregado foi de 100 / 170 / 170 / 170 / 175°C, a velocidade do alimentador e do parafuso foram iguais ao da etapa de preparação das blendsas.

## **2.6 Aplicação das nanopartículas de quitosana nos laminados de TPS/PLA**

Para o revestimento dos laminados de TPS/PLA, a solução de NPQ foi incorporada a uma solução contendo 3% de amido de mandioca (m/m) previamente gelatinizada a 80°C. A solução de NPQ foi adicionada ao gel de amido na concentração de 10 e 20% (m/m) e em seguida os laminados de TPS/PLA (10 cm x 20 cm) foram imersos nessas misturas por um período de 30 segundos e secos em estufa com circulação de ar a 40°C/12 horas. As formulações foram denominadas como C (Controle, sem aplicação), NPQ10 (gel de amido com 10% de NPQ) e NPQ20 (gel de amido com 20 % de NPQ).

## **2.7 Caracterização dos laminados contendo nanopartículas de quitosana**

Os testes de tração foram realizados em texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA XTplus, Inglaterra), conforme os métodos e normas da American Society for Testing and Material (ASTM D882-02, 2002). Corpos de prova com dimensões de 10 x 100 mm foram previamente condicionados em dessecador com umidade relativa de 53% por no mínimo 48 horas. As propriedades determinadas foram resistência máxima à tração, alongação na ruptura e módulo de Young. A permeabilidade ao vapor foi determinada em triplicata por método gravimétrico, conforme o método da American Society for Testing and Material (ASTM E-96-00, 2000), empregando-se gradiente de 0 – 75%.

## **2.8 Análise estatística**

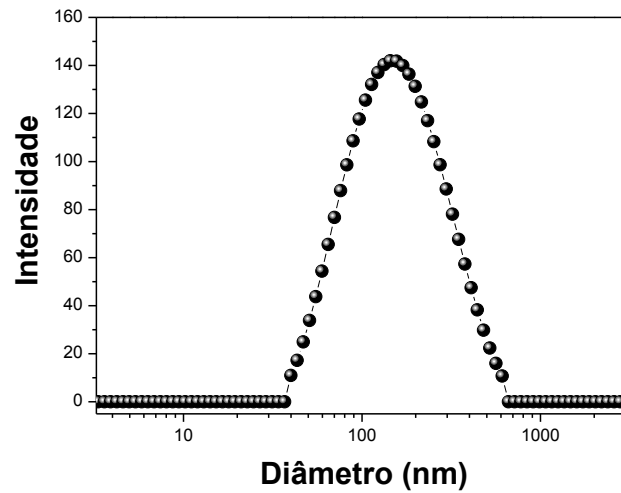
Os resultados de propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água foram avaliados por análise de variância (ANOVA) de uma via e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ).

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1 Caracterização das nanopartículas de quitosana**

As nanopartículas de quitosana foram sintetizadas com sucesso através da técnica de gelificação iônica conforme já observado por Calvo et al. (1997), Ju et al. (2020) e Neves et al. (2014). Na Figura 1 está presente o gráfico de distribuição de tamanho e através deste observou-se que o diâmetro médio das NPQ foi de 146,9 nm, sendo este valor acima ao observado por Chang et al. (2010), Qi et al. (2004) e Lorevice et al. (2016) e está próximo de valores relatado por Tsai (2011). Com este trabalho, foi possível demonstrar que a proporção TPP e solução de quitosana, grau de desacetilação e massa molecular da quitosana e pH da solução foram adequados, pois nota-se que o índice de polidispersão (span) possuiu um valor baixo de 0,281, indicando que as partículas estavam bem homogêneas em relação ao tamanho. De acordo com Neves et al. (2014), o índice de polidispersão abaixo de 0,30 indica alta homogeneidade no tamanho das nanopartículas.

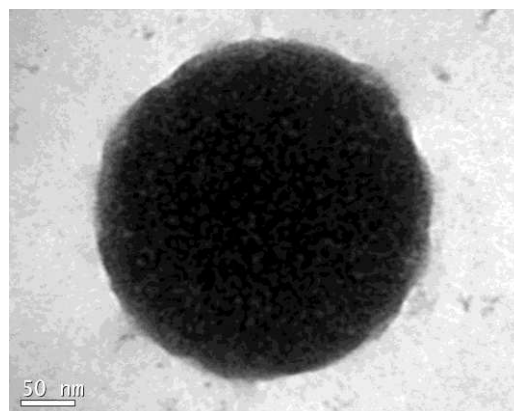
**Figura 1:** Curva de distribuição de tamanho da NPQ.



Fonte: Autores.

Na Figura 2 encontra-se a imagem da morfologia da NPQ obtida por microscopia eletrônica de transmissão. De acordo com a imagem, pode-se concluir que a NPQ obtida apresentou formato esférico e diâmetro de aproximadamente 300 nm, confirmando também a sua estrutura nanométrica, corroborando com os resultados de distribuição de tamanho (Figura 1).

**Figura 2:** Imagem de microscopia eletrônica de transmissão da NPQ.



Fonte: Autores.



As NPQ produzidas neste trabalho não apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *P. expansum* e *A. ochraceus* na concentração estudada. Entretanto, Qi et al. (2004) relataram que concentrações de NPQ menores que 0,25 µg/mL e com tamanho de 40 nm foram suficientes para inibir a multiplicação de *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* e *S. aureus*. Além disso, os autores concluíram que as NPQ apresentam maior atividade antimicrobiana do que a quitosana in natura. Chavez-Paz et al. (2011) também demonstraram atividade antimicrobiana frente ao microrganismo *Streptococcus mutans*. Sathiyabama e Parthasarathy (2016) verificaram que NPQ preparadas com proteína aniônica isolada de *Penicillium oxalicum* na concentração de 100 µg/mL foi suficiente para inibir o crescimento de *Pyricularia grisea*, *Alternaria solani* e *Fusarium oxysporum*.

É possível que a concentração de NPQ utilizada no teste de atividade antimicrobiana não foi suficiente para inibir o desenvolvimento dos microrganismos testados. Outra hipótese é de que a proporção TPP e solução de quitosana estudada foi adequada para a formação da NPQ, não restando grupamentos catiônicos livres ( $-NH_3^+$ ) suficiente para ocorrer a interação e formação de complexos polieletrólíticos com os polímeros da superfície da célula microbiana.

### 3.2 Caracterização dos laminados de TPS/PLA recobertos com NPQ

A espessura média dos laminados de TPS/PLA foi de 500 µm e valores próximos foram relatados por Shirai et al. (2015) e Pizzoli et al. (2016). Não houve variação nos valores de espessura em virtude do recobrimento com NPQ. Comportamento similar foi observado em laminados de TPS/PLA/gelatina recobertos com nanopartícula de prata (Pizzoli et al., 2016) e laminados de TPS/PLA recobertos com quitosana reticulada (Soares et al., 2013). Isso pode ter ocorrido porque durante o processo de secagem a água da solução de amido foi evaporada e com isso formou-se uma fina película que reteve as NPQ na superfície dos laminados.

Os resultados das propriedades mecânicas em termos de resistência a tração (T), alongação na ruptura (E) e módulo de Young (MY) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) encontram-se na Tabela 1. Os valores de T variaram de 24,4 a 26,7 MPa, de E de 19,9 a 40,0% e de MY de 718 a 772 MPa, e valores próximos foram encontrados em laminados de amido e PLA adicionados de quitosana (Alberti et al., 2015), laminados de TPS/PLA/gelatina recobertos com nanopartícula de prata (Pizzoli et al., 2016), laminados de amido e PLA

adicionados de gelatina (Pizzoli et al., 2017) e laminado de amido e PLA plastificando ésteres de adipato e citrato (Shirai et al., 2015).

**Tabela 1:** Propriedades mecânicas e PVA de laminados de TPS/PLA recobertos de NPQ.

Amostra	T (MPa)	E (%)	MY (MPa)	PVA x 10 <sup>6</sup> (g/Pa.m.dia)
C	24,4 ± 2,8 <sup>a</sup>	21,7 ± 6,9 <sup>b</sup>	731 ± 96 <sup>a</sup>	3,18 ± 0,51 <sup>a</sup>
NPQ10	24,3 ± 2,0 <sup>a</sup>	19,9 ± 6,1 <sup>b</sup>	718 ± 39 <sup>a</sup>	2,98 ± 0,22 <sup>a</sup>
NPQ20	26,7 ± 3,4 <sup>a</sup>	40,0 ± 9,1 <sup>a</sup>	772 ± 94 <sup>a</sup>	2,92 ± 0,15 <sup>a</sup>

T = Resistência à tração; E = Elongação na ruptura; MY = Módulo de Young; PVA = Permeabilidade ao vapor de água. Médias seguidas de letras iguais na coluna, não apresentam diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Fonte: Autores.

No geral, a aplicação de NPQ na superfície dos laminados não interferiu nas propriedades mecânicas, pois os valores de T, E e MY foram estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ) ao controle. Comportamento diferente foi relatado por Alberti et al. (2015) e Bie et al. (2013), no qual a adição de quitosana *in natura* em blendas de amido e PLA comprometeram as propriedades dos materiais com redução de T e E.

Os valores de PVA variaram de 2,92 a 3,18 x 10<sup>-6</sup> g Pa<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> e não apresentaram diferença significativa em relação aos resultados relatados por Alberti et al. (2015), Pizzoli et al. (2016), Pizzoli et al. (2017) e Shirai et al. (2015). Do mesmo modo que as propriedades mecânicas, não foi observada diferença nos valores de PVA. Esses resultados sugerem que os laminados de TPS/PLA atuaram como um suporte efetivo para incorporação de NPQ, sem interferir nas propriedades funcionais dos mesmos. Resultados diferentes foram observados em filmes de hidroxipropilmetilcelulose, filmes compósitos de pectina e amido produzidos por *casting*, onde a adição de NPQ melhorou significativamente as propriedades mecânicas e de barreira, além de conferir maior estabilidade térmica aos materiais (Lorevice et al., 2014; Lorevice et al., 2016; Moura et al., 2009). A diferença nos resultados se deve principalmente aos métodos utilizados para a produção dos materiais.

#### 4. Considerações Finais

As NPQ foram sintetizadas com sucesso pela técnica de gelificação iônica, pois apresentaram tamanho nanométrico e distribuição de tamanho homogêneo. A aplicação das

NPQ em laminados de TPS/PLA não interferiram na espessura e nas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. Entretanto, é necessário um melhor estudo da produção de nanopartículas de quitosana visando uma atividade antimicrobiana relevante para viabilizar a aplicação em alimentos e na produção de embalagens ativas para conservação de alimentos.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem a UTFPR pela bolsa de Iniciação Tecnológica e ao CNPq pelo auxílio financeiro (Processo nº 445272/2014-7).

### **Referências**

Abdou, E. S., Nagy, K. S. A., & Elsabee, M. Z. (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99(5), 1359-1367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051>

Agulló, E., Rodríguez, M. S., Ramos, V., & Albertengo, L. (2003). Present and future role of chitin and chitosan in food. *Macromolecular Bioscience*, 3(10), 521-530. <https://doi.org/10.1002/mabi.200300010>

Alberti, M. L., Souza, S. J., Gonçalves, H., Yamashita, F., & Shirai, M. A. (2015). Efeito da adição de quitosana em laminados de amido e poli(ácido láctico) produzidos por extrusão. *Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos*, 6(1), 80-90. <http://doi.org/10.14685/rebrapa.v6i1.208>

Bie, P., Liu, P., Yu, L., Li, X., Chen, L., & Xie, F. (2013). The properties of antimicrobial films derived from poly (lactic acid)/starch/chitosan blended matrix. *Carbohydrate Polymers*, 98, 959-966. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.004>

Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, 63(1), 125–132. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19970103\)63:1<125::AID-APP13>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970103)63:1<125::AID-APP13>3.0.CO;2-4)

Chang, P. R., Jian, R., Yu, J., & Ma, X. (2010). Fabrication and characterization of chitosan nanoparticles/plasticised-starch composites. *Food Chemistry*, 120(3), 736-740. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.002>

Chavez-Paz, L. E., Resin, A., Howard, K. A., Sutherland, D. S., & Wejse, P. L. (2011). Antimicrobial effect of chitosan nanoparticles on *Streptococcus mutans* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(11), 3892-3895. <https://doi.org/10.1128/AEM.02941-10>

Du, W. L., Niu, S. S., Xu, Y. L., Xu, Z. R., & Fan, C. L. (2009). Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 385-389. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.07.039>

Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Material Science and Engineering C*, 33(4), 1819-1841. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>

Ju, S., Zhang, F., Duan, J., & Jiang, J. (2020). Characterization of bacterial cellulose composite films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study. *Carbohydrate Polymers*, 237, 116167. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116167>

Kumari, A., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.001>

Lorevice, M. V., Moura M. R., & Mattoso L. H. C. (2014). Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. *Química Nova*, 37(6), 931-936. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140174>

Lorevice, M. V., Otoni, C. G., Moura M. R., & Mattoso L. H. C. (2016). Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. *Food Hydrocolloids*, 52, 732-740. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.003>

- Mohamed, S. A. A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M. A. (2020). Polysaccharides, Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Carbohydrate Polymers*, 238, 116178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>
- Moura, M. R., Aouada, F. A., Avena-Bustillos, R. J., Mchugh, T. H., Krochta, J. M., & Mattoso, L. H. C. (2009). Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films witch chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. *Journal of Food Engineering*, 92, 448-453. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.015>
- Neves, A. L. P., Milioli, C. C., Müller, L., Riella, H. G., Kuhnen, N. C., & Stulzer, H. K. (2014). Factorial design as tool in chitosan nanoparticles development by ionic gelation technique. *Colloids and Surfaces: Physicochemical and Engineering Aspects*, 445, 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.058>
- Pedro, R.O., Takaki, M., Gorayeb, T. C. C., Bianchi, V. L., Thomeo, J. C., Tiera, M. J., & Tiera, V. A. O. (2013). Synthesis, characterization and antifungal activity of quaternary derivatives of chitosan on *Aspergillus flavus*. *Microbiological Research*, 168(1), 50-55. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.06.006>
- Pizzoli, A. P. O., Marchiore, N. G., Souza, S. J., Santos, P. F., Gonçalves, O. H., Yamashita, F., Shirai, M. A., & Leimann, F. V. (2016). Antimicrobial PLA/TPS/gelatin sheets with enzymatically crosslinked surface containing silver nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(8), 43039. <https://doi.org/10.1002/app.43039>
- Pizzoli, A. P. O., Yamashita, F., Gonçalves, O. H., Shirai, M. A., & Leimann, F. V. (2017). The effect of gelatin amount on the properties of PLA/TPS/gelatin extruded sheets. *Polímeros*, 27(1), 27-34. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2181>
- Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X. (2004). Preparation and bacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*, 339(16), 2693-2700. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.09.007>
- Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)

Reis, M. O., Olivato, J. B., Bilck, A. P., Zanela, J., Grossmann, M. V. E., & Yamashita, F. (2018). Biodegradable trays of thermoplastic starch/poly(lactic acid) coated with beeswax. *Industrial Crops and Products*, 112, 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.045>

Rodrigues, G. A., Santos, W. de O. dos, Malpass, G. R. P., Okura, M. H., Sanfelice, R. C., & Granato, A. C. (2020). Evaluation of the physicochemical and antibacterial properties of films based on biopolymers incorporating *Zingiber officinale* extract. *Research, Society and Development*, 9(8), e618986199. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6199>

Sathiyabama, M., & Parthasarathy, R. (2016). Biological preparation of chitosan nanoparticles and its in vitro antifungal efficacy against some phytopathogenic fungi. *Carbohydrate Polymers*, 151, 321-325. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.033>

Shirai, M. A., Müller, C. M. O., Grossmann, M. V. E., & Yamashita, F. (2015). Adipate and citrate esters as plasticizers for poly (lactic acid)/thermoplastic starch sheets. *Journal of Polymer and Environment*, 23(1), 54-61. <https://doi.org/10.1007/s10924-014-0680-9>

Soares, F. C., Yamashita, F., Müller, C. M. O., & Pires, A. T. N. (2013). Thermoplastic starch/poly(lactic acid) sheets coated with cross-linked chitosan. *Polymer Testing*, 32(1), 94-98. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.09.005>

Sullivan, D. J., Cruz-Romero, M., Collins, T., Cummins, E., Kerry, J. P., & Morris, M. A. (2018). Synthesis of monodisperse chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 83, 355-364. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.010>

Yam K. L., Takhistov P. T., & Miltz J. (2005). Intelligent Packaging: Concepts and applications. *Journal of Food Science*, 70(1), 1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09052.x>

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Marcella Vitória Galindo – 30%

Isabela dos Santos Paglione – 15%

Alexandre Rodrigo Coelho – 15%

Fernanda Vitória Leimann – 15%

Marianne Ayumi Shirai – 25%