



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE
MATERIAIS

GIRLAINE SANTOS DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BLENDS DE CELULOSE BACTERIANA/ALGINATO COM
INCORPORAÇÃO DE ÓLEO DE CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*)**

Recife

2021

GIRLAINE SANTOS DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BLENDS DE CELULOSE BACTERIANA/ALGINATO COM
INCORPORAÇÃO DE ÓLEO DE CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência de Materiais
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para a obtenção do
título de mestra em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais Não
Metálicos

Orientadora: Prof^a. Dr^a Glória Maria Vinhas (UFPE)

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Yêda Medeiros Bastos de Almeida (UFPE)

Recife

2021

Catálogo na fonte
Bibliotecária Nataly Soares Leite Moro, CRB4-1722

S586p Silva, Girlaine Santos da
Produção de blendas de celulose bacteriana/alginato com incorporação de óleo de canela (*cinnamomum zeylanicum*) / Girlaine Santos da Silva. – 2021.
74 f.: il., fig., tab.

Orientador: Glória Maria Vinhas.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de Materiais, Recife, 2021.
Inclui referências.

1. Materiais não metálicos. 2. Celulose bacteriana. 3. Alginato. 4. Óleo essencial de canela. I. Vinhas, Glória Maria (orientador). II. Título.

620.19 CDD (23. ed.) UFPE- CCEN 2021 - 187

GIRLAINE SANTOS DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BLENDS DE CELULOSE BACTERIANA/ALGINATO COM
INCORPORAÇÃO DE ÓLEO DE CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência de Materiais
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para a obtenção do
título de mestra em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 12/03/2021

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Fernando Hallwass (Examinador interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Sara Horácio de Oliveira Maciel (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois ele é a razão do meu viver, sem Ele não teria chegado onde estou. É Ele que me guia, que sustenta minha vida, me dá força e graça para suportar todos os obstáculos.

Aos meus pais, Joelma e Givaldo, por todo o apoio, incentivo, amor e dedicação. Vocês sempre sonharam o melhor para a minha carreira profissional e investiram em mim com tudo que tinham, sou grata a Deus por todo o esforço que me fizeram chegar até aqui hoje, eu amo muito vocês.

Ao meu noivo, Joabson, por sempre ter acreditado em mim e me incentivado a seguir em busca de meus objetivos com coragem e determinação. Você é luz em minha vida, agradeço a Deus por ter você ao meu lado sempre me ajudando, te amo.

À minha irmã, Girleide, por sempre estar ao meu lado e também por me auxiliar em alguns detalhes ortográficos da minha dissertação. Ao meu cunhado Daniel e a minha tia Aldeny, por ter me auxiliado no momento de pandemia.

Às minhas queridas professoras Glória Vinhas e Yêda Medeiros, por todo os ensinamentos que agregaram muito à minha carreira acadêmica. Agradeço por toda a paciência, apoio e dedicação. Vocês são exemplos de profissionais que levarei na minha vida para sempre.

A todos os amigos que contribuíram para o meu trabalho, sempre me apoiando e me ajudando nas áreas que tinha mais dificuldade. Nesse momento de pandemia, pude contar com pessoas que me deram as mãos, me ajudando sempre, como Karina Carvalho, Ivo Diego, Felipe Cunha, Mariana, Marcos Vinícius, Cybelle Duarte, entre outros que tanto me ajudaram no decorrer de todo o mestrado.

A UFPE que me proporcionou esta grande oportunidade de ingressar no programa de mestrado em ciência dos materiais e a CAPES que financiou a minha bolsa de estudos.

E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta na realização desta grande trajetória.

RESUMO

Nesse estudo, foram produzidas blendas de Celulose Bacteriana (CB) e Alginato de sódio (AL) aditivadas com óleo essencial de canela visando obter embalagens ativas com propriedades antimicrobianas. O trabalho foi dividido em duas etapas, na primeira foram produzidas blendas com diferentes proporções entre os polímeros, enquanto na segunda foi feito o estudo da adição do óleo de canela em diferentes percentuais na blenda selecionada na etapa anterior. A partir da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (GC-MS) foi possível verificar que o cinamaldeído foi o componente majoritário na composição do óleo essencial de canela. As bandas características do óleo foram avaliadas por Espectroscopia de Infravermelho. Foi feita a análise de atividade antimicrobiana pela técnica de poços e observou-se que o óleo foi ativo para *Enterobacter*, *Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus*. Na primeira etapa do trabalho, foram produzidas blendas nas proporções de 0/100, 30/70, 50/50, 70/30 e 100/0 de CB/AL e as mesmas se apresentaram uniformes e com boa aparência. Foi verificado que a transparência das blendas aumentou com o aumento da concentração de alginato. Em relação à solubilidade, foi possível observar que a mesma diminuiu com o aumento da concentração de celulose bacteriana. Observou-se na análise de DRX que o aumento do percentual de celulose, promovia um aumento na cristalinidade das blendas. Pela análise termogravimétrica, foi possível constatar que o aumento da concentração de celulose bacteriana aumentou a estabilidade térmica das blendas. Na segunda etapa, foi selecionada a blenda com composição 50/50 CB/AL e foram variados os percentuais do óleo essencial de canela em concentrações de 5%, 10% e 20%. Observou-se através da transparência e solubilidade que os resultados para cada análise não apresentaram diferenças significativas entre si. Pelos resultados do DRX foi possível inferir que a adição do óleo de canela provocou uma diminuição na cristalinidade nas blendas. Na análise de TGA, verificou-se que a adição do óleo essencial de canela aumentou a estabilidade térmica das blendas. Logo, foi possível obter blendas de celulose/alginato com excelentes propriedades para aplicações em embalagens.

Palavras-chave: celulose bacteriana; alginato; óleo essencial de canela; embalagem ativa.

ABSTRACT

In this study, blends of Bacterial Cellulose (CB) and Sodium Alginate (AL) were added with cinnamon essential oil in order to obtain active packaging with antimicrobial properties. The work was divided into two stages, in the first, blends were produced with different proportions between the polymers, while in the second, the study of the addition of cinnamon oil in different percentages was made in the blend selected in the previous stage. From the Gas Chromatography technique coupled to the Mass Spectrometer (GC-MS) it was possible to verify that cinnamaldehyde was the major component in the composition of cinnamon essential oil. The characteristic bands of the oil were evaluated by Infrared Spectroscopy. The analysis of antimicrobial activity was performed using the well technique and it was observed that the oil was active for *Enterobacter*, *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*. In the first stage of the work, blends were produced in the proportions of 0/100, 30/70, 50/50, 70/30 and 100/0 of CB / AL and they were uniform and good looking. It was verified that the transparency of the blends increased with the increase of the alginate concentration. Regarding solubility, it was possible to observe that it decreased with the increase in the concentration of bacterial cellulose. It was observed in the XRD analysis that the increase in the percentage of cellulose, promoted an increase in the crystallinity of the blends. Through the thermogravimetric analysis, it was possible to verify that the increase in the concentration of bacterial cellulose increased the thermal stability of the blends. In the second stage, the blend with 50/50 CB / AL composition was selected and the percentages of cinnamon essential oil were varied in concentrations of 5%, 10% and 20%. It was observed through the transparency and solubility that the results did not present significant differences. From the results of the DRX it was possible to infer that the addition of cinnamon oil caused a decrease in crystallinity in the blends. In the TGA analysis, it was found that the addition of cinnamon essential oil increased the thermal stability of the blends. Therefore, it was possible to obtain cellulose / alginate blends with excellent properties for packaging applications.

Keywords: bacterial cellulose; alginate; essential oil of cinnamon; active packaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Tipos de mecanismos de liberação de agentes antimicrobianos para uso em embalagens ativas	19
Figura 2 -	Estrutura linear da Celulose Bacteriana.....	27
Figura 3 -	Estrutura do:(a) ácido β -D-manurônico, (b) α -L-gulurônico e (c) alginato	31
Figura 4 -	Reticulação do Alginato com cálcio	32
Figura 5 -	Espectro de Infravermelho do óleo essencial de canela	44
Figura 6 -	Teste de atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela para <i>enterobacter</i> , <i>escherichia coli</i> e <i>staphylococcus aureus</i> , respectivamente.	46
Figura 7 -	Membranas (a) e pastas de Celulose Bacteriana (b) e (c).....	47
Figura 8 -	Filmes produzidos com diferentes concentrações de Celulose Bacteriana e Alginato.....	49
Figura 9 -	Espectros de infravermelho das diferentes proporções de blendas de CB/AL	50
Figura 10 -	Difratograma de raios-x das blendas de Celulose Bacteriana / Alginato .	54
Figura 11-	Curvas de TGA (a) e DTG (b) das blendas de Celulose Bacteriana/Alginato	55
Figura 12 -	Filmes de CB/AL 50/50 com variações de 0, 5 e 10% de óleo de canela, respectivamente.....	58
Figura 13 -	Espectro de infravermelho da blenda de Celulose e Alginato pura e aditivada com o óleo de canela.....	58
Figura 14 -	Análise dos componentes principais dos filmes de Celulose/Alginato puro e aditivado com 5% 10% e 20% de óleo essencial de canela	59
Figura 15 -	Loadings da PCA referente aos filmes de CB/AL aditivados com óleo de canela	60
Figura 16 -	Difratograma das blendas de CB/AL incorporadas com óleo essencial de canela	62
Figura 17 -	Curvas de TGA (a) e DTG (b) das blendas de celulose bacteriana/alginato aditivadas com óleo de canela.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais tipos de embalagens ativas para aplicação em alimentos.....	17
Tabela 2 - Composição do meio nutritivo para a manutenção do microrganismo e produção da CB	38
Tabela 3 - Composição do óleo essencial de canela obtida por GC-MS.....	43
Tabela 4 - Atribuições das bandas características no espectro do infravermelho do óleo essencial da <i>cinnamomum hatschbachii vattimo-gil</i>	45
Tabela 5 - Rendimento obtido para as blendas puras	47
Tabela 6 - Rendimentos obtidos para a blenda CB50AL50 aditivada com diferentes percentuais de óleo de canela.....	48
Tabela 7 - Atribuições das bandas características no espectro de infravermelho da Celulose Bacteriana e do Alginato.....	50
Tabela 8 - Transparência para as blendas com diferentes proporções de CB/AL	51
Tabela 9 - Solubilidade para as diferentes proporções de CB/AL.....	52
Tabela 10 - Parâmetros de TGA dos filmes.....	55
Tabela 11 - Dados da avaliação termogravimétrica	56
Tabela 12 - Transparência da blenda CB50AL50 aditivada com 0, 5, 10 e 20% de óleo de canela	60
Tabela 13 - Solubilidade da blenda CB50AL50 aditivada com 0, 5, 10 e 20% do óleo de canela	61
Tabela 14 - Parâmetros de TGA dos filmes aditivados com óleo de canela	63
Tabela 15 - Dados da avaliação termogravimétrica dos filmes aditivados com óleo de canela	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Alginato
CB	Celulose Bacteriana
CMC	Carboximetilcelulose
CV	Celulose Vegetal
DRX	Difratometria de Raio-X
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
HS	Hestrim
OD	Oxigênio Dissolvido
PA	Poliamida
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PEG	Polietilenoglicol
PET	Poli(tereftalato de etileno)
PHA	Poli-hidroxialcanoatos
PHB	Polihidroxibutirato
PLA	Poli (ácido láctico)
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PVC	Poli(cloreto de vinila)
TGA	Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1	EMBALAGENS.....	14
2.1.1	Embalagens ativas e inteligentes	15
2.1.2	Embalagens com atividade antimicrobiana	18
2.2	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	21
2.2.1	Óleo de Canela	22
2.3	POLÍMEROS.....	24
2.3.1	Biopolímeros.....	25
2.4	CELULOSE BACTERIANA (CB).....	26
2.4.1	Produção da Celulose Bacteriana	28
2.5	ALGINATO (AL).....	30
2.6	BLENDAS POLIMÉRICAS	33
3	METODOLOGIA.....	36
3.1	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA	36
3.1.1	Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)	36
3.1.2	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	37
3.1.3	Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela utilizando o método da difusão em ágar pela técnica do poço	37
3.2	PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA.....	37
3.2.1	Microrganismo.....	37
3.2.2	Meio de Cultivo.....	38
3.2.3	Ativação e propagação da linhagem	38
3.2.4	Produção da membrana de Celulose	39
3.2.5	Lavagem e purificação das membranas de celulose	39
3.3	PREPARAÇÃO DA PASTA DE CELULOSE BACTERIANA.....	39
3.4	PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE ALGINATO DE SÓDIO 2%	39

3.5	PREPARAÇÃO DAS BLENDA DE CELULOSE BACTERIANA/ALGINATO DE SÓDIO POR DISSOLUÇÃO.....	40
3.6	INCORPORAÇÃO DE ÓLEO DE CANELA NA BLENDA DE CELULOSE BACTERIANA/ALGINATO	40
3.7	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS	40
3.7.1	Espessura	40
3.7.2	Transparência	41
3.7.3	Solubilidade em água	41
3.7.4	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	41
3.7.5	Análise de Componentes Principais (PCA)	42
3.7.6	Difratometria de Raios-X	42
3.7.7	Análise Termogravimétrica	42
3.7.8	Análise estatística	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA	43
4.1.1	Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)	43
4.1.2	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	44
4.1.3	Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela utilizando o método da difusão em ágar pela técnica do poço	45
4.2	PRODUÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA E RENDIMENTO DOS FILMES	46
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS	49
4.3.1	Primeira Etapa	49
4.3.2	Segunda Etapa	57
5	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	65
	REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

A preservação da qualidade dos alimentos é um objetivo de pesquisa importante, tendo em vista que está intimamente relacionada ao melhoramento na qualidade de vida da sociedade (GHAANI *et al.*, 2016). Nos últimos anos, grandes mudanças ocorreram na cadeia de distribuição de alimentos, estimulando indústrias e pesquisadores no desenvolvimento de sistemas modernos de embalagem. Os principais desafios são: prolongar o tempo de duração dos produtos embalados, manter suas características desejáveis, qualidades nutricionais e proporcionar uma segurança microbiológica (BATTISTI *et al.*, 2017; CAVALCANTE, 2018).

Entre os sistemas que vêm sendo utilizados, as embalagens ativas têm atraído os pesquisadores por sua grande diversidade de funções. Seu funcionamento envolve a incorporação de substâncias ativas que podem provocar alterações no ambiente do material embalado, alterando o metabolismo, concedendo proteção aprimorada, melhorando a qualidade e provocando um aumento no tempo de vida útil do produto (PRIYADARSHI *et al.*, 2018).

Dentre os tipos de embalagens ativas, têm-se as que possuem funções antimicrobianas, que são utilizadas com o objetivo de reduzir, retardar ou inibir o crescimento de microrganismos que possam estar presentes na embalagem ou no material embalado. Esse controle é realizado através da incorporação ou revestimento de substâncias com propriedades antimicrobianas nessas embalagens (BIJI *et al.*, 2015). Diferentes tipos de materiais e agentes antimicrobianos vêm sendo estudados visando à produção de embalagens ativas sustentáveis com propriedades que possam aumentar a qualidade e a confiabilidade dos produtos (CAPELEZZO *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais são bastante promissores como aditivos naturais para o desenvolvimento de embalagens ativas, pois possuem atividades antimicrobianas que estão diretamente relacionadas à presença de componentes voláteis bioativos (CALO *et al.*, 2014). O óleo de canela vem sendo estudado como potencial para esse tipo de finalidade, pois contém componentes ativos em sua estrutura, como o eugenol e o cinamaldeído, que são compostos fenólicos capazes de danificar as células microbianas, retardando o seu desenvolvimento, além de serem funcionais para neutralizar os radicais livres (HAN *et al.*, 2017).

A escolha do polímero também é de fundamental importância para a produção desses materiais. Os biopolímeros que estão sendo estudados para a formação de embalagens e revestimentos de alimentos são: polissacarídeos, proteínas, lipídios, e também a combinação desses, que permitem preparar misturas com características melhoradas (HAN *et al.*, 2017; REBELO *et al.*, 2017, SHI *et al.*, 2015).

Dentre os polissacarídeos, a celulose bacteriana (CB) é um biopolímero que apresenta excelentes propriedades, apresentando uma nanoestrutura fibrilar, que permite uma alta cristalinidade, alta porosidade, excelente resistência mecânica, boa conformabilidade, grande capacidade de retenção de água, entre outras propriedades (UZYOL; SAÇAN, 2016). Por outro lado, o alginato (AL) é outro polissacarídeo com ótimas propriedades como a sua alta capacidade de ligação à água, bem como suas propriedades gelificantes, estabilizadoras e viscosificantes (HECHT; SREBNIK, 2016)

Sendo assim, a formação de uma blenda composta pelos dois polímeros citados possibilita a agregação de propriedades com grandes potenciais, produzindo compostos com características distintas dos materiais de origem. Vale ressaltar, que os dois biopolímeros são biodegradáveis, biocompatíveis e não tóxicos, o que torna possível a aplicação no âmbito de embalagens de alimentos. Estudos já foram realizados a partir da produção de blends com os dois polímeros para áreas da medicina, imobilização de enzimas e separação de misturas, e foi observado que os materiais foram biocompatíveis (KIM *et al.*, 2017; SHAO *et al.*, 2015; SURATAGO *et al.*, 2015). Mas, a aditivação dessa blenda com óleo essencial de canela, como aditivo ativo antimicrobiano, surge como um estudo inovador e promissor para o segmento de embalagens ativas.

Diante do exposto, o objetivo principal deste trabalho foi produzir blends de Celulose Bacteriana/Alginato incorporadas com óleo essencial de canela, visando obter embalagens ativas com propriedades antimicrobianas. Foram avaliadas diferentes proporções entre os polímeros, e as blends foram caracterizadas pelas técnicas de Difractometria de Raio-X (DRX), Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Análise Termogravimétrica (TGA), Solubilidade, Atividade antimicrobiana, Espessura e Transparência.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EMBALAGENS

As embalagens possuem um valor significativo para a sociedade, tendo em vista que a maioria dos alimentos necessita de uma proteção externa para garantir uma maior confiabilidade. A sua principal função consiste em ser um recipiente para os alimentos, proporcionando um transporte eficiente, como também evitando danos físicos e protegendo de adulterações. É fundamental também para a qualidade e segurança dos alimentos, impedindo alterações biológicas e químicas indesejáveis. A embalagem opera como uma barreira, protegendo os alimentos contra influências ambientais, como umidade, oxigênio, poeira, luz, contaminações, entre outras (YILDIRIM *et al.*, 2018).

Segundo Ghaani *et al.* (2016), a embalagem desempenha quatro funções fundamentais: proteção, comunicação, conveniência e contenção. Com relação à primeira, a embalagem protege os produtos do ambiente externo, o que assegura uma maior preservação do alimento. A comunicação é percebida no ato de informar ao cliente através dos textos escritos, gráficos, logotipo da marca. A conveniência do cliente está relacionada à acomodação do mesmo, como por exemplo, os alimentos prontos que só precisam ser aquecidos, as embalagens de abertura fácil, etc. Por fim, a última função citada significa que os pacotes atuam para produtos de tamanhos e formas diferentes, visando à otimização da eficiência logística.

A produção das embalagens possui uma grande diversidade, dependendo de cada tipo de aplicação para a qual será utilizada. Os requisitos para que essas embalagens entrem em contato com os alimentos vêm aumentando, tendo em vista que os consumidores têm buscado por produtos frescos, preservados, com uma vida útil prolongada, seguros, saudáveis e de qualidade. Sendo assim, o aprimoramento da tecnologia dessas embalagens torna-se um desafio para os produtores, os quais procuram melhorar determinadas propriedades, tais como: transparência, proteção ultravioleta, barreira adequada aos gases e prolongamento do período de armazenamento (AHMED *et al.*, 2017).

Segundo Araújo (2019), as embalagens podem ser classificadas em primárias, secundárias, terciárias, quartenárias e de quinto nível, dependendo de suas funções. Os materiais que mais são utilizados para a produção das embalagens são: plásticos, vidros, madeira, celulósicos e metais.

Ainda de acordo com o mesmo autor, as embalagens plásticas oriundas dos polímeros

sintéticos derivados do petróleo, apresentam uma ampla aplicação em relação aos outros materiais utilizados em embalagens, devido a sua ampla versatilidade, baixo custo e também por proporcionar uma melhoria contínua nas propriedades do material embalado. Os polímeros mais comumente utilizados na conservação ou na embalagem de alimentos são o Polietileno de alta densidade (PEAD), Polietileno de baixa densidade (PEBD), Polipropileno (PP), Poli(cloreto de vinila) (PVC), Poliamida (PA) e Poli(tereftalato de etileno) (PET) (LIMA, 2018; ARAÚJO, 2019; SOARES *et al.*, 2009; LEBER, 2018).

O papel das embalagens vem mudando nos últimos anos de um simples método de preservação e contenção para a inclusão de aspectos seguros, convenientes, que possuam marketing e que sejam sustentáveis para a preservação do meio ambiente. Nesse contexto, as tecnologias de embalagens ativas e inteligentes utilizam soluções inovadoras que prolongam a vida útil e também melhoram a qualidade dos alimentos (AHMED *et al.*, 2017).

2.1.1 Embalagens ativas e inteligentes

O crescente aumento da população e, conseqüentemente, da demanda de alimentos vem impulsionando o interesse nas embalagens ativas e inteligentes. Esses tipos de embalagens podem ser úteis para o fornecimento de informações importantes sobre determinado alimento. As embalagens ativas possuem a capacidade de manter ou prolongar o prazo de validade ou a qualidade do produto, o que reduz o desperdício de alimentos, a deterioração e também a proliferação de doenças alimentares (VILELA *et al.*, 2018). Já as embalagens inteligentes, consistem em sistemas que possuem a capacidade de fornecer informações que possam facilitar a tomada de decisões e alertar sobre determinados problemas, melhorando a qualidade e segurança dos produtos (ARAÚJO, 2019).

A embalagem pode ser considerada ativa quando além de atuar como uma barreira inerte ao ambiente externo, desempenha a função de interagir com o produto embalado e promover o aumento de sua vida útil. Esse tipo de embalagem é baseado em um sistema em que ocorre a interação entre o produto, a embalagem e o ambiente de forma positiva, prolongando o tempo de prateleira e desenvolvendo algumas características, como atividade antimicrobiana, antioxidante e aromática. Elas são projetadas para incorporar componentes que liberem ou absorvam substâncias no ambiente interno ao material embalado, alterando seu metabolismo, protegendo, melhorando sua qualidade e aumentando o prazo de validade (BIJI *et al.*, 2015; PRIYADARSHI *et al.*, 2018).

Para prolongar a vida útil dos alimentos alguns parâmetros precisam ser considerados,

como remoção de oxigênio, controle de temperatura e umidade, adição de alguns produtos químicos como açúcar, sal, ácidos naturais, dióxido de carbono, entre outros (BIJI *et al.*, 2015). Vários sistemas de embalagens ativas vêm sendo divulgados, como reguladores de umidade, captadores de O₂ e etileno, captadores e emissores de CO₂, dispositivos controladores da liberação ou adsorção de odores e sabores e sistemas que apresentam liberação controlada de antimicrobianos e antioxidantes (GHAANI *et al.*, 2016). A Tabela 1 fornece informações sobre os principais tipos de embalagens ativas com seus respectivos benefícios para as aplicações em alimentos.

Tabela 1 - Principais tipos de embalagens ativas para aplicação em alimentos.

	Tipo de Embalagem Ativa	Tipo de alimento
Absorvedores	Eliminador de Oxigênio	Carnes cozidas, produtos de panificação, queijo ralado, sementes, nozes e óleos, sucos de frutas e vegetais.
	Eliminador de Umidade	Cogumelos, morangos, tomates, sementes, grãos, milhos, carne e peixe fresco.
	Absorvente de etileno	Frutas e legumes climatéricos.
Emissores	Liberador Antioxidante	Produtos fritos, sementes, nozes e óleos, peixe e carne gordurosos e frescos.
	Emissor de CO ₂	Peixe e carne frescos.
	Sistemas de embalagem antimicrobiana	Laticínios, grãos, cereais e produtos de panificação, peixe fresco e defumado, carnes frescas e processadas, produtos do mar frescos e refeições prontas para o consumo.

Fonte: Adaptado de Yildirim *et al.*, (2018)

A presença de oxigênio nas embalagens pode levar à oxidação dos alimentos, afetando de forma negativa a qualidade e o prazo dos produtos, e pode também promover o crescimento de alguns microrganismos aeróbicos, provocando alterações sensoriais, modificações nas cores ou até mesmo perdas nutricionais (YILDIRIM *et al.*, 2018). Vários métodos são utilizados para reduzir ou extinguir o O₂ do interior das embalagens, entre esses estão inclusos a atmosfera modificada e vácuo, porém só reduzem o teor de oxigênio, deixando entre 2 a 5% remanescente.

Outro método utilizado são os absorvedores de O₂, no qual a concentração do mesmo pode atingir níveis de 0,01% (CRUZ *et al.*, 2005).

O controle da umidade também é um fator importante para a preservação dos alimentos. A presença de água em determinado produto embalado causa uma rápida contaminação por microrganismos e também reduz o tempo de vida útil. Logo, pode-se dizer que a principal finalidade no controle da umidade é reduzir a atividade biológica da água, inibindo o crescimento de bactérias, leveduras e fungos. Uma ferramenta que apresenta eficácia para esse controle são os captadores de umidade (WYRWA; BARSKA, 2017).

Segundo Yildirim *et al.* (2018), o etileno consiste em um polímero que funciona como hormônio estimulador de crescimento das plantas, aumentando a taxa de respiração de alimentos frescos, diminuindo a vida útil no armazenamento e também provocando um amolecimento excessivo de frutas. Devido a esses fatores, a remoção do etileno do produto torna-se necessária e pode ser realizada pelos eliminadores de etileno, os quais diminuem a senescência e o amadurecimento, proporcionando uma melhor qualidade e aumentando o tempo de vida útil.

A utilização de embalagens ativas antioxidantes vem se destacando no intuito de preservar determinados alimentos que apresentem sensibilidade à oxidação. Esse método consiste em incorporar substâncias antioxidantes em papéis, sachês ou filmes plásticos, que serão liberadas com a finalidade de proteger os alimentos do processo de degradação oxidativa, inibindo a oxidação ao reagirem com peróxidos e radicais livres, aumentando o tempo de vida útil (BATTISTI, 2016).

A emissão de CO₂ é importante por apresentar efeitos inibitórios para uma variedade de bactérias e fungos aeróbicos, agindo no metabolismo, inibindo e dificultando o crescimento deles. Esse sistema pode ser visto como uma técnica complementar em relação à eliminação de O₂ (FANG *et al.*, 2017). Além disso, pode ser utilizada também para reduzir o tamanho das embalagens, permitir um maior grau de enchimento, facilitando o transporte e reduzindo o impacto ambiental. Os sistemas que emitem CO₂ mais comumente utilizados são constituídos de misturas de bicarbonato de sódio e ácido ascórbico ou carbonato de ferro (ARAÚJO, 2019).

2.1.2 Embalagens com atividade antimicrobiana

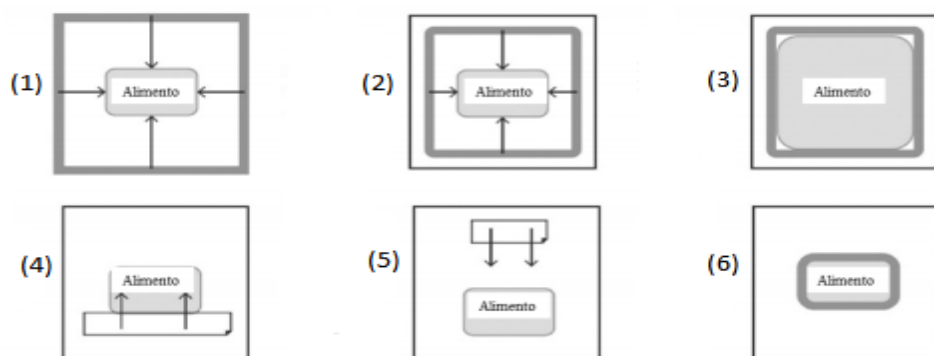
O crescimento de microrganismos deteriorantes ou patogênicos é o principal responsável pela deterioração dos alimentos, sendo assim, os agentes antimicrobianos

correspondem a um dos componentes ativos mais estudados para solucionar esse problema (VILELA *et al.*, 2018).

A embalagem antimicrobiana é utilizada com o objetivo de reduzir, retardar ou inibir o crescimento de microrganismos que possam estar presentes tanto na embalagem, como no produto embalado. Dessa forma, para se obter um maior controle da presença de microrganismos indesejáveis, substâncias com propriedades antimicrobianas podem ser incorporadas ou revestidas nas embalagens dos alimentos. É importante que essas embalagens atuem estendendo a fase de latência e reduzindo a de crescimento dos microrganismos, prolongando a vida útil e proporcionando uma maior segurança (BIJI *et al.*, 2015).

De acordo com Araújo (2019), a liberação dos agentes antimicrobianos pode ser realizada de diferentes formas. Esses diferentes tipos de liberação podem ser observados na Figura 1: polímero para o alimento através do espaço livre da embalagem (1); cobertura polimérica para o alimento através do espaço livre da embalagem (2); cobertura polimérica para o alimento através do contato direto (3); almofada para o alimento através do contato direto (4); sachê para o alimento através do espaço livre da embalagem (5); e filme comestível para o alimento através do contato direto (6).

Figura 1 - Tipos de mecanismos de liberação de agentes antimicrobianos para uso em embalagens ativas.



Fonte: Adaptado de Araújo (2019)

Vários métodos são utilizados para o desenvolvimento de embalagens antimicrobianas, e as categorias são divididas da seguinte maneira (MOUSAVI KHANEGHAH *et al.*, 2018; FANG *et al.*, 2017):

- Incorporação de compostos antimicrobianos voláteis dentro da embalagem em uma saqueta / almofada.

- Incorporação diretamente na estrutura dos polímeros de substâncias antimicrobianas voláteis e não voláteis.
- Aplicação de um revestimento ou composto adsorvente com propriedades antimicrobianas nas superfícies do polímero.
- Imobilização de agentes antimicrobianos nos polímeros através de ligações iônicas ou covalentes.
- Aplicação de polímeros que podem atuar naturalmente como agentes antimicrobianos.

Considerando a migração do agente ativo as embalagens antimicrobianas podem ser classificadas de duas formas: aquelas que os agentes migram para a superfície do material e as que são eficientes sem a migração do agente ativo para os alimentos. Dentre os agentes antimicrobianos, podem-se citar os naturais que incluem extratos ou óleos de especiarias, tais como canela, cravo, alecrim, orégano, tomilho, cebola, rábano, alho; como também substâncias que possuam ações bacterianas e fúngicas, como nisina, natamicina, pediocina e várias bacteriocinas (BIJI *et al.*, 2015).

Para Saorin (2015), a atividade antimicrobiana é conferida através de um controle na migração dos agentes ativos da embalagem para o alimento. Esse controle pode ser uma alternativa efetiva para inibir o crescimento dos microrganismos, podendo reforçar a eficácia de sua incorporação. A migração pode ser atingida pelo contato direto entre a embalagem e o alimento ou pela difusão da fase gasosa da camada da embalagem para o alimento.

A necessidade de aumentar o tempo de vida útil dos alimentos exige pesquisas e inovações que ofereçam medidas alternativas no âmbito das embalagens ativas. As tendências atuais visam ao desenvolvimento de embalagens funcionais com propriedades antimicrobianas e que sejam favoráveis ao meio ambiente, possuindo um baixo nível de impacto ambiental (CAPELEZZO *et al.*, 2018).

Assim, pesquisadores vêm se empenhando na produção dessas embalagens, utilizando diferentes tipos de materiais e agentes antimicrobianos (ABDEL AZIZ *et al.*, 2018; SHAO *et al.*, 2015; CAVALCANTE, 2018). Um exemplo de agente que vem sendo utilizado são os óleos essenciais. É possível encontrar na literatura diversos estudos relacionados à incorporação desses compostos ativos como agentes antimicrobianos em materiais poliméricos. Almeida (2017), por exemplo, desenvolveu embalagens ativas compostas de biocompósitos de amido-celulose com incorporação de óleos essenciais de orégano e hortelã para utilização em pães de forma.

Albuquerque (2019) desenvolveu uma blenda à base de celulose bacteriana (CB) e polihidroxibutirato (PHB) utilizando o óleo de cravo como agente antimicrobiano. Foi observado que a adição do óleo reduziu de forma significativa o crescimento microbiano e ocorreu uma melhora nas propriedades mecânicas e térmicas da blenda em comparação à celulose pura.

Outros trabalhos utilizando óleos essenciais incorporados em polímeros também podem ser citados, como por exemplo o desenvolvimento de filmes de acetato de celulose com incorporação de óleo de pimenta rosa (DANNENBERG, 2017), a produção de filmes ativos de gelatina e quitosana com a incorporação de óleos essenciais de orégano e alecrim (GALINDO, 2017) e a produção de filmes de PVC incorporados com óleo essencial de cravo (LIMA, 2018).

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

De acordo com a 7^o edição da Farmacopeia, os óleos essenciais são definidos como produtos odorantes, normalmente com composição complexa, em que o processo de obtenção ocorre a partir de uma matéria-prima vegetal, podendo ser por meio de extração a vapor de água, destilação a seco ou através de um processo mecânico adequado sem aquecimento (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2011). Devido à sua hidrofobicidade e densidade normalmente menor que a da água, são líquidos lipofílicos, imiscíveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Esses contêm diversos componentes ativos e são extraídos de diferentes partes da planta, como das flores, raízes, sementes, folhas, frutos, cascas, entre outras (ASBAHANI *et al.*, 2015).

Os óleos essenciais são constituídos por compostos como terpenos, ácidos, álcoois, epóxidos, ésteres, aldeídos, aminas, cetonas, fenóis e sulfetos. Seus componentes podem ser divididos em dois grupos: os compostos terpenos e os aromáticos. A composição química desses óleos varia conforme o desenvolvimento da planta, a localização geográfica, o método de extração e as características do solo e clima (CALO *et al.*, 2014; CAVALCANTE, 2018).

Conforme Calo *et al.* (2014), os óleos essenciais possuem atividades antimicrobianas, que estão diretamente relacionadas à presença de componentes voláteis bioativos. Essa ação antimicrobiana pode estar atribuída à sua capacidade de penetrar através das membranas das bactérias e exibir inibição nas propriedades funcionais da célula e também nas suas propriedades lipofílicas. Outra característica importante é sua natureza fenólica que provoca uma resposta antimicrobiana frente a bactérias patogênicas que possuem origem alimentar.

De acordo com Mousavi Khaneghah *et al.* (2018), os aldeídos, terpenóides e fenóis

oxigenados são os principais componentes dos óleos essenciais responsáveis pela atividade antimicrobiana. Os mesmos autores também consideram que a hidrofobicidade é uma característica importante dos óleos essenciais, pois permite que ocorra uma interação com os lipídios da membrana celular microbiana, tornando as estruturas com uma menor organização e mais permeáveis. Esse aumento na permeabilidade permite a saída de íons e outros componentes celulares, levando à morte dos microrganismos.

Estudos direcionados aos agentes antimicrobianos para utilização em embalagens ativas vêm recebendo atenção devido aos seus benefícios. Vários óleos essenciais vêm sendo testados por pesquisadores, como o óleo de orégano e hortelã (ALMEIDA, 2017), óleo de pimenta rosa (SILVA, 2017), óleo essencial de *thymus vulgaris* (CAVALCANTE, 2018), entre outros. Dentre eles, o óleo essencial de canela vem se destacando devido as suas propriedades antibacterianas. O óleo de canela é um poderoso agente antimicrobiano comparado a outros óleos essenciais como óregano, cravo-da-índia ou tomilho (CLEMENTE *et al.* (2016).

2.2.1 Óleo de Canela

A canela é uma planta nativa do Sri Lanka e considerada um tempero tropical asiático, e é obtida da casca interna de diversas árvores do gênero *Cinnamomum*, pertencente à família Laurecea. Há várias espécies de canela, que são importantes especiarias populares utilizadas em todo o mundo, possuindo uso não apenas na culinária, mas também em medicamentos tradicionais e modernos (SÁ, 2019; DOH *et al.*, 2017). As cascas e folhas possuem aplicação em diversos distúrbios e apresentam funções: antibacteriana, antioxidante, antifúngica, antidiabética, anti-inflamatória, inseticida, nematicida e efeitos anti-câncer (VASCONCELOS *et al.*, 2018).

Ainda em concordância com Vasconcelos *et al.* (2018), assim como outras plantas, a canela possui uma grande variedade de metabólitos secundários que possuem propriedades antibacterianas. Ao contrário dos metabólitos primários, os secundários não são essenciais para a planta sobreviver, porém são compostos que defendem contra concorrentes e patógenos. Esses compostos incluem o cinamaldeído, ácido cinâmico, cinamato e uma grande variedade de óleos essenciais, como eugenol, acetato de cinamila, terpinoleno, transcinnamaldeído, acetato de cinamila, entre outros. A quantidade e a presença de cada um dos compostos variam de acordo com a parte da planta utilizada.

Os óleos de canela com maior importância no comércio são as pertencentes às espécies *Cinnamomun zeylanicum*, *Cinnamomum camphora* e *Cinnamomun cassia*. Esses óleos podem

ser extraídos por hidrodestilação, extração assistida por micro-ondas ou extração por solvente. A composição desses compostos varia de acordo com a origem geográfica e as condições de processamento, sendo normalmente determinada empregando cromatografia em fase gasosa. O rendimento e a composição são afetados pelo método de extração (CARDOSO-UGARTE *et al.*, 2016).

O óleo de canela é classificado como uma substância segura para preservação de alimentos pelo FDA (FDA, 2014). Uma limitação nas aplicações se dá pela sua volatibilidade e instabilidade química quando na presença de luz, ar, umidade e altas temperaturas (CUI *et al.*, 2016).

O eugenol e o cinamaldeído são considerados os principais componentes ativos desse óleo. Esses compostos fenólicos são capazes de danificar as células microbianas, provocando um retardamento em seu desenvolvimento e também possuem uma alta capacidade de neutralizar os radicais livres (HAN *et al.*, 2017).

O eugenol (C₁₀H₁₂O₂) é um hidroxifenilpropeno que ocorre de forma natural nos óleos essenciais de diversas plantas pertencentes às famílias Lauraceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Myristicaceae. É uma substância aromática fenólica que apresenta sabor e odor agradáveis e pertence à classe alil-benzeno dos fenilpropanóides. A sua atividade antimicrobiana pode ser atribuída à presença de um grupo hidroxila livre na molécula (MARCHESE *et al.*, 2017).

Por outro lado, o cinamaldeído (3-fenil-2-propenal), um álcool terpeno cíclico, é considerado o principal componente ativo do óleo essencial de canela, com uma porcentagem de 60-75%. O composto contém componentes terpenóides ou fenólicos, hidrofóbicos que possuem alta atividade antimicrobiana frente a vários patógenos, incluindo bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos (FIGUEIREDO *et al.*, 2017).

Devido aos seus componentes ativos, o óleo de canela possui grande potencial para o desenvolvimento de embalagens ativas com funções antimicrobianas. Mohammadi *et al.* (2020) produziram filmes à base de isolado de proteína de soro de leite biodegradável, incorporado com nanofibra de quitosana e óleo essencial de canela com finalidade antimicrobiana. Os autores observaram que os filmes apresentaram efeito inibitório contra os patógenos testados (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*). Seu teste antimicrobiano indicou que os filmes podem preservar o efeito inibitório do óleo essencial contra as bactérias testadas durante o armazenamento por um mês.

Wang *et al* (2018) investigaram o efeito antibacteriano do óleo essencial de canela, avaliando o seu principal constituinte, o cinamaldeído, contra *Porphyromonas gingivalis*. Os

resultados mostraram o potencial do óleo como agente antimicrobiano natural contra a doença periodontal, e também foi confirmado que o cinamaldeído é a substância do óleo de canela que possui ação inibitória contra a *P. gingivalis*.

Outros trabalhos envolvendo a incorporação de óleo essencial de canela em polímeros foram realizados. Han *et al.* (2017) produziram filmes de alginato de sódio/carboximetilcelulose (AL/CMC) utilizando o glicerol como agente plastificante, óleo de canela como agente antimicrobiano e Tween® 80 como surfactante. Um dos resultados obtidos foi que os filmes exibiram excelentes propriedades antimicrobianas para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e também foi observado que os revestimentos poderiam prolongar a vida útil das bananas.

Ahmed *et al.* (2016) desenvolveram filmes à base de Poli(ácido láctico) (PLA) incorporando polietilenoglicol (PEG) e óleo de canela através do método de fundição em solução. A eficácia dos filmes foi testada contra *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* inoculadas em amostras de frango e foi verificado que o filme contendo 50% do óleo de canela apresentou atividade antibacteriana pelo período de 16 dias de armazenamento em condição refrigerada. Sendo assim, foi observado que os filmes apresentaram atributos para embalagem de frangos com armazenamento prolongado.

2.3 POLÍMEROS

Os polímeros são classificados como naturais ou sintéticos, de acordo com a sua ocorrência. Os naturais são encontrados de forma abundante na natureza, possuindo em sua estrutura química uma série de funções orgânicas e exercendo um importante papel biológico, alguns exemplos são os carboidratos, lipídios, proteínas, celulose e ácidos nucleicos. Já os polímeros sintéticos são obtidos industrialmente, alguns exemplos são o poliuretano, o poliestireno e o náilon (SANTOS *et al.*, 2015).

Os polímeros sintéticos à base de petróleo são geralmente utilizados para produção de embalagens para serem aplicadas na área de alimentos. Esses materiais possuem uma ampla aplicabilidade, pois apresentam algumas características atrativas, como versatilidade e um baixo custo. São utilizados como filmes, garrafas, bandejas, que estão em contato direto com os alimentos, e por serem de origem sintética, apresentam vantagens e desvantagens (MOUSAVI KHANEGHAH *et al.*, 2018; ARAÚJO, 2019).

Dentre as vantagens, pode-se citar grande disponibilidade industrial, baixo custo, facilidade de fabricação, baixa densidade e boas propriedades de processamento para aplicações

de alimentos. Como principal desvantagem tem-se o longo tempo de degradação, o que gera problemas ambientais (ARAÚJO, 2019).

Os polímeros mais utilizados no setor de embalagens são o polietileno (PE), polipropileno (PP) e poli(tereftalato de etileno) (PET). Além desses, poliestireno (PS) e poli(cloreto de vinila) (PVC) também são utilizados com frequência devido à resistência biológica e boas propriedades de barreira à água. O principal problema na utilização de plásticos para a embalagem é o resíduo gerado, contribuindo com 63% dos resíduos plásticos (ALBUQUERQUE, 2019).

Sabendo-se que o descarte inadequado é o destino final das embalagens após o consumo dos alimentos, pode-se afirmar que estes contribuem significativamente para o acúmulo dos resíduos sólidos não biodegradáveis, acarretando sérios problemas ao meio ambiente. Assim, o estudo de polímeros naturais biodegradáveis vem ganhando espaço em pesquisas científicas para uso em embalagens ativas com aplicação em alimentos (PRIYADARSHI *et al.*, 2018).

2.3.1 Biopolímeros

Os biopolímeros podem ser definidos como polímeros naturais que são biossintetizados integralmente por organismos vivos, e são degradáveis biologicamente (ANDRADE *et al.*, 2001). Estes contêm unidades monoméricas unidas de maneira covalente, formando estruturas maiores e são geralmente renováveis e sustentáveis. Esses materiais exigem propriedades importantes como biodegradabilidade e biocompatibilidade (PATTANASHEETTI *et al.*, 2016; GOPI *et al.*, 2016).

Os biopolímeros são derivados da biomassa animal, vegetal ou microbiana e possuem relevância no âmbito da diminuição das reservas de petróleo e dos impactos ambientais associados à utilização dos polímeros de origem sintética. Podem ser polissacarídeos, glicolipídios, lipopolissacarídeos, proteínas ou polihidroxialcanoatos (KANMANI *et al.*, 2017).

A celulose e a quitosana são os biopolímeros mais abundantes na Terra e também os mais requisitados (AHMAD *et al.*, 2015). Outros também utilizados para aplicações ambientais são a lignina, tanino, amido, pectina, alginato, entre outros (KANMANI *et al.*, 2017).

Os biopolímeros podem ser produzidos por meio de matérias-primas naturais como açúcar, amido e celulose. As composições químicas e as estruturas dos biopolímeros são bastante parecidas com as macromoléculas do ambiente extracelular nativo. Observa-se que os biopolímeros apresentam algumas vantagens em relação aos polímeros sintéticos, como uma

estrutura bem definida, biodegradabilidade e renovabilidade (PATTANASHEETTI *et al.*, 2016; REBELO *et al.*, 2017).

Os biopolímeros possuem várias aplicações, sendo utilizados como materiais médicos, cosméticos, embalagens, tecidos, aditivos alimentares, absorventes, produtos químicos para tratamento de água e biossensores, e possuem três grupos principais: polissacarídeos, proteínas e polinucleotídeos (REBELO *et al.*, 2017).

A celulose bacteriana é um biopolímero que vem sendo utilizado para diversas aplicações. Estudos vêm sendo realizados para utilização desse polímero na área de embalagens ativas. Padrão *et al.* (2016) produziram filmes de CB que foram modificados por adsorção de lactoferrina bovina e foi observado que apresentaram potencialidade para serem utilizados como revestimento de produtos à base de carne. Albuquerque (2019), desenvolveu uma blenda de CB e PHB aditivado com óleo de cravo e obteve resultados favoráveis para utilização em embalagens ativas de alimentos, como uma redução na taxa de crescimento da bactéria *E.coli*, com uma diminuição de aproximadamente 65% do crescimento microbiano durante 30h.

O alginato também é um polímero que vem sendo estudado para aplicações em embalagens ativas. Abdel Aziz *et al.* (2018), por exemplo, produziram filmes bioativos comestíveis de alginato de sódio incorporados com óleo de mamona, e obtiveram resultados satisfatórios em suas propriedades mecânicas, térmicas e antibacterianas.

Oliveira (2020) produziu filmes de alginato incorporados com hidrolisados de proteínas, obtendo propriedades que sugerem que os filmes sejam aplicados como embalagens bioativas para alimentos gordurosos susceptíveis ao crescimento microbiano e à oxidação.

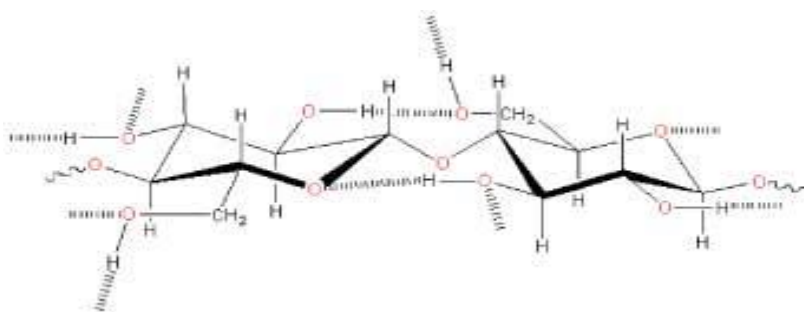
Os biopolímeros citados possuem uma significativa importância para diversas aplicações, além das embalagens ativas, e dentre eles, a celulose bacteriana surge como um dos mais promissores para matriz polimérica para fins de material bioativo, o que conduz a fundamentar sobre esse polissacarídeo, visto que corresponde ao tema principal dessa dissertação.

2.4 CELULOSE BACTERIANA (CB)

A celulose bacteriana é um biopolímero que vem sendo bastante utilizado no mundo, apresentando diversas aplicações (AMORIM *et al.*, 2019). Pode ser produzida por diferentes métodos, tendo como principais fontes as plantas, mas podendo ser sintetizada também por meio de bactérias (UZYOL; SAÇAN, 2016).

A celulose ($C_6H_{10}O_5$) consiste em um homopolímero formado por uma cadeia linear que não apresenta ramificações, em que moléculas de glicose estão unidas por ligações do tipo β (1 $\rightarrow$ 4) glicosídicas. A estrutura da CB consiste em moléculas de glicose combinadas formando uma rede de microfibras unidas por ligações de hidrogênio. Na celulose, os monômeros estão posicionados de tal maneira que as moléculas de glicose ficam rotacionadas 180° umas em relação às outras (MOHITE; PATIL, 2014). A estrutura da CB pode ser visualizada na Figura 2.

Figura 2 - Estrutura linear da Celulose Bacteriana.



Fonte: Donini *et al* (2010)

Em relação à celulose vegetal (CV), a CB possui a vantagem de não apresentar lignina e hemicelulose, o que a torna uma fonte pura. A CB também se distingue por possuir um alto índice de cristalinidade (60-90%) e grau de polimerização diferente, geralmente entre 2000 e 6000 (CHAGAS, 2018). Também é caracterizada por possuir uma alta resistência à tração (200-300 MPa), comparada a outros polímeros como o PP (30-40 MPa) e o PET (50-70 MPa), moldabilidade e insolubilidade na maioria dos solventes (KLEMM *et al.*, 2005; MOHIT; PAHIL, 2014; TYAGI; SURESH., 2015).

Ainda segundo os mesmos autores, as fibras da celulose bacteriana são cem vezes mais finas que a do vegetal, e ainda possuem alta capacidade de retenção de água, podendo atingir até 100 vezes o valor do próprio peso seco. A CB é caracterizada por apresentar propriedades como alta biocompatibilidade, microporosidade, hidrofiliçidade, transparência e além disso, não apresenta toxicidade. Por essas características, a celulose bacteriana vem ganhando maior destaque em relação à vegetal (KHALID *et al*, 2017).

Brown (1886) foi o primeiro a relatar um estudo relacionado à produção de celulose a partir de bactéria. O referido autor relatou a presença de uma membrana gelatinosa que cresceu de forma ocasional sobre a superfície de uma fermentação de vinagre com bactérias acéticas. Depois de realizada a análise desse material, foi verificado que se tratava da celulose, produzida

como parte do metabolismo de algumas espécies de bactérias. Atualmente, várias pesquisas são feitas com o propósito de otimizar a produção de celulose bacteriana, e esses estudos envolvem a avaliação da fonte de carbono utilizada, presença de precursores, acidez do meio de produção, tipo de processo, aeração, entre outros (JOZALA *et al.*, 2016; UZYOL, SAÇAN, 2016; ALBUQUERQUE, 2019).

2.4.1 Produção da Celulose Bacteriana

A Celulose Bacteriana é conhecida por ser um polímero nanoestruturado produzido por alguns gêneros bacterianos pertencentes às espécies *Komagataeibacter* (antiga *Glucanacetobacter*), *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Achromobacter*, *Escherichia*, *Azotobacter* e *Sarcina*, em meios que contêm carbono e nitrogênio (UZYOL, SAÇAN, 2016; AZEREDO, 2018).

A CB é produzida de maneira extracelular por bactérias Gram-negativas e dentre os microrganismos produtores, o mais estudado é a espécie *Komagataeibacter xylinum* (PICHETH *et al.*, 2017). Sheykhnazari *et al* (2011) afirmam que essa espécie é aeróbia, sendo produzida a temperaturas entre 25 e 30°C e potencial hidrogeniônico (pH) de 3 a 7, utilizando como fontes de carbono glicose, sacarose, frutose, manitol, entre outras. A mesma pertence à família Acetobacteriaceae, sendo não patogênica e podendo ser encontrada em frutos, vegetais e produtos fermentados.

Os principais fatores que interferem na morfologia, composição e propriedades da CB são temperatura, pH, meio de cultura, design do reator, disponibilidade de oxigênio, tempo de incubação, volume do inóculo, cepa utilizada e aditivos (CAMPANO *et al.*, 2016).

Segundo Araújo e Silva (2019), a redução do pH no decorrer do processo fermentativo resulta do metabolismo respiratório das bactérias pertencentes ao gênero *Komagataeibacter*, as quais convertem a glicose em ácido glucônico e oxidam etanol a ácido acético. Os maiores rendimentos para a produção de CB ocorrem com o pH entre 4,0 e 6,0, apesar desses valores apresentarem dependência com a cepa utilizada. Valores abaixo desse intervalo desfavorecem o crescimento bacteriano e diminuem a produtividade da CB.

O tipo de processo fermentativo também pode afetar a produção da celulose. Esta pode ser produzida em condições estáticas, agitadas ou por biorreatores. Na condição estática, observa-se que há uma baixa disponibilidade de oxigênio, ocorrendo a síntese da membrana gelatinosa de CB na superfície do meio de cultura (interface entre ar/líquido), enquanto na condição agitada a CB é formada com uma massa irregular, como pellets, grânulos e fios

fibrosos. A escolha do método dependerá do tipo de aplicação desejada, como também das características morfológicas, mecânicas e físicas necessárias (UZYOL; SAÇAN, 2016).

No cultivo estático, observa-se uma maior facilidade de remoção da membrana de CB, tendo em vista que a mesma é formada na superfície do meio. Nesse tipo de cultivo, umas das vantagens é a redução do trabalho manual, porém uma das limitações para aplicação em larga escala é o requerimento de uma grande área superficial e também de um longo tempo para o processo fermentativo (ARAÚJO E SILVA, 2019).

Para Albuquerque (2019), é necessária uma regulação da aeração e da concentração da fonte de carbono para que seja formada uma película tridimensional e reticularmente interconectada. A produção de CB atinge o seu limite máximo quando ocorre o aprisionamento de todas as bactérias em decorrência do crescimento da película, tornando-as inativas devido ao fornecimento insuficiente de oxigênio.

No meio do cultivo agitado, o oxigênio dissolvido (OD) está presente em maiores concentrações, o que favorece a produção de ácido glucônico, que minimiza a produção de CB. O tempo de fermentação é reduzido, porém existem células mutantes, não produtoras de celulose, que provocam um declínio na produção da celulose. O método é utilizado principalmente quando se objetiva altas taxas de produção de CB para fins comerciais. Observa-se que algumas propriedades são desfavorecidas para a celulose na utilização desse método, como baixa resistência mecânica e menor grau de polimerização e de cristalinidade em relação ao cultivo estático (UZYOL; SAÇAN, 2016; ARAÚJO E SILVA, 2019).

De acordo com o que foi exposto sobre os métodos produtivos, pode-se inferir que a cultura agitada não pode aumentar de maneira acentuada a produção de CB em relação à cultura estática. Sendo assim, para que essa produção alcance uma escala industrial e expansiva, necessita-se estabelecer um processo com alta produtividade e baixo custo, sem descuidar também de um tempo curto de fermentação. Estudos vêm sendo realizados com o objetivo de ativar o suprimento de oxigênio e adicionar nutrientes ao meio de cultura. Essa produção pode ser aumentada pelo contínuo cultivo, utilizando uma alta transferência da solução de oxigênio ou nutrientes, que pode ser realizada por meio de biorreatores (WANG *et al.*, 2019; PACHECO *et al.*, 2017; MOHAMMADKAZEMI *et al.*, 2015).

Outro fator importante é a composição do meio de cultura, que pode trazer uma limitação para a produção da CB em uma larga escala e em determinadas aplicações. O meio de cultura utilizado normalmente é o Hestrim (HS), descrito dessa forma por ter sido elaborado por Hestrin e Schramm em 1954. A composição desse meio consiste em 20 g/L de glicose, 5

g/L de peptona, 5 g/L de extrato de levedura, 2,7 g/L de fosfato dissódico (Na_2HPO_4) e 1,15 g/L de ácido cítrico. A peptona e o extrato de levedura são utilizados como fonte de nitrogênio (JOZALA *et al.*, 2016).

Apesar de suprir os nutrientes necessários para a produção da celulose, o custo elevado do meio HS pode limitar a produção comercial da CB. Pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de melhorar a sua produção, tendo como base vários parâmetros de fermentação, como fontes alternativas de carbono - incluindo melaço, açúcar, sacarose - e controle de pH, além de meio de cultura em condições estáticas e agitadas (ARAÚJO E SILVA, 2019; JOZALA *et al.*, 2016).

Apesar da celulose bacteriana não apresentar outros compostos em sua composição, após o processo fermentativo, as células e componentes do meio de cultivo precisam ser retirados para a obtenção de membranas puras (ALBUQUERQUE, 2019).

O processo de purificação mais utilizado consiste em um tratamento com álcalis (hidróxido de sódio ou potássio), ácidos orgânicos como o ácido acético ou também lavagem com água de osmose, água quente ou água da torneira. Esses passos para a purificação das membranas podem ser utilizados isoladamente ou em combinações (CHAWLA *et al.*, 2009).

Além da celulose, outro polissacarídeo de grande interesse industrial é o alginato, sua variedade de aplicações o inclui como biopolímero de grande importância para ser usado como agente estabilizante, espessante e gelificante, na indústria de alimentos e serve também para imobilizar células nas indústrias farmacêuticas e biotecnológicas (GARCIA-CRUZ *et al.*, 2008).

2.5 ALGINATO (AL)

O alginato consiste em um polissacarídeo abundante na natureza e pode ser encontrado tanto como polissacarídeo capsular nas bactérias do solo, quanto como componente estrutural nas algas marinhas marrons. Suas aplicações são principalmente nas indústrias alimentícia, farmacêutica, médica e têxtil, devido a sua alta capacidade de ligação à água, bem como às suas propriedades gelificantes, estabilizadoras e viscosificantes (HECHT; SREBNIK, 2016).

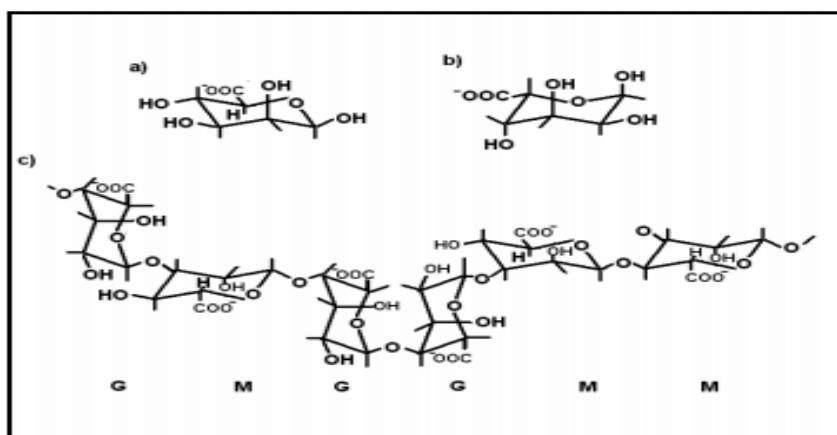
Este biopolímero comumente é extraído, na forma de um sal sódico do ácido algínico, da parede celular de três espécies de algas (*Ascophyllum nodosum*, *Laminaria hyperboream* e *Macrocystis pyrifera*). O percentual de alginato extraído pode variar de 10% a 40% do peso seco da alga, dependendo das condições ambientais e do seu gênero. O ácido algínico que está presente em todas as espécies de algas, não é encontrado em outros vegetais, no entanto, é

produzido por algumas bactérias, como *Azotobacter vinelandii* e *Pseudomonas spp.* como uma secreção de polissacarídeos e difere do ácido alginico sintetizado pelas algas apenas por se apresentar mais acetilado (VIDART, 2019).

O procedimento de extração do alginato das algas marinhas é simples, porém com vários estágios, em que inicialmente realiza-se o tratamento da matéria-prima seca, utilizando um ácido mineral diluído. Após o processo de purificação adicional, ocorre a conversão do ácido alginico obtido, em sal de sódio solúvel em água na presença do carbonato de cálcio, o qual sofre novamente a transformação em ácido ou no sal esperado. O alginato comercial é obtido exclusivamente a partir de algas, apesar da produção por fermentação de microrganismos ter sido explorada recentemente para obter propriedades físico-químicas do alginato mais específicas (SZEKALSKA *et al.*, 2016).

Estruturalmente, esse polissacarídeo são copolímeros lineares formados por resíduos de α -L-gulurônico (G) e β -D-manurônico (M) ligados a (1 $\rightarrow$ 4). Suas estruturas básicas consistem em unidades lineares, sem ramificações e os monômeros podem estar organizados em blocos de resíduos G consecutivos (blocos GG), de resíduos M consecutivos (MM) ou resíduos alternados de M e G (blocos MG), tornando possível a formação de quatro tipos de ligações a nível molecular, conforme apresentado na Figura 3. A composição e a estrutura sequencial são variadas de acordo com os diferentes tipos de alginato (CHING *et al.*, 2015; SILVA, 2009).

Figura 3 - Estrutura do: (a) ácido β -D-manurônico, (b) α -L-gulurônico e (c) alginato.



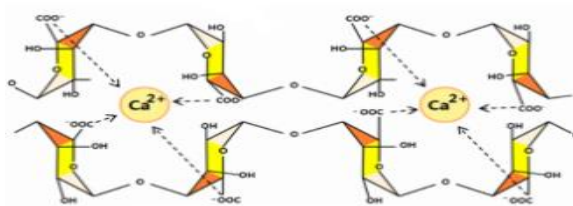
Fonte: Silva (2009)

Os alginatos e seus sais apresentam propriedades interessantes como biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixo custo, não imunogenicidade, viscosificação e também possuem a capacidade de se gelificar de forma iônica na presença de cátions

multivalentes, principalmente os íons cálcio, transitando do estado sol (coloidal) para o estado gel (forma tridimensional). Essa habilidade de formar géis é considerada a sua principal propriedade bifuncional, obtendo um bom interesse industrial (SILVA, 2016).

Segundo Borges (2019), essa gelificação ocorre de maneira reversível, formando um hidrogel termoe estável, de acordo com a Figura 4. Essa reticulação provoca uma modificação em suas propriedades, como resistência mecânica, tempo de degradação, propriedades de barreira, morfologia, entre outros. Dentre os fatores que podem interferir nessa reticulação pode-se citar o tempo e a concentração do agente reticulante. Esse agente pode ser utilizado nas concentrações de 1-20%, dependendo da aplicação desejada.

Figura 4 - Reticulação do alginato com cálcio.



Fonte: Adaptado de Borges (2019)

Vários estudos relataram a preparação de filmes ou revestimentos utilizando o alginato.

Bierhals *et al.* (2012) produziram filmes compostos à base de alginato e pectina reticulados com íons cálcio, com a utilização da natamicina como agente antimicrobiano para aplicação em embalagens ativas. Foram avaliados a liberação da atividade antimicrobiana na água e os coeficientes de difusão, como também a influência da natamicina em algumas propriedades do material. Pôde-se observar que a incorporação do agente ativo diminuiu a resistência à tração, aumentou a permeabilidade ao vapor de água, a solubilidade em água e a opacidade de todos os filmes ativos. A principal vantagem da adição da natamicina foi o baixo coeficiente de difusão obtido.

Alboofetileh *et al.* (2013) desenvolveram filmes nanocompósitos antimicrobianos com o objetivo de controlar o crescimento de patógenos transmitidos por alimentos. Inicialmente foram testados 5 óleos essenciais: cravo, coentro, cominho, manjerona e canela. Como principal resultado, os óleos que apresentaram um maior efeito antimicrobiano foram os de manjerona, cravo e canela contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, sendo esses incorporados em diferentes concentrações em filmes de alginato/argila. Observou-se que os filmes incorporados com óleos essenciais foram mais eficazes contra bactérias Gram-positivas e também que o óleo de manjerona foi o mais eficiente contra os patógenos.

Abdel Aziz *et al.* (2018) prepararam filmes bioativos comestíveis de alginato de sódio incorporado com óleo de mamona. O efeito do teor do óleo nas propriedades químicas, físicas e antibacterianas foi avaliado. Após a sua adição nos filmes, foi observada uma melhora na estabilidade térmica e nas propriedades mecânicas quando comparado ao alginato puro. Além disso, a permeabilidade ao vapor de água foi reduzida de forma significativa. Com relação ao estudo antibacteriano, os filmes demonstraram um efeito inibitório em relação às bactérias Gram-positivas, mas, não atestaram nenhum efeito para as bactérias Gram-negativas.

Fabra *et al.* (2018) desenvolveram filmes comestíveis com propriedades antivirais, através do método de fundição com solvente por emulsão. Esses filmes foram preparados a partir da adição de lipídios aos filmes de alginato, como também do acréscimo de dois extratos ricos em compostos fenólicos, um extrato de chá verde e um extrato de semente de uva como agentes ativos. Os filmes exibiram atividade antiviral contra o norovírus murinho e o vírus da hepatite A, e além disso, a incorporação dos compostos fenólicos conferiu capacidade antioxidante aos filmes. Foi verificado também que a adição dos extratos melhorou a eficiência da barreira hídrica.

2.6 BLENDA POLIMÉRICAS

As blendas poliméricas são sistemas formados pela mistura física de dois ou mais polímeros, sem que haja a reação entre eles, com a finalidade de adquirir propriedades desejadas. Para serem considerados uma blenda, os compostos precisam ter concentração acima de 2% em massa do segundo componente (LUNA *et al.*, 2015). Esses materiais vêm sendo utilizados como alternativa para a produção de compostos poliméricos com propriedades que não são encontradas em um único material (SOUSA, 2018).

A produção de blendas é uma tecnologia que vem sendo utilizada desde a década de 1970, e nas últimas três décadas o interesse no uso desse material vem aumentando (SANTOS, 1991; CÁSSIA, 2000; IMRE; PUKÁNSZKY, 2013; PONTE *et al.*, 2019). Essa produção é uma alternativa mais acessível economicamente para a obtenção de polímeros com propriedades distintas dos materiais de origem, sem ter a necessidade da utilização de novos processos de polimerização (SANTOS *et al.*, 2015).

Os componentes da blenda são selecionados de tal modo que conserve as vantagens de cada polímero. Esses materiais vêm recebendo atenção pois são relativamente simples de serem produzidos com as propriedades desejadas e os custos no investimento para a síntese dos produtos são baixos (LUNA *et al.*, 2015).

As blendas são mais comumente produzidas pela mistura dos materiais poliméricos na forma fluida a quente ou pela dissolução dos componentes em um mesmo solvente (SANTOS *et al*, 2015). O primeiro método é utilizado de forma mais ampla na indústria, enquanto o segundo se aplica melhor para experimentos de pequena escala.

Apesar de a celulose bacteriana apresentar propriedades únicas que a tornam um polímero promissor para diversas aplicações, possui algumas limitações quanto à ausência de propriedades antibacterianas e de outras características, como por exemplo a falta de transparência óptica. Sendo assim, estudos são necessários para que se consiga extinguir ou mitigar essas limitações (ALBUQUERQUE, 2019).

A celulose bacteriana (CB) é um biopolímero que apresenta grandes potenciais, apresentando uma estrutura tridimensional distinta que consiste em uma rede ultrafina de nanofibras de celulose. Essa estrutura permite uma boa conformabilidade, grande capacidade de retenção de água, alta cristalinidade, alta porosidade, ampla área de superfície, alta elasticidade e uma excelente resistência mecânica. O biopolímero é de grande interesse em muitas áreas, com ênfase na área biomédica e de alimentos (UZYOL; SAÇAN, 2016).

Adicionalmente, o alginato (AL) também é um biopolímero com propriedades promissoras, favoráveis a aplicações na biomedicina e em alimentos por possuir características como ser biocompatível, biodegradável e não tóxico. Sua característica essencial é a capacidade de gelificar através de agentes reticulantes, o que vai promover uma modificação em suas propriedades (BORGES, 2019).

Tendo em vista a capacidade de cada um dos polímeros citados, é possível produzir compostos com propriedades melhores, ao fazer a mistura entre esses dois biopolímeros. Estudos já foram realizados, por meio da utilização da celulose bacteriana e do alginato, para aplicação em algumas áreas, e foi observado que eles foram biocompatíveis entre si (SHAO *et al.*, 2015).

Dentre os estudos realizados, Shao *et al.* (2015) desenvolveram filmes de celulose bacteriana/alginato de sódio carregados com sulfadiazina de prata com propriedades antimicrobianas aprimoradas para utilização em curativos. Os testes antibacterianos e de citotoxicidade revelaram que os compósitos apresentaram excelente desempenho em *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, e também uma boa biocompatibilidade, confirmando sua utilidade como curativos.

Phisalaphong *et al.* (2007) desenvolveram blendas de celulose bacteriana/alginato em solução aquosa de NaOH/uréia e outros trabalhos também foram realizados por meio da

utilização dos dois polímeros para aplicações na área médica (SHI *et al.*, 2015; KIRDPONPATTARA *et al.*, 2015), imobilização de enzimas (KIM *et al.*, 2017), separação de misturas (SURATAGO *et al.*, 2015), entre outros. Apesar das blendas de CB/AL já terem sido utilizadas para essas aplicações, observa-se que ainda não foi incorporado nenhum óleo essencial nesse sistema e nem ainda foi utilizado em embalagens ativas, sendo uma área bastante promissora a ser explorada.

3 METODOLOGIA

A etapa de produção das blendas foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco e as caracterizações foram realizadas no referido local, no Laboratório de Petroquímica (LPQ) e no Laboratório de Tecnologia dos Aglomerados (LabTag), todos localizados na UFPE.

O trabalho experimental foi realizado em duas etapas, em que na primeira foram produzidas as blendas nas proporções em porcentagem de 30/70, 50/50, 70/30 de AL/CB e os filmes puros de celulose e alginato. As mesmas foram caracterizadas quanto às análises de espessura, transparência, solubilidade, espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difractometria de raios-X (DRX) e análise Termogravimétrica (TGA). Após estudo das análises, foi selecionada a blenda com propriedades mais adequadas para aplicação em embalagens para utilização na segunda etapa do estudo. Nessa segunda etapa, foi adicionado o óleo de canela na blenda selecionada em porcentagens de 5, 10 e 15%, e as mesmas foram analisadas de acordo com as caracterizações realizadas na etapa anterior e também pela Análise de Componentes Principais (PCA) e atividade antimicrobiana. O óleo de canela também foi caracterizado, a partir da realização de análises de cromatografia gasosa, FTIR e atividade antimicrobiana.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA

3.1.1 Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)

Utilizou-se uma alíquota de 1µL da solução do óleo essencial de canela Cassia marca Phytoterápica (100 mg/L) em hexano. Em seguida, a amostra foi injetada em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas com analisador do tipo quadrupolo Agilent 5975C Series (*Agilent Technologies, Palo Alto, USA*) equipado com coluna apolar HP-5 (*Agilent J&W*).

A amostra foi analisada sob a temperatura inicial de 40°C, utilizando taxa de aquecimento de 4°C/min e temperatura final de 230°C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a fluxo constante de 1 mL/min e mantendo-se a temperatura no injetor a 250°C. O óleo eluído da coluna cromatográfica foi ionizado por impacto de elétrons a 70 eV, mantendo-se a fonte de ionização a 230°C e o quadrupolo a 150°C. Os espectros de massa foram obtidos no modo scan com velocidade de 0,5 scan/segundo, com faixa de varredura de massa/carga de 35 a 550. O tempo de varredura total foi de 21 min, cobrindo uma

área de 94%. O GC-MS foi realizado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Petroquímica (LPQ) no Departamento de Química Fundamental da UFPE.

3.1.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica foi empregada para análise dos grupos funcionais dos compostos orgânicos presentes. O equipamento utilizado foi da marca SHIMADZU IR TRACER 100, operando com acessório de Refletância Total Atenuada (ATR); esse equipamento pertence ao Laboratório de Petroquímica (LPQ), localizado no LITPEG-UFPE. As condições empregadas foram: região do infravermelho na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} com 16 scans e acessório ATR.

3.1.3 Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela utilizando o método da difusão em ágar pela técnica do poço

Para a realização da atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela foi utilizado o método descrito por Castro *et al.* (2017), com adaptações, para avaliação das bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacter*. Os testes para cada bactéria foram feitos em triplicata, para isso, as placas de Petri, previamente esterilizadas, foram divididas em quatro quadrantes, sendo três para o depósito do óleo e o outro para o branco, ou seja, para realizar um controle com objetivo de verificar o crescimento da bactéria na região.

O meio de cultura Ágar Nutritivo foi adicionado às placas em volume de 20 mL e, logo após a solidificação do meio, foram confeccionados os poços de 4 mm. Em seguida, uma alíquota de 0,1 mL da suspensão microbiana da bactéria (padronizada de acordo com a escala 0,5 Mcfarland) foi espalhada sobre as placas. Os poços foram testados com 25 μL do óleo, utilizando ponteiras estéreis e, após o preenchimento, as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 48 horas. Em seguida, foram medidos os halos de inibição com o auxílio de uma régua.

3.2 PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

3.2.1 Microrganismo

A bactéria utilizada para a produção da celulose foi a *Gluconacetobacter hansenni*, depositada no Banco de Culturas do Departamento de Antibiótico da UFPE.

3.2.2 Meio de Cultivo

Tanto a manutenção da cultura microbiana, como a produção de celulose foram feitas utilizando o meio de sais, com composição descrita na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição do meio nutritivo para a manutenção do microrganismo e produção da CB.

Reagente	Concentração (g/L)
$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	3,0
KH_2PO_4	1,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
CaCl_2	1,5
FeSO_4	0,2
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	30

Fonte: Souza *et al.* (2019) Patente: BR1020200124005

3.2.3 Ativação e propagação da linhagem

Inicialmente, foram pesados os componentes descritos na Tabela 2 na proporção ideal para o volume de 100 mL do meio em um Erlemeyer de 250 mL, para a ativação e manutenção da bactéria. Após a preparação, o mesmo foi levado para a autoclave da marca Prismatec e modelo CS durante 20 minutos a 121 °C e 1 atm. Devido à presença do Ágar-Ágar, foi necessário fundir o meio no micro-ondas por aproximadamente 1 minuto. Após esse processo, foi adicionado cerca de 10 mL do meio em tubos de ensaio previamente esterilizados e tamponados e esses foram inclinados em ângulo de 45° para ocorrer o processo de solidificação à temperatura ambiente.

Para o processo de ativação da linhagem, foi transferida uma alçada de células do microrganismo de maneira asséptica e em forma de zig-zague com uma alça de platina para os meios dos tubos de ensaio previamente preparados.

Após a realização da repicagem, os tubos foram incubados a 30°C por 48 horas em estufa. Terminado o período de incubação, a linhagem foi mantida em geladeira a -2°C, sendo

repicada de forma constante para a manutenção das características do microrganismo a cada 30 dias.

3.2.4 Produção da membrana de Celulose

A preparação do meio para a suspensão celular foi realizada de maneira semelhante, porém sem a adição do Ágar-Ágar.

Prepararam-se meios de cultura, utilizando a *Gluconacetobacter hansenii* como microrganismo. Foi produzido 880 mL de meio, em que foram distribuídos 400 mL em 2 frascos de Roux. Esses frascos foram inoculados com a suspensão de celulose bacteriana num volume correspondente a 10% do meio de produção.

O tempo utilizado para o crescimento da membrana de celulose foi de 20 dias, em sistema estático e à temperatura ambiente.

3.2.5 Lavagem e purificação das membranas de celulose

A membrana, após ser retirada do frasco de Roux, passou por uma lavagem com água destilada e logo após foi imersa em uma solução de NaOH 0,1M, e colocada em banho maria por um período de 20 minutos à 80 °C. Em seguida, foi imersa em água destilada durante 24 horas e armazenada na geladeira.

3.3 PREPARAÇÃO DA PASTA DE CELULOSE BACTERIANA

A membrana úmida foi pesada em uma balança analítica, e para a preparação da pasta foi adicionado 200 mL de água destilada para cada 160 g da membrana. A mistura foi adicionada a um liquidificador Mondial e a pasta de celulose foi obtida através do processo de trituração a uma velocidade de rotação baixa durante 1 minuto.

3.4 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE ALGINATO DE SÓDIO 2%

A solução de alginato de sódio foi preparada pela dissolução de 2 g para cada 100 mL de água destilada. Em seguida foi colocada em um agitador mecânico Fisatom, utilizando uma rotação de 800 rpm durante aproximadamente 60 minutos e com aquecimento de 80°C em uma chapa aquecedora Matoli. Após essa preparação, a solução foi deixada em repouso até o desaparecimento das bolhas.

3.5 PREPARAÇÃO DAS BLENDS DE CELULOSE BACTERIANA / ALGINATO DE SÓDIO POR DISSOLUÇÃO

Para a formação das blends, a pasta de celulose foi misturada com a solução de alginato em diferentes proporções para a obtenção de misturas com razões em massa de celulose/alginato de 0/100, 30/70, 50/50, 70/30, 100/0, as quais foram agitadas à temperatura ambiente (25°C) por 20 minutos e distribuídas em placas de poliestireno com dimensões de 90 x 15 mm. Após distribuídas nas placas, foram adicionadas gotículas de CaCl_2 sobre as misturas, através de um borrifamento uniforme por toda a placa e foram levadas à estufa a uma temperatura de 45°C durante 72 horas até a formação do filme. A concentração da pasta de celulose bacteriana foi de 0,5% e a da solução de alginato foi de 2%. Os cálculos para os percentuais das blends foram feitos na proporção de 4/1 de CB/AL para se obter a mesma relação estequiométrica.

3.6 INCORPORAÇÃO DE ÓLEO DE CANELA NA BLEND DE CELULOSE BACTERIANA/ALGINATO

Após a realização das caracterizações nas blends produzidas, foi selecionada a blend que apresentou melhores características, sendo avaliadas a transparência, solubilidade, cristalinidade e estabilidade térmica. A preparação dessa blend consistiu no mesmo processo descrito anteriormente para a blend pura, com a adição do óleo de canela 20 minutos após a mistura dos componentes da blend, em diferentes percentuais por 2 minutos de agitação. Os percentuais de óleo de canela utilizado foram de 5%, 10% e 20%, sendo selecionados através de ensaios preliminares, analisando-se o aspecto visual dos filmes.

A solução filmogênica foi colocada sob vácuo por alguns minutos e só após foi vertida nas placas de Petri para a secagem, também foi deixada em repouso para ajudar no processo de remoção das bolhas até um tempo adequado que pudesse ser visualizado a olho nu essa diminuição. Em seguida, foram levados à estufa para secagem à temperatura de 45°C durante 72 horas até a formação do filme.

3.7 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

3.7.1 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com auxílio de um micrômetro com precisão de 0,01 mm. As medidas foram realizadas para todos os filmes, em triplicata, tomando-se medida

de 3 pontos em diferentes regiões de cada amostra, totalizando 9 medidas para cada tratamento. Os resultados foram expressos através da média dos valores obtidos para cada filme.

3.7.2 Transparência

As medidas de transmitância da luz a 600 nm foram realizadas em um espectrofotômetro Edutec, para cada proporção de concentração das blendas de CB/AL. A transparência dos filmes foi calculada segundo a metodologia proposta por Han; Floros (1997). Os filmes foram cortados em retângulos de 50 mm x 6 mm e inseridos em uma cubeta de quartzo. A transparência foi calculada utilizando a Equação 1:

$$Transparência (\%) = \frac{\log T(\lambda)}{x} \quad (1)(1)$$

Sendo, $T(\lambda)$ a transmitância no comprimento de onda de 600 nm e x a espessura (mm) de cada filme.

3.7.3 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada de acordo com Basiak *et al.*, 2017. A análise foi realizada em triplicata, e os filmes foram cortados em partes de 2 x 2 cm², secos à temperatura de 105 °C durante 24 horas e pesados. Os filmes foram colocados em placas de Petri, preenchidas com 40 mL de água destilada e armazenadas à temperatura ambiente por 24 horas. Logo após, os filmes foram levados à estufa e secos a 105 °C durante 24 horas, para a determinação do peso final da matéria seca. A perda de matéria solúvel total foi determinada aplicando-se a Equação 2.

$$S = \frac{mi - mf}{mi} \cdot 100 \quad (2)(2)$$

Sendo, S a solubilidade, mi a massa inicial seca e mf a massa final seca.

3.7.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O equipamento utilizado para a análise dos filmes sem a incorporação do óleo de canela foi da marca Spectrum 400 – Perkin Elmer, utilizando o acessório de Reflectância Total Atenuada Universal (UATR) e está localizado no Laboratório de Combustíveis (LAC) no LITPEG-UFPE. As condições utilizadas foram as seguintes: região do infravermelho na faixa de 550 a 4000 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹ e acessório ATR. Enquanto os filmes incorporados com o óleo de canela foram analisados a partir do uso do mesmo equipamento e parâmetros

descritos anteriormente para o óleo de canela, porém com a utilização do acessório HATR (Reflectância Total Atenuada Horizontal).

3.7.5 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais foi associada à espectroscopia de infravermelho, com a finalidade de investigar a incorporação do óleo essencial de canela na blenda com proporção 50/50 de CB/AL. As leituras foram realizadas em 3 filmes para cada concentração (filmes de CB50AL50 0%, 5%, 10% e 20% do óleo de canela), sendo realizada uma varredura em cada filme para a obtenção do modelo PCA.

Os resultados foram obtidos através do software de análise de dados multivariados The Unscrambler, versão 9.7 desenvolvido pela Camo Analytics.

3.7.6 Difratometria de Raios-X

Foi realizada a análise dos filmes por difratometria de raios x visando à identificação das fases cristalinas, utilizando um difratômetro da Bruker, D2 Phaser, com tubo de cobre aplicado com tensão de 30 kV e corrente de 10 mA na escala de 2θ com intervalo de 5° a 85° com velocidade de varredura de $5^\circ/\text{min}$. O cálculo do percentual de cristalinidade (C) foi realizado através do método Segal *et al.* (1959). Esse cálculo é baseado na diferença entre os picos de maior e menor intensidade, correspondendo respectivamente, aos picos cristalinos (I_c) e amorfos (I_a), de acordo com a Equação 3.

$$C = \frac{I_c - I_a}{I_c} \times 100 \quad (3)$$

3.7.7 Análise Termogravimétrica

Os filmes foram analisados por meio da análise termogravimétrica, com a finalidade de avaliar as taxas de perda de massa. Foram pesados aproximadamente 20 mg de cada filme e esses foram introduzidos em um equipamento da marca METTLER TOLEDO TGA 2 Star System. As análises foram realizadas a uma faixa de temperatura de 30 a 800°C , com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera de nitrogênio.

3.7.8 Análise estatística

Foi realizado o teste de variância e a comparação de médias aplicando o teste de Duncan com um grau de confiança de 5%, utilizando o programa Assistat.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA

4.1.1 Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)

Com a finalidade de investigar a composição química do óleo essencial de canela, foi realizada a sua caracterização pela técnica de GC-MS. O principal interesse dessa análise foi observar os componentes majoritários do óleo e suas respectivas proporções na amostra. Os principais compostos estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição do óleo essencial de canela obtida por GC-MS.

Componentes	Porcentagem (%)
Cinamaldeído	80,78
Éster cinamílico	6,12
Cumarina	3,15
Canfeno	1,67
Benzaldeído	1,58
Outros compostos	6,7

Fonte: O autor

De acordo com os resultados obtidos pela análise de CG-MS, é possível perceber a presença do cinamaldeído como componente majoritário. Estudo realizado por Figueiredo et al (2017), mostrou que o óleo essencial de canela apresentou um percentual desse componente que variou de 60-75. Já Wang *et al.* (2018) encontraram um valor de 57,971% desse componente em seu óleo, enquanto Vasconcelos (2018) observou um percentual de 87,6 % do cinamaldeído.

Essas variações dos percentuais do composto majoritário se devem principalmente a diferenças na origem geográfica e a condições de processamento. O rendimento e a composição também podem ser afetados pelo método de extração (CARDOSO-UGARTE *et al.*, 2016).

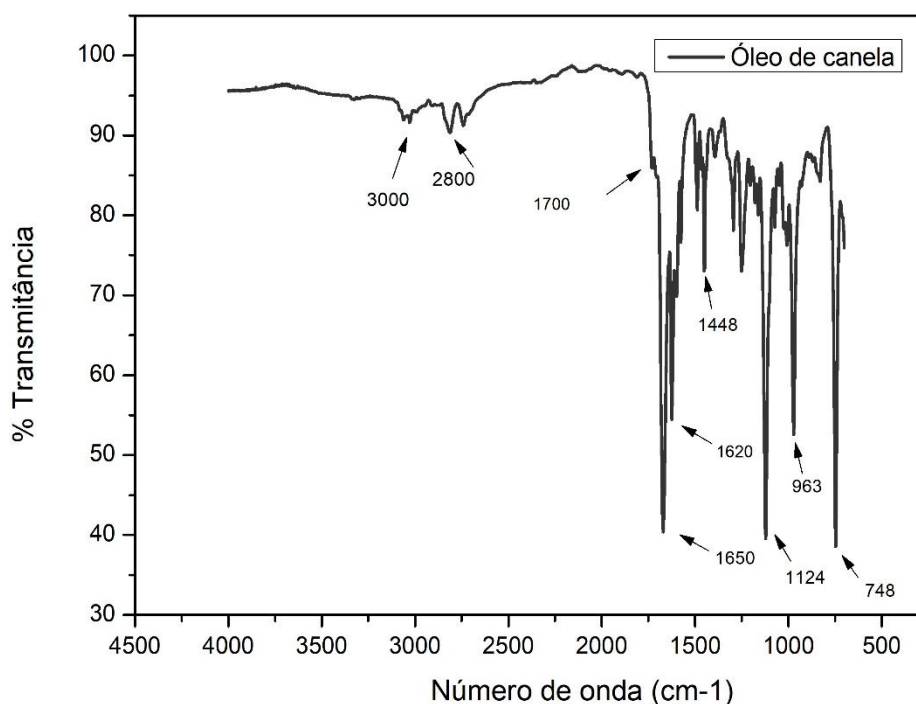
A partir desse resultado pode-se concluir que o óleo analisado apresenta o principal componente relacionado na literatura, o qual possui atuação promissora como agente antimicrobiano.

4.1.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho do óleo essencial de canela foi realizada com a finalidade de complementar os resultados alcançados na análise de GC-MS, tendo como objetivo identificar as bandas características do componente majoritário do óleo essencial de canela (cinamaldeído).

O espectro do óleo essencial de canela pode ser visualizado na Figura 5.

Figura 5 - Espectro de Infravermelho do óleo essencial de canela.



Fonte: O autor

O espectro de infravermelho apresentou bandas características dos componentes do óleo essencial de canela, principalmente, o cinamaldeído. A banda de absorção localizada na região de 1670 a 1700 cm^{-1} é característica de um aldeído, sendo correspondente ao grupo carbonila presente no cinamaldeído. As bandas fracas nas regiões de 2800 e 3000 cm^{-1} indicam o estiramento axial da ligação -CH do grupo formila do aldeído, que geralmente ocorre na faixa de 3000 a 2840 cm^{-1} . O estiramento na região 1620 cm^{-1} corresponde à conjugação C=C do anel aromático. O estiramento em 1448 cm^{-1} indica a deformação angular C-H.

A banda localizada em 1124 cm^{-1} é correspondente à deformação axial COO de um éster, confirmando a presença do segundo componente majoritário do óleo (éster cinâmico). A banda 1963 cm^{-1} indica a deformação axial simétrica de alquenos. Por fim, a banda em 748

cm^{-1} indica a deformação angular em C_6H_6 . A Tabela 4 mostra os resultados obtidos por Souza (2015).

Tabela 4 - Atribuições das bandas características no espectro do infravermelho do óleo essencial da *cinnamomum hatschbachii vattimo-gil*.

Número de onda (cm^{-1})	Modo de vibracional	Grupo funcional
2926	Deformação axial assimétrica C–H	Alcano
1720	Estiramento axial C=O	Carbonila/Aldeído
1674	Estiramento axial C=C	Alquenos
1625	Deformação angular C–C	Hidrocarboneto Aromático
1450	Deformação angular C–H	Metila
1121	Deformação axial O–H, COO	Álcool/Éster
970	Deformação angular simétrica C=C	Alquenos
688 e 746	Deformação angular C_6H_6	Monosubstituídos de Hidrocarboneto Aromático

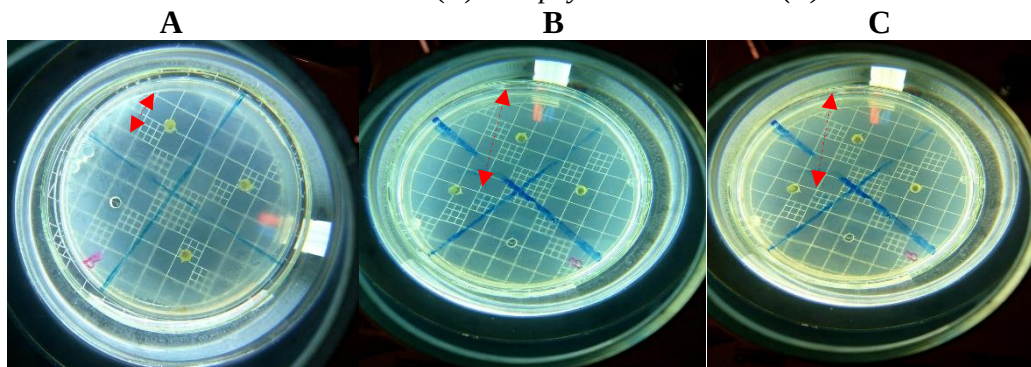
Fonte: Souza (2015)

Esse autor identificou as principais bandas características do óleo essencial de canela, corroborando com os resultados que foram obtidos neste trabalho.

4.1.3 Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela utilizando o método da difusão em ágar pela técnica do poço

Foi verificado, após o período de incubação, que o óleo essencial de canela inibiu o crescimento microbiano para as três bactérias em estudo, como pode ser observado na Figura 6.

Figura 6 - Teste de atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela para *Enterobacter* (A), *Escherichia Coli* (B) e *Staphylococcus Aureus* (C)



Fonte: O autor

O halo de inibição observado para a bactéria *Enterobacter* foi de 28 mm, enquanto que para a *Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus* os halos formados extrapolaram a demarcação da placa de Petri, não sendo possível realizar a medição, podendo-se ter como resultado um valor maior que 90 mm.

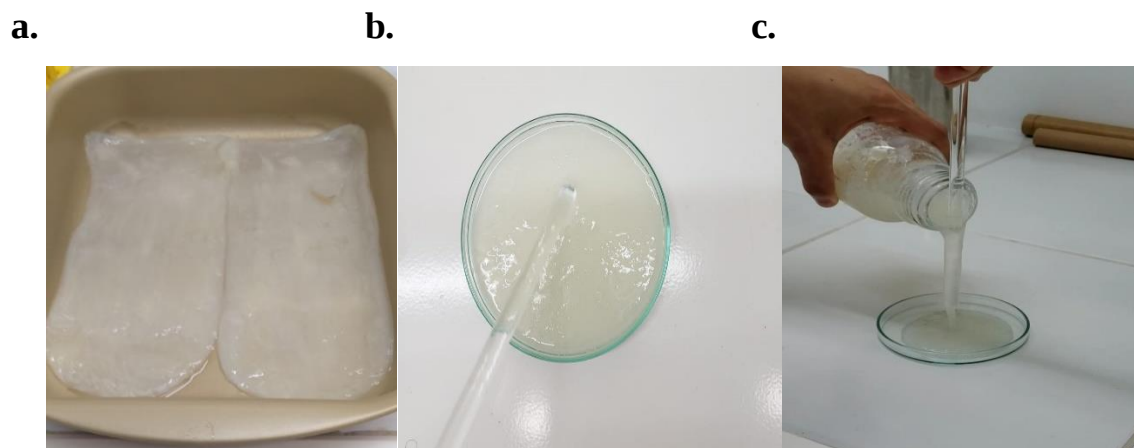
Segundo a *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (CLSI, 2015), os halos de inibição são classificados como sensíveis para diâmetro superior a 20 mm. Neste estudo, os halos de inibição para todas as bactérias apresentaram-se maior que 20 mm, podendo-se considerar que as três bactérias foram sensíveis ao óleo essencial de canela.

Zhang *et al.* (2015) verificaram que o óleo de canela possui atividade antibacteriana contra *E.coli* e *S.aureus.*, obtendo um halo de inibição de 19,2 mm para a *E. coli* e 28,7 mm para a *S. aureus*. Já Cui *et al* (2016) também verificaram o efeito antibacteriano do óleo de canela contra as mesmas bactérias, bem como para outros microrganismos como *Salmonella*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus pumilus*.

4.2 PRODUÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA E RENDIMENTO DOS FILMES

O rendimento das membranas de CB hidratadas foi de 407,17 g/L, enquanto que o das membranas secas foi de 4,8 g/L.

As imagens das membranas e da pasta podem ser visualizadas na Figura 7.

Figura 7 - Membranas (a) e pastas de celulose bacteriana (b) e (c).**Fonte:** O autor

Através da Figura 7 pode ser observado na primeira imagem as membranas de celulose bacteriana e nas duas últimas pode-se visualizar as imagens da pasta de celulose bacteriana.

Sabendo-se que a massa total da solução filmogênica foi 50 g levando em conta a massa da água, os rendimentos obtidos podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 - Rendimento obtido para as blendas puras.

Filme	Massa inicial total (g)	Massa inicial dos polímeros (g)	Massa final (g)	Rendimento (%)
CB0AL100	50,00	1,00	1,12	2,25
CB30AL70	50,00	0,51	0,49	0,98
CB50AL50	50,00	0,39	0,43	0,85
CB70AL30	50,00	0,32	0,30	0,60
CB100AL0	50,00	0,24	0,29	0,58

Fonte: O autor

De acordo com a Tabela 5, foi possível observar o rendimento das blendas, e foi verificado que houve uma grande perda de água, tendo em vista que os polímeros possuem uma alta capacidade de absorção de água. Com isso, verifica-se que a massa dos polímeros, em relação ao volume total da solução filmogênica é muito baixa devido ao processo de evaporação da água após a secagem das blendas.

Observa-se também a partir da Tabela 5, que quanto maior a concentração de celulose bacteriana na blenda, menor a massa e, conseqüentemente, menor o rendimento final. Isso pode ser explicado pela alta capacidade de absorção de água da celulose bacteriana, que é cerca de cem vezes maior que o seu próprio peso (ANDRADE, 2019; MOHAMMADKAZEMI *et al.*, 2015).

Nesse estudo também foram adicionados à blenda de concentração CB50AL50, variados percentuais de óleo de canela. Os rendimentos obtidos para as blendas aditivadas com o óleo de canela, podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Rendimentos obtidos para a blenda CB50AL50 aditivada com diferentes percentuais de óleo de canela

Filme	Massa inicial total (g)	Massa inicial dos polímeros + óleo (g)	Massa final (g)	Rendimento (%)
CB50AL50	50,00	0,39	0,61	1,21
CB50AL50 5% ÓLEO	50,02	0,41	0,66	1,34
CB50AL50 10% ÓLEO	50,04	0,43	0,69	1,38
CB50AL50 20% ÓLEO	50,08	0,47	0,63	1,25

Fonte: O autor

A partir da Tabela 6, observa-se uma linearidade em relação ao aumento do óleo, mostrando que quanto maior o percentual de óleo de canela, maior o rendimento obtido. Com exceção do maior percentual, 20% do óleo, que o valor foi inferior as demais blendas aditivadas. Provavelmente, pode não ter ocorrido a incorporação de todo o óleo pela blenda polimérica, gerando perdas desse aditivo no processo de produção da blenda.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

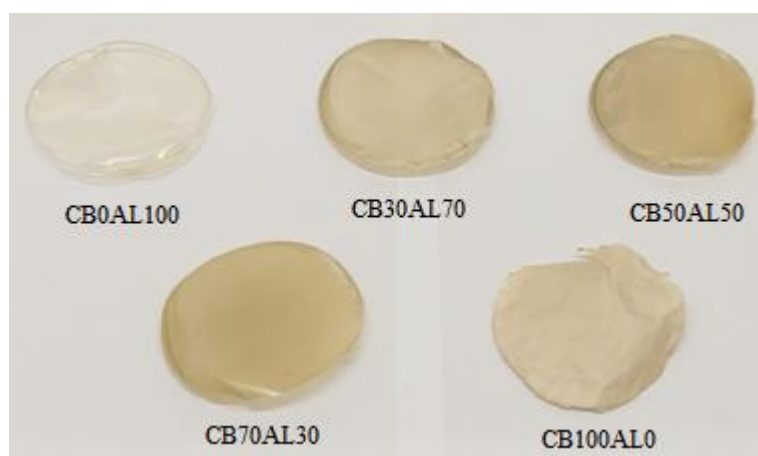
4.3.1 Primeira Etapa

4.3.1.1 Características das blendas puras

Na etapa de produção dos filmes, foi possível verificar que os mesmos obtiveram uma boa formação em cada solução filmogênica de alginato, celulose bacteriana, bem como nas blendas, resultando em filmes poliméricos macroscopicamente homogêneos, ausentes de partículas insolúveis visíveis.

Os filmes obtidos podem ser visualizados na Figura 8.

Figura 8 - Filmes produzidos com diferentes concentrações de celulose bacteriana e alginato



Fonte: O autor

Os filmes da Figura 8 mostram as imagens dos filmes puros de Alginato e celulose, bem como os das blendas em diferentes composições desses polissacarídeos 30/70, 50/50, 70/30 na razão percentual de CB/AL.

Pode-se observar que tanto os filmes de alginato e celulose puros, como também de suas blendas apresentaram boa aparência e diferentes graus de opacidade. Percebe-se que quanto maior a concentração de alginato, há uma tendência em formar filmes mais transparentes. O contrário ocorre com o aumento de celulose, pois, a opacidade torna-se mais evidente.

4.3.1.2 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier

Na Tabela 7 são apresentadas as bandas vibracionais características no espectro de infravermelho para os filmes de celulose bacteriana e alginato de sódio

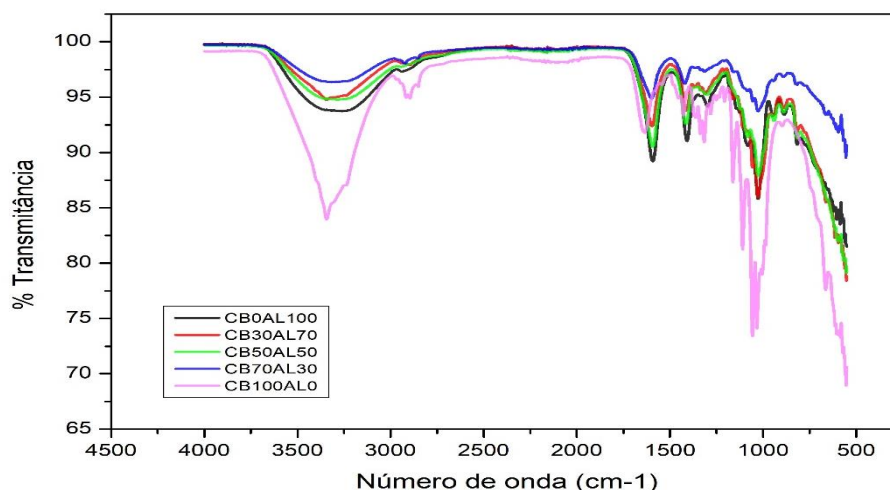
Tabela 7 - Atribuições das bandas características no espectro de infravermelho da celulose bacteriana e do alginato

Número de onda Celulose Bacteriana (cm^{-1})	Número de onda Alginato (cm^{-1})	Atribuição
3690-2981	3696-2974	Estiramento OH
2974-2831	2968-2844	Estiramento CH
1652-1647	1596-1586	Estiramento COO assimétrico
1414-1412	1408-1400	Estiramento COO simétrico
1030-1028	1028-1024	Estiramento de vibração do anel aromático (COC, COH)

Fonte: Adaptado de Kim *et al.*, (2017).

Essas bandas vibracionais podem ser observadas na Figura 9, que apresenta os espectros de infravermelho dos filmes de celulose bacteriana, alginato, bem como das blendas entre os polímeros.

Figura 9 - Espectros de infravermelho dos polímeros puros e das blendas de CB/AL em diferentes proporções.



Fonte: O autor

Os espectros da Figura 9 apresentam uma grande semelhança, tendo em vista que os polímeros apresentam muitos grupos funcionais em comum.

No espectro dos dois polímeros, observa-se uma banda larga de adsorção na faixa de 3300 cm^{-1} aproximadamente, relacionadas com o estiramento dos grupos OH. A presença do grupo carboxila está representada pela banda 1586 cm^{-1} para o alginato, enquanto que na celulose essa banda corresponde a 1647 cm^{-1} . As bandas do grupo carboxila para as blendas de

CB/AL nas proporções de 30/70, 50/50 e 70/30 foram alteradas de 1586 cm^{-1} para 1596, 1602 e 1615 cm^{-1} , respectivamente. Por esse resultado pressupõe-se que alguma interação específica entre o grupo hidroxila da celulose e o grupo carbonila do alginato possa estar acontecendo nas blendas. Resultados semelhantes foram obtidos por Phisalaphong *et al* (2018) e também por Kim *et al* (2017), que observaram essas alterações de bandas para o grupo carboxila nos espectros de celulose com alginato de sódio.

4.3.1.4 Espessura e Transparência

Na Tabela 8 podem ser visualizados os valores de espessura e transparência dos filmes.

Tabela 8 – Resultados da espessura, transmitância e transparência para as blendas com diferentes proporções de CB/AL.

Filme	Espessura (mm)	Transmitância (%)	Transparência (%)
CB0AL100	$0,089 \pm 0,002^a$	$89,900 \pm 0,326^a$	$21,979 \pm 0,018^a$
CB30AL70	$0,073 \pm 0,014^{ab}$	$25,767 \pm 0,330^b$	$19,242 \pm 3,752^a$
CB50AL50	$0,071 \pm 0,006^{ab}$	$9,133 \pm 0,650^c$	$9,516 \pm 1,726^b$
CB70AL30	$0,064 \pm 0,004^{bc}$	$3,900 \pm 0,967^c$	$9,172 \pm 0,786^b$
CB100AL0	$0,058 \pm 0,005^c$	$5,233 \pm 0,544^c$	$13,477 \pm 2,338^b$

Fonte: O autor

Nota: Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os valores seguidos com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se na Tabela 8 que houve variação na espessura dos filmes. Nesse caso, constata-se que os filmes com maior percentual de celulose bacteriana apresentaram uma menor espessura. Isso pode ter ocorrido devido à estrutura cristalina da celulose, comparada à estrutura amorfa do alginato. Essa estrutura cristalina confere numa organização mais compacta das fibras, diminuindo a espessura.

O teste estatístico de Duncan com 5% de probabilidade foi realizado para os dados de espessura e foi comprovado que os filmes CB30AL70, CB50AL50 e CB70AL30 não apresentaram diferenças significativas em suas espessuras.

Com relação aos resultados de transparência (Tabela 8) verifica-se que quanto maior a concentração de celulose, menor a transparência. Observa-se também que o filme puro de alginato apresentou uma alta transmitância (89,9%), explicando o fato de sua transparência já ter sido possível de ser identificada na análise visual mostrada anteriormente através da macrografia.

De acordo com o teste estatístico de Duncan, os valores de transparência para os filmes CB0AL100 e CB30AL70 não apresentaram diferença significativa entre si. Logo, o filme com a concentração de 30% de celulose e 70% de alginato tende a ser transparente. Já os filmes CB50AL50, CB70AL30 e CB100AL0 também não apresentaram diferença significativa entre si, logo a partir de 50% de CB na blenda o material é opaco.

Almeida *et al.* (2013) estudando filmes de celulose bacteriana e fécula de batata verificaram que a CB demonstrou ser o fator de opacidade para os filmes, obtendo-se uma maior opacidade para os filmes puros de CB. Segundo os autores, isso ocorre devido à celulose bacteriana apresentar em sua estrutura fitas ultrafinas com comprimentos variando de 1 a 9 mm, formando uma densa estrutura reticulada que é estabilizada por ligações de hidrogênio e que são altamente cristalinas. As regiões cristalinas desviam ou refletem o feixe de luz incidente, comprometendo a transmissão da luz e consequentemente propiciando uma maior opacidade para os filmes.

Outros trabalhos também corroboram com esse fenômeno, como Freitas (2015) que analisando filmes biodegradáveis de amido de mandioca com incorporação de celulose bacteriana, verificou que ao adicionar 1% e 5% de CB nos filmes de amido, promoveu um aumento da opacidade dos filmes.

Viana (2017), a partir do estudo de filmes comestíveis de celulose bacteriana e pectina com polpa de frutas, também observou que os filmes com adição de polpa de manga e polpa de goiaba com maior concentração de nanofibras de celulose bacteriana apresentaram um aumento significativo da opacidade.

4.3.1.5 Solubilidade

A solubilidade das blends pode ser observada na Tabela 9.

Tabela 9 - Solubilidade para as diferentes proporções de CB/AL.

Filme	Solubilidade (%)
CB0AL100	97,05 ± 1,60 ^a
CB30AL70	52,94 ± 5,80 ^{ab}
CB50AL50	45,44 ± 0,99 ^b
CB70AL30	37,75 ± 1,38 ^{bc}
CB100AL0	13,93 ± 1,05 ^c

Fonte: O autor

Nota: Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os valores seguidos com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se da Tabela 9 que a solubilidade da blenda diminui à medida que aumenta a concentração de CB, retificando que adição de celulose dificultou essa solubilização. De acordo com o teste estatístico de Duncan, os valores são significativamente diferentes entre si.

Outros trabalhos também verificaram a diminuição da solubilidade através da incorporação da celulose. Silva (2018) produziu filmes compósitos de celulose bacteriana e goma de cajueiro e através da avaliação da solubilidade de seus filmes percebeu que ao aumentar a concentração das nanofibras de CB, a quantidade de matéria insolúvel aumentou de 4,69% para 82,53%.

Almeida *et al.* (2013) estudando a solubilidade de blendas de celulose bacteriana e fécula de batata verificaram que os filmes com ausência de celulose apresentaram maior solubilidade, propondo que isso ocorreu devido ao aumento na quantidade de hidroxilas em matrizes poliméricas polares e à maior formação de ligações de hidrogênio com a água.

Viana *et al.* (2018), estudando a influência de nanofibras de celulose bacteriana em filmes comestíveis de pectina com purê de frutas puderam constatar que quanto maior o conteúdo das nanofibras, maior a resistência à água.

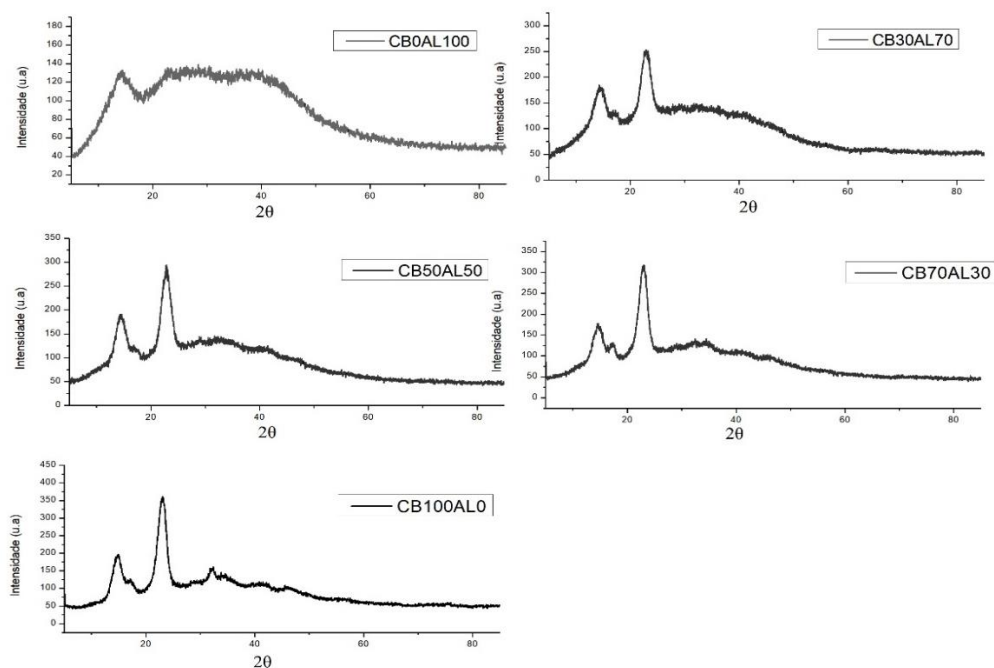
Esse comportamento da CB pode ser atribuído por ela ser uma molécula anfifílica com fortes ligações de hidrogênio intra e intermoleculares e interações hidrofóbicas que dificultam a solubilidade em água (LINDMAN *et al.*, 2010).

Em relação ao alginato, a sua alta solubilidade em água é devido a suas estruturas poliméricas hidrofílicas, apresentando grande quantidade de radicais livres polares, como as hidroxilas. Essa solubilidade pode ser diminuída através do processo de reticulação com cátions polivalentes. Nesse caso, foi adicionado o CaCl_2 2% e pôde-se observar que a metodologia empregada para o processo de reticulação não foi muito eficiente, pois o polímero dissolveu praticamente por completo.

4.3.1.6 Difratometria de Raios-X

Na Figura 10 podem ser observados os difratogramas das blendas de Celulose Bacteriana / Alginato.

Figura 10 - Difratoograma de Raios-X das blendas de Celulose Bacteriana / Alginato.



Fonte: O autor

A análise dos difratogramas apresentados na Figura 10 permite verificar a existência de picos de difração 2θ em $14,6^\circ$, $17,2^\circ$ e $23,0^\circ$ para as blendas de CB/AL e para a celulose pura, enquanto para o alginato puro foram observados picos em $14,2^\circ$ e 23° . Os picos obtidos para a celulose pura e alginato puro estão em concordância com os picos característicos dos biopolímeros encontrados em trabalhos da literatura (MORAIS, 2017; FILHO, 2019).

Em relação aos picos de difração da celulose bacteriana, são normalmente atribuídos à distância entre os planos cristalográficos das fases Ia e Ib da estrutura cristalina. Pode-se observar através do gráfico também que os picos obtidos foram largos, por se tratar de um material semicristalino.

Através da metodologia de Segal *et al.*, (1959), os percentuais de cristalinidade foram obtidos, sendo correspondentes a 16,42%, 49,59%, 61,08%, 64,80% e 72,04% para os filmes CB0AL100, CB30AL70, CB50AL50, CB70AL30 e CB100AL0, respectivamente.

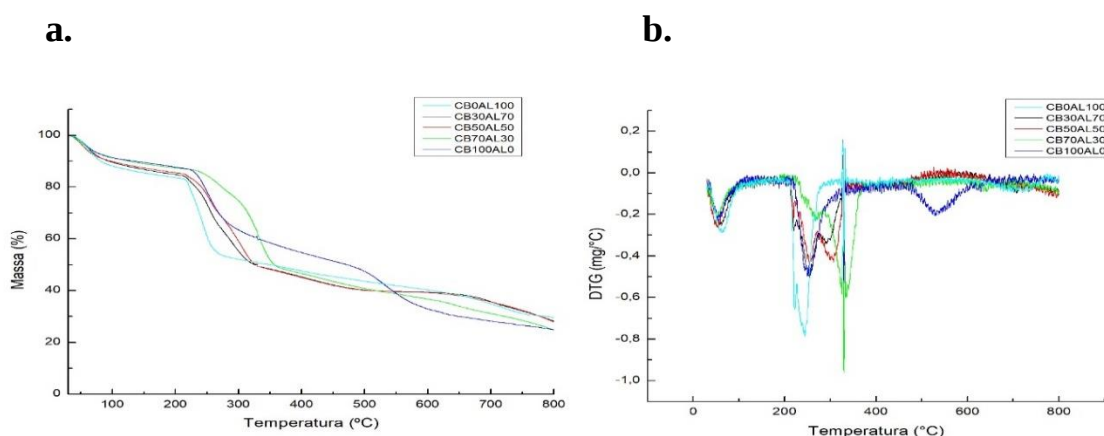
A celulose bacteriana apresenta alto grau de cristalinidade, com percentuais entre 60% e 90%, sendo caracterizada como semicristalina (CHAGAS, 2018). Enquanto o alginato apresenta-se com caráter predominantemente amorfo, apresentando um baixo percentual de cristalinidade (FILHO, 2019). Isso pode explicar os graus de cristalinidade obtidos para as blendas, observando que ao aumentar o percentual de CB, o grau de cristalinidade aumenta.

Através dos resultados obtidos para a cristalinidade, pode-se compreender o comportamento da transparência para os filmes. Polímeros amorfos, são transparentes, não apresentando opacidade, enquanto polímeros cristalinos podem ser mais ou menos translúcidos, dependendo do grau de cristalinidade (SANTOS, 2005). Os resultados confirmam esse fenômeno, em que o alginato, que é predominantemente amorfo, apresentou uma maior transparência, enquanto as blendas apresentaram uma maior transparência à medida que diminuía a porcentagem de CB.

4.3.1.7 Análise Termogravimétrica (TGA)

Os termogramas dos filmes produzidos estão representados na Figura 11 e os resultados referentes às temperaturas de degradação estão expostos na Tabela 10.

Figura 11 - Curvas de TGA (a) e DTG (b) das blendas de celulose bacteriana/alginato.



Fonte: O autor

Tabela 10 - Parâmetros de TGA dos filmes. Temperatura em °C.

Filmes	1º Estágio			2º Estágio			3º Estágio		
	T _{on}	T _{off}	T _{máx}	T _{on}	T _{off}	T _{máx}	T _{on}	T _{off}	T _{máx}
CB0AL100	31,2	210,4	62,8	210,4	602,1	242,8	602,1	> 800	-
CB30AL70	31,2	213,8	61,1	213,8	475,5	254,9	591,1	> 800	-
CB50AL50	31,2	215,4	54,0	215,4	495,4	254,9	616,3	> 800	-
CB70AL30	31,2	237,4	54,0	237,4	504,3	330,3	616,3	> 800	-
CB100AL0	31,2	228,1	56,0	228,1	388,7	254,9	426,5	565,8	529,5

Fonte: O autor

Observando a Figura 11 e a Tabela 10, percebe-se que a celulose bacteriana teve três etapas de perda de massa. A primeira consiste na perda de umidade em torno de 100°C, devido

à evaporação da água remanescente, sendo obtida uma perda de massa de 13%. A segunda etapa variando em torno de 280°C a 350°C está relacionada à perda de massa devido à decomposição térmica da celulose, pelos processos de despolimerização, decomposição e desidratação das unidades glicosídicas, seguida da formação de resíduos de carbono, obtendo-se como perda de massa 31%. Enquanto que a terceira etapa ocorre devido à degradação termo-oxidativa, geralmente com temperaturas acima de 350°C, com uma perda de massa de 15% (SASKA *et al.*, 2011; MORAIS; 2017).

O alginato puro também apresentou três estágios. A primeira etapa ocorre devido aos processos de desidratação, com uma perda de massa de 18%. A segunda ocorre devido à decomposição térmica da amostra, obtendo-se uma perda de massa de 43% e a terceira devido à degradação, com uma perda de massa de 10%. Os resultados obtidos estão em concordância com outros trabalhos, como por exemplo, Laia (2015) que analisando filmes de alginato de sódio, também verificou três estágios com faixas bem próximas com as obtidas neste trabalho, tendo no primeiro estágio uma variação de 24,4 a 200°C, no segundo de 200 a 550°C e no terceiro de 550 a 818°C. As perdas de massa do 1º, 2º e 3º estágio encontradas pela autora foram 16%, 49% e 15%, respectivamente.

As blendas também apresentaram três estágios de degradação, conforme a Tabela 10. Observa-se que a adição da celulose bacteriana, aumentou as temperaturas de degradação no segundo estágio. Com isso, infere-se que a adição da CB ao AL melhorou a estabilidade térmica.

Com a finalidade de complementar os resultados de análise, os valores de perda de massa de cada estágio, assim como a massa residual à 800°C foram calculados, e estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultados da perda de massa e resíduo final obtidos da análise termogravimétrica.

Amostra	Perda de massa (%)			Resíduo final (%)
	1º Estágio	2º Estágio	3º Estágio	-
CB0AL100	17,33	43,07	9,82	29,53
CB30AL70	16,77	43,18	11,5	27,74
CB50AL50	15,61	44,62	11,5	27,46
CB70AL30	13,69	46,55	10,87	24,85
CB100AL0	13,82	31,16	15,55	24,68

Fonte: O autor

Observa-se a partir da Tabela 11 que a maior perda de massa foi verificada no segundo estágio para todos os filmes, consistindo no processo de decomposição térmica do polímero. Pode-se verificar também que a massa residual foi diminuindo à medida que se aumentava a concentração de celulose bacteriana na blenda.

4.3.1.8 Seleção da formulação para a incorporação do óleo essencial de canela

Diante dos resultados expostos, observa-se que todas as variações de concentrações das blendas foram produzidas com êxito, obtendo-se uma boa uniformidade nos filmes. Nesse caso, para a seleção da formulação adequada para se incorporar o óleo de canela, foram analisadas propriedades que pudessem favorecer a utilização da blenda no âmbito de embalagens e que tivessem uma proporção considerável tanto de celulose como de alginato de sódio. Portanto, as caracterizações que puderam auxiliar na diferenciação dessas blendas foram a transparência, solubilidade, difratometria de Raio-X e análise termogravimétrica.

Em relação à análise da transparência, observa-se que quanto maior o percentual de celulose bacteriana, maior o grau de opacidade. Dos resultados obtidos para a solubilidade pôde-se observar que ao aumentar o percentual de celulose, a solubilidade diminuía, sendo um fator importante para aplicação em embalagens, obtendo-se uma solubilidade para a blenda CB50AL50 de 48,06% e para a CB70AL30 de 30,43%. Em relação à técnica de DRX, as maiores cristalinidades foram obtidas para as blendas CB50AL50 com um percentual de 61,08% e CB70AL30, com 64,80%. Já na análise termogravimétrica foi observado que a adição da celulose bacteriana aumentou a estabilidade térmica das blendas.

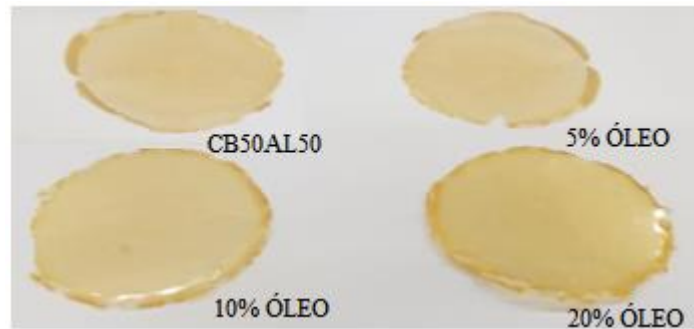
Sendo assim, selecionou-se para a próxima etapa a blenda de proporção 50/50 de CB/AL, devido as suas propriedades, como menor opacidade, solubilidade satisfatória, um bom percentual de cristalinidade e uma melhor estabilidade térmica.

4.3.2 Segunda Etapa

4.3.2.1 Características das blendas com adição do óleo de canela

Os filmes podem ser observados na Figura 12.

Figura 12 - Filmes de CB/AL 50/50 com variação de 0, 5, 10 e 20% de óleo de canela, respectivamente.



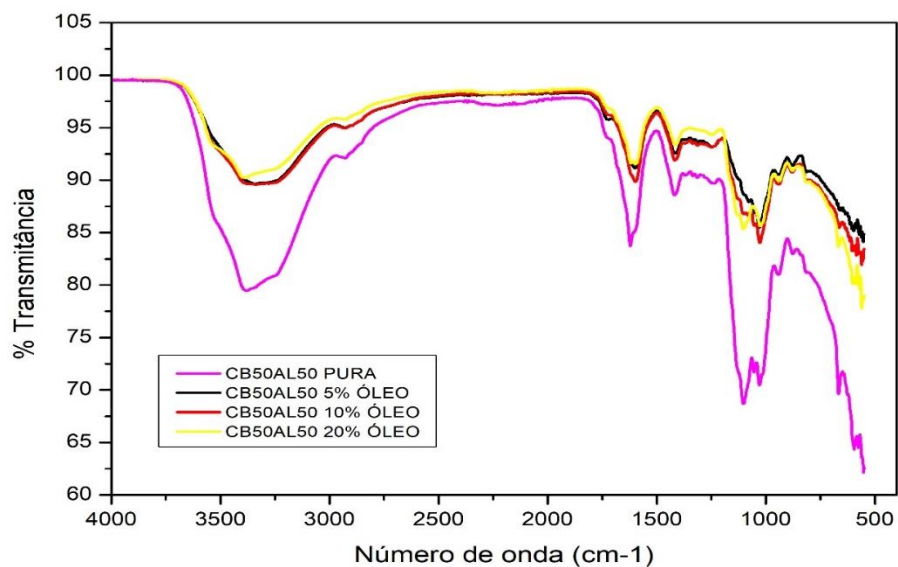
Fonte: O autor

Os filmes produzidos apresentaram-se uniformes para todas as formulações, observando-se que o óleo apresentou boa miscibilidade na blenda de celulose bacteriana/alginate, não apresentando partículas insolúveis a olho nu.

4.3.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Através da técnica de espectroscopia de infravermelho foi verificada a incorporação do óleo de canela nas blendas, de acordo com a Figura 13.

Figura 13 - Espectro de infravermelho da blenda de celulose e alginato pura e aditivada com o óleo de canela.



Fonte: O autor

O gráfico das blendas de CB/AL pura e aditivadas com o óleo de canela apresentaram espectros semelhantes. Isso ocorre devido ao óleo essencial de canela apresentar bandas

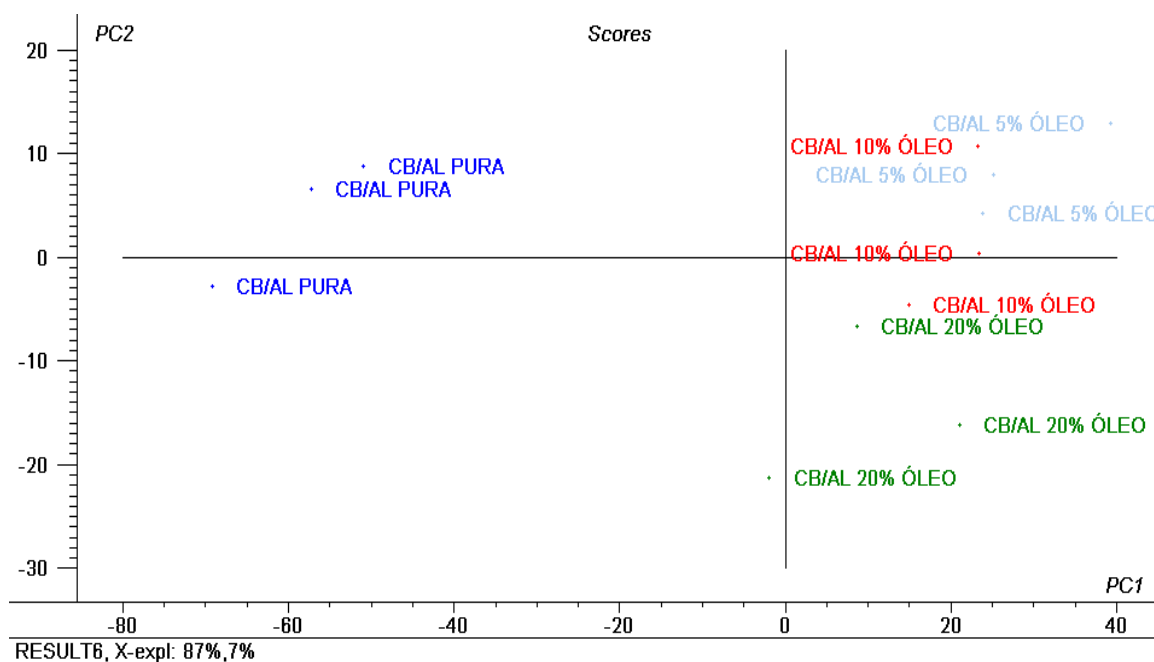
vibracionais características nas mesmas regiões dos filmes de CB/AL. Sendo assim, foi necessário realizar a Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar a diferença entre as blendas poliméricas de celulose/alginato pura e as aditivadas com 5%, 10% e 20% do óleo de canela.

4.3.2.3 Análise de Componentes Principais (PCA)

Com a finalidade de complementar os resultados do FTIR, utilizou-se como ferramenta a Análise de Componentes Principais para identificar a diferença entre as blendas de celulose/alginato pura e aditivadas com 5%, 10% e 20% do óleo essencial de canela. Foi utilizada essa análise para observar a existência de alguma separação entre os grupos funcionais dos filmes com diferentes concentrações do óleo essencial na matriz polimérica.

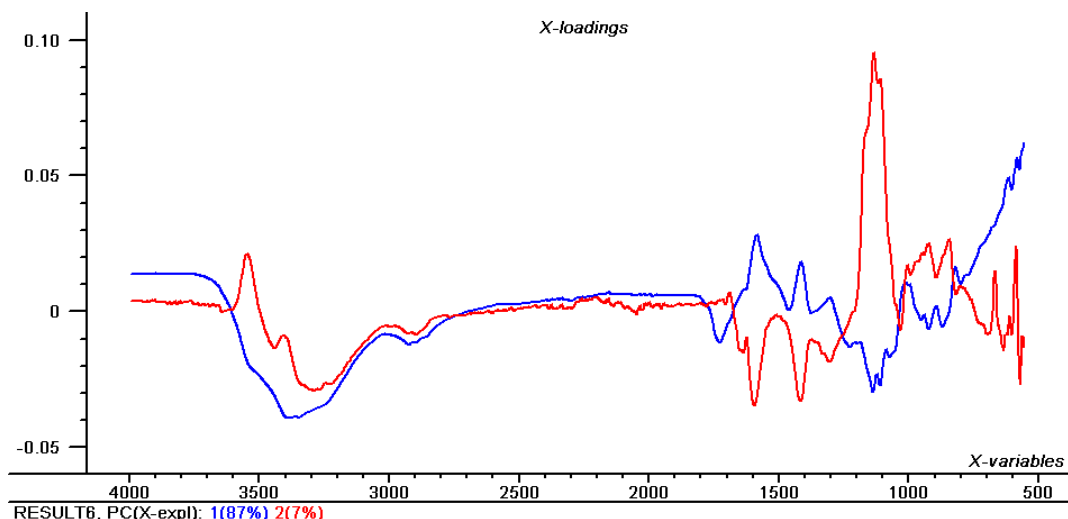
De acordo com o gráfico dos scores apresentado na Figura 14, observa-se que ocorreu uma diferenciação química na matriz de celulose/alginato pura dos filmes aditivados com óleo essencial de canela. Verifica-se também que ocorre uma separação entre os filmes com 5 e 10% do óleo de canela dos filmes que apresentou 20%.

Figura 14 - Análise dos componentes principais dos filmes de celulose/alginato puro e aditivado com 5% 10% e 20% de óleo essencial de canela.



Fonte: O autor

A partir dos espectros dos loadings da PCA apresentados na Figura 15, foi possível identificar os sinais responsáveis pela separação dos grupos nos gráficos de scores.

Figura 15 - Loadings da PCA referentes aos filmes de CB/AL aditivados com óleo de canela.

Fonte: O autor

Analisando-se a Figura 15 é possível visualizar uma banda positiva e outra negativa nas regiões entre 3700-2900, correspondendo ao estiramento da hidroxila, indicando separação entre os filmes com e sem óleo. Observa-se também que os filmes contendo o óleo apresentaram bandas em aproximadamente 1600, 1450 e 1100, indicando a presença do óleo de canela. É possível visualizar também uma intensa banda em 1100, indicando a separação dos filmes com 5 e 10% do óleo do filme com 20%. Com isso, observa-se que a PC1 separou os filmes com e sem óleo, enquanto a PC2 separou um pouco os filmes com um maior percentual de óleo das com menores percentuais.

4.3.2.4 Espessura e Transparência

Na Tabela 12 podem ser visualizados os valores obtidos para espessura e transparência da blenda CB50AL50 aditivada com os diferentes percentuais de óleo de canela.

Tabela 12 - Transparência da blenda CB50AL50 aditivada com 0, 5, 10 e 20% de óleo de canela.

Amostras	Espessura (mm)	Transmitância (%)	Transparência (%)
CB50AL50	0,078 ± 0,006 ^a	64,100 ± 1,300 ^a	23,231 ± 1,731 ^a
CB50AL50 5% ÓLEO	0,069 ± 0,007 ^a	56,850 ± 2,950 ^a	25,472 ± 3,983 ^a
CB50AL50 10% ÓLEO	0,064 ± 0,005 ^a	61,300 ± 3,800 ^a	27,978 ± 1,710 ^a
CB50AL50 20% ÓLEO	0,076 ± 0,008 ^a	55,300 ± 1,600 ^a	23,064 ± 1,724 ^a

Fonte: O autor

Nota: Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os valores seguidos com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo o teste estatístico de Duncan, os valores obtidos para a espessura e a transparência não apresentam diferenças significativas entre si. Logo, pressupõe que a adição do óleo de canela às blendas de CB/AL não interfere na espessura e transparência dos filmes.

4.3.2.5 Solubilidade

Os resultados obtidos para a solubilidade das blendas aditivadas com o óleo essencial de canela encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13 - Solubilidade da blenda CB50AL50 aditivada com 0, 5, 10 e 20% do óleo de canela.

Amostras	Solubilidade (%)
CB50AL50	52,691 $\pm$ 0,967 ^a
CB50AL50 5% ÓLEO	50,527 $\pm$ 2,251 ^a
CB50AL50 10% ÓLEO	47,143 $\pm$ 1,428 ^a
CB50AL50 20% ÓLEO	56,955 $\pm$ 0,545 ^a

Fonte: O autor

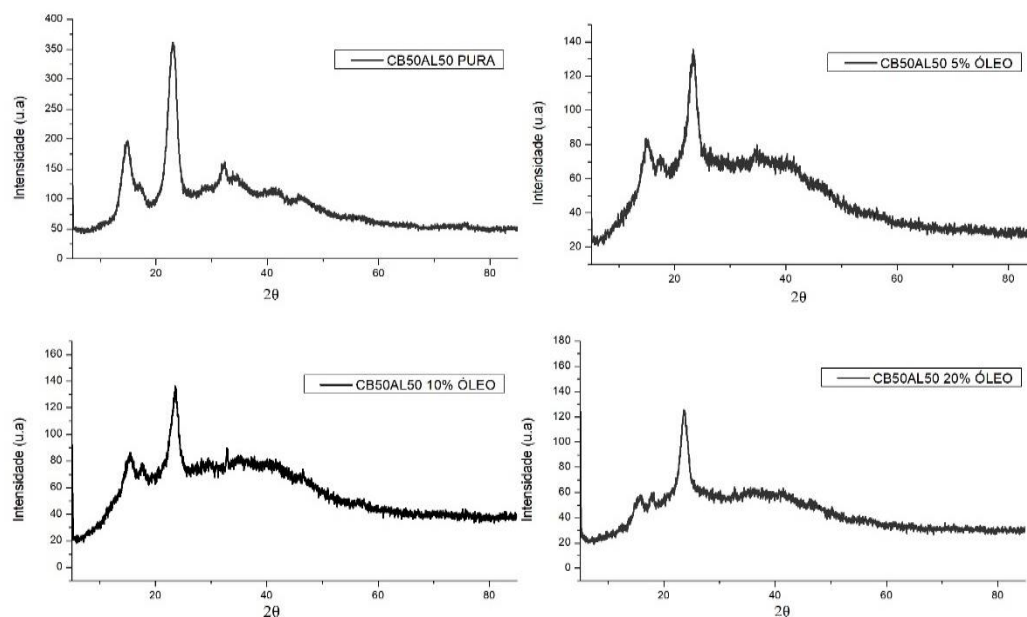
Nota: Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os valores seguidos com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com o teste estatístico de Duncan com 5% de probabilidade, não houve diferença significativa para os valores de solubilidade. Com isso, verifica-se que a adição do óleo de canela às blendas de CB/AL também não interfere na solubilidade.

4.3.2.6 Difratometria de Raios-X

Os difratogramas de Raios-X dos filmes de CB/AL com incorporação do óleo de canela estão representados na Figura 16.

Figura 16 - Difratoograma das blendas de CB/AL incorporadas com óleo essencial de canela.



Fonte: O autor

Os difratogramas mostram a existência de picos de difrações a 2θ em torno de $14,6^\circ$, $17,2^\circ$ e 23° para todos os filmes, sendo esses picos característicos da celulose bacteriana e do alginato de sódio (MORAIS, 2017; FILHO, 2019). Observa-se que ao aumentar o percentual de óleo de canela, o pico em 23° vai diminuindo a intensidade e afetando consequentemente na cristalinidade.

Seguindo a metodologia de Segal (1959), foi calculada a cristalinidade das blendas, obtendo-se valores de 62%, 49,97%, 49,55% e 56,03% para a blenda pura, e com 5%, 10% e 20% de óleo de canela, respectivamente. Constata-se que ao aumentar o percentual do óleo de canela, houve uma diminuição da cristalinidade. Os percentuais de 5% e 10% não apresentaram diferença significativa, porém o percentual de 20% teve um aumento em relação às demais blendas incorporadas com o óleo, podendo mais uma vez justificar esse resultado pela provável não incorporação dessa alta concentração do óleo na blenda, de acordo com o que foi discutido no tópico de rendimento.

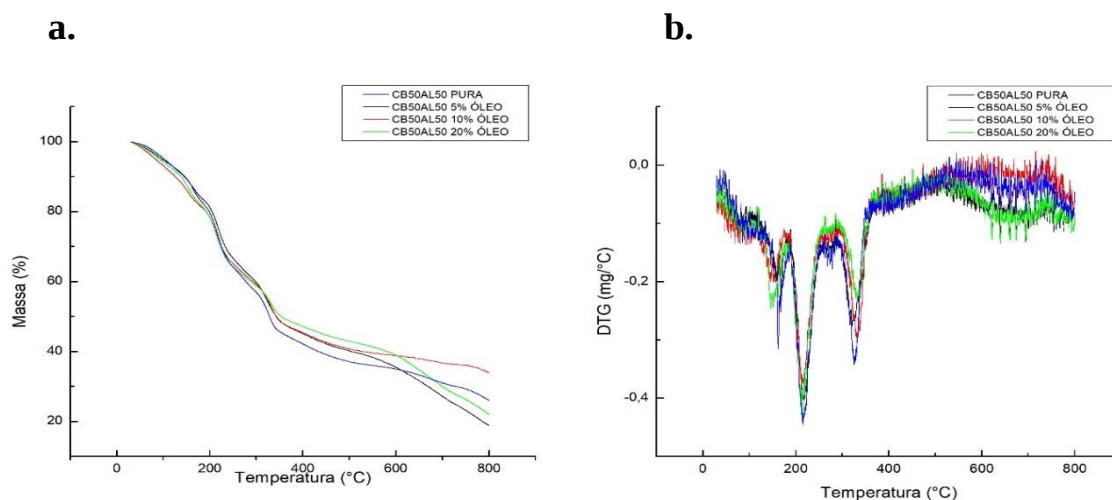
Com esses resultados, verifica-se que a incorporação do óleo essencial de canela na blenda de celulose/alginato interfere de forma positiva na propriedade da blenda, nesse caso diminuindo a cristalinidade, tendo em vista que a incorporação do mesmo provavelmente diminuiu a interação intermolecular na estrutura da blenda pura, afetando a viscosidade (ALBUQUERQUE, 2019).

Essa diminuição na cristalinidade pode ser atribuída à conversão de regiões mais ordenadas em regiões mais desordenadas. Esse fenômeno tem a capacidade de ampliar as aplicações desses materiais nos mais diversos segmentos, principalmente nas áreas alimentícia e médico-hospitalar (CASTELLÕES, 2016).

4.3.2.7 Análise Termogravimétrica

O termograma dos filmes produzidos está representado na Figura 17 e os resultados referentes às temperaturas de degradação podem ser verificados na Tabela 14.

Figura 17 - Curvas de TGA (a) e DTG (b) das blendas de celulose bacteriana/alginato pura e aditivadas com óleo de canela



Fonte: O autor

Tabela 14 - Parâmetros de TGA do filme puro e aditivados com óleo de canela. Temperatura em °C.

Filmes	1° Estágio			2° Estágio			3° Estágio		
	T _{on}	T _{off}	T _{máx}	T _{on}	T _{off}	T _{máx}	T _{on}	T _{off}	T _{máx}
CB50AL50 PURA	31,7	251,6	215,4	292,8	522,4	325,2	534,6	>800	-
CB50AL50 5% ÓLEO	31,7	258,3	218,8	294,5	503,5	321,8	546,4	>800	-
CB50AL50 10% ÓLEO	31,7	261,7	215,4	301,2	580	333,9	628	>800	-
CB50AL50 20% ÓLEO	31,7	249,9	217,1	297,8	517,4	331,9	553,5	>800	-

Fonte: O autor

No tópico 4.3.1.7 foi explicado que tanto a celulose bacteriana como o alginato de sódio possuem três estágios de degradação, e também foram verificadas as faixas de temperaturas específicas para cada polímero, o que pode ser corroborado também a partir da Figura 17 e da Tabela 14. Nesse tópico será avaliado apenas a influência da incorporação do óleo essencial de canela na estabilidade térmica da blenda.

Os dados da Tabela 14 indicam que a adição do óleo de canela aumentou a estabilidade térmica das blends, tendo em vista que suas temperaturas iniciais de degradação no segundo e terceiro estágio foram maiores com a adição do óleo. Na Tabela 15, pode-se observar as perdas de massas em cada estágio de degradação.

Tabela 15 - Dados da avaliação termogravimétrica do filme puro e aditivados com óleo de canela.

Amostra	Perda de massa (%)			Resíduo final (%)
	1° Estágio	2° Estágio	3° Estágio	-
CB50AL50	36,16	22,24	10,57	26,07
PURA				
CB50AL50	34,25	20,57	19,56	19,2
5% ÓLEO				
CB50AL50	36,85	20,39	3,52	34,04
10% ÓLEO				
CB50AL50	35,74	17,63	19,31	22,13
20% ÓLEO				

Fonte: O autor

Analisando a Figura 17 e a Tabelas 14, pode-se observar que a blenda de CB50AL50 aditivada com 10% de óleo de canela foi a que apresentou uma maior estabilidade térmica, pois, apresentou a maior temperatura de degradação no início do segundo e terceiro estágio de perda de massa. Na Tabela 15, considera-se que no terceiro estágio a perda de massa dessa blenda em relação às demais foi muito pequena e a massa residual apresentada pela mesma foi maior comparada aos outros filmes.

5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A produção das blendas foi satisfatória, com a obtenção de blendas uniformes e com boa aparência. Foi verificado que a transparência das blendas aumenta com o aumento da concentração de alginato. Em relação à solubilidade, verificou-se que a mesma diminui com o aumento da concentração de celulose bacteriana, tendo em vista a natureza hidrofóbica da CB, dificultando a interação através de ligações de hidrogênio com a água. Na análise de DRX conclui-se que ao aumentar o percentual de celulose, ocorreu um aumento na cristalinidade nas blendas, tendo em vista a natureza amorfa do AL e semicristalina da CB. Na TGA, foi possível verificar que a adição da celulose bacteriana ao alginato melhorou a estabilidade térmica das blendas.

Para a segunda etapa do trabalho, foi selecionada a blenda com composição em porcentagem 50/50 CB/AL, tendo em vista que suas propriedades foram satisfatórias para a utilização em embalagens. Foram variados os percentuais do óleo essencial de canela em concentrações de 0%, 5%, 10% e 20% e foi observado, através das técnicas de transparência e solubilidade, que os resultados não apresentaram diferenças significativas entre si. A adição do óleo de canela provoca uma diminuição na cristalinidade nas blendas. Na análise de TGA, verificou-se que a adição do óleo de canela melhorou a estabilidade térmica das blendas.

Constatou-se que a mistura desses biopolímeros foi bastante promissora para direcionar esses materiais em aplicações de embalagens de alimentos. Nesse sentido, algumas perspectivas podem ser indicadas para dar continuidade ao presente estudo, entre elas podemos inferir:

- 1) Estudar a migração do óleo de canela em alimentos simulados como óleo, solução aquosa e álcool;
- 2) Realizar o teste de atividade de estabilidade fúngica do filme aplicado em embalagens de pães;
- 3) Realizar o teste da atividade bactericida e fungicida pelo método de crescimento em meio líquido;
- 4) Realizar o estudo de mistura por fusão dos componentes do filme em misturados para acompanhar o processamento durante o aquecimento da mistura.
- 5) Realizar medidas viscosimétricas, para avaliar a influência da viscosidade para as diferentes proporções de CB/AL.

REFERÊNCIAS

- ABDEL AZIZ, M. S.; SALAMA, H. E.; SABAA, M. W. Biobased alginate/castor oil edible films for active food packaging. **LWT - Food Science and Technology**, 2018.
- AHMAD, M., AHMED, S., SWAMI, B.L., IKRAM, S., 2015. Adsorption of heavy metal ions: role of chitosan and cellulose for water treatment. **International Journal of Pharmacognosy**, v.2, n.6, p. 280-289, 2015.
- AHMED, I.; LIN, H.; ZOU, L.; BRODY, A. L.; LI, Z.; QAZI, I. M.; PAVASE, T. R.; LV, L. A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. **Food Control**, v. 82, p. 1–66, 2017.
- AHMED, J.; MULLA, M. Z.; ARFAT, Y. A. Thermo-mechanical, structural characterization and antibacterial performance of solvent casted polylactide/cinnamon oil composite films. **Food Control**, v. 69, p. 196–204, 2016.
- ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H.; ABDOLLAHI, M. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. **Food Control**, 2013.
- ALBUQUERQUE, Rodrigo Melo Bezerra de N.131f. **Desenvolvimento de uma blenda biodegradável à base de celulose bacteriana (cb) e polihidroxibutirato (phb) para aplicação como embalagem ativa para alimentos**. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UNICAP, 2019.
- ALMEIDA, D. M.; WOICIECHOWSKI, A. L.; WOSIACKI, G.; PRESTES, R. A.; PINHEIRO, L. A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polimeros**, v. 23, n. 4, p. 538–546, 2013.
- ALMEIDA, Priscila Prates de N.201f. **Desenvolvimento de embalagem ativa antimicrobiana para pães de forma**. Tese de Doutorado. Florianópolis, SC: UFSC, 2017.
- AMORIM, Geisse Elike Pereira N.64f. Desenvolvimento e caracterização do filme antimicrobiano de polibutileno adipato-co-tereftalato (pbat) com óleo essencial de cravo da Índia para utilização em embalagem ativa. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Serra Talhada, PE: UFRPE, 2019.
- AMORIM, J. D. P.; SILVA JÚNIOR, C. J. G.; COSTA, A. F. S.; DE MELO, J. F. H.; SARUBBO, L. A. Avaliação do potencial da celulose bacteriana para aplicação em cosméticos. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 18457–18462, 2019.
- ANDRADE, Aline Alves de N.117f. **Celulose bacteriana microcristalina modificada: de curativos a filtros bacterianos**. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UFPE, 2019.
- ANDRADE, C. T.; COUTINHO, F. M. B.; DIAS, M. L.; LUCAS, E. F.; OLIVEIRA, C. M. F.; TABAK, D. Dicionário de Polímeros. **Editora Interciência**, p.1-256, 2001.
- ARAÚJO E SILVA, Renata de N.98f. **Avaliação do ciclo de vida da produção de celulose bacteriana em diferentes meios de cultivo**. Dissertação de Mestrado. Fortaleza, CE: UECE, 2019.
- ARAÚJO, Luís Otávio de N.60f. Embalagens ativas: síntese de filmes antimicrobianos à base

de polietileno de baixa densidade e zeólita a contendo prata. **Dissertação**, p. 60, 2019.

ASBAHANI, A. E.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. E.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N.R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220–243, 2015.

AZEREDO, H. M. C. Bacterial cellulose for food applications. **International Journal Of Advances In Medical Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 1–6, 2018.

BATTISTI, R.; FRONZA, N.; JÚNIOR, A. V.; SILVEIRA, S. M.; DAMAS, M. S. P.; QUADRI, M. G. N. Gelatin-coated paper with antimicrobial and antioxidant effect for beef packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 11, p. 115–124, 2017.

BATTISTI, Rodrigo N.104f. **Revestimento Biodegradável e ações antimicrobiana e antioxidante para uso como embalagem ativa em carne bovina fresca**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, SC: UFSC, 2016.

BIERHALZ, A. C. K.; SILVA, M. A.; KIECKBUSCH, T. G. Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 18–25, 2012.

BIJI, K. B.; RAVISHANKAR, C. N.; MOHAN, C. O.; SRINIVASA GOPAL, T. K. Smart packaging systems for food applications: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6125–6135, 2015.

BORGES, Felipe Azevedo N.51f. **Desenvolvimento de uma membrana de látex natural e alginato para regeneração óssea**. Tese de Doutorado. Araraquara, SP: UNESP, 2016.

BROWN, A. J. On an acetic ferment which forms cellulose. **J. Chem. Soc., Trans.**, [s.l.], v. 49, p.432-439, 1886.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O' BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential Oils as Antimicrobials in Food Systems - A Review. **Food Control**, p. 1–34, 2014.

CAMPANO, C.; BALEA, A.; BLANCO, A.; NEGRO, C. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. **Cellulose**, v. 23, n. 1, p. 57–91, 2015.

CAPELEZZO, A. P.; MOHR, L. C.; DALCANTON, F.; BARRETA, C. R. D. M.; MARTINS, M. A. P. M.; FIORI, M. A.; DE MELLO, J. M. M. Polímero biodegradável antimicrobiano através da aditivação com compostos à base de zinco. **Química Nova**, v. 41, n. 4, p. 367–374, 2018.

CARDOSO-UGARTE, G. A.; LÓPEZ-MALO, A.; SOSA-MORALES, M. E. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Essential Oils. In: **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. cap. 38, p. 339–347.

CÁSSIA, Edilene Dutra Nunes de N.153f. Obtenção e caracterização de películas biodegradáveis de amido de mandioca incorporados com celulose bacteriana. **Tese de Doutorado**. São Carlos, SP: UFSCar, 2000.

CASTELLÕES, Flávio Renato Labanca N.61f. Estudo das condições de processamento e caracterização da matériaprima para a produção de um biocompósito de matriz de

poli(succinato de butileno) com reforço de celulose branqueada. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Belo Horizonte, MG: CEFET-MG, 2016.

CASTRO, C. G.; FERREIRA, T. C.; OLIVEIRA, R. C. F.; SIMIONI, P. U.; UGRINOVICH, L. A. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 2, p. 83–89, 2017.

CHAGAS, Bruna Santana das N.89f. Produção de celulose bacteriana em meio à base de melação de soja em cultivo estático. **Dissertação de Mestrado**. Fortaleza, CE: UFC, 2018.

CHAWLA, P. R.; BAJAJ, 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.

CHING, S. H.; BANSAL, N.; BHANDARI, B. Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 1133–1152, 2017.

CLEMENTE, I.; AZNAR, M.; SILVA, F.; NERÍN, C. Antimicrobial properties and mode of action of mustard and cinnamon essential oils and their combination against foodborne bacteria. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p. 26–33, 2016.

CLSI. M02-A12 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2015.

CRUZ, R. S.; FÁTIMA, N. F. S.; ANDRADE, N. J. Absorvedores de oxigênio na conservação de alimentos: uma revisão. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 191–206, 2005.

CUI, H.; LI, W.; LI, C.; VITTAYAPADUNG, S.; LIN, L. Liposome containing cinnamon oil with antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. **Biofouling**, v. 32, n. 1, p. 215–225, 2016.

DIEL RAMBO¹, M. K.; DIEL RAMBO², M. C.; ALMEIDA, K. J. C. R.; ALEXANDRE, G. P. Estudo de análise termogravimétrica de diferentes biomassas lignocelulósicas utilizando a análise por componentes principais. **Ciência e natureza**, v. 37, n. 3, p. 862–868, 2015.

DOH, E. J.; KIM, J.; OH, S.; LEE, G. Identification and monitoring of Korean medicines derived from *Cinnamomum* spp. by using ITS and DNA marker. **Genes and Genomics**, v. 39, p. 101–109, 2017.

DONINI, I. A. N.; SALVI, D. T. B.; FUKUMOTO, F. K.; LUSTRI, W. R.; BARUD, H. S.; MARCHETTO, R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética Química**, São Paulo, 35 - 4: 165 - 178, 2010.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. **European Pharmacopeia**, v. 1, n. 7, p. 1–1297, 2011.

FABRA, M. J.; FALCÓ, I.; RANDAZZO, W.; SÁNCHEZ, G.; LÓPES, A. Antiviral and antioxidant properties of active alginate edible films containing phenolic extracts. **Food Hydrocolloids**, 2018.

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

FERREIRA, A. R. V.; ALVES, V. D.; COELHO, I. M. Polysaccharide-based membranes in food packaging applications. **Membranes**, v. 6, n. 22, p. 1–17, 2016.

FIGUEIREDO, C. S. S. S.; OLIVEIRA, P. V.; SILVA, W. F. S.; DINIZ, R. M.; RODRIGUES, J. F. S.; SILVA, M. S. M.; SILVA, L. C. N.; GRISOTTO, M. A. G. Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 9, n. 2, p. 192–197, 2017.

FILHO, Jorge Fernandes N.88f. Caracterização de filmes de alginato de sódio e pectina para potencial aplicação em dispositivos eletrocromáticos. **Dissertação de Mestrado**. Sorocaba, SP: UFSCar, 2019.

Food and Drug Administration, Department of Health And Human. 2014. **Services Code of Federal Regulations part 182: Substances generally recognized as safe, Sec 18220 Essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives (including distillates)**. Title 21, Volume 3 Revised as of April 1. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20>

FREITAS, Naiara Cordeiro de N.37f. Obtenção e caracterização de películas biodegradáveis de amido de mandioca incorporados com celulose bacteriana. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Campo Mourão, PR: UTFPR, 2015.

GALINDO, Marcella Vitoria N.52f. **Filmes biodegradáveis de gelatina e quitosana com adição de óleos essenciais na conservação de presunto embalado a vácuo**. Trabalho de Conclusão de Curso. Londrina, PR: UTFPR, 2017.

GARCIA, A. A. T.; SILVA BASTOS, C.; XAVIER, R. O.; VIANNA, M. P. Tecnologia dos materiais: Polímeros usados na construção civil. **Ciências exatas e tecnológicas**, v. 4, n. 3, p. 105–124, 2018.

GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008.

GHAANI, M., COZZOLINO, C. A., CASTELLI, G., FARRIS, S. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. **International journal of phytoremediation**, p. 1–49, 2016.

GOPI, S.; AMALRAJ, A.; THOMAS, S. Effective Drug Delivery System of Biopolymers Based On Nanomaterials and Hydrogels - A Review. **Drug Design: Open Access**, v. 5, n. 2, p. 1–7, 2016.

HAN, Y.; YU, M.; WANG, L. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 35–42, 2017.

HECHT, H.; SREBNIK, S. Structural Characterization of Sodium Alginate and Calcium Alginate. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 6, p. 2160–2167, 2016.

INDRARTI, L.; Indriyati. Incorporation of citrus essential oils into bacterial cellulose-based edible films and assessment of their physical properties. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 60, p. 1–6, 2017.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer

blends. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 6, p. 1215-1233, 2013.

KHALID, A.; KHAN, R.; UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; WAHID, F. Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 214–221, 2017.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.; BOHN, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International**, v. 44, p. 3358–3393, 2005.

JOZALA, A. F.; LENCASTRE-NOVAES, L. C.; LOPES, A. M.; CARVALHO, V. S.; MAZZOLA, P. G.; PESSOA-JR, A.; GROTO, D.; GERENUTTI, M.; CHAUD, M. V. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 5, p. 2063–2072, 2016.

KANMANI, P., JEYASEELAN, A., KAMARAJ, M., SURESHBABU, P., SIVASHANMUGAM, K. Environmental applications of chitosan and cellulosic biopolymers: A comprehensive outlook. **Bioresource Technology**, p. 1–41, 2017.

KIM, J. H.; PARK, S.; KIM, H.; KIM, H. J.; YANG, Y.; KIM, Y. H.; JUNG, S.; KAN, E.; LEE, S. H. Alginate/bacterial cellulose nanocomposite beads prepared using *Gluconacetobacter xylinus* and their application in lipase immobilization. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 137–145, 2017.

KIRDPONPATTARA, S.; KHAMKEAW, A.; SANCHAVANAKIT, N.; PAVASANT, P.; PHISALAPHONG, M. Structural modification and characterization of bacterial cellulose-alginate composite scaffolds for tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, p. 1–34, 2015.

LAIA, Andréia Grossi Santos de N.113f. Estudo de filmes e hidrogéis a base de alginato e goma gelana visando aplicações na regeneração de discos intervertebrais. **Dissertação de Mestrado**. Belo Horizonte, MG: CEFET-MG, 2015.

LEBER, Ana Silvia Machado Lettry N.163f. Aplicação e avaliação de revestimento à base de biopolímeros em embalagens de poli (etileno tereftalato) (pet) para alimentos. **Dissertação de mestrado**. Campinas, SP: UNICAMP, 2018.

LIMA, Marília Silva Duarte de N.84f. **Estudo da influência da incorporação do óleo essencial de cravo em filmes de poli (cloreto de vinila)**. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UFPE, 2018.

LINDMAN, B.; KARLSTRÖM, G.; STIGSSON, L. On the mechanism of dissolution of cellulose. **Journal of Molecular Liquids**, v. 156, p. 76–81, 2010.

LUNA, C. B. B.; SILVA, D. F.; BASÍLIO, S. K. T.; ARAÚJO, E. M.; SILVA, A. L.; BEZERRA, A. F. C. Desenvolvimento de Blendas Poliméricas visando a Tenacificação dos Polímeros: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 36, n. 1, p. 67–80, 2015.

MARCHESE, A.; BARBIERI, R.; COPPO, E.; ORHAN, I. E.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. F.; IZADI, M.; ABDOLLAHI, M.; NABAVI, S. M.; AJAMI, M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 668–689, 2017.

MOHAMMADI, M.; MIRABZADEH, S.; SHAHVALIZADEH, R.; HAMISHEHKAR, H.

Development of novel active packaging films based on whey protein isolate incorporated with chitosan nanofiber and nano-formulated cinnamon oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 11–20, 2020.

MOHAMMADKAZEMI, F., AZIN, M., ASHORI, A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 518–523, 2015.

MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. A novel biomaterial: Bacterial cellulose and its new era applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, p. 1–40, 2014.

MORAIS, Jacqueline Câmpelo de N.83f. Produção de celulose bacteriana em meio de glicerol. **Dissertação de Mestrado**. Recife, PE: UFPE, 2017.

MOUSAVI KHANEGHAH, A.; HASHEMI, S. M. B.; LIMBO, S. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. **Food and Bioproducts Processing**, v. 111, p. 1–19, 2018.

OLIVEIRA, Elaine Florinda Rodrigues de N.62f. Desenvolvimento de novos filmes comestíveis contendo purê de couve e alginato de sódio. **Dissertação de Mestrado**. Ilha Solteira, SP: UNESP, 2020.

PACHECO, G., NOGUEIRA, C. R., MENEGUIN, A. B., TROVATTI, E., SILVA, M. C. C., MACHADO, R. T. A. Development and characterization of bacterial cellulose produced by cashewtree residues as alternative carbon source. **Industrial Crops & Products**, v. 107, p. 13–19, 2017.

PADRÃO, J.; GONÇALVES, S.; SILVA, J. P.; SENCADAS, V.; LANCEROS-MÉNDEZ, S.; PINHEIRO, A. C.; VICENTE, A. A.; RODRIGUES, L. R.; DOURADO, F. Bacterial cellulose-lactoferrin as an antimicrobial edible packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 58, p. 126–140, 2016.

PATTANASHETTI, N. A.; HEGGANAVAR, G. B.; KARIDURAGANAVAR, M. Y. Smart Biopolymers and their Biomedical Applications. **Procedia Manufacturing**, v. 12, p. 263–279, 2017.

PONTE, M. R.; GADELHA, A. M. T.; DE LUNA MACHADO, Y.; LOPES, A. A. S.; MALVEIRA, J. Q.; MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; SOUSA RIOS, M. A. Blendas de bagaço de cana-de-açúcar, podas de mangueira e cajueiro: caracterização das propriedades e investigação de seus potenciais energéticos. **Revista Matéria**, v. 24, n. 2, 2019.

PRIYADARSHI, R.; SAURAJ; KUMAR, B.; NEGI, Y. S. Chitosan films incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. **Carbohydrate Polymers**, p. 1–31, 2018.

PICHETH, G. F.; PIRICH, C. L.; SIERAKOWSKI, M. R.; WOEHL, M. A.; SAKAKIBARA, C. N.; SOUZA, C. F.; MARTIN, A. A.; SILVA, R.; FREITAS, R. A. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 97–106, 2017.

PHISALAPHONG, M.; SUWANMAJO, T.; TAMMARATE, P. Synthesis and Characterization of Bacterial Cellulose/ Alginate Blend Membranes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 107, p. 3419–3424, 2008.

REBELO, R.; FERNANDES, M.; FANGUEIRO, R. Biopolymers in Medical Implants: A Brief

Review. **Procedia Engineering**, v. 200, p. 236–243, 2017.

SÁ, Adrielly Águida Menezes de N.134f. **Desenvolvimento de microemulsões contendo óleo essencial de canela (*cinnamomum zeylanicum blume*) como alternativa terapêutica no tratamento de hipercromias**. Dissertação de Mestrado. São Cristovão, SE: UFSE, 2019.

SANTOS, C. G.; ROGGIA, I.; D SILVA FERNANDES, L.; RAFFIN, R. P. Uso de blendas poliméricas em nano e microencapsulação. **Disciplinarum Scientia. Série: Naturais e Tecnológicas, Santa Maria**, v. 16, n. 2, p. 311–323, 2015.

SANTOS, Derval Rosa dos N.132f. Modificação de polietileno de baixa densidade, polipropileno isotático e suas blendas, por radiação gama. **Tese de Mestrado**. Campinas, SP: UNICAMP, 1991.

SAORIN, Franciele N.171f. **Estudo de vida útil de alimentos acondicionados em embalagens com partículas de prata incorporadas na estrutura do material**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, SC: UFSC, 2015.

SASKA, S.; BARUD, H. S.; GASPAR, A. M. M.; MARCHETTO, R.; RIBEIRO, S. J. L.; MESSADDEQ, Y. **Bacterial cellulose-hydroxyapatite nanocomposites for bone regeneration**. *Internation Journal of Biomaterials*, v. 2011, 2011.

SEGAL, L., CREELY, J.J., MARTIN JR., A.E. AND CONRAD, C.M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, p. 786-794, 1959.

SHAO, W.; LIU, H.; LIU, X.; WANG, S.; WU, J.; ZHANG, R.; MIN, H.; HUANG, M. Development of silver sulfadiazine loaded bacterial cellulose/sodium alginate composite films with enhanced antibacterial property. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 351–358, 2015.

SHEYKHNAZARI, S.; TABARSA, T.; ASHORI, A.; SHAKERI, A.; GOLALIPOUR, M. Bacterial synthesized cellulose nanofibers; Effects of growth times and culture mediums on the structural characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 1187–1191, 2011.

SHI, X.; ZHENG, Y.; WANG, C.; YUE, L.; QIAO, K.; WANG, G.; WANG, L.; QUAN, H. Dual Stimulus Responsive Drug Releasing under the Interaction of pH Value and Pulsatile Electric Field for Bacterial Cellulose/Sodium Alginate/Multi-walled Carbon Nanotubes Hybrid Hydrogel. **RSC Advances**, p. 1–11, 2015.

SILVA, Guilherme Dannenberg da N.122f. **Óleo essencial de pimenta rosa (*schinus terebinthifolius raddi*): atividade antimicrobiana e aplicação como componente ativo em filme para bioconservação de alimentos**. Tese de Doutorado. Pelotas, RS: UFPel, 2017.

SILVA, Mariana Altenhofen da N.236f. **Desenvolvimento e caracterização de filmes compostos de alginato e quitosana contendo natamicina como agente antimicótico**. Tese de Doutorado. Campinas, SP: UNICAMP, 2009.

SILVA, Sarah Maria Frota N.72f. Filmes compósitos de celulose bacteriana e goma de cajueiro para aplicação em alimentos. **Dissertação de Mestrado**. Fortaleza, CE: UFC, 2018.

SILVA, Thiago Lopes da N.193f. **Desenvolvimento e avaliação de partículas à base de blendas entre sericina e alginato para aplicação ambiental**. Tese de Doutorado. Campinas,

SP: UNICAMP, 2016.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. Ed. Bookman, 2002.

SOARES, N. F. F.; SILVA, W. A.; SANTOS PIRES, A. C.; CAMILLOTO, G. P.; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Ceres**, v.56, n.4, p.370-378, 2009.

SOUSA, Pedro Rodrigo Reis de N.132f. Obtenção e caracterização de compósitos de blendas poliméricas biodegradáveis reforçadas com bio-hidroxiapatita. **Dissertação de Mestrado**. São Paulo, SP: IPEN, 2018.

SOUZA, Cleyton Assis Loureiro de N.110f. Óleo essencial da *cinnamomum hatschbachii vattimo-gil*: caracterização, desenvolvimento de nanoemulsão e estudo da atividade antibacteriana. **Dissertação de Mestrado**. Rio Branco, AC: AFAC, 2015.

SZEKALSKA, M.; PUCIŁOWSKA, A.; SZYMAŃSKA, E.; CIOSEK, P.; WINNICKA, K. Alginate: Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications. **International Journal of Polymer Science**, p. 1–17, 2016.

SURATAGO, T., TAOKAEW, S., KANJANAMOSIT, N., KANJANAPRAPAKUL, K., BURAPATANA, V., & PHISALAPHONG, M. Development of bacterial cellulose/alginate nanocomposite membrane for separation of ethanol–water mixtures. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 32, p. 305–312, 2015.

TANNÚS, Patrícia José Marques N.72f. Filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de gelatina - quitosana. **Dissertação de Mestrado**. Anápolis, GO: UEG, 2017.

TYAGI, N.; SURESH, S. Production of cellulose from sugarcane molasses using *Gluconacetobacter intermedius* SNT-1: optimization & characterization. **Journal of cleaner production**, p. 1–17, 2015.

UGALDE, Mariane Lobo N.168f. Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais. **Dissertação de Mestrado**. Erechim, RS: URI Erechim, 2014.

UZYOL, H. K.; SAÇAN, M. T. Bacterial cellulose production by *Komagataeibacter hansenii* using algae-based glucose. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 12, p. 11154–11162, 2016.

VASCONCELOS, N. G.; CRODA, J.; SIMIONATTO, S. Antibacterial Mechanisms of Cinnamon and its Constituents: a Review. **Microbial Pathogenesis**, p. 1–10, 2018.

VASCONCELOS, Nathalie Gaebler N.102f. **Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de canela em bactérias produtoras de carbapenemases**. Dissertação de Mestrado. Dourados, MS: UFGD, 2018.

VIANA, R, M; SÁ, N. M. S. M.; BARROS, M. O.; FÁTIMA, M. De; AZEREDO, H. M. C. Nano fibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, n. January, p. 27–32, 2018.

VIANA, Rayra Melo N.66f. Filmes comestíveis a base de combinações de celulose bacteriana e pectina com polpas de frutas. **Dissertação de Mestrado**. Fortaleza, CE: UFC, 2017.

VIDART, Jacyara Moreira Martins N.137f. **Desenvolvimento de partículas à base de sericina e alginato para incorporação de diclofenaco de sódio e ibuprofeno.** Tese de Doutorado. Campinas, SP: UNICAMP, 2019.

VILELA, C.; KUREK, M.; HAYOUKA, Z.; RÖCKER, B.; YILDIRIM, S.; ANTUNES, M. D. C.; NILSEN-NYGAARD, J.; PETTERSEN, M. K.; FREIRE, C. S. R. A concise guide to active agents for active food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 80, p. 212–222, 2018.

WANG, J.; TAVAKOLI, J.; TANG, Y. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, p. 63–76, 2019.

WANG, Y.; ZHANG, Y.; SHI, Y.; PAN, X.; LU, Y.; CAO, P. Antibacterial effects of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark essential oil on *Porphyromonas gingivalis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 116, p. 26–32, 2018.

WYRWA, J.; BARSKA, A. Innovations in the food packaging market: active packaging. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 10, p. 1681–1692, 2017.

YILDIRIM, S.; RÖCKER, B.; PETTERSEN, M. K.; NILSEN-NYGAARD, J.; AYHAN, Z.; RUTKAITE, R.; RADUSIN, T.; SUMINSKA, P.; MARCOS, B.; COMA, V. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 165–199, 2018.

ZHANG, Y.; LIU, X.; WANG, Y. JIANG, P.; QUEK, S. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, p. 1-11, 2015.