

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

THAIS MITIE YOSHIDA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ZEÍNA
ADICIONADOS DE CELULOSE BACTERIANA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO
2017

THAIS MITIE YOSHIDA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ZEÍNA
ADICIONADOS DE CELULOSE BACTERIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Mirela Vanin Santos Lima

CAMPO MOURÃO
2017



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Departamento Acadêmico de Alimentos
Coordenação de Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ZEÍNA ADICIONADOS DE
CELULOSE BACTERIANA**

por

THAIS MITIE YOSHIDA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 4 de Dezembro de 2017 às 14:00 horas, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Profa. Dra. Mirela Vanin Santos Lima
Orientadora

Profa. Dra. Angela Maria Gozzo
Membro da banca

Prof. Dr. Rafael Porto Ineu
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR Campus Campo Mourão.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade e graça em ter concluído esta graduação.

Agradeço aos meus pais, Kazuo Yoshida e Luci Yoshida, por toda educação, apoio e incentivo para que eu nunca desistisse dos meus sonhos e conseguisse concluir esta graduação. E também a minha irmã Leticia Yoshida, pelo amor, carinho e por estar sempre presente em minha vida.

A minha orientadora Mirela Vanin dos Santos Lima, por toda dedicação, paciência, incentivo e ensinamentos para a conclusão deste trabalho.

Aos meus amigos Emerson Nakashima, Alison Biazetto, Anderson Lazzari, Fellipe Reina, Camila Bissaro, Beatriz Bonfim, Valriane Suelen, Mayara Cavalcante, Karine Kaufmann, Mayara Alves e Patricia Sato, que mesmo distante sempre me apoiaram e ajudaram durante a graduação, meu eterno carinho e gratidão a vocês.

Aos participantes da banca pela participação, sugestões e contribuições.

RESUMO

YOSHIDA, T. M. **OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ZEÍNA ADICIONADOS DE CELULOSE BACTERIANA**. 2017. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2017.

A indústria de plásticos teve um avanço significativo nas últimas décadas, entretanto a interação de embalagens plásticas com alimentos ainda não está bem esclarecida. A procura por tecnologias para a substituição dos plásticos em embalagens de alimentos impulsionam as pesquisas relacionadas a polímeros biodegradáveis. As embalagens ativas são uma alternativa para o uso de plásticos. A zeína é uma proteína encontrada no endosperma do milho e um subproduto da elaboração do amido do grão, é solúvel em solução hidroalcoólica, possui capacidade de formar filmes flexíveis e biodegradáveis. A adição de celulose bacteriana pode ser uma forma viável para aumentar a resistência a tração das películas biodegradáveis de zeína. Assim, neste trabalho foram produzidos filmes de zeína com adição de celulose bacteriana. A celulose bacteriana foi adicionada em diferentes proporções (de 0% a 7,5% m/v em relação à zeína), em filmes com ácido oleico (Tratamento 1) e sem ácido oleico (Tratamento 2). Os filmes foram caracterizados através de análises de espessura, gramatura, umidade, solubilidade, Teste de Tração e perfuração e FTIR-ATR. Após a análise dos resultados observou-se que o ácido oleico foi capaz de proporcionar melhores propriedades mecânicas, visto que visualmente o filme ficou mais flexível; os resultados sugerem que a celulose bacteriana pode melhorar as propriedades mecânicas dos filmes, porém mais estudos precisam ser realizados para comparar isto.

Palavras-chaves: Zeína, FTIR, películas, ácido oleico, propriedades mecânicas.

ABSTRACT

YOSHIDA, T. M. **OBTAINING AND CHARACTERIZING ZEINA FILMS ADDED FROM BACTERIAL CELLULOSE.** 2017. 41 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2017.

The plastics industry has made significant progress in the last decades, however, the interaction of plastic packaging with food is still not well understood. The search for technologies to replace plastics in food packaging drives research related to biodegradable polymers. Active packaging is an alternative for the use of plastics. Zein is a protein found in the corn endosperm and a byproduct of the grain starch, soluble in hydroalcoholic solution, capable of forming flexible and biodegradable films. The addition of bacterial cellulose may be a viable way to increase the tensile strength of biodegradable zein films. Thus, zein films with bacterial cellulose addition were produced in this work. Bacterial cellulose was added in different proportions (from 0% to 7.5% w / v over zein) in films with oleic acid (Treatment 1) and without oleic acid (Treatment 2). The films were characterized by analysis of thickness, weight, humidity, solubility, traction test and perforation and FTIR-ATR. After the analysis of the results it was observed that the oleic acid was able to provide better mechanical properties, since visually the film became more flexible; the results suggest that bacterial cellulose may improve the mechanical properties of films, but more studies need to be done to compare this.

Keywords: Zein, FTIR, films, oleic acid, mechanical properties.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVOS	12
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1.	POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS.....	13
3.2.	ZEÍNA	14
3.3.	CELULOSE BACTERIANA	16
3.4.	PLASTIFICANTES	17
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1.	MATERIAIS	19
4.2.	PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	19
4.3.	PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	20
4.4.	ELABORAÇÃO DOS FILMES DE ZEÍNA COM CB.....	20
4.5.	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	21
4.5.1.	ESPESSURA.....	22
4.5.2.	GRAMATURA.....	22
4.5.3.	SOLUBILIDADE	22
4.5.4.	UMIDADE	23
4.5.5.	TESTE DE TRAÇÃO	23
4.5.6.	TESTE DE PERFURAÇÃO.....	24
4.5.7.	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER ACOPLADO A REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR-ATR).....	24
4.5.8.	ANÁLISES ESTATÍSTICA.....	25
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1.	OBTENÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA E DA SOLUÇÃO CONTENDO CELULOSE BACTERIANA EM FIBRAS	26
5.2.	OBTENÇÃO DAS PELÍCULAS DE ZEÍNA	26
5.3.	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	28
5.4.	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER ACOPLADA À TÉCNICA DE REFLÊNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR).....	32
6.	CONCLUSÃO.....	35
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação de alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de origem.....	15
Figura 2: "Mãe do Vinagre".....	18
Figura 3: Micrometro Digital, Pantec.....	23
Figura 4: Equipamento utilizado para o Teste de tração e Perfuração, TA-XT Express Enhanced Stable Micro Systems.....	25
Figura 5a: Celulose Bacteriana em meio sintético líquido.....	27
Figura 5b: Solução de CB + água destilada.....	27
Figura 6: Filme de zeína com glicerol e ácido oleico e celulose bacteriana: A) 0% CB; B) 1%CB; C) 2,5% CB; D) 5% CB; E) 7,5% CB.....	28
Figura 7: Filmes de zeína com glicerol e celulose bacteriana. F) 0% SO; G) 1% SO; H) 2,5% SO; I) 5% SO.....	28
Figura 8: Espectros FTIR-ATR dos filmes de zeína com celulose bacteriana (filmes com ácido oleico); F1: 0%; F2: 1%; F3: 2,5%; F4: 5%; F5: 7,5%.....	34
Figura 9: Espectros FTIR-ATR dos filmes de zeína com celulose bacteriana (filmes sem ácido oleico); A1: 0%; A2: 1%; A3: 2,5%; A4: 5%.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Formulações das Películas biodegradáveis de Zeína e CB, com glicerol e Ácido Oleico.....	22
Tabela 2: Formulação das Películas biodegradáveis de Zeína e CB, com glicerol e sem Ácido Oleico.....	22
Tabela 3: Resultados obtidos de espessura, gramatura, solubilidade e umidade. Tratamento 1: filmes com ácido oleico; Tratamento 2: filmes sem ácido oleico.....	29
Tabela 4: Resultados Obtidos para $F_{máx}$ para os Filmes COM ácido oleico (Tratamento 1) e SEM ácido oleico (Tratamento 2).....	30
Tabela 5: Resultados obtidos para Modelo Young (MPa), Resistência a tração (MPa) e Elongação da ruptura (%); Tratamento 1 (filmes com ácido oleico); Tratamento 2 (filmes sem ácido oleico).....	31

1. INTRODUÇÃO

Devido a sua praticidade, bom preço, versatilidade, alta flexibilidade, as embalagens derivadas dos polímeros sintéticos como o PET, o poliestireno, o polietileno são usados em grandes quantidades pelas indústrias de alimentos há mais de 50 anos (SANTA-MARIA *et al.*, 2003).

Porém o consumo excessivo de materiais plásticos ao longo dos anos tem gerado grande volume de resíduos causando acúmulo em aterros, e provocando assim vários problemas ambientais (KUMAR, 2010). Segundo Kumar (2010), os plásticos ou polímeros não biodegradáveis cooperam muito para problemas ambientais, pois possui alta resistência a degradação demorando em média mais de 100 anos para a decomposição. Deste modo, pesquisadores e indústria estão buscando meios para diminuir esses impactos ambientais decorrentes do descarte inapropriado de produtos fabricados com plásticos (KUMAR, 2010).

Neste sentido, matérias-primas de fontes renováveis como o milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina estão sendo bastante estudadas para que possam ser empregadas na produção de biopolímeros (FELLOWS, 2006). O ponto positivo do emprego de fontes renováveis é que estas possuem um ciclo de vida menor em comparação as fontes fósseis, como por exemplo, o petróleo que leva vários anos para se decompor (KUMAR, 2010).

A zeína é a principal proteína encontrada no endosperma do milho, e está sendo bastante estudada devido a sua excelente habilidade para formação de filmes. É uma proteína solúvel em álcool, produz filmes com uma barreira suficiente eficiente contra a umidade e sendo usada comercialmente como filme degradável para embalagens de alimentos (VILLADIEGO, 2005; TAVARES, 2010). Entretanto, são filmes frágeis, e para melhoria das suas propriedades funcionais é adicionado aos filmes os plastificantes, como exemplo o glicerol (GHANBARZADEH *et al.*, 2007; MALI *et al.*; 2010).

A celulose bacteriana tem sido muito estudada como uma alternativa para a substituição das fontes de matérias-primas não renováveis (WU *et al.*, 2013; KRISTO e BILIADERIS, 2006; TROVATTI *et al.*, 2012). A celulose pode ser produzida a partir de microrganismo como algas, fungos e bactérias, sendo

chamada neste último caso de celulose bacteriana, visto que essa variedade foi constatada pela primeira vez em bactérias (GOMES, 2011).

Por possuir características próprias, a CB é aplicada em várias áreas como nas indústrias têxtil, papelaria, alimentar, farmacêutica e no tratamento de resíduos (CZAJA et al., 2006). Como exemplo na área alimentar a CB é aplicada na alimentação como sobremesa, chamada nata de coco obtida a partir da água ou leite de coco no sudeste asiático (CHAWLA et al., 2009).

A celulose bacteriana (CB) é um polissacarídeo natural originado de diversas cepas de bactérias que são capazes de sintetizá-la em sua membrana e depois secretá-la gerando um hidrogel de CB (GEA et al., 2011; DAYAL et al., 2013). Sendo a bactéria *Gluconacetobacter xylinum* o microrganismo mais empregado para produzir a celulose bacteriana (TROVATTI, 2012). As fibras de celulose bacteriana possuem dimensões nanométricas, portanto, a sua adição em materiais biodegradáveis proporciona melhoria nas propriedades mecânicas, por exemplo, resistência à tração (KLEMM, 2005).

Portanto, neste trabalho realizou-se o estudo de caracterização de filmes de zeína adicionados de CB.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo a obtenção e caracterização de filmes de zeína adicionados de celulose bacteriana (CB) e plastificante.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo geral proposto os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Preparação dos filmes pela técnica de “casting” utilizando zeína adicionada de diferentes concentrações de CB, e com a adição de plastificante.
- Caracterização dos filmes obtidos através da determinação de espessura, gramatura, solubilidade e umidade;
- Avaliação das propriedades mecânicas através de testes de tração e perfuração;
- Análise dos filmes por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (FTIR - ATR, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*);
- Análise dos resultados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

A conservação de alimentos requer alguns tratamentos físicos, químicos ou até mesmo a associação destes, além do uso de embalagem, rígidas ou maleáveis. Onde muitas dessas embalagens são produzidas a partir de plásticos sintéticos; que além de serem empregados na fabricação de embalagens para fins alimentícios são usados em grande escala em utensílios domésticos. A popularização do plástico é caracterizada pelo seu baixo custo de produção, peso mínimo, alta resistência e facilidade em produzir peças de diversas formas, cores e tamanhos (BONA, 2007; ROSA; FRANCO; CALIL, 2001).

Os plásticos possuem boa propriedade funcional, mas não são biodegradáveis, portanto, causando problemas ambientais, levando vários anos para se decompor, assim, permanecendo por longos anos no ambiente (BONA, 2007).

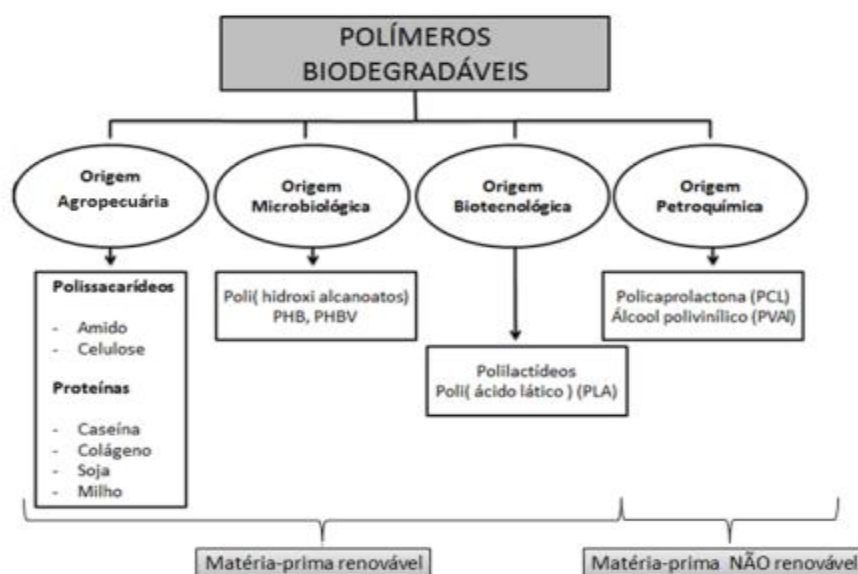
Em contra partida, os polímeros biodegradáveis sofrem decomposição a partir da ação de organismos vivos, por exemplo, bactérias, fungos e algas. Onde esses microrganismos atuam no material e por ação enzimática, consumindo-os de forma rápida sob condições favoráveis de biodegradação (MARTINS FRANCHETTI e MARC, 2006).

A biodegradação é caracterizada como uma degradação natural onde os compostos orgânicos são convertidos em compostos simples para o meio ambiente, a partir da mineralização e redistribuição do ciclo de carbono, do nitrogênio e do enxofre, com a presença essencial dos microrganismos (CHANDRA e RUSTGI, 1998).

Existe um grande interesse no uso de plásticos biodegradáveis atualmente, pois estes ajudam a minimizar os impactos ambientais que os plásticos sintéticos causam no meio ambiente. Porém, a produção de polímeros biodegradáveis apresenta alto custo quando comparada aos polímeros convencionais (BERTAN, 2003; CHARLES, GUILLAUMEA, GOTARDA, 2008; MORAES, 2009).

Os polímeros biodegradáveis podem ser classificados a partir da origem da sua matéria-prima, como demonstrado na Figura 1 (BRITO, 2011).

Figura 1: Classificação de alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de origem.



Fonte: BRITO, 2011.

Analisando a Figura 1, observamos que existem quatro tipos de classificação dos polímeros: agrícola, microbiológica, biotecnologia e petroquímica (BRITO, 2011). Assim de acordo com a classificação apresentada, neste trabalho utilizou-se a zeína como polímero, de origem agrícola, extraída diretamente da biomassa, portanto, obtida a partir de fonte renovável de origem vegetal, o milho, não havendo um processo de polimerização para sua síntese.

3.2. ZEÍNA

A produção de milho é bem abundante em todos os continentes, tendo uma grande importância econômica em relação a sua diversidade de utilização, que são na alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, como exemplo a produção de filmes e embalagens biodegradáveis (PAES, 2006).

Os grãos de milho são, normalmente, amarelos ou brancos, podendo também variar do preto ao vermelho. É formado por quatro principais estruturas físicas, sendo o endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta. No endosperma é encontrada a proteína reserva que são as prolaminas ou zeínas (PAES, 2006).

A zeína possui uma alta quantidade de aminoácidos glutamina, leucina, alanina e prolina, onde esses aminoácidos dão a zeína uma alta hidrofobicidade ao

resíduo proteico que é extraído do endosperma na produção do amido de milho (PAES, 2006). A zeína é considerada de grande importância industrial, pois é aplicado como matéria-prima para a produção de filmes comestíveis destinados à blindagem de alimentos, como frutas, verduras e grãos, com o intuito de aumentar a vida de prateleira desses produtos. Além do mais, a zeína pode ser usada na fabricação de fibras para diversas aplicações, no encapsulamento de sementes e também na fabricação de embalagens biodegradáveis (PAES, 2006).

É considerado um polímero não tóxico e biodegradável, os filmes produzidos a partir de zeínas podem ser usados para encapsulamento de óleos essenciais, aromas e sabores, liberação controlada de aditivos e como material de embalagens ativas para alimentos (GHANBARZADEH et al., 2007; ZHANG, 2010; SÁNCHEZ et al., 2015).

A utilização dos polímeros biodegradáveis a base de zeína é uma opção para o uso de polímeros sintéticos a base de petróleo, pois possuem uma capacidade de formação de filmes, resistência à barreira de gases atmosféricos e solubilidade, e proteção de compostos ativos (KURECK, 2014). Porém segundo Farato et al. (2013) os filmes de zeína produzidos pela técnica de *casting* apresentam características mecânicas pobres com características frágeis.

Por possuir boa propriedade para a formação de película, a zeína atraiu grande atenção da área comercial alimentícia para a produção de revestimento para a proteção dos alimentos com o intuito de diminuir o desperdício. Os filmes a base de zeína podem substituir agentes de revestimento comerciais (cera de carnaúba e goma-laca), dentro dos pacotes de alimentos. As propriedades dos filmes de zeína, como a biodegradabilidade, as propriedades mecânicas, a absorção de água e as propriedades de barreira, em sua maioria dependem da interação entre a proteína, o plastificantes e de outros grupos funcionais (CORRADINI, et al., 2014).

Neste sentido muitos estudos têm sido feitos com o objetivo de desenvolver filmes de zeína que possam ser empregados comercialmente, como embalagem.

Forato et al., (2013), produziu filmes de zeína sem plastificante, tendo como resultado um filme muito frágil. Mas após a adição de 1 a 2% em massa de ácido oleico ocorreu um aumento significativo do módulo de elasticidade, segundo análise realizada por Análise Dinâmica Mecânica (DMA). Com a inclusão do plastificante no filme, ocorreu uma irregularidade superficial e uma perda das características

hidrofóbicas dessa proteína. Filmes formados com 4% de zeína e 1% de ácido oleico (porcentagens em massa) obtiveram melhores propriedades mecânicas, segundo o autor.

Pena-Serna e Lopes-Filho (2013) produziram filmes de zeína em uma solução de etanol com ácido oleico e glicerol como plastificantes. Constataram que a diminuição do teor de glicerol e o aumento da concentração da solução de etanol beneficiaram o decréscimo dos valores de permeabilidade em água e opacidade.

Chen, Ye e Liu (2014), analisaram a formação de filmes de zeína, com diferentes concentrações alcólicas de etanol e isopropanol, utilizando glicerol como plastificante. Estes pesquisadores analisaram as propriedades mecânicas e hidrofibilidade durante o processo, e observaram que para as maiores concentrações de etanol e isopropanol, a resistência a tração teve um aumento considerável, atingindo os valores de 74,2 MPa e 57,7 MPa respectivamente. Além disto, os resultados para permeabilidade ao vapor de água, absorção de água e ângulo de contato da água mostraram que a hidrofobicidade do filme com etanol foi consideravelmente melhor do que os filmes com isopropanol.

Diversos estudos estão sendo feitos na tentativa de melhorar as propriedades mecânicas e de barreiras de filmes a base de zeína ou também analisar os efeitos da adição de componentes em suas propriedades, como por exemplo: aplicação com diferentes solventes (CHEN; YE; LIU, 2014; SHI; KOKINI; HUANG, 2009), adição de plastificantes (GHANBARZADEH et al., 2007; XU; CHAI; ZHANG, 2012), blendas com outras proteínas e com ceras (GU; WANG; ZHOU, 2013) e, formação de nanocompositos (ZHANG; WANG, 2012).

3.3. CELULOSE BACTERIANA

A celulose é muito utilizada para a produção de papel e na indústria de madeira, tendo como função emulsificador, agente dispersante, agente gelificante. Apenas uma pequena parcela é usada na elaboração das fibras sintéticas, que incluem acetatos e fibras de acetato ou também filmes de celulose regenerados (MORMIRO, 2002).

Adrian Brown em 1886 foi o pioneiro a documentar estudos referentes à elaboração de celulose bacteriana. Sendo inicialmente descoberta através de uma

fermentação acética tendo o formato de uma substância sobrenadante gelatinosa, reconhecida como celulose (FIGURA 2). Após analisar essa celulose, descobriu que sua composição era semelhante à celulose vegetal, na análise microscópica identificou a presença de bactérias entremeadas nas fibras de celulose (KLEMM et al, 2001). A partir de 1960, os estudos sobre a celulose bacteriana foram intensificados, pois a CB é um polímero biodegradável, flexível, semipermeável, semitransparente e hidrofílico (FONTANA et al, 1990).

Figura 2: "Mãe do Vinagre"



Fonte: Medicina Antiga (2015)

A CB é um homopolissacarídeo linear composto quimicamente por monômeros de D-glicose unidos por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$ (SAXENA, 2001). A bactéria *Acetobacter xylinum*, é anaeróbia gram-negativa, é a única bactéria capaz de produzir a celulose bacteriana com formato de fibras e em quantidade comercial (KLEMM et al, 2006). A celulose bacteriana produzida pela bactéria *Acetobacter xylinum*, apresenta boas características à resistência à tração, alta cristalinidade, elasticidade, alta capacidade de absorção e retenção de água e durabilidade (HIRAI et al., 2002).

3.4. PLASTIFICANTES

A incorporação de um agente plastificante é indispensável para solucionar o problema de fragilidade de filmes biodegradáveis os quais se apresentam quebradiços devido às forças intermoleculares. Os plastificantes minimizam essas forças, amenizam a rigidez da estrutura do filme e aumentam a mobilidade entre as

cadeias biopoliméricas, melhorando as propriedades mecânicas dos filmes (VEIGA-SANTOS et al., 2005).

Os plastificantes mais utilizados na produção destes filmes são os mono-, di- e oligossacarídeos (xaropes de glicose ou glicose-frutose, mel), polióis (glicerol e seus derivados, polietilenoglicol, sorbitol), lipídios e derivados (ácido graxos, monoglicérides e seus ésteres, acetoglicérides) (GUILBERT e BIQUET, 1995; FAMÁ et al., 2005).

Quando os plastificantes são incorporados aos polímeros, eles atuam como solventes, fazendo com que as moléculas penetrem na fase polimérica, ocorrendo uma modificação no seu arranjo conformacional. Se houver compatibilidade com o polímero, toda a estrutura será desintegrada aos poucos durante a diluição, com as moléculas do plastificante se posicionando entre as macromoléculas, causando a separação entre elas, aumentando a mobilidade das cadeias e unidades (CARR, 2007).

Diversos estudos vêm sendo realizados para encontrar o plastificante mais adequado para a obtenção dos filmes de zeína. Os plastificantes mais eficazes para a formação desses filmes foram aqueles que contêm grupos polares e apolares, como trietileno-glicol, ácido oleico e tartarato de dibutilo (CUQ, GOTARD e GUILBERT, 1998).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

Para a execução deste trabalho foram utilizados os seguintes materiais: Chá verde (marca Leão); Mel (marca Pró-apis); Cultura de Kombuchá “Scoby” (www.ciadosfermentados.com.br); vinagre (marca Meleus); Glicose (marca Cinética); Extrato de Levedura (marca HIMEDIA); Sulfato de Magnésio heptahidratado (marca Dinâmica); Etanol PA (marca Neon); Zeína (marca Sigma); Glicerol (marca Vetec); Ácido Oleico (marca Dinâmica); Bico de Bunsen; Placas de Petri; Erlenmeyer; Tubos de centrifuga; Centrifuga (marca Nova Técnica, modelo NT825); Balão Volumétrico 100 mL, Balança analítica (marca Marte, modelo AD500); Pipeta estéril; Pipetador; Estufa incubadora (marca Quimis); Autoclave Vertical (marca Prismatec); Estufa de circulação de ar (marca Cinlab).

4.2. PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

A cultura “mãe do Kombuchá – Scoby” é rica em bactérias acéticas como a *Gluconacetobacter xylinum*, capaz de produzir a celulose bacteriana. Para ativar a cultura mencionada e utilizar o primeiro caldo fermentado contendo a bactéria como inóculo para as próximas fermentações preparou-se um meio de cultura conforme indicado pelo produtor da cultura. Para tanto, 4 g de chá verde foram adicionados em 1000 mL de água mineral fervida, esta infusão permaneceu em repouso por 5 minutos então foi realizada uma filtração simples em filtro de papel tipo coador de café, após adicionou-se 20g de mel puro e 50 mL de vinagre de maçã, homogeneizou-se o caldo e este foi adicionado a um frasco de vidro estéril. Quando o caldo esfriou atingindo a temperatura ambiente adicionou-se a cultura Scoby, então o frasco foi tampado com um tecido de algodão estéril e deixado em repouso à temperatura ambiente por 15 dias. Após este período o caldo fermentado foi utilizado como inóculo para as futuras fermentações para obtenção da celulose bacteriana.

A celulose bacteriana foi obtida a partir de um meio de cultura sintético líquido preparado com: 10g de glicose, 0,8g de extrato de levedura, 4g de etanol e 0,146g de sulfato de magnésio heptahidratado os quais foram solubilizados em 200 mL de água destilada e esterilizados a 121 °C por 15 minutos. Então em câmara de fluxo laminar adicionou-se 30 mL do meio de cultura sintético estéril em placas de petri (90x15mm) estéreis, que foram inoculadas adicionando-se 3 mL do inóculo obtido a partir da cultura de Scoby, conforme descrito anteriormente. Por fim as placas tampadas foram incubadas em estufa bacteriológica (marca Quimis) à 30°C por 7 dias.

4.3. PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

A celulose bacteriana foi purificada de acordo com a metodologia descrita por Almeida (2010). As películas de CB foram submetidas a sucessivas lavagens com água deionizada para a retirada dos resíduos de fermentação, com posterior tratamento com NaOH 0,1N a 90°C por 30 min e novamente lavadas com água deionizada. Após a purificação, a CB foi triturada em liquidificador industrial com 50 mL de água destilada, formando uma solução de fibras de CB dispersas em água.

4.4. ELABORAÇÃO DOS FILMES DE ZEÍNA COM CB

Os filmes de zeína adicionados de CB foram preparados pela técnica de “casting”, que consiste na desidratação de uma solução filmogênicas, onde essa solução foi colocada em formas de silicone e secas em estufa de circulação de ar.

Os filmes foram elaborados conforme as formulações apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Formulações das Películas biodegradáveis de Zeína e CB, com glicerol e Ácido Oleico.

Tratamento 1	Zeína (g)	Ácido oleico (%) [*]	Glicerol (%) [*]	CB (%) ^{**}
F1	20	70	30	0 %
F2	20	70	30	1 %
F3	20	70	30	2,5 %
F4	20	70	30	5 %
F5	20	70	30	7,5%

^{*}% em massa em relação à massa de Zeína utilizada.

^{**}% em massa/volume em relação à massa de Zeína utilizada

Tabela 2: Formulação das Películas biodegradáveis de Zeína e CB, com glicerol e sem Ácido Oleico.

Tratamento 2	Zeína (g)	Ácido oleico (%)	Glicerol (%)	CB (%) ^{**}
A1	20	0	30	0 %
A2	20	0	30	1 %
A3	20	0	30	2,5 %
A4	20	0	30	5 %
A5	20	0	30	7,5%

^{*}% em massa em relação à massa de Zeína utilizada.

^{**}% em massa/volume em relação à massa de Zeína utilizada

Os filmes de zeína foram preparados de acordo com Cortes (2015), com modificações; para tanto, preparou-se 100 mL de uma solução hidroalcoólica (80% etanol e 20% água destilada) na qual foi solubilizado, sob agitação magnética, primeiro a zeína, depois foi adicionado o ácido oleico e o glicerol e após total homogeneização foi adicionada à solução de CB. Isso foi realizado para todas as formulações apresentadas na Tabela 1 e 2. Então, a solução filmogênica foi vertida em forma de silicone, e seca lentamente em estufa de circulação de ar forçado a $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas; após a secagem as películas foram mantidas em dessecador para posterior caracterização.

4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram caracterizados por análises de: espessura, gramatura, solubilidade, umidade, teste de tração, teste de perfuração, Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier Acoplado a Reflectância Total Atenuado (FTIR-ATR).

4.5.1. ESPESSURA

A partir de cada filme produzido foram cortadas dez amostras em dimensões de 5 x 1 cm, e foi utilizado um micrometro digital da marca Pantec (Figura 3), para medir a espessura dessas amostras. Em todas as amostras foram medidos 3 pontos aleatoriamente, assim obtendo o resultado final calculando a média (BEHRECHEN, 2014).

Figura 3: Micrometro Digital, Pantec.



Fonte: Autor

4.5.2. GRAMATURA

A gramatura foi determinada, em triplicata, segundo metodologia proposta por Sarantópoulos et al. (2002). Para tanto, uma área de 2 cm² do filme foi pesada em balança analítica (marca Marte, modelo AD500) para determinação de massa da amostra (P) e a gramatura foi calculada de acordo com a equação 1. Tendo como unidade g.cm⁻².

$$G = 1000 \frac{P}{A} \quad (1)$$

Sendo: G = gramatura (g.cm⁻²); P = massa do filme (g); A = área do filme (cm²)

4.5.3. SOLUBILIDADE

Para a determinação da solubilidade em água em triplicata foram cortadas as amostras em 2 x 2 cm de diâmetro que foram secas a 50°C ± 2°C por 2 horas, em seguida foi pesada a massa inicial em balança analítica. As amostras foram submersas em um elermeyer contendo 50 mL de água destilada e colocadas em agitação de 50 rpm, por 24 horas, em temperatura ambiente. Foi feita a filtração e o resíduo foi seco à temperatura de 105°C por 24h em estufa com circulação de ar (marca Cinlab), e posteriormente pesados em balança analítica (marca Marte, modelo AD500). A solubilidade do filme foi expressa em porcentagem de massa solubilizada em relação à massa inicial (GONTARD, 1994).

4.5.4. UMIDADE

De acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008) foi analisada a umidade da película, em triplicata. Foram utilizados cadinhos de porcelana limpos e secos em estufa (marca Cinlab) por 2 horas em temperatura de 105°C, após secagem os cadinhos foram resfriados em dessecador, e então colocados às amostras e pesadas em balança analítica (marca Marte, modelo AD500). Os cadinhos contendo as amostras foram colocados em estufa de ar forçado a 105°C por 24 horas, até massa constante. Após resfriados em dessecador, foram pesados e em seguida foi calculada a umidade de acordo com a Equação 2. Tendo os resultados em porcentagem (%).

$$\text{Umidade} = \frac{A - B}{C} \cdot 100 \quad (2)$$

Sendo: A = Massa inicial (cadinho + amostra) [g]; B = Massa final (cadinho + amostra após secagem) [g]; C = Massa da amostra [g].

4.5.5. TESTE DE TRAÇÃO

Conforme os métodos da *American Society for Testing and Material* (ASTM D-882-00, 2001) foi realizado o teste de tração em texturômetro (TA-XT Express

Enhanced Stable Micro Systems) (FIGURA 4), em triplicata. Os filmes foram cortados em dimensões de 5 x 1 cm e, foram acondicionados em dessecador com UR 53% \pm 2% contendo uma solução de nitrato de magnésio hexaidratado por 48 horas, conforme ASTM D-882-00. Após as 48h, foi realizado o teste, onde os filmes foram adaptados às garras pneumáticas do equipamento com uma distância de 25 mm entre as garras e o ensaio foi realizado com uma velocidade de tração de 1 mm.s⁻¹. Foi determinada a resistência máxima de tração (MPa), alongamento na ruptura em porcentagem e o módulo de elasticidade ou de Young (MY).

4.5.6. TESTE DE PERFURAÇÃO

O teste de tração foi realizado com intuito de descobrir a força máxima necessária para a perfuração dos filmes, sendo feita em triplicata, no equipamento TA-XT Express Enhanced Stable Micro Systems (FIGURA 4). Os corpos de prova com dimensão de 3 cm de diâmetro foram fixados em um suporte circular do texturômetro e uma sonda metálica de ponta esférica com diâmetro de 6,35 mm a uma velocidade de 25 mm.min⁻¹ realizou a perfuração das películas.

Figura 4: Equipamento utilizado para o Teste de tração e Perfuração, TA-XT Express Enhanced Stable Micro Systems.



Fonte: Autor

4.5.7. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER ACOPLADO A REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR-ATR)

O FTIR-ATR foi utilizado para permitir a identificação e determinação dos grupos funcionais bem como a interação entre a zeína e a CB. As análises foram realizadas em um equipamento de infravermelho (Spectrum 100, Perkin Elmer). As amostras foram analisadas na região de 4000 a 400 cm^{-1} , com varredura de 8 cm^{-1} . As análises foram feitas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná - *Campus* Medianeira.

4.5.8. ANÁLISES ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados quanto à variância (ANOVA) a 95% de significância e os resultados que apresentarem diferença significativa entre os tratamentos foram diferenciados pelo teste de Tukey usando o software Origin 8 para análise dos resultados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. OBTENÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA E DA SOLUÇÃO CONTENDO CELULOSE BACTERIANA EM FIBRAS

A celulose bacteriana obtida está apresentada na Figura 5a, a qual se mostrou muito próxima daquela apresentada no trabalho de Duarte (2014), enquanto que a Figura 5b mostra a solução aquosa com fibras de celulose bacteriana após o processo de desintegração.

Figura 5: a) Celulose Bacteriana em meio sintético líquido. b) Solução de CB + água destilada



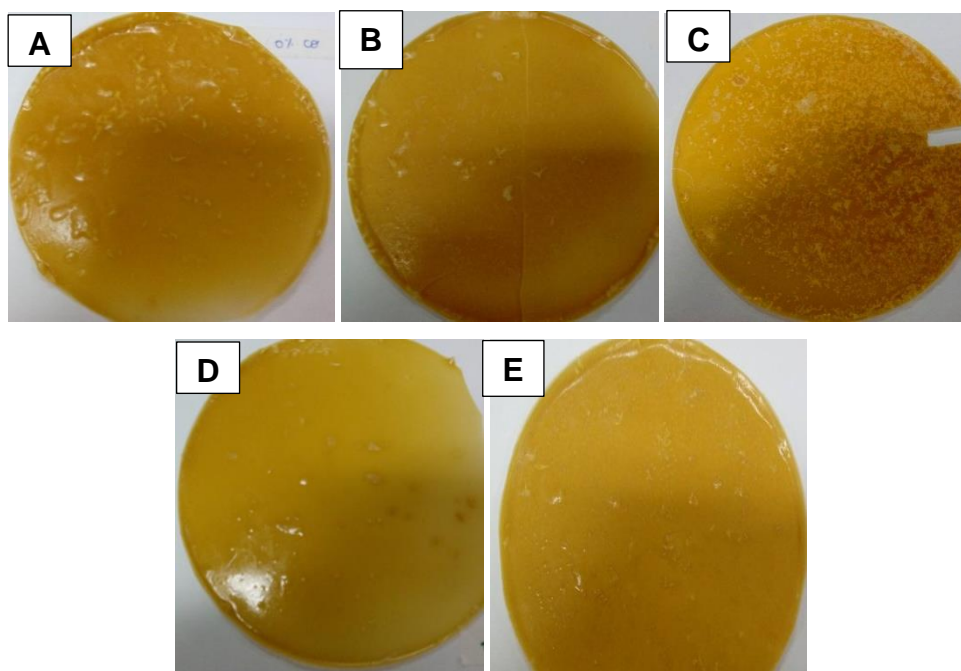
Fonte: Autor

5.2. OBTENÇÃO DAS PELÍCULAS DE ZEÍNA

Os filmes com as formulações das Tabelas 1 e 2 estão ilustradas nas Figuras 6 e 7. Os filmes da Figura 6 são os filmes que possuíam o ácido oleico em sua composição, que apresentaram uma aparência mais lisa e visualmente homogênea, bem como, mais maleáveis, o que facilitou o preparo das amostras para as análises de caracterização. Em contrapartida, os filmes da Figura 7 que são os filmes que não possuíam o ácido oleico apresentaram uma aparência porosa, visualmente não homogênea e bastante quebradiça sendo que, quanto maior a concentração de celulose bacteriana adicionada mais quebradiço se apresentou o filme; salientando-se que não foi possível retirar o filme sem ácido oleico com 7,5% CB do molde, pois

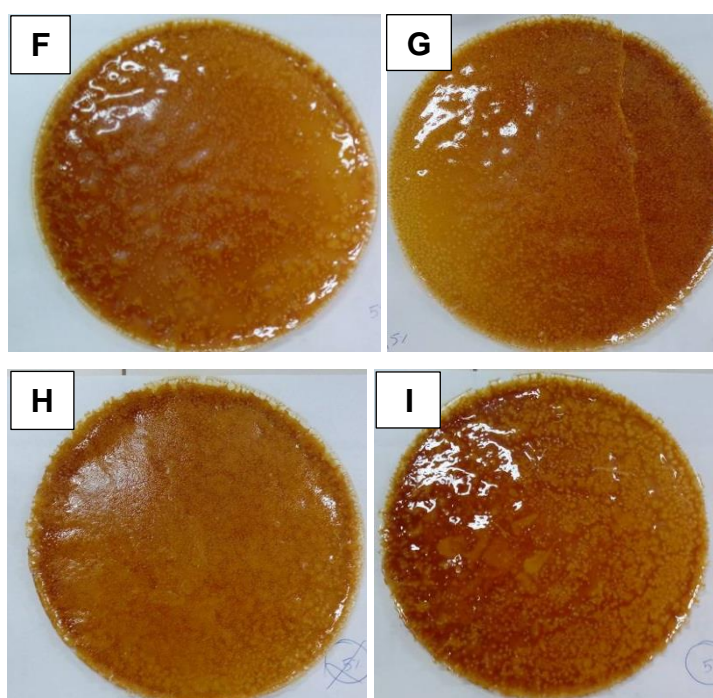
este se quebrou totalmente, impossibilitando assim a realização da caracterização da formulação A5 do tratamento 2.

Figura 6: Filme de zeína com glicerol e ácido oleico e celulose bacteriana (Tratamento 1): A) 0% CB; B) 1%CB; C) 2,5% CB; D) 5% CB; E) 7,5% CB.



Fonte: Autor.

Figura 7: Filmes de zeína com glicerol e celulose bacteriana (Tratamento 2). F) 0%; G) 1%; H) 2,5%; I) 5%.



Fonte: Autor.

5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os resultados das análises estatísticas referentes às análises de espessura, gramatura, solubilidade e umidade dos filmes estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Resultados obtidos de espessura, gramatura, solubilidade e umidade. Tratamento 1: filmes com ácido oleico; Tratamento 2: filmes sem ácido oleico.

Tratamento	% CB	Espessura (mm)	Gramatura (g/cm ²)	Solubilidade (%)	Umidade (%)
1					
F1	0,0%	0,333 ^a ±0,172	339,150 ^{ab} ±32,966	107,328 ^a ±15,541	0,201 ^a ±0,023
F2	1,0%	0,363 ^a ±0,077	250,116 ^a ±24,555	98,391 ^a ±0,932	0,188 ^a ±0,088
F3	2,5%	0,317 ^a ±0,030	222,550 ^{ab} ±24,400	96,868 ^a ±0,370	0,195 ^a ±0,018
F4	5,0%	0,297 ^a ±0,113	299,483 ^a ±28,911	90,212 ^a ±1,931	0,218 ^a ±0,060
F5	7,5%	0,340 ^a ±0,034	238,816 ^a ±39,978	97,257 ^a ±1,010	0,125 ^a ±0,013
2					
A1	0,0%	0,383 ^a ±0,042	277,250 ^{ab} ±13,900	27,089 ^a ±4,023	0,176 ^{ab} ±0,011
A2	1,0%	0,334 ^a ±0,066	402,000 ^b ±39,500	30,492 ^a ±4,001	0,280 ^b ±0,033
A3	2,5%	0,342 ^a ±0,073	264,850 ^{ab} ±17,967	18,943 ^a ±5,925	0,174 ^{ab} ±0,030
A4	5,0%	0,322 ^a ±0,078	219,817 ^{ab} ±12,111	23,238 ^a ±2,268	0,153 ^{ab} ±0,007

^{a,b} Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$, entre médias obtidas através do teste de Tukey.

Os valores encontrados para a espessura, não indicaram diferença significativa a 5% de significância na análise de variância, para os dois tratamentos estudados. Analisando os resultados, identificamos que as espessuras apresentaram valores relativamente baixos variando de 0,297 (F4, tratamento 1) a 0,383 mm (A1, tratamento 2), concordando com Zanela (2013) que reportou em seu trabalho que o método *casting* para obtenção de filmes permite um melhor controle da espessura em função da quantidade de solução filmogênica colocada na forma para secagem, assim, proporcionando um filme mais uniforme e com uma espessura menor quando comparados aos extrusados.

Os resultados da gramatura apresentaram valores com diferença significativa para 5% de significância, como pode ser observado na Tabela 3. Os tratamentos F1 (0% de celulose bacteriana) e A2 (1% de celulose bacteriana) apresentaram os maiores valores para gramatura em relação aos demais tratamentos, porém é possível observar ainda que o desvio padrão dentro de cada amostra também foi grande podendo-se sugerir falta de homogeneidade no preparo das amostras, que foram cortadas para ter uma área de 2 cm². A gramatura é definida como a massa

do filme, sobre a área do mesmo, e está diretamente relacionada com a resistência mecânica e de barreiras dos filmes, sendo que maiores gramaturas oferecem maiores resistências mecânicas (SARANTOPOLIS et al, 2002).

O valor de solubilidade, tanto entre as formulações F1, F2, F3, F4 e F5 do tratamento 1, como entre as formulações A1, A2, A3 e A4 do tratamento 2, não apresentou diferença significativa para 5% de significância. Mas ao comparar os valores de solubilidade das amostras do tratamento 1 com àquelas do tratamento 2 verifica-se uma grande diferença, visto que no tratamento 1 (com ácido oleico) observa-se solubilidades maiores que 90%, enquanto no tratamento 2 (sem ácido oleico) a maior solubilidade foi de 30,942%. Assim, pode-se sugerir que a CB não interferiu na solubilidade das amostras, mas o ácido oleico sim.

A umidade entre as formulações do tratamento 1 (Tabela 3), não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de Tukey, mostrando pouca variação entre elas. Já entre as formulações do tratamento 2 (Tabela 3), observa-se diferença significativa entre A2 (1% de celulose bacteriana), e as demais formulações (A3 e A4). Nota-se que com o aumento da concentração de CB diminuiu a umidade do filme. O mesmo resultado foi notado por Ribeiro (2014), em seu trabalho sobre adição de nanocarbonato em filmes de zeína, onde o autor verificou que o aumento da concentração de nanocarbonato nos filmes a base de zeína promoveu diminuição da umidade.

Analisando todos os valores de umidade obtidos para todas as formulações dos dois tratamentos, 1 e 2, observa-se valores baixos de umidade isso ocorre devido a presença da zeína que apresenta caráter hidrofóbico (ZANELA, 2013).

Na Tabela 4, estão os resultados obtidos para o teste de perfuração.

Tabela 4: Resultados obtidos para F_{máx} (força máxima de perfuração) para os Filmes COM ácido oleico (Tratamento 1) e SEM ácido oleico (Tratamento 2).

Tratamento 1	%CB	F _{máx} (N)	Tratamento 2	% CB	F _{máx} (N)
F1	0,0%	28,645 ^a ±9,211	A1	0%	47,102 ^a ±7,255
F2	1,0%	30,269 ^a ±6,001	A2	1,0%	30,195 ^a ±12,300
F3	2,5%	10,577 ^a ±3,748	A3	2,5%	36,061 ^a ±5,479
F4	5,0%	31,187 ^a ±5,859	A4	5,0%	36,824 ^a ±11,766
F5	7,5%	16,266 ^a ±6,050			

^{a,b} Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a p≤0,05, entre médias obtidas através do teste de Tukey.

A partir do teste de perfuração foi determinado $F_{m\acute{a}x}$ que é a força máxima necessária para a perfuração do filme, a análise de variância não apresentou diferença significativa na $F_{m\acute{a}x}$ das formulações dentro de cada tratamento, isso porque o desvio padrão dentro de cada formulação foi relativamente alto o que sugere uma variabilidade entre as amostras da mesma formulação, isso pode ter ocorrido devido à dificuldade em cortar os filmes no tamanho correto para a realização da análise. Pode-se verificar ainda na Tabela 4 que os valores de $F_{m\acute{a}x}$ variaram de 10,577 N (F3) a 31,187 N (F4) para os filmes do tratamento 1; e de 30,195 N (A2) a 47,102 N (A1), para os filmes do tratamento 2. Porém, a falta de padrão nos resultados e o alto desvio padrão obtido não permite concluir nada sobre a influência da CB na resistência a perfuração dos filmes.

No entanto, comparando os resultados entre os dois tratamentos, observa-se que os filmes do tratamento 2 (sem ácido oleico) apresentaram $F_{m\acute{a}x}$ maior do que os filmes do tratamento 1 (com ácido oleico).

As propriedades mecânicas relativas ao teste de tração dos filmes estão apresentadas nas Tabelas 5.

Tabela 5: Resultados obtidos para Modulo de Young (MPa), Resistência a tração (MPa) e Elongação na ruptura (%), para os filmes das formulações do Tratamento 1 (com ácido oleico), e Tratamento 2 (sem ácido oleico).

Tratamento 1	%CB	MY (MPa)	RT (MPa)	Elongação Na Ruptura (%)
F1	0%	33,795 ^a ± 4,967	635.300,620 ^a ± 215.349,5	3,390 ^{ab} ± 0,337
F2	1%	48,377 ^a ± 22,602	218.248,000 ^b ± 73.426,47	3,040 ^a ± 0,288
F3	2,5%	35,847 ^a ± 7,329	728.927,320 ^a ± 65.826,63	4,250 ^b ± 0,794
F4	5%	52,578 ^a ± 12,979	629.789,100 ^a ± 65.826,63	2,557 ^a ± 0,436
F5	7,5%	107,655 ^b ± 54,678	308.999,660 ^b ± 113.423,1	2,973 ^a ± 0,273

Tratamento 2	%CB	MY (MPa)	RT (MPa)	Elongação Na Ruptura (%)
F1	0%	31,361 ^{ab} ± 7,255	344.489,820 ^a ± 35.676,690	2,020 ^a ± 0,250
F2	1%	40,098 ^b ± 3,767	558.306,520 ^{ab} ± 156.605,941	2,030 ^a ± 0,348
F3	5%	23,180 ^a ± 4,808	651.631,120 ^b ± 167.864,191	2,157 ^a ± 0,295

As propriedades mecânicas dos filmes dependem da interação entre os componentes, isto é, dependem da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias (HENRIQUE, 2002).

Com o teste de tração foi determinado o módulo de Young (MY), a resistência à tração (T) e a alongação na ruptura (E). Analisando a Tabela 1 observa-se que os valores encontrados apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Observando a Tabela 1, verifica-se que os resultados para MY e RT variaram de 35,847 a 107,655 MPa e 218.248,000 a 635.300,620 MPa, respectivamente, nas formulações do tratamento 1; e de 23,180 a 40,098 MPa e 344.489,820 a 651.631,120 MPa, respectivamente, no tratamento 2, na Tabela 2. Segundo Sarantópoulos et al. (2002) as propriedades de tração são fundamentais para a identificação e caracterização dos filmes, avaliando a qualidade dos materiais utilizados. Neste sentido, pode-se sugerir que a adição de celulose bacteriana (CB) nos filmes de zeína demonstra uma tendência no aumento do módulo de Young, isso pode ser observado ao se comparar os valores de MY das formulações F1 a F5, com 0% a 7,5% de celulose bacteriana, ou seja, sugerindo ainda que quanto maior a concentração de celulose bacteriana maior o valor do módulo de Young (MY). E nos resultados obtidos no Tratamento 2, verifica-se maiores valores de RT nos experimentos com maior concentração de celulose bacteriana, sugerindo novamente que a celulose bacteriana melhora a resistência mecânica dos filmes.

A alongação na ruptura representa à máxima variação no comprimento da amostra antes da quebra ou ruptura do material, portanto, sua função é medir a capacidade de elasticidade do filme (HENRIQUE, 2002). Portanto, observa-se na Tabela que não apresentaram diferença significativa a 5% de significância na análise de variância, para o parâmetro alongação, com exceção do experimento F3. Porém, percebe-se uma pequena diminuição da alongação com o aumento da concentração da celulose nos filmes, isso se deve ao fato de a CB aumentar a rigidez do filme por ser este material extremamente cristalino.

O resultado observado no presente trabalho está em acordo com o trabalho sobre propriedades mecânicas de materiais reforçados com fibras naturais de Ku e colaboradores (2011); os autores sugerem neste trabalho que maiores concentrações de fibras resultam em valores mais elevados para MY e RT e

menores valores para ϵ . Ainda segundo esses autores maiores quantidades de fibras resultam em filmes mais rígidos, com elevado desempenho mecânico.

O presente trabalho também está de acordo com os resultados observados por Freitas (2015), a autora reportou valores elevados para Módulo de Young, 33.181,57 e 23.473,79 MPa, para filmes de zeína com casca de pinhão e filmes de zeína com extrato de casca de pinhão, respectivamente, ao comparar com o controle, sugerindo mais uma vez que a adição de fibras proporciona melhores resultados para as propriedades mecânicas de materiais poliméricos.

A alongação na ruptura representa a máxima variação no comprimento da amostra antes da quebra ou ruptura do material, portanto, sua função é medir a capacidade de elasticidade do filme (HENRIQUE, 2002).

5.4. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER ACOPLADA À TÉCNICA DE REFLÊNTANCIA TOTAL ATENUADA (FTIR)

A partir da análise de Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à técnica de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR) observamos a superfície e o interior do material, assim, obtendo dados sobre as estruturas secundárias das proteínas, a partir de movimentos vibracionais ou rotacionais, resultando em uma alteração do momento dipolar. O espectro de infravermelho (IV) da proteína é decorrente das absorções do grupo peptídico, chamadas de bandas de amida I, II, III, sendo a banda amida I a mais importante e responsável pela informação sobre a estrutura secundária das proteínas (SCRAMIM, 2007).

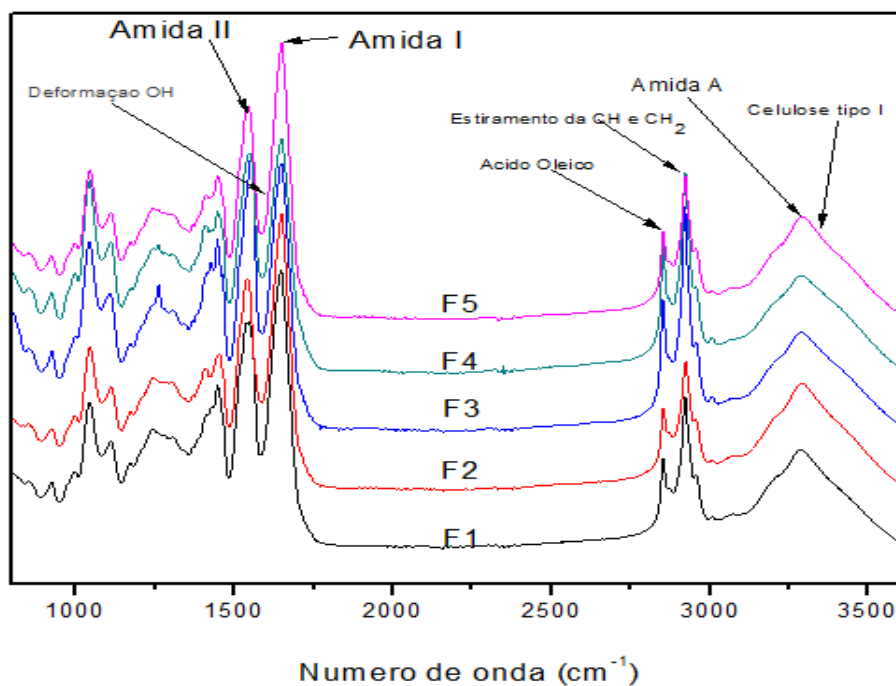
Portanto, os resultados obtidos para a análise do FTIR-ATR dos filmes estão representados nas Figuras 8 e 9. Em relação a zeína na Figura 8, foram encontradas bandas do grupo amida, amida I (1650 cm^{-1}), amida II (1543 cm^{-1}) e amida A (3286 cm^{-1}). E na Figura 9, amida I (1637 cm^{-1}), amida II (1538 cm^{-1}) e amida A (3282 cm^{-1}). Sendo valores parecidos com os encontrados por Silva (2009) que foram amida I ($1600\text{ a }1700\text{ cm}^{-1}$), amida II ($1500\text{ a }1550\text{ cm}^{-1}$) e amida A (3290 cm^{-1}) respectivamente.

Segundo Osiro et al. (2004) a banda de amida I ocorre principalmente devido ao estiramento C=O dos grupos peptídicos. A amida II é relacionada ao estiramento

da ligação CN e do dobramento da ligação NH e a amida A, é uma banda intensa e larga, devido principalmente ao estiramento do grupo NH.

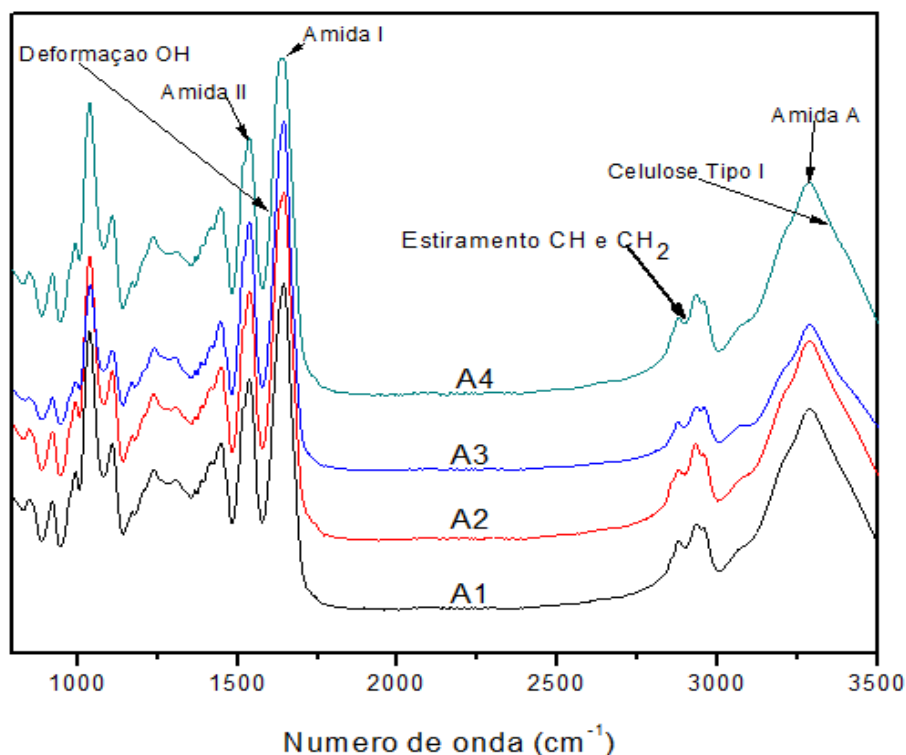
Silva (2009), reportou ainda em seu trabalho que bandas em torno de 1750, 2850 e 2950 cm^{-1} confirmam a presença de ácido oleico, assim como observado nos filmes obtidos no tratamento 1, deste trabalho, cujos espectros são apresentados na Figura 8.

Figura 8: Espectros FTIR-ATR dos filmes de zeína com celulose bacteriana (filmes com ácido oleico); F1: 0%; F2: 1%; F3: 2,5%; F4: 5%; F5: 7,5%.



Fonte: Autor.

Figura 9: Espectros FTIR-ATR dos filmes de zeína com celulose bacteriana (filmes sem ácido oleico); A1: 0%; A2: 1%; A3: 2,5%; A4: 5%



Fonte: Autor.

Em relação à celulose bacteriana presente nos filmes, os grupos funcionais relevantes à celulose bacteriana com as suas principais bandas são observados na Figura 8 em 3337 cm⁻¹, característica do estiramento dos grupos hidroxilas presentes na celulose tipo I; 2924 cm⁻¹ estiramento CH e estiramento assimétrico CH₂; 1608 cm⁻¹ deformação OH; e na Figura 9, 3346 cm⁻¹ para celulose tipo I; 2901 cm⁻¹ estiramento CH e estiramento assimétrico CH₂; 1608 cm⁻¹ deformação OH.

Resultados encontrados por Duarte (2014) para a espectrometria da celulose bacteriana foram de 3350 cm⁻¹ para a celulose tipo I; 2920 cm⁻¹ para o estiramento CH e estiramento assimétrico CH₂; 1637 cm⁻¹ para deformação OH. Sendo valores próximos aos encontrados neste trabalho.

6. CONCLUSÃO

Como conclusão o presente trabalho possibilitou o preparo dos filmes de zeína com e sem ácido oleico e adicionado de celulose bacteriana, sem dificuldade. Os resultados referentes às análises de propriedades mecânicas permitiram concluir que ocorreu uma influência da CB na resistência a perfuração e tração, pode-se dizer também que o ácido oleico foi capaz de proporcionar maior flexibilidade aos filmes e que o aumento da concentração de CB aumentou a dureza e a fragilidade dos filmes, sendo que, isso foi verificado no manuseio dos filmes para o preparo das amostras. Com exceção da solubilidade as demais análises (espessura, gramatura, umidade e FTIR-ATR) apresentaram resultados semelhantes à literatura consultada. Portanto, sugere-se que mais estudos sejam realizados variando a concentração de ácido oleico, bem como, a repetição das análises mecânicas, a fim de possibilitar a conclusão sobre a influência da celulose bacteriana e do ácido oleico nas propriedades do material obtido.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, DENISE M. DE. Biofilme de Blenda de Fécula de Batata e Celulose Bacteriana na conservação de Fruta Minimamente Processada. 2010, 78-81-82-84-85 f. **Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais)**. Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheet. ASTM D882-00. Philadelphia, 9 p., 2001.

BEHRECHEN, Lais. Desenvolvimento de Filmes Biodegradáveis de amido Incorporados com Zeólita. 2014,28 f. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)** – Curso Superior em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

BERTAN, L.C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco. 2003. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição)** - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

BONA, J. C., Filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno. 2007. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BRITO G. F., BIOPOLÍMEROS, POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS E POLÍMEROS VERDES. **Revista Eletrônica De Materiais E Processos**, CAMPINA GRANDE, v. 6.2, p. 127-139, 2011.

CARR, Laura Gonçalves. Desenvolvimento de Embalagem Biodegradável tipo Espuma á partir de Fécula de Mandioca, 2007. **Dissertação (Doutorado em Engenharia Química)**- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CHARLES, F.; GUILLAUMEA, C.; GONTARDA, N. A. Effect of passive and active modified atmosphere packaging on quality changes of fresh endives. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, p. 22-29, 2008.

CHAWLA, P.R.B., I. B.SURVASE, S. A. SINGHAL, R. S., Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 47, n.2, p. 107-124, 2009.

CHEN, Y.; YE, R.; LIU, J. Effects of different concentrations of ethanol and isopropanol on physicochemical properties of zein-based films. **Revista Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 140– 147, 2014.

CORTES, Mônica Souza, Características estruturais e físicas de material biodegradável produzido a base de zeína e fibras de milho e bananeira. **Tese de Doutorado**. São José do Rio Preto, 2015.

CORRADINI, E. et al. Recent Advances in Food-Packing, Pharmaceutical and Biomedical Applications of Zein and Zein-Based Materials. **Revista Molecular Sciences**, v. 15, p. 22438-22470, dezembro 2014.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Proteins as agricultural polymers for packaging production. **Revista Cereal Chemistry**, v. 75, p. 1-9, 1998.

CZAJA, W.K., A. BIELECKI, S. BROWN, R. M., Microbial cellulose - the natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, n. 2, p. 145-151, 2006.

DAYAL, M. S.; GOSWAMI, N.; SAHAI, A.; JAIN, V.; MATHUR, G.; MATHUR, A. Effect of media components on cell growth and bacterial cellulose production from *Acetobacter acetii* MTCC 2623. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 12-16, 2013.

DUARTE, E. B., Produção de nanocompósitos de celulose bacteriana e hidroxiapatita com rota para valorização de resíduos agroindustriais. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Fortaleza, 2014.

GEA, S.; REYNOLDS, C. T.; ROOHPUR, N.; WIRJOSENTONO, B.; SOYKEABKAEW, N.; BILOTTI, E.; PEIJS, T. Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 9105-9110, 2011

GHANBARZADEH, B. et al. Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and microstructure properties of zein films. **Food Science and Technology**, v. 40, p.1191–1197, 2007.

GOMES, Fábio P. A. Biossíntese de Celulose Bacteriana a partir de Resíduos Industriais. 65 f. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de Aveiro, Departamento de Química, Portugal, 2011.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GUILBERT, S.; BIQUET, B. Películas y envolturas comestibles. In: BUREAU, G.; MULTON, J. L. **Embalaje de los alimentos de gran consume**. Zaragoza (España): Editora Acríbia S. A., cap. 22. 331-317p. 1995.

FAMÁ, L; ROJASB,A.M. GOYANESA,S. GERSCHENONB, L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. **Food Science and Technology**, v.38, p.631-639, 2005.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 2. ed. Trad. F.C. Oliveira et al. Porto Alegre: Artmed, p. 602. 2006.

FORATO, L. A.; BRITTO, D.; SCRAMIN, J. A.; COLNAGO, L. A.; ASSIS, O. B. G. Propriedades Mecânicas e Molhabilidade de Filmes de Zeínas Extraídas de Glúten de Milho. **Polímeros**. v. 23, n. 1, p. 42-48, 2013.

FONTANA, J. D.; DE SOUZA, A. M.; FONTANA, C. K.; TORRIANI, I. L.; MORESCHI, J. C.; GALLOTTI, B. J.; DE SOUZA, S. J.; NARCISCO, G. P.; BICHARA, J. A.; FARAH, L. F. Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 24-25, n. 1, p. 253-264, 1990.

FREITAS, T. B. de, Produção e caracterização de filmes de zeína adicionados de casca e extrato da casca de pinhão. 2015. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)** – Curso superior em Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

GU, L.; WANG, M.; ZHOU, J. Effects of protein interactions on properties and microstructure of zein–gliadin composite films. **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 288-298, 2013.

HENRIQUE, C.M., Caracterização de filmes de féculas modificadas de mandioca como subsídios para aplicação em pós-colheita de hortaliças. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu – São Paulo, 2002.

HIRAI, A.; TSUJI M., HORII, F.. **Cellulose**, v.9, p.105-113, JUN, 2002

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. v. 4. São Paulo: IMESP, 2008.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A.; Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angew Chem., Int. Ed. Engl.**, v.30,p. 3358. 2005.

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; UDHARDT, U.; MARSCH, S.; Bacterial synthesized cellulose – artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v.26, n. 9, p. 1561-1603, 2001.

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; KRAMER, F.; HEBLER, N. HORNUNG, M.; SCHMAUDER, H. P.; MARSCH, S. Nanocelluloses as innovative polymers in research and application. **Advances in Polymer Science**, v.205, p.49-96, 2006.

KRISTO, E.; BILIADERIS, C. G.; Water sorption and thermo-mechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: Caseinate–pullulan bilayers and blends; **Food Hydrocolloid**, v.20, p.1057. 2006.

KU, H.; Wang, H.; PATTARACHAIYAKOOP, N.; TRADA, M. A review on the tensile properties of natural fiber reinforced polymer composites. **Composites: Part B**, v. 42, p. 856–873, 2011

KUMAR, M.; MOHANTY, S.; NAYAK, S. K.; PARVAIZ, M. R. Effect of glycidyl methacrylate (GMA) on the thermal, mechanical and morphological property of biodegradable PLA/PBAT blend and its nanocomposites. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 21, 2010.

KURECK, I. Obtenção e Caracterização de Micropartículas de Zeína Carregadas com Extratos Antioxidantes de Casca de Noz-Pecã [*Carya illinoensis* (wangenh) C.Koch]. **Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias**, Florianópolis, 2014.

MALI, S. et al. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Revisões Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MARTINS FRANCHETTI, S. M.; MARC, J. C. Polímeros Biodegradáveis – Uma Solução Parcial para Diminuir a Quantidade dos Resíduos Plásticos. **Revista Química Nova**, Rio Claro, v. 29, p. 811-816, março 2006.

MEDICINA ANTIGA, **Senhora mãe do vinagre**, Junho, 2015. Disponível em:<<http://medicinaantigavinagre.blogspot.com.br/2015/06/senhora-mae-do-vinagre-muita-gente-nem.html>>. Acessado em: 12 set.2017

MORAES, J. O. Propriedades de filmes de amido incorporados de nanoargilas e fibras de celulose. 2009. 88f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MORMINO, R. P. Evaluation and applications of a rotating disk reactor producing bacterial cellulose. 2002. 130 f. **Thesis (Chemical Engineering)** - Faculty of Rensselaer Polytechnic Institute, New York, 2002

PAES, Maria Cristina Dias, Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. nutrição humana e ciência dos alimentos embrapa milho e sorgo. Sete Lagoas, **Circular técnica 75**, dez. 2006.

PENA-SERNA, C.; LOPES-FILHO, J. F. Influence of ethanol and glycerol concentration over functional and structural properties of zeineoleic acid films. **Revista Materials Chemistry and Physics**, p. 580-585, July 2013.

RIBEIRO, Wanessa Ximenes; Caracterização de biofilme à base de zeína e ácido oleico adicionado de nanocarbonato. 2014. 55f. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2014.

ROSA, D. S.; FRANCO, L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedade mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 82-88, 2001.

SANTA-MARIA, L. C.; LEITE, M. C. A. M.; AGUIAR, M. R. M. P., OLIVEIRA, R. O.; Arcanjo, M. E. & Carvalho, E. L. - **Química Nova Escola.**, v.17, p.32 (2003).

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L; OLIVEIRA, L.M. de; PADULA, M.; **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação das propriedades.** CETEAI/ITAL, Campinas. 2002.

SAXENA, I.M., *et al.* **Biosynthesis of cellulose.** Progress in Biotechnology, Elsevier. Volume 18: 69-76, 2001.

SÁNCHEZ, V. A. G.; DOMÍNGUEZ, G. C.; SÁNCHEZ, E. M.; PÉREZ, J.J. C.; CRUZ, G. V.; MÉNDEZ, J. V.; ROJAS, E. T.; REBOLLO, R. R. F. Preparation and characterisation of zein films obtained by electrospraying. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 1–10, 2015.

SCRAMIN, D. Britto; ASSIS, O.B.G.; COLNAGO L.A.;FORATO, L.A., In XI International Macromolecular Colloquium & 6th Isnapol, Gramado, RS, 2007. **Proceedings...** Porto Alegre - RS : UFRGS/ABPol, 2007a. 4p. 1 CD-ROM. Paper 117.2007.

SILVA, M. E. T. F. Glicopéptidos fluorescentes: síntese e caracterização. 2009. 148 f. **Tese (Doutorado)** – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade do Minho, Escola de Ciências, Braga, Portugal, 2009.

TAVARES, L.L. Efeito da adição de argilas modificadas nas propriedades de biofilmes produzidos a base de zeína. 2010. 74 p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2010.

TROVATTI, E.; FERNANDES, S. C. M.; RUBATAT, L.; PEREZ, D. S.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; NETO, C. P.; Pullulan-Nanofibrillated Cellulose Composite Films with Improved Thermal and Mechanical Properties, **Compos. Sci. Technol**, v. 72, p.1556. 2012.

VEIGA-SANTOS, P.; SUZUKI, C.K.; CEREDA, M. P. SCAMPARINI, A. R. P. Microstructure and color of starch-gum films: Effect of gum deacetylation and additives. Part 2. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 1064 – 1073, 2005.

VILLADIEGO, A. M. D. et al. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista CERES**, v. 52, n, 300, p. 221-243, 2005.

XU, H., CHAI, Y. W., ZHANG, G. Y. Synergistic Effect of Oleic Acid and Glycerol on Zein Film Plasticization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 10075–10081, 2012.

WU, J.; ZHONG, F.; Li, Y.; SHOEMAKER, F. F.; XIA, W.; Preparation and characterization of pullulan–chitosan and pullulan–carboxymethyl chitosan blended films, **Food Hydrocolloid**, v.30, p.82. 2013

ZANELA, J. Desenvolvimento e caracterização de material biodegradável a base de amido e poli (vinil álcool). **Dissertação de pós-graduação**. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ZHANG, B.; LUO, Y.; WANG, Q. Development of Silver-Zein Composites as a Promising Antimicrobial Agent. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 2366–2375, 2010.

ZHANG, B.; WANG, Q. Development of Highly Ordered Nanofillers in Zein Nanocomposites for Improved Tensile and Barrier Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 4162–4169, 2012.