

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

FRANCIELLI BONFIM ZAPAROLLI

**APLICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA
IMPREGNADA COM TIMOL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2015

FRANCIELLI BONFIM ZAPAROLLI

**APLICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA
IMPREGNADA COM TIMOL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial à obtenção do título de
Tecnólogo em Alimentos, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr.^aDenise Milléo Almeida

PONTA GROSSA

2015

TERMO DE APROVAÇÃO

APLICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADA COM TIMOL

por

FRANCIELLI BONFIM ZAPAROLLI

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 12 de junho de 2015 o como requisito parcial para a obtenção do título Tecnólogoem Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a Dr^a Denise Milléo Almeida
Orientador(a)

Prof^a Dr^a Rosilene Aparecida Prestes
Membro titular

Prof. Dr. Luis Antonio Pinheiro
Membro titular

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha mãe Ester Zaparolli e meu irmão Allan, pela confiança, amor e incentivo nas minhas escolhas.

Ao meu amor Diogo Messias por estar sempre presente, pela sua proteção, pelo seu amor.

Aos meus sogros Messias e Verci, por todo apoio e ajuda.

Ao meu anjo Dulcinéia (*in memoriam*), por sempre me apoiar e me guiar por toda a minha trajetória.

Agradeço a minha orientadora Prof^a. Dr^a. Denise pela sabedoria, paciência e dedicação.

Aos meus colegas e amigos, Roberjan, Kamila, Allison, Ângela, Luciana, Wesley, Crislaine e Bianca por todo o apoio e amizade.

A Secretaria do Curso, pela cooperação.

Enfim, a todos que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

ZAPAROLLI, Francieli Bonfim. **Aplicação e caracterização de celulose bacteriana impregnada com timol**. 2015. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2015.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar filmes de celulose bacteriana impregnadas com timol quanto as características físico-químicas, propriedades de barreira e mecânicas. Foram produzidos filmes de celulose bacteriana por processo fermentativo estático, purificadas e imersas em solução com timol a 0%, 4%, 6% e 8%. Os filmes impregnados com timol foram caracterizadas quanto a espessura, gramatura, densidade, índice de intumescimento em pH 1,8 e pH 8,2, taxa de permeabilidade ao vapor de água, permeabilidade ao vapor de água, isoterma de adsorção de umidade e microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), resistência à tração e análise dos componentes dos filmes por difração de raio-x (DRX). A adição de timol em filmes de celulose bacteriana não afetou a espessura, mas com o acréscimo aumentou a gramatura, densidade e o índice de intumescimento em solução com pH 8,2, maior possibilidade de perda de qualidade causada pela umidade com aumento da energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada e dos sítios de adsorção a água em uma única camada, elevação na taxa de permeabilidade ao vapor de água, aumento da cristalinidade, elevação da elasticidade, tensão de ruptura e a redução na tensão de escoamento. A microscopia eletrônica de varredura mostrou filmes com uma matriz densa, reticulada, porosa, sugerindo várias camadas e sem resíduos visíveis de timol. Os espectros de infravermelho mostraram que o timol não afetou a estrutura química dos filmes de celulose bacteriana. De modo geral, a adição de timol, como substância antimicrobiana, não afetou significativamente a estrutura da celulose bacteriana, onde a concentração de 6% de timol apresentou os melhores resultados pela redução da absorção de água, aumento da tração e da cristalinidade dos filmes.

Palavras-chaves: Biopolímero. Celulose bacteriana. Caracterização. Timol.

ABSTRACT

ZAPAROLLI, Francielli Bonfim. **Application and characterization of bacterial cellulose impregnated with thymol**. 2015. 37f. Work Completion of course in Food Technology - Federal Technological University of Paraná. Ponta Grossa, 2015

This study aimed to characterize bacterial cellulose films impregnated with thymol as physical-chemical characteristics, as well as mechanical and barrier properties. Bacterial cellulose films were produced by static fermentation process, purified and immersed in solution containing thymol at 0%, 4%, 6% and 8%. The films impregnated with thymol were characterized in terms of thickness, grammage, density, swelling index at pH 1,8 and pH 8,2, rate of water vapor permeability, water vapor permeability, moisture adsorption isotherm and scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), tensile strength and analysis of the film components by X-ray diffraction (XRD). The addition of thymol in bacterial cellulose films did not affect the thickness, but it increased the grammage, density and swelling index in solutions at pH 8,2, higher possibility of quality loss caused by the moisture with the increase of energy interaction of the molecules adsorbed in the multilayer and of the water adsorption sites in a single layer, rise in the rate of water vapor permeability, increase in crystallinity, elasticity and rupture stress, and reduction in the yield stress. The scanning electron microscopy showed films with a dense, reticulated and porous matrix, suggesting multiple layers and no visible residues of thymol. The infrared spectrums showed that thymol did not affect the chemical structure of the bacterial cellulose films. In general, the addition of thymol as antimicrobial substance, did not significantly affect the structure of the bacterial cellulose, wherein the thymol at 6% concentration presented best results by the reduction of water absorption, increase in the traction and crystallinity of the films.

Keywords: Biopolymer. Bacterial cellulose. Characterization. Thymol.

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1-	ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO DE FILMES DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADOS COM TIMOL EM PH 1, 8 (A) E 8,2 (B).....	18
FIGURA 2-	TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADOS COM TIMOL.....	19
FIGURA 3-	ISOTERMA DE ADSORÇÃO DE ÁGUA EM FILMES DE CELULOSE BACTERIANA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TIMOL, SUBMETIDOS A TEMPERATURAS DE 20°C.....	20
FIGURA 4-	MICROGRAFIAS DOS FILMES OBTIDAS POR MEIO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	22
FIGURA 5-	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER EM FILMES DE CELULOSE BACTERIANA PURA E IMPREGNADA COM TIMOL.....	23
FIGURA 6-	ANÁLISE DE TRAÇÃO EM FILMES DE CELULOSE BACTERIANA PURA E IMPREGNADA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TIMOL	26
FIGURA 7-	DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DA CELULOSE BACTERIANA PURA E DA CELULOSE IMPREGNADA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TIMOL.....	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	ATIVIDADE DE ÁGUA (AW) A TEMPERATURA DE 20°C E EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO SULFÚRICO.....	14
TABELA 2-	VALORES DAS PROPRIEDADES ESPESSURA, DENSIDADE E GRAMATURA, EM FILMES DE CELULOSE BACTERIANA.....	17
TABELA 3-	PARÂMETRO DE AJUSTE DO MODELO GAB PARA AS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO A ÁGUA EM FILMES DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADOS COM TIMOL, NA TEMPERATURA DE 20 °C E SEUS COEFICIENTES DE DETERMINAÇÃO (R^2)	20
TABELA 4-	BANDAS DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DE CELULOSE BACTERIANA PURA E DA CELULOSE COM IMPREGNAÇÃO COM TIMOL.....	24
TABELA 5-	ÍNDICE DE CRISTALINIDADE DA CELULOSE BACTERIANA PURA E DA CELULOSE IMPREGNADA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TIMOL.....	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	10
2.1	PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA.....	10
2.2	PROCESSAMENTO DE CELULOSE BACTERIANA.....	10
2.3	APLICAÇÃO DE SUBSTÂNCIA ANTIMICROBIANA.....	11
2.4	CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	11
2.5	ESPESSURA, GRAMATURA E DENSIDADE.....	11
2.6	ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO.....	12
2.7	TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA.....	12
2.8	ISOTERMA DE ADSORÇÃO DE UMIDADE.....	13
2.9	ANÁLISE ESTRUTURAL DOS FILMES POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	15
2.10	ANÁLISE DA INTERAÇÃO DOS COMPONENTES DOS FILMES POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	15
2.11	ANÁLISE DE TRAÇÃO.....	15
2.12	DIFRAÇÃO DE RAIO-X.....	16
2.13	ANÁLISE DOS DADOS.....	16
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
3.1	ESPESSURA, GRAMATURA E DENSIDADE.....	16
3.2	ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO.....	17
3.3	TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA.....	18
3.4	ISOTERMA DE ADSORÇÃO DE ÁGUA.....	19
3.5	ANÁLISE ESTRUTURAL DOS FILMES POR MICROSCOPIA ELETÔNICA DE VARREDURA.....	21
3.6	INTERAÇÃO DOS COMPONENTES DOS FILMES POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	22
3.7	ANÁLISE DE TRAÇÃO.....	24
3.8	DIFRAÇÃO DE RAIO-X.....	26
4	CONCLUSÃO.....	27
	REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

A celulose, produzida pela linhagem de *Acetobacter xylinum*, atualmente conhecida por *Gluconacetobacter hansenii*, tem como características alta pureza química, cristalinidade, alta força de tensão, elasticidade, durabilidade, capacidade de retenção e absorção de água, biodegradabilidade, atóxica e não é alérgica (RECOUVREUX et al., 2005). As perspectivas biotecnológicas estão no aproveitamento da propriedade de ser permeável para líquidos e gases, e na área de alimentos poderia resultar em aplicações como aditivo de alimentares, emulsificante, fibra dietética, conservante comestível e digestivo, suporte para substância antimicrobiana para barrar a entrada de micro-organismos (PACHECO et al., 2004).

A associação da celulose bacteriana com outros polímeros pode ser um método efetivo para melhorar suas características e estrutura, proporcionando novas aplicações industriais. Devido às suas propriedades químicas e estruturais, a celulose bacteriana pode ser considerada uma matriz hidrofílica e ideal para a incorporação de substâncias. O uso da celulose bacteriana na formação de compósitos pelo método de impregnação mostrou bom desempenho nas propriedades mecânicas dos filmes formados (MARTINS et al., 2009; SAIBUATONG et al., 2010; WAN et al., 2009; YANO et al., 2005).

A utilização de filmes como embalagens em alimentos deve possuir adequada barreira a umidade e a gases, propriedades mecânicas que garantam a proteção e a integridade do produto durante o manuseio, transporte e consumo (MACHADO, 2011).

Os polímeros comumente utilizados na fabricação de embalagens não são antimicrobianos, podendo ser alterados para possuir tal propriedade. Modificações na superfície dos biomateriais podem mudar as interações específicas e não específicas com os micro-organismos, reduzindo a adesão microbiana (DURAN, 2000). Quando as superfícies de polímeros são revestidas ou impregnadas de compostos antimicrobianos, há indicação de alterações físico-químicas das características da interface, podendo resultar em diminuição, inibição ou impedimento da capacidade de adesão de micro-organismos (MIRELES et al., 2001).

A incorporação de antimicrobianos visa inibir, reduzir ou retardar o crescimento da microbiota presente, principalmente na superfície do alimento embalado, onde a maior parte das reações de deterioração ocorre (SOARES, 2009). Os antimicrobianos migram lenta e gradualmente da embalagem para a superfície do alimento, onde se mantém na concentração necessária para inibir o desenvolvimento de micro-organismos (SILVEIRA et al., 2007).

Entre os compostos antimicrobianos o timol, presente no tomilho, cravo, canela e orégano, possui estas características (DORMAN et al., 2000) onde afeta a permeabilidade e a integridade da membrana celular bacteriana (LAMBERT, 2002). Estudos mostram esta capacidade antimicrobiana, onde foi observado a capacidade bactericida do timol frente a *E.coli* isolados de aves e bovinos (SANTÚRIO,2011). Araujo (2005) avaliou a atividade antifúngica de extrato alcoólico de canela, cravo, tomilho, alho, gengibre e orégano em embalagens de pães artesanais, obtendo o prolongamento da vida de prateleira em até 17 dias com 10% do extrato alcóolico de tomilho e gengibre para pão salgado e o cravo e a canela para pão doce, quando aliado às boas práticas de fabricação.

O uso de embalagens com agentes antimicrobianos tem como vantagem sobre a incorporação do agente antimicrobiano diretamente no alimento, por apresentarem menores teores de conservante em contato direto com o produto, atendendo uma exigência atual do consumidor (OLIVEIRA et al., 2004). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar filmes de celulose bacteriana impregnadas com timol quanto as características físico químicas, propriedades de barreira e mecânicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

A produção de celulose bacteriana foi realizada em processo fermentativo, estático, em 200 mL de meio de cultura caldo Alaban (100 g L⁻¹ de sacarose; 5 g L⁻¹ de fosfato ácido de potássio; 2,5 g L⁻¹ de extrato de levedura; 0,2 g L⁻¹ de sulfato de magnésio heptahidratado; 0,6 g L⁻¹ de sulfato de amônio) (ALABAN,1962). O meio de cultivo foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos, com posterior inoculado de 5% (v/v) do micro-organismo *Acetobacter xylinum* (ATCC 23769), em ambiente asséptico e, incubado em estufa bacteriológica a 30°C ± 2°C, por 192 horas.

2.2 PROCESSAMENTO DA CELULOSE BACTERIANA

A celulose bacteriana, produzida na superfície do meio de cultivo, foi retirada com auxílio de pinças (estéreis) e aquecida até a fervura por 10 minutos, para destruição do micro-organismo. Os filmes foram submetidos a sucessivas lavagens com água deionizada, com posterior tratamento com hipoclorito de sódio 30% por 15 min, para o branqueamento, e novamente lavagens com água deionizada. Após purificação, foi desidratada em estufa com circulação de ar (QUIMIS – modelo Q317B) a 50°C ± 2°C por 2 horas.

2.3 APLICAÇÃO DE SUBSTÂNCIA ANTIMICROBIANA

As películas de celulose bacteriana purificadas foram imersas em soluções com timol (Sigma) a 4%, 6% e 8% por um período de 24 horas. Decorrido o tempo, foram secas em câmara de fluxo laminar (Veco-modelo BIOSEG 12) com luz ultra violeta à 20°C por ± 2°C por 2 horas e depois mantidas em ambiente com UR de 50% até a realização das análises. Os filmes de celulose bacteriana sem timol foram considerados como o tratamento controle.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os filmes de celulose bacteriana impregnadas com 0%, 4%, 6% e 8% foram caracterizados em triplicata, quanto a espessura, gramatura, densidade, índice de intumescimento em pH 1,8 e pH 8,2, taxa de permeabilidade ao vapor de água, permeabilidade ao vapor de água, isoterma de adsorção de umidade e microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), resistência à tração e análise dos componentes dos filmes por difração de raio-X (DRX).

2.5 ESPESSURA, GRAMATURA E DENSIDADE

A espessura, gramatura e densidade foram realizadas segundo Sarantópoulos et al., (2002). Os corpos de prova foram previamente desidratados em estufa a $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 2 h, e colocados em dessecador com sílica-gel para serem resfriados em temperatura ambiente. A espessura foi obtida com micrômetro (Mitutoyo $\pm 0,001$) em cinco pontos de cada corpo de prova de 4 cm^2 . A gramatura foi determinada pela pesagem de uma área de 2 cm^2 do filme, em balança analítica utilizando a equação (1). Os resultados foram expressos em g m^{-2} .

$$G = 10000p/a \quad (1)$$

Onde, G= gramatura (g.m^{-2}); p = peso do filme (g); a = área do filme (cm^2)

A densidade foi determinada por medição da espessura em cinco pontos, do corpo de prova de 2 cm^2 e, calculados pela equação (2). Os resultados foram expressos em g cm^{-3} .

$$d = m/v \quad (2)$$

Onde, d= densidade (g cm^{-3}); m = massa (g); v = volume (cm^3)

2.6 INDICE DE INTUMESCIMENTO

O índice intumescimento, ou seja, a hidratação dos filmes de celulose em pH ácido (pH 1,8) e alcalino (pH 8,0) foi realizado com corpos de prova de 2 cm^2 , segundo Cavalcanti et al. (2002). O peso seco inicial foi obtido após secagem a $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 2 horas. Os corpos de prova foram imersos em solução com ácido clorídrico pH 1,8 e, solução com bicarbonato

de sódio pH 8,0 por período de tempos de 1, 10, 30 e 60 minutos. Transcorridos os intervalos pré-determinados, os filmes de celulose foram removidos utilizando pinça, e o excesso de água foi absorvido em papel filtro, durante 1 minuto. Os filmes hidratados foram repesados. O índice de intumescimento foi calculado conforme equação (3), e os resultados expressos em porcentagem (%).

$$Ii\% = (Pf - Pi) / Pi \cdot 100 \quad (3)$$

Onde, Pf = peso final do filme após período de hidratação; Pi = peso inicial do filme seco.

2.7 TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) foi determinada por gravimetria pelo método padrão da norma da *American Society for testing and materials* - ASTM E96-00 (SARANTÓUPOLOS et al., 2002). Os corpos de prova apresentaram área de 0,04417 m² e foram aplicados em cápsulas de alumínio contendo 5g de CaCl₂ (anidro), dessecado previamente em estufa a 150 °C por 24h, e vedados com silicone. As cápsulas foram acondicionadas em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio. Todo o conjunto foi acondicionado em estufa de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (Thelga – Modelo T34P) a 20 °C ± 0,5 °C, proporcionando umidade relativa de 75%.

A permeabilidade dos filmes de celulose foi calculada por meio de regressão linear entre o ganho de peso(g) e o tempo (h) durante o experimento. O coeficiente angular da reta determina a quantidade de água ganho pelo tempo (tgα). A TPVA foi calculada segundo a equação (4) e expressa em g H₂O.m⁻². dia⁻¹.

$$TPVA = Tg \alpha / A \quad (4)$$

Onde, TPVA = g H₂O m⁻² dia⁻¹; Tgα = coeficiente angular da reta; A = área em m²

O resultado da TPVA permite calcular a permeabilidade ao vapor de água (PVA) por meio da equação (5) e, foi expressa em gH₂O mm m⁻² dia⁻¹ mmHg⁻¹.

$$PVA = 100 \cdot TPVA \cdot e / p \cdot URe \quad (5)$$

Onde, $PVA = gH_2O \text{ mm.m}^{-2} \text{ dia}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$; e = espessura do filme (mm); p = pressão de vapor de água pura na temperatura de 20°C, expressa em mmHg; URe = umidade relativa a 20 °C.

2.8 ISOTERMA DE ADSORÇÃO DE UMIDADE

Isotermas de adsorção foram determinadas em temperaturas de 20 °C, pelo método estático (MORTOLA et al., 2003). A obtenção de valores de umidade relativa (UR) entre 5% e 100%, foi realizada com diferentes concentrações de solução de ácido sulfúrico PA (DITCHFIELD, 2000) (Tabela 1).

Tabela 1 - Atividade de água (aw) a temperatura de 20°C e em diferentes concentrações de ácido sulfúrico

Concentração de H ₂ SO ₄ (%)	Atividade de água
	20°C
0	1,000
5	0,980
10	0,955
20	0,879
30	0,749
40	0,562
50	0,355
55	0,258
60	0,167
80	0,053

Fonte: Ditchfield (2000).

Os filmes de celulose bacteriana foram mantidos em estufa a 50°C por 2h e, após resfriados em dessecadores, foram pesados 0,2 g para obtenção da massa inicial. Os filmes de celulose foram conservados dentro de cápsulas de alumínio em frascos de vidro, hermeticamente fechados, contendo solução de ácido sulfúrico em 10 concentrações

diferentes e, acondicionados em estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (Thelga - Modelo T34P) a 20 °C. As pesagens foram realizadas em balança analítica (Shimadzu AX 200) $\pm 0,0001$ g a cada 24h, até atingir a umidade de equilíbrio com três massas constantes. Na sequência, foram secas em estufa a 105°C, por 24 horas. Resfriados em dessecadores, foram pesados, obtendo o valor da umidade de equilíbrio por meio da equação (6) e, expresso em g de água por 100g⁻¹ de matéria seca.

$$X_{eq} = (m_{eq} - m_s)/m_s \quad (6)$$

Onde, X_{eq} = umidade de equilíbrio (base seca) (g de água por 100g⁻¹ de matéria seca); m_{eq} = massa da amostra no equilíbrio (g); m_s = massa da amostra seca (g)

Os resultados foram ajustados matematicamente pelo modelo Guggenheim – Anderson – de Boer (GAB), segundo equação (7). A determinação dos parâmetros do modelo foi realizada por regressão não-linear, com critério de convergência de 0,0001, usando o método Quasi-Newton, por meio do programa Statistica 5.1.

$$X_{eq} = (KCX_m a_w)/(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w) \quad (7)$$

Onde, X_{eq} = umidade de equilíbrio (g de água por 100 g⁻¹ de matéria seca); K = constante de GAB relacionada à energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada; C = constante relacionada à energia de interação das moléculas adsorvidas na monocamada; X_m = umidade na monocamada (g de água por 100 g⁻¹ de matéria seca); A_w = atividade de água (UR/100).

2.9 ANÁLISE ESTRUTURAL DOS FILMES POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para análise microscópica, os filmes de celulose foram mantidos em dessecador com cloreto de cálcio anidro (CaCl₂) (Vetec) por 48 horas. Os corpos de prova foram metalizados

com ouro usando IC-50 ION COATER, SHIMADZU, por 10 minutos. As imagens foram obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), SHIMADZU - modelo SSX 550 SUPER SCAN.

2.10 ANÁLISE DA INTERAÇÃO DOS COMPONENTES DOS FILMES POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

Os filmes foram analisados em espectrofotômetro de infravermelho (IRPrestige - 21 SHIMADZU), na região espectral entre 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . Para detectar mudanças na estrutura e a interação entre os polímeros do filme foi feito com 64 scans. Os filmes foram preparados na forma de pastilhas, com 0,0391mg de KBr (Merck) e 0,0009 mg da amostra, para cada tratamento.

2.11 ANÁLISE DE TRAÇÃO

A análise de tração foi determinada segundo a norma ASTM D882-97 (1997). Os filmes foram cortados em corpos de prova com dimensões de 25,0 mm x 100 mm, espessura de 0,02 mm e colocadas a garras do equipamento (SHIMADZU- Modelo é AG-I), com distância inicial de 100 mm. A velocidade de tração foi de 50 mm min^{-1} , onde dez amostras de cada tratamento foram avaliadas.

2.12 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

As análises de difração de raios-X (DRX) foram realizadas num difratômetro (Shimadzu modelo XDR-6000), com fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$, voltagem de 40 kV, corrente de 40 mA, varredura entre os ângulos 2θ de 3 a 32°, tempo de contagem de 0,5 graus por min e passo 0,02. O índice de cristalinidade foi calculado segundo Segal pela equação (8).

$$CrI = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \times 100$$

(8)

Onde, CrI = expressa o índice de cristalinidade relativo; I002 = intensidade máxima (em unidades arbitrárias) da rede de difração em 002; Iam = intensidade de difração nas mesmas unidades em $2\theta = 18^\circ$

2.13 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança (α 0,05), utilizando o programa Statistica 5.0 e SASM-Agri 8.2, respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 ESPESSURA, GRAMATURA E DENSIDADE

A determinação da espessura possibilita a avaliação da homogeneidade de um filme, onde as variações na espessura resultam em problemas no desempenho mecânico e flutuações nas propriedades de barreira (OLIVEIRA, 1996). Todos os filmes apresentaram espessura de 0,02 mm, portanto não apresentando variações entre si, confirmado pelo teste de Tukey (Tabela 2), sendo considerando filmes homogêneos, onde não houve influência das concentrações de timol e que durante o processo fermentativo, da produção de celulose bacteriana, ocorreu regularidade na formação da espessura das películas. Assim como observado neste trabalho, Henrique et al., (2008) não obtiveram diferença de espessura em estudo realizado com filmes de amido modificado, o mesmo foi observado por Machado (2011) em filmes com adição de extrato de erva-mate.

A densidade está relacionada à composição química, a massa molar e a forma como estão compactadas as moléculas (SARANTÓUPOLOS et al., 2002). Os valores de densidade mostraram variação entre 0,29 à 0,42 g cm⁻³, no entanto, não apresentando diferenças estatística significativa, conforme o teste de Tukey (Tabela 2), indicando que o timol não influenciou nos valores de densidade. Valores maiores foram encontrados por Dias (2008), em filmes de amido e arroz, obtendo valores de densidade entre 1,13 a 1,40, não encontrando diferenças estatísticas entre si.

A gramatura está relacionada a resistência mecânica e de barreira em filmes, onde maiores gramaturas oferecem maiores resistências mecânicas (SARANTÓUPOLOS et al., 2002). Os valores de gramatura variaram de 6 g m⁻² para 9 g m⁻² (Tabela 2), sem diferenças estatísticas entre si. No entanto, com o aumento na concentração do timol foi observada uma elevação gradativa nos valores de gramatura.

Tabela 2 – Valores das propriedades espessura, densidade e gramatura, em filmes de celulose bacteriana

Tratamentos	Propriedades		
	Espessura (mm)	Densidade (g cm ⁻³)	Gramatura (g m ⁻²)
CB + 0% timol	0,02 ^a ±0,00	0,29 ^a ±0,07	6 ^a ±2, 24
CB + 4% timol	0,02 ^a ±0,00	0,33 ^a ±0,07	5 ^a ±1,12
CB + 6% timol	0,02 ^a ±0,00	0,33 ^a ±0,14	7 ^a ±2,09
CB + 8% timol	0,02 ^a ±0,00	0,42 ^a ±0,14	9 ^a ±2,74

Fonte: Autoria própria

NOTA - Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. São apresentados os valores médios das triplicatas e respectivo desvio padrão

3.2 ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO

O índice de intumescimento está relacionado ao grau de hidratação dos filmes (BUNHAK et al., 2007). Foram observados maiores índices de intumescimento, em solução com pH 1,8 no filme de CB+ 0% de timol nos tempos de 1, 10 e 60 minutos. Entre os filmes com timol o maior índice foi observado no filme de CB+4% de timol em 30 minutos (Figura 1a). Em solução com pH 8,2 os filmes de CB+0% de timol, nos tempos de 1, 10 e 30 minutos, mostraram maiores índices de intumescimento (Figura 1b). No tempo de 60 minutos a CB+8% de timol mostrou maior intumescimento, indicando que o acréscimo de timol aumentou a absorção de água em pH alcalino. Efeito contrário foi observado em trabalho realizado por Rosina et al., (2004) onde houve equilíbrio no índice de intumescimento de filmes contendo raiz de Lótus.

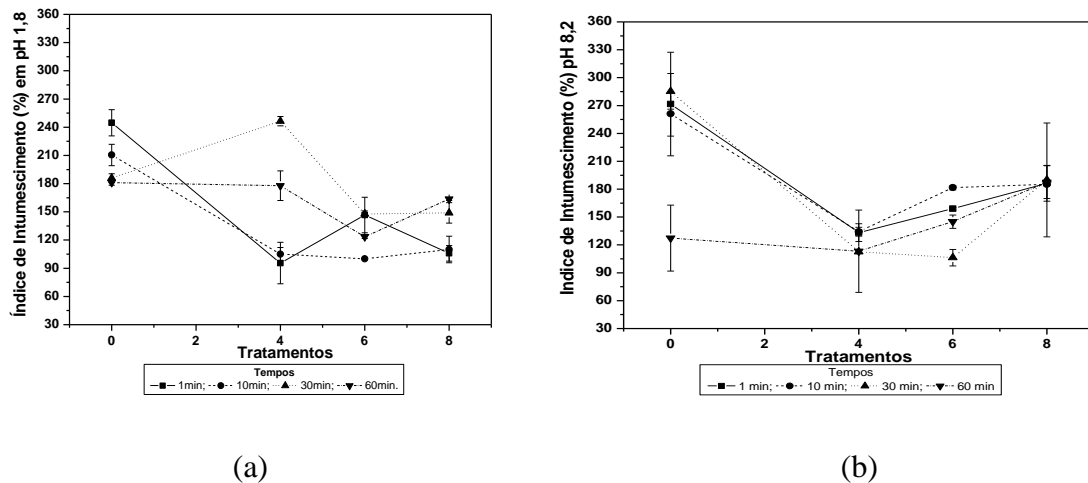


Figura 1 – Índice de Intumescimento de filmes de celulose bacteriana impregnados com timol em pH 1, 8 (a) e 8,2 (b)

Fonte: Autoria própria

Nota – CB – celulose bacteriana; Tratamentos: 0 = CB +0% timol, 4 = CB + 4% timol, 6 = CB + 6% timol, 8 = CB + 8% timol

3.3 TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A determinação da quantidade máxima de umidade que pode permear por meio de uma embalagem, se torna fundamental em casos em que o produto a ser armazenado tem alta sensibilidade ao ganho de umidade (SARANTÓUPOLOS et al., 2002). Os valores obtidos para taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) variaram de 16,76 a 6,04 $\text{gH}_2\text{O m}^{-2}\text{dia}$, nos filmes de CB+0% de timol e CB+8%, respectivamente (Figura 2). O aumento na concentração do timol promoveu maiores concentrações da taxa de permeabilidade dos filmes de celulose bacteriana. A maior permeabilidade ao vapor de água (PVA) ocorreu no filme de CB+6% de timol, 0,33g $\text{H}_2\text{O mm. m}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Com o acréscimo da concentração do timol de 6% para 8% houve uma redução de 725% nos valores de permeabilidade. Valores menores foram observados em trabalho desenvolvido por Fakhouri et al., (2007) para taxa de permeabilidade, de 4,22 a 5,40g $\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ em filmes de gelatina com amidos. Souza et al. (2011) obtiveram valores próximos entre 6,62g $\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ a 10,55 g $\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ em filmes de amido de mandioca com polpa de manga e de acerola.

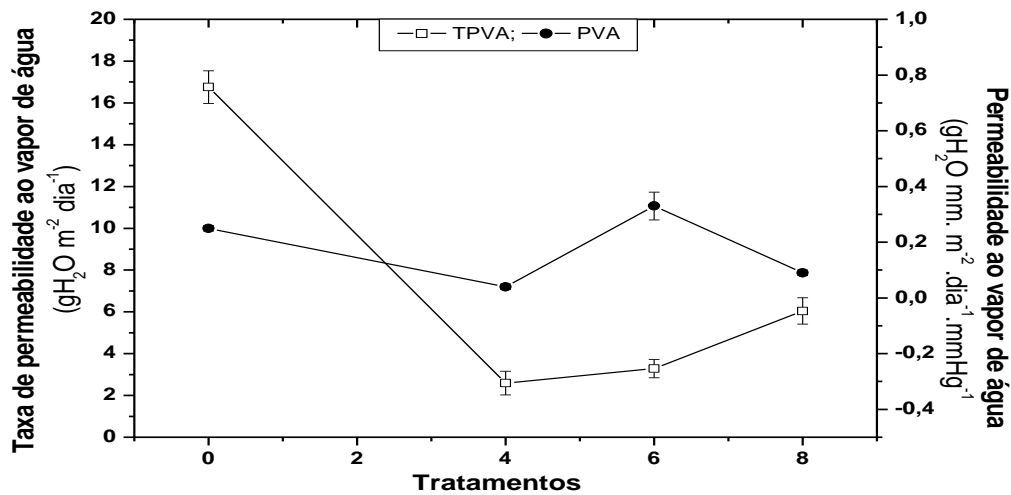


Figura 2 –Taxa de permeabilidade ao vapor de água e permeabilidade ao vapor de água de filmes de celulose bacteriana impregnados com timol

Fonte: Autoria própria

Nota – CB – celulose bacteriana; Tratamentos: 0 = CB +0% timol, 4 = CB + 4% timol, 6 = CB + 6% timol, 8 = CB + 8% timol

3.4 ISOTERMA DE ADSORÇÃO DE ÁGUA

As isotermas de adsorção mostram a capacidade de ligação de água nos filmes em determinada umidade relativa, sendo importantes para analisar os efeitos das substâncias incorporadas em sua formulação (VILLALOBOS et al., 2006).

O modelo de Guggenheim – Anderson - de Boer (GAB) utilizado para representar às isotermas de sorção a água forneceu altos coeficientes de correlação, com R^2 variando de 0,97 a 0,99, entre os tratamentos, indicando significativa representação dos dados (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetro de ajuste do modelo GAB para as isotermas de adsorção a água em filmes de celulose bacteriana impregnados com timol, na temperatura de 20 °C e seus coeficientes de determinação (R²)

Tratamentos	Parâmetros			R ²
	X _m	K	C	
CB+0%timol	0,0751±0,011	0,908109±0,103	0,5821±0,01	0,98
CB+4%timol	0,1309±0,011	0,942106±0,025	0,2391±0,012	0,98
CB+6%timol	0,0354±0,0121	0,971577±0,005	0,3992±0,002	0,97
CB+8%timol	0,8859±0,0102	0,974466±0,005	0,0966±0,005	0,99

Fonte: Autoria própria

NOTA – CB = celulose bacteriana; X_m = umidade na monocamada (g de água/100 g⁻¹ de matéria seca); K = constante relacionada à energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada. São apresentados as médias das duplicatas e respectivo desvio padrão.

Todas as isotermas apresentaram o mesmo perfil, isotermas do tipo III (Figura 3), onde as curvas apresentaram uma zona mais plana na sua primeira parte, ou seja, em formato de J, sendo típicas de substâncias com grande quantidade de açúcar e solutos e, que têm pouca adsorção por capilaridade (ORDÓÑEZ, 2005).

Foi observado que em temperatura constante de 20°C, as umidades de equilíbrio aumentaram com o acréscimo da atividade de água em todos os tratamentos, com exceção do tratamento de CB + 6% timol.

A equação de GAB indica que o valor de umidade correspondente à monocamada em gramas de água 100g⁻¹ massa seca que poderá ser usado como referência para o teor de umidade crítica, para manter a estabilidade do produto durante o armazenamento nas temperaturas analisadas (LABUZA et al., 1985).

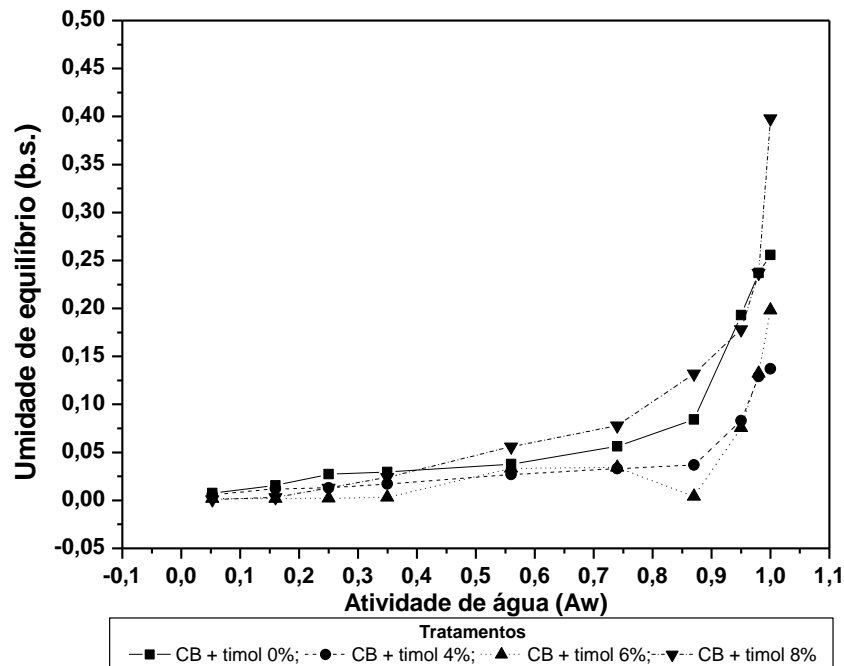


Figura 3– Isoterma de adsorção de água em filmes de celulose bacteriana com diferentes concentrações de timol, submetidos a temperatura de 20 °C

Fonte: Autoria própria

O ponto crítico de uma isoterma determina o limite da atividade de água e da umidade de equilíbrio, que acima do qual o produto acelera as suas transformações (MOURA et al., 2004). Na temperatura de 20°C, o ponto crítico das isotermas foi observado nas atividades de água de 0,75 no tratamento CB + 8% de Timol, e de 0,88 nos demais tratamentos (Figura 3), sugerindo que a maior concentração de timol nos filmes de celulose bacteriana pode levar a perda de qualidade causada pela umidade.

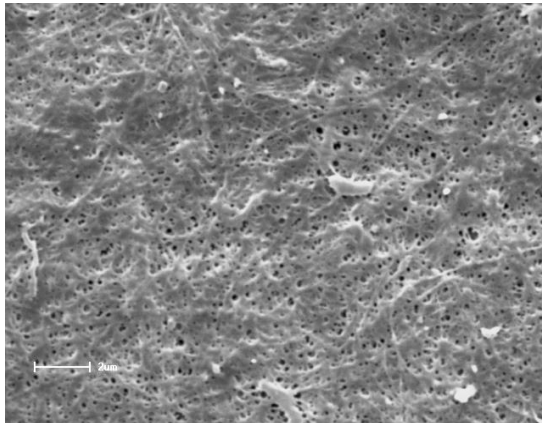
O valor da monocamada (X_m) indica a quantidade máxima de água por grama de filme seco, que pode ser adsorvida em uma única camada, sendo uma medida do número de sítios de adsorção (Jensen et al., 2009). Os valores mínimos e máximos da monocamada, em temperatura de 20 °C, foram de 0,0354 e 0,8859 g de água g^{-1} de sólidos, nos tratamentos CB + 6% de Timol e CB + 8% de Timol, respectivamente (Tabela 3). Este aspecto indica que o timol aumentou a possibilidade a absorção de água, como confirmado pelos resultados do índice de intumescimento em solução com pH 8,2.

O parâmetro K está relacionado à energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada em filmes (COUPLAND et al., 2000). Os filmes tiveram valores de K menores que 1, entre 0,90 a 0,97, sendo observado um aumento desse parâmetro com elevação da

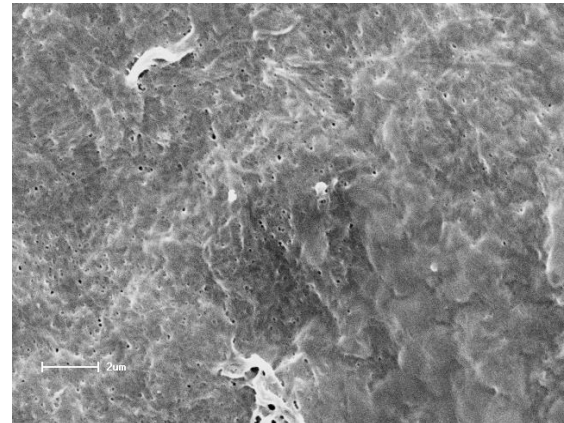
concentração de timol. Valores de K menores que 1,0 são características de produtos alimentícios, indicando que a isoterma tende a uma assíntota em atividade igual a 1,0 (FERNANDEZ, 1995), caso confirmado pela estrutura da celulose bacteriana, formada por moléculas de glicose.

3.5 ANÁLISE ESTRUTURAL DOS FILMES POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a obtenção de informações estruturais dos filmes, como a homogeneidade, presença de ruptura e de falhas que podem afetar as propriedades mecânicas do material. Os filmes mostraram uma estrutura típica da celulose bacteriana, com matriz densa, reticulada, porosa e sugerindo várias camadas Wan et al., (2009), não tendo apresentado resíduos visíveis de timol (Figura 4). O mesmo resultado foi obtido por Recouvreux (2008), ao analisar celulose bacteriana pura produzida por *G. hansenii*.



(a)



(b)

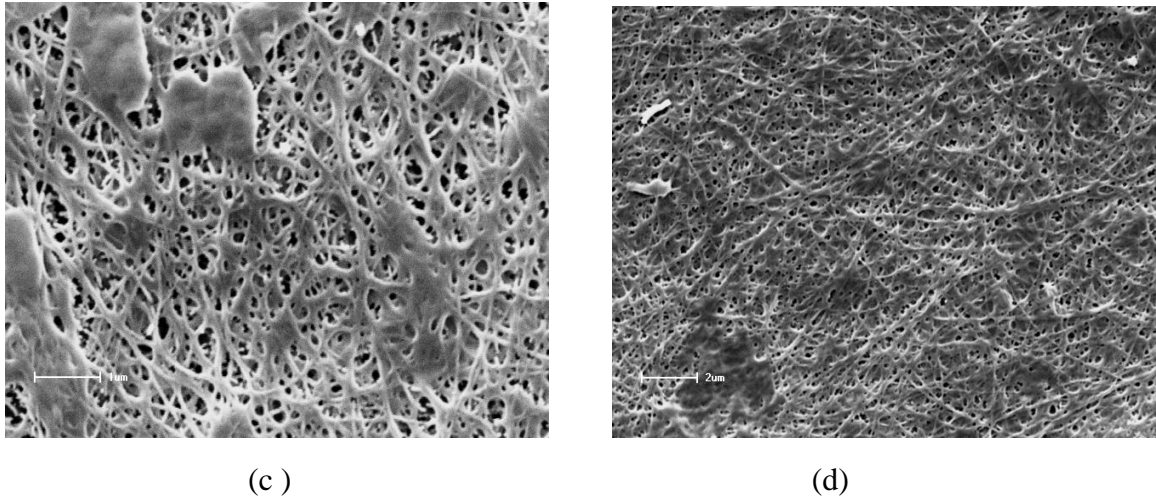


Figura 4 – Micrografias dos filmes obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Fonte: Autoria própria

Nota – CB – celulose bacteriana; (a) CB + 0% timol, (b) CB + 4% timol, (c) CB + 6% timol, (d) CB + 8% timol

3.6 INTERAÇÃO DOS COMPONENTES DOS FILMES POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros de celulose bacteriana pura e da celulose impregnada com 4, 6 e 8% de timol são semelhantes, mostrando que os filmes possuem semelhança na estrutura química (Figura 5).

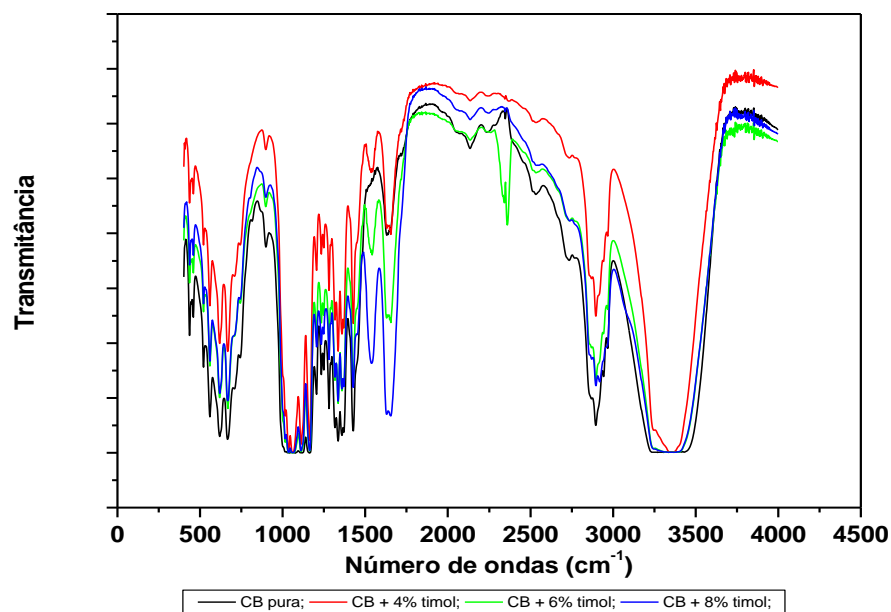


Figura 5 - Espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier em filmes de celulose bacteriana pura e impregnada com timol

Fonte: Autoria própria

As bandas são típicas de espectros de infravermelho de celulose de origem bacteriana, onde todos os espectros mostram bandas características de celulose I α , bandas de absorção próximas de 3240 e 750 cm⁻¹ (YAMAMOTO et al., 1996). Entre os filmes de celulose bacteriana pura e os com impregnação com timol as posições das bandas no espectro de FTIR foram próximas, com o mesmo intervalo de comprimento de onda, mostrando deslocamento com pouca diferença significativa.

De modo geral, os espectros são característicos de celulose I, com estiramentos dos grupos O-H, C-H e deformação de grupos metileno (CH₂) localizados em torno de 3350, 2894 e 1336 cm⁻¹ respectivamente. As absorções em torno de 1200 e 1000 cm⁻¹ são atribuídas à estrutura dos polissacarídeos. De acordo com os espectros apresentado na Figura 5, foi construída a tabela 4, apresentando as principais energias de absorção da celulose pura e da celulose impregnada com 4, 6 e 8% de timol associada às ligações químicas.

Tabela 4 - Bandas dos espectros de infravermelho de celulose bacteriana pura e da celulose com impregnação com timol

Tipos de ligações	Número de ondas (cm ⁻¹)			
	CB pura	CB + 4% timol	CB + 6% timol	CB + 8% timol
ν (O-H) Celulose I α	3350,4	3343,7	3344,7	3348,5
Celulose I α	3244,7	3247,6	3239,9	3239,9
ν a (CH ₂)	2894,9	2894,9	2894,9	2896,8
C(O-H de absorção de água)	1629,7	1654,8	1654,8	1654,8
δ (HCH, OCH) no plano	1429,1	1429,1	1429,1	1427,2
CH, deformação angular	1336,5	1336,5	1359,5	1359,7
ν (CH ₂) no plano	1218,9	1218,9	1218,9	1263,2
ν a (C-O-C) deformação CH	1163,9	1163,9	1156,2	1179,3
ν (C-C) polissacarídeo celulose	1109,0	1110,1	1110,1	1110,1
δ (C-O) de C-OH de carboidrato	1055,3	1058,8	1054,8	1058,8
CH vibração fora do plano	846,6	871,7	873,6	846,6
δ (C-OH) fora do plano	667,3	667,3	669,2	667,3

Nota - ν : estiramento; δ : deformação; CB: celulose bacteriana

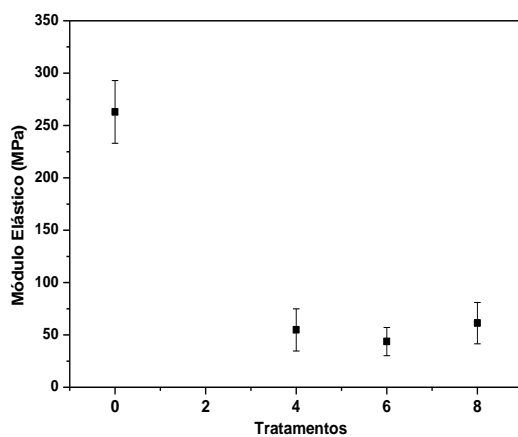
Fonte: Autoria própria

3.7 ANÁLISE DE TRAÇÃO

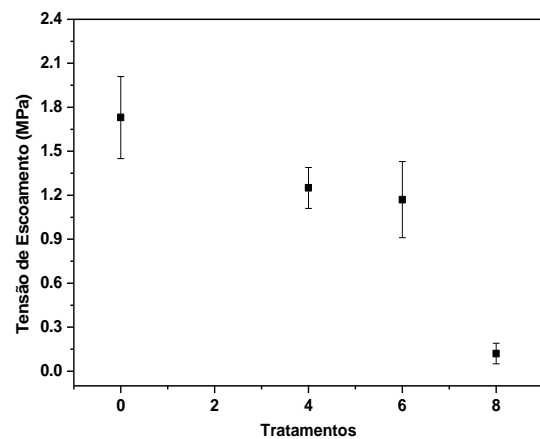
Comparando a CB pura como os filmes de CB impregnados com timol foram observados que a CB pura apresentou maior elasticidade, tensão de escoamento, tensão máxima e tensão de ruptura (Figura 6). O filme de CB com 4% de timol mostrou menor tensão de ruptura e deformação na ruptura. O filme de CB com 6% de timol obteve menor elasticidade e maior deformação máxima e deformação de ruptura. No filme de CB com 8% de timol foi verificado menor valores na tensão de escoamento, tensão máxima, deformação na ruptura e gasto de energia.

Entre os filmes de CB impregnados com timol, o aumento na concentração do timol promoveu elevação da elasticidade (Figura 6a) e tensão de ruptura (Figura 6e), com redução na tensão de escoamento (Figura 6b) que pode estar relacionada com o aumento da cristalinidade observado nos filmes (Tabela 4) e/ou com possível distribuição não homogênea do timol (Figura 5). O filme de CB com 6% de timol apresentou maior tensão máxima, deformação máxima e deformação na ruptura. Este aumento na resistência mostra que a presença de timol, nesta concentração, promoveu uma transferência de tensão mais eficiente entre o timol e as fibras de celulose.

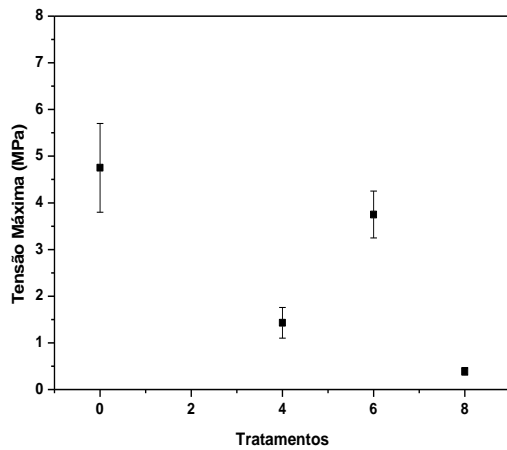
O módulo elástico, a tensão de escoamento, a tensão máxima, deformação máxima, tensão na ruptura, deformação na ruptura dos filmes estão apresentadas na Figura 6 a, b, c, d, e, e f respectivamente.



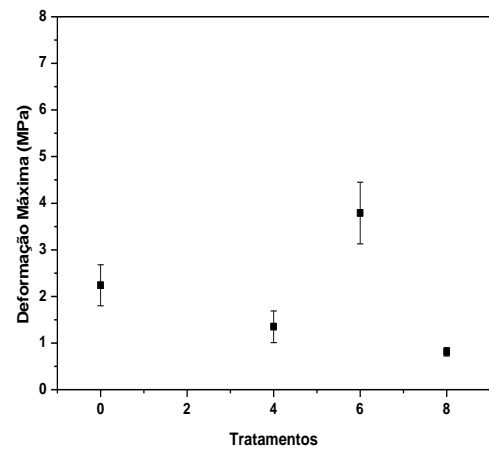
(a)



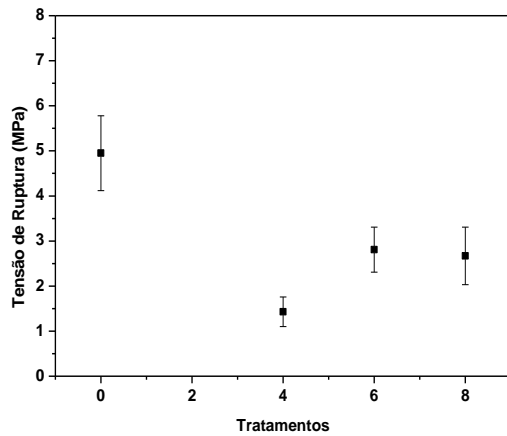
(b)



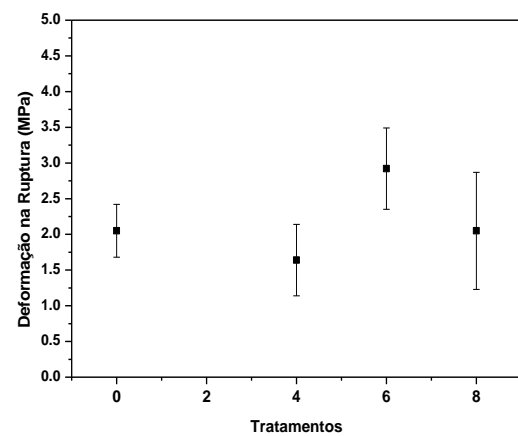
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 6 – Análise de tração em filmes de celulose bacteriana pura e impregnada com diferentes concentrações de timol

Fonte: Autoria própria

Nota – (a) módulo elástico, (b) tensão de escoamento, (c) tensão máxima, (d) deformação máxima, (e) tensão na ruptura, (f) deformação na ruptura

3.8 DIFRAÇÃO DE RAIO-X

A determinação do grau de cristalinidade possibilita a observação de mudanças que possam ocorrer na estrutura do material celulósico, tanto na região cristalina como na região amorfa. Os filmes de celulose bacteriana pura, CB com 6 e 8% de timol apresentam um

difratograma de celulose tipo I, com picos na região amorfa ($18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$) e picos na região cristalina ($22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$) (PEREIRA et al., 2012). No entanto, a celulose bacteriana com 4% de timol apresentou uma característica de celulose tipo II, com picos na região amorfa em $14,66^\circ$ e na região cristalina em $17,08^\circ$, onde as fibras se encontram antiparalelas. Os diagramas de difração de raios-X da CB pura e das celuloses impregnadas com 4, 6 e 8 % de timol apresentaram os três picos característicos da celulose I em $2\theta = 14,6, 17,0$ e $22,9$ graus mostrando que a integridade cristalina da celulose foi mantida (Figura 7). O pico $2\theta = 22,9$ graus do plano (002) da celulose impregnada com timol em 6 e 8% são mais intenso do que da celulose bacteriana pura, o que indica a maior perfeição da rede cristalina no plano (002).

O filme de CB pura mostrou picos largos em relação aos filmes de celulose impregnados com timol, indicando que quanto mais largo o pico de intensidade apresentado, menor é o grau de cristalinidade percentual correspondente (Figura 7) e (Tabela 5).

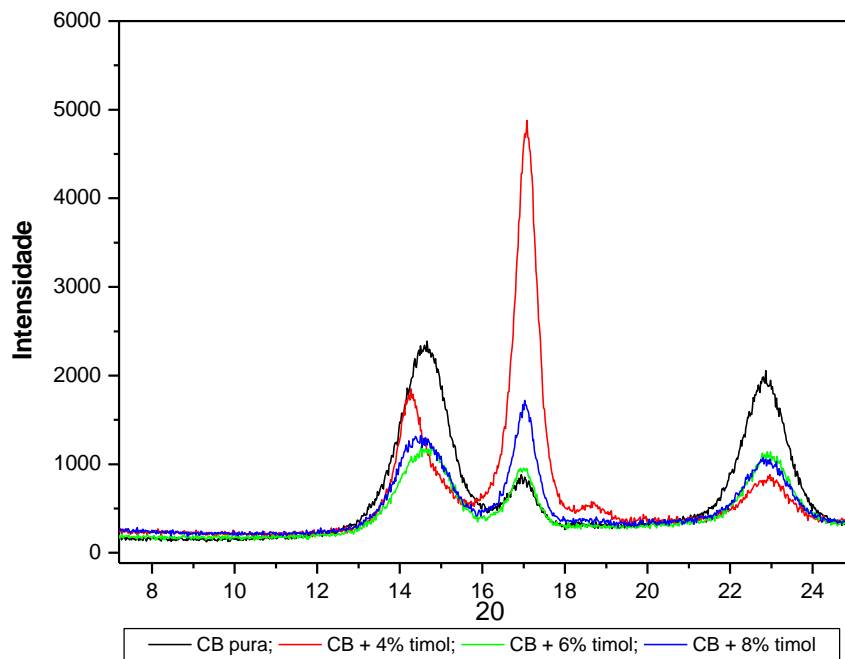


Figura 7 - Difratograma de Raios X da celulose bacteriana pura e da celulose impregnada com diferentes concentrações de timol
Fonte: Autoria própria

Houve aumento nos índices de cristalinidade da CB com a adição do timol, mostrando um acréscimo, em média, de 12,1%, comparado a celulose bacteriana pura (Tabela 5), confirmado pela elevação da densidade (Tabela 1). Esta elevação pode ser explicada pela

redução das regiões amorfas das CB impregnadas com timol, mostrando a sensibilidade da celulose a incorporação desta substância. Entre os filmes de celulose impregnados com timol não houve uma variação significativa, indicando uma possível remoção das regiões amorfas majoritárias, tendo grandes alterações no índice de cristalinidade.

Tabela 5- Índice de cristalinidade da celulose bacteriana pura e da celulose impregnada com diferentes concentrações de timol

Tratamentos	Índice de Cristalinidade (%)
CB pura	58
CB + 4% de timol	62
CB + 6% de timol	70
CB + 8% de timol	62

Fonte: Autoria própria

4 CONCLUSÃO

A adição de timol em filmes de celulose bacteriana não afetou a espessura, mas com o acréscimo aumentou a gramatura, densidade e o índice de intumescimento em solução com pH 8,2, maior possibilidade de perda de qualidade causada pela umidade com aumento da energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada e dos sítios de adsorção a água em uma única camada, elevação na taxa de permeabilidade ao vapor de água, aumento da cristalinidade, elevação da elasticidade, tensão de ruptura e a redução na tensão de escoamento. A microscopia eletrônica de varredura mostrou filmes com uma matriz densa, reticulada, porosa, sugerindo várias camadas e sem resíduos visíveis de timol. Os espectros de infravermelho mostraram que o timol não afetou a estrutura química dos filmes de celulose bacteriana.

De modo geral, a adição de timol, como substância antimicrobiana, não afetou significativamente a estrutura da celulose bacteriana, onde a concentração de 6% de timol apresentou os melhores resultados pela redução da absorção de água, aumento da tração e da cristalinidade dos filmes.

REFERÊNCIAS

ALABAN, C. A. Studies on the optimum conditions for “nata de coco” bacterium or “nata” formation in coconut water. **Philippine Agriculturist.**, v. 45, p.490-516, 1962.

ARAÚJO, R.C.A. **Embalagens ativas com ervas aromáticas e condimentares na conservação de pães artesanais.** 2005. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

BUNHAK, E. J.; MENDES,E.S.; PEREIRA, N.C.; CAVALCANTI, O.A. Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d'água. **Química Nova**, v. 30, p. 312-317, 2007.

CAVALCANTI, O.A.; VAN DER MOOTER, G.; CARAMICO-SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings, permeability and swelling properties of casted films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.28, p. 157-164, 2002.

COUPLAND, J. N.; SHAW, N. B.; MONAHAN, F. J.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 43, p. 25-30, 2000.

DIAS, A.B. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz.** 2008. 90f. Dissertação (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade de água.** 2000. 126f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

DORMAN, H.J.D; DEANS, S.G Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of applied microbiology.** Oxford, v.88, p 308-316, 2000.

DURAN, L.W. Preventing medical device related infections. **Medical Device Technology**, v.11, p.14-17, 2000.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p.369-375, 2007.

FERNANDEZ, C.S. Isotermas de sorção em substâncias alimentares. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 1, 1995, Campinas. *Anais...* Campinas: FEA/UNICAMP-CYTED-SBCTA Ital, 1995.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 28, p. 231-240, 2008.

JENSEN, S.; GROSSMANN, M.V.E.; MALI, S. Microestrutura e estabilidade de filmes de amido de mandioca adicionados de emulsificantes com diferentes equilíbrios hidrofílico/lipofílico. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, p. 97-105, 2009.

L. SEGAL, J.J. CREELYC, A.E. MARTIN, JUNIOR,C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.

LABUZA, T. P.; KAAUANE, A.; CHEN, J. Y. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. **Journal of Food Science**, v.50, p. 385-391, 1985.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NICHAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453-462, 2001.

MACHADO, B.A.S. **Desenvolvimento e caracterização de filmes flexíveis de amido de mandioca com nanocelulose de coco**. 2011. 161 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

MARTINS, I. M. G.; MAGINA, S. P.; OLIVEIRA, L.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; PASCOAL NETO, C.; GANDINI, A. New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose. **Composites Science and Technology**, v.69, p. 2163-2168, 2009.

MIRELES, J.R.; TOGUCHI, A.; HARSHEY, R.M. Salmonella enterica serovar *Typhimurium* swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. **Journal of Bacteriology**, v. 183, p. 5848-5854, 2001.

MORTOLA, V.B.; MEILI, L.; PINTO, L.A.A. Determinação das isotermas de equilíbrio para cebola, gelatina e farinha de peixe: análise dos modelos de GAB, BET e Henderson. **Revista Veter**, v. 13, p. 79-91, 2003.

MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M. **Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados**. Manual técnico n.6, 3ª Ed., Campinas: Instituto de Tecnologia em Alimentos (ITAL), 2004.

OLIVEIRA, L.M.; OLIVEIRA, P.A.P.L.V. Revisão: Principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. **Brazilian Journal Food Technol**, v. 7, p. 161-165, 2004.

OLIVEIRA, M. A. **Utilização de película de fécula de mandioca como alternativa à cera na conservação pós-colheita de frutos de Goiaba (*Psidium guajava*)**. 1996. 73 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, 1996.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005.

PACHECO, J. L. C.; YEE, S. M.; ZENTELLA, M. C.; MARVÁN, E. E. Celulosa Bacteriana en *Gluconacetobacter xylinum*: Biosíntesis y Aplicaciones. **Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v.1, p. 18-25. 2004.

PEREIRA, P. H. F.; VOORWALD, HERMAN C. J.; CIOFF, M. O. H. PEREIRA, M. L. C. P. DA S. Preparação e caracterização de materiais híbridos celulose/ NbOPO₄ NH₂. O a partir de celulose branqueada de bagaço de cana-de-açúcar. **Polímeros**, v. 22, p. 88-95, 2012.

RECOUVREUX, D. de O. S. **Desenvolvimento de novos biomateriais baseados em celulose bacteriana para aplicações biomédicas e de engenharia de tecidos**. 2008. 145f. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis ,2008.

RECOUVREUX, D. O. S.; CARMINATTI, C. A.; PITLOVANCIV, D. G. A.; MIQUELETO, A. P.; OLIVEIRA, I. L.; ANTONIO, R. V.; PORTO, L. M. **Evidências da presença de celulose no Biofilme formado por *Chromobacterium violaceum***. 2005. Disponível em: <<http://www.Intelab.ufsc.br:8080/port/public/sinaferm2005-Recowvreux%20et%20al%2002.pdf>> Acesso em: 22/09/06

ROSINA, C.R.; BARONI, S.; CAVALCANTI, O.A. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade de filmes isolados de polimetacrilato contendo polissacarídeo da raiz de Lótus (*Nelumbo nucifera*). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, v. 40, p. 425-431, 2004.

SAIBUATONG, ONG-ARD; PHISALAPHONG, M. Novo Aloe vera-bacterial cellulose composite film biosynthesis. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p.455-460. 2010.

SANTURIO, D.F.; COSTA, M.M.; MABONI, G.; CAVALHEIRO, C.P.; SÁ, M.F.; ALVES, S.A.; FRIES, L.L.M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1051-1056, 2011.

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

SILVEIRA, M.F.A.; SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R.M.; ANDRADE, N.J.; BOTREL, D.A.; GONÇALVES, M.P.J. Active film incorporated with sorbic acid on pastry dough conservation. **Food Control**, v.18, p.1063-1067, 2007.

SOARES, A.G. Perdas Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças. In: FÓRUM AGRONEGÓCIOS DA UNICAMP, maio 2009, Campinas. **Qualidade e Segurança de Alimentos**. Campinas: UNICAMP, 2009. Mesa Redonda: Qual o Tamanho do Desperdício.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Química Nova**, v. 35, p. 262-267, 2011.

VILLALOBOS, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CHIRALT, A.. Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 502-509, 2006.

WAN, Y. Z.; LUO, H.; HE, F.; LIANG, H.; HUANG, Y.; LI, X. L. Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 69, p. 1212-1217, 2009

YAMAMOTO, H.; HORII, F.; HIRAI, A. In situ crystallization of bacterial cellulose .2. Influences of different polymeric additives on the formation of celluloses I-alpha and I-beta at the early stage of incubation. **Cellulose**, v. 3, p. 229-242, 1996.

YANO, H.; SUGIYAMA, J.; NAKAGAITO, A.N.; NOGI, M.; MATSUURA, T.; HIKITA, M. Optically transparent composites reinforced with networks of bacterial nanofibers. **Adv Mater**, v.17, p. 153-155, 2005.