



LUCINÉIA PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE
BIONANOCOMPÓSITOS E APLICAÇÃO NA
CONSERVAÇÃO DE MANDIOQUINHA-SALSA**

LAVRAS – MG

2014

LUCINÉIA PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BIONANOCOMPÓSITOS E
APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE MANDIOQUINHA-SALSA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora
Dra. Joelma Pereira

LAVRAS – MG

2014

Pereira, Lucinéia.

Desenvolvimento de bionanocompósitos e aplicação na conservação de mandioquinha-salsa / Lucinéia Pereira. – Lavras : UFLA, 2014.

114 p. : il.

Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA

Pereira, Lucinéia.

Desenvolvimento de bionanocompósitos e aplicação na conservação de mandioquinha-salsa / Lucinéia Pereira. – Lavras : UFLA, 2014.

117 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Joelma Pereira.

Bibliografia.

1. Fibras lignocelulósicas. 2. Tratamento químico. 3. Amido termoplástico. 4. Nanocristais de celulose. 5. Coberturas biodegradáveis. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 664.092

LUCINÉIA PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BIONANOCOMPÓSITOS E
APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE MANDIOQUINHA-SALSA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 21 de julho 2014.

Dra. Kelen Cristina dos Reis UNILAVRAS

Dr. Cleiton Antônio Nunes UFLA

Dra. Joelma Pereira
Orientadora

LAVRAS – MG

2014

À minha família e aos amigos que sempre torceram por mim

DEDICO
AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força, determinação, coragem e por não me deixar desanimar frente aos obstáculos.

A minha mãe, pelo apoio de uma vida inteira e com total dedicação à família.

Aos meus irmãos, pelo apoio, amizade, paciência e por estar sempre presente quando preciso, principalmente a Lucilene e a Laurilene.

Os meus sobrinhos, Mara, Tamara, Mateus, Leonardo, João Miguel e Davi.

À Tia Maria, pelo apoio e incentivo nesta caminhada.

As meninas do apartamento 303 (Emiliane, Raquel, Milena, Karen, Paula, Josi, Cíntia), pela amizade construída e que, certamente, mesmo com os rumos diferentes que tomamos, continuará, assim como as boas lembranças.

Ao Willian, pela amizade.

Ao Quedes, pela amizade e incentivo, principalmente na etapa de finalização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras e ao do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de aprendizado concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de bolsas de estudos.

A minha orientadora, Joelma Pereira, pela confiança, pelos conhecimentos compartilhados, paciência, compreensão e amizade, estando sempre presente e contribuindo para a conclusão de mais uma etapa.

À professora Kelen Cristina dos Reis, pelas contribuições, por acreditar em minhas ideias e pela amizade.

A todos os funcionários do DCA que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho, em especial Tânia, Tina, Creuza e Heloísa, que sempre estiveram dispostas a ajudar com as análises deste experimento e de outros.

Ao Laboratório de Análise de Microscopia e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras, pela disponibilização do microscópio eletrônico de varredura.

Ao Núcleo de Microscopia Eletrônica (NME) da Universidade Federal de Viçosa, pela realização das análises de microscopia eletrônica de transmissão.

A todos que hoje fazem ou fizeram parte da família LGC (Laboratório de Grãos, Raízes e Tubérculos), com os quais convivi: Sandra Tavares, Natanielli, Elizandra, Simone Velloso Missagia, Lorena Andrade, Antonia, Débora, Raul, Luan, Luciana, Lays, Raissa, Cristiane, Giulia, Carina, Monise, Esperança e, em especial, Janyelle, Gisele, João Renato, Fausto Júnior, Daniela e Iana, pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos alunos Tatti Costa e Mario Guimarães e professores do Departamento de Ciências Florestais pela contribuição na execução das análises.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho, muito obrigada!

“Depois de escalar uma montanha muito alta,
descobrimos que há muitas outras montanhas
por escalar.”

RESUMO

O biocompósito de amido tem baixa resistência mecânica e baixa barreira a gases, à luz e à umidade, parâmetros estes essenciais na conservação de produtos alimentícios. As propriedades podem ser melhoradas com a incorporação de cargas lignocelulósicas em tamanho nanométrico, ou seja, nanocelulose. Os resíduos agroindustriais, abundantes na natureza, têm sido utilizados para a produção de nanocelulose devido ao seu elevado conteúdo celulósico e baixo custo. A produção industrial de café e de arroz gera grande quantidade destes resíduos. Neste trabalho, os objetivos foram o desenvolvimento de bionanocompósitos de amido de mandioca com nanocristais de celulose produzidos por meio da hidrólise dos resíduos do beneficiamento do café e da casca de arroz e aplicação na conservação da mandioquinha-salsa. Os resíduos foram submetidos a tratamento químico para purificação da celulose e em seguida, submetidos à hidrólise ácida para a produção dos nanocristais. As fibras foram hidrolisadas com ácido sulfúrico 50%, por 75 minutos, a 50 °C. Os resíduos e os nanocristais foram submetidos a análises químicas, físicas e morfológicas. Os nanocristais foram aplicados no desenvolvimento de bionanocompósitos em matriz de amido de mandioca pelo processo *casting* e estes foram caracterizados quanto à resistência mecânica, à elongação na ruptura, à espessura, à opacidade, à solubilidade em água e à permeabilidade ao vapor de água. Os resultados mostraram que é possível obter nanocristais de celulose pela técnica utilizada. Os nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café não interferiram na resistência mecânica e na elongação dos biocompósitos de amido, aumentaram a permeabilidade ao vapor de água e reduziram a solubilidade. Os nanocristais de celulose da casca de arroz aumentaram a elongação na ruptura e reduziram a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade dos biocompósitos. A opacidade dos dois bionanocompósitos não foi alterada. As dispersões dos bionanocompósitos foram utilizadas como revestimento de raízes de mandioquinha-salsa, as quais foram armazenadas durante oito dias e analisadas. Análises de pH, sólidos solúveis, perda de massa, cor e firmeza foram realizadas a cada dois dias, durante oito dias de armazenamento, para verificar a influência dos revestimentos nestas propriedades. Foram observadas diferenças significativas entre tempo de armazenamento e tratamento para firmeza, pH, sólidos solúveis e acidez titulável das raízes revestidas. Os bionanocompósitos elaborados com nanocristais de celulose auxiliam na manutenção da firmeza das raízes de mandioquinha-salsa durante o período de armazenamento.

Palavras-chave: Fibras lignocelulósicas. Tratamento químico. Amido Termoplástico. Nanocristais de celulose. Coberturas biodegradáveis.

ABSTRACT

The biocomposite starch has low mechanical strength and low barrier to gases, light and moisture, these parameters essential for the preservation of food products. The properties can be improved by the incorporation of nanometric fillers lignocellulosic, i.e nanocellulose. The agroindustrial waste, abundant in nature, have been used to produce nanocellulose due to low cost and high cellulose content. In this work, the objectives were the development of bionanocomposites cassava starch with cellulose nanocrystals produced by hydrolysis of waste from the processing of coffee and rice husks and application in conservation Peruvian carrot. The wastes were subjected to chemical treatment for purification of cellulose, and then subjected to acid hydrolysis for the production of nanocrystals. The fibers were hydrolysed with sulfuric acid 50% for 75 minutes at 50 °C. Waste and nanocrystals were subjected to chemical, physical and morphological analyzes. The nanocrystals were used to develop bionanocomposites in cassava starch matrix by casting process and these were characterized with respect to mechanical strength, elongation at break, thickness, opacity, water solubility and permeability to water vapor. The results showed that it is possible to obtain cellulose nanocrystals by the technique used. The cellulose nanocrystals from the coffee processing waste did not affect the mechanical strength and elongation of starch biocomposites, increased permeability to water vapor and reduced solubility. The cellulose nanocrystals rice husk increased elongation at break and reduced water vapor permeability and solubility. The opacity of both bionanocompósitos was unchanged. Bionanocomposites dispersions were used as coating roots Peruvian carrot, which were stored for eight days and analyzed. Analysis of pH, soluble solids, weight loss, color and firmness were made every two days for eight days of storage, to check the influence of the coverage on these properties. Significant difference was observed between treatment and storage time for firmness, pH, soluble solids and titratable acidity of the roots coated. The bionanocomposites made with cellulose nanocrystals assist in maintaining the firmness of Peruvian carrot roots during storage.

Keywords: Lignocellulosic fibers. Chemical treatment. Thermoplastic starch. Cellulose nanocrystals. Biodegradable coating .

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	11
	INTRODUÇÃO GERAL	11
1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Embalagens biodegradáveis para alimentos	13
2.2	Fibras lignocelulósicas	14
2.3	Bionanocompósitos	16
2.4	Obtenção de nanocristais de celulose	17
2.5	Resíduos agroindustriais do beneficiamento de grãos	19
3	CONCLUSÃO	21
	REFERÊNCIAS	22
	SEGUNDA PARTE	27
	ARTIGO 1 Efeito dos nanocristais de celulose de resíduos do beneficiamento do café em biocompósitos de amido	27
	ARTIGO 2 Bionanocompósito de amido de mandioca elaborados com nanocristais de celulose de casca de arroz	63
	ARTIGO 3 Aplicação de coberturas biodegradáveis à base de amido na conservação da mandioquinha-salsa	92

PRIMEIRA PARTE

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

Para armazenar um produto alimentício, mantendo suas propriedades sensoriais e tecnológicas, utilizando embalagens plásticas, características como boa resistência mecânica, transparência, alta barreira a gases e à umidade são primordiais. Essas propriedades podem ser alcançadas com a utilização de matrizes poliméricas oriundas do petróleo, como o polietileno e o prolipileno. O setor de embalagens para alimentos vem crescendo e se diversificando para atender às exigências dos consumidores e, dessa forma, ocorre o acúmulo destas resinas não biodegradáveis no ambiente.

A busca por tecnologia que valorize a preservação ambiental é uma solução para amenizar a contaminação do solo e da água com resíduos plásticos e é objeto de pesquisa em todo o mundo. Os resultados das pesquisas apontam a utilização de fontes renováveis como alternativa para a produção de matrizes poliméricas. Materiais biodegradáveis, como o amido extraído de diferentes fontes botânicas e algumas proteínas, estão sendo utilizados como substitutos do plástico convencional. Mas, essas matrizes biodegradáveis ainda apresentam limitações, como baixa resistência mecânica e alta permeabilidade ao vapor de água.

Para reduzir as deficiências das embalagens biodegradáveis estão sendo incorporadas a essas matrizes fibras lignocelulósicas, além de outras cargas. Diversas fibras vegetais podem ser encontradas naturalmente, outras são cultivadas como atividade agrícola e algumas são resíduos gerados, principalmente, pela agroindústria.

A elevada disponibilidade de fibras lignocelulósicas e a possibilidade de sua incorporação em materiais biodegradáveis abrem oportunidade para a investigação de tecnologias que agreguem valor a estes subprodutos. As nanofibras têm sido objeto de pesquisa de diversas áreas científicas, pois a utilização destas fibras em escala nanométrica potencializa os efeitos sobre a matriz na qual são incorporadas, melhorando suas propriedades. As nanofibras de celulose podem ser obtidas por meio de processamento mecânico ou por hidrólise ácida. Os materiais obtidos possuem alta resistência mecânica e podem ser acrescentados a filmes baseados em amido.

Este trabalho foi realizado com os objetivos de desenvolver e caracterizar bionanocompósitos baseados em amido de mandioca e nanocristais de celulose de resíduos agroindustriais do beneficiamento do café e do arroz e verificar seu potencial de aplicação na conservação da mandioquinha-salsa armazenada à temperatura ambiente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Embalagens biodegradáveis para alimentos

Filmes e revestimentos comestíveis à base de polímeros biodegradáveis vêm sendo estudados como forma de minimizar problemas relativos à deterioração de vegetais e hortaliças, durante a comercialização (BOTREL et al., 2010). A aplicação dos filmes ou revestimentos em alimentos pode influenciar as propriedades de barreira a gases e à água e, ainda, as características texturais dos mesmos (SOARES et al., 2009), contribuindo para a manutenção de suas características físico-químicas e sensoriais.

A aplicação de coberturas biodegradáveis à base de polissacarídeos, proteínas e lipídeos vem sendo pesquisada como forma de aumentar o tempo de vida útil dos alimentos, por meio da redução da perda de água, minimização do transporte de oxigênio e perda de vapor de água (SOARES et al., 2009).

O amido é um produto natural obtido de diferentes fontes botânicas e constitui uma alternativa para a produção de embalagens biodegradáveis. Consiste na principal reserva de energia nas plantas superiores e é formado por dois componentes principais: amilose, de estrutura linear constituída de unidades de D-glicose unidas por ligações α (1 \rightarrow 4) e amilopectina, uma macromolécula ramificada constituída de ligacões α (1 \rightarrow 4) e cadeias curtas ligadas por ligações α (1 \rightarrow 6) (LEONEL; CEREDA, 2002). A aplicação do amido no desenvolvimento de compósitos biodegradáveis não é recente e é baseada nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para a formação de géis, o que possibilita a formação de películas finas.

Segundo Machado et al. (2012), os compósitos de amido apresentam propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água insatisfatórias, quando

comparadas às de outras matrizes poliméricas. Com o objetivo de melhorar as propriedades de matrizes poliméricas são incorporados materiais de reforço ou agentes que irão reduzir a hidrofiliabilidade das matrizes. Agnantopoulou, et al. (2012) desenvolveram compósitos de amido incorporados com farinha de madeira e conseguiram biocompósitos com melhor estabilidade térmica e resistência mecânica. Visto que a incorporação de fibras lignocelulósicas nas matrizes proporcionou melhorias em suas propriedades, iniciou-se a incorporação de fibras em escala nanométrica, o que potencializou os efeitos.

Chen et al. (2009) produziram bionanocompósitos em matriz de amido de ervilha reforçados com nanofibras de casca de ervilha e obtiveram melhoria das propriedades mecânicas e óticas dos mesmos. Alemdar; Sain (2008a) desenvolveram bionanocompósitos de amido com nanofibras de celulose de palha de trigo e observaram aumento da resistência à tensão e da temperatura de transição vítrea. Chen et al. (2012) desenvolveram bionanocompósitos de amido de batata reforçados com nanocristais de celulose de casca de batata.

2.2 Fibras lignocelulósicas

As fibras vegetais são compostas de celulose, hemicelulose, lignina e compostos extraíveis, como pectinas, gomas, saponinas e gorduras, dentre outros. A celulose é o biopolímero mais abundante e renovável a partir de biomassa e forma o principal componente estrutural das plantas (CHUN et al., 2011).

Devido à intensificação das questões ambientais, pesquisas envolvendo o emprego de polímeros biodegradáveis como substitutos dos polímeros sintéticos convencionais aumentaram nos últimos anos, assim como o uso de fibras naturais como reforço dos mesmos. As vantagens da utilização de fibras lignocelulósicas em polímeros são a baixa densidade, a baixa abrasividade, a

possibilidade de incorporação de altos teores resultando em elevada rigidez, a manutenção da reciclabilidade, a biodegradabilidade e a grande variedade de cargas reforçativas existentes (ALEMDAR; SAIN, 2008b; MACHADO et al., 2010).

A utilização de fibras vegetais tem sido estimulada devido a várias outras vantagens, incluindo sua alta disponibilidade e natureza renovável (PHUONG; SOLLOGOUB; GUINAULT, 2010). Elas também são mais leves e têm custo menor que as fibras sintéticas, além de apresentar propriedades aceitáveis para utilização em embalagens, móveis e na indústria automobilística (ALEMDAR; SAIN, 2008b).

Na última década, o uso de resíduos agrícolas, tais como fibras de casca de coco (ROSA et al., 2010), bagaço de mandioca (PASQUINI et al., 2010), ráquis de bananeira (ZULUAGA et al., 2009), casca de amora (LI et al., 2009), vagens de soja (WANG; SAIN, 2007), casca e palha de trigo, palha e casca de soja (ALEMDAR; SAIN, 2008b) e talos de milho (REDDY; YANG, 2005) têm sido estudados como recursos na produção de celulose cristalina (JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012a).

Ibrahim; Hadithon; Abdan (2010) estudaram a influência da adição de fibras de *Hibiscus cannabinus* L. em matriz de ecoflex, um polímero biodegradável, e obtiveram aumento das propriedades mecânicas dos compósitos. Joseph; Medeiros (1999) otimizaram as propriedades mecânicas de compósitos em matriz de poliéster reforçadas com fibras curta e longas de sisal e verificaram que o comprimento das fibras não tem influência sobre o alongamento na ruptura dos compósitos. Monteiro et al. (2006) aplicaram 20% de fibras de curauá em matriz de poliéster e obtiveram resistência máxima em torno de 100 MPa.

2.3 Bionanocompósitos

Os biocompósitos ou compósitos biodegradáveis são obtidos pela mistura de dois materiais biodegradáveis (MOHANTY; MISRA; HINRICHSEN, 2000) e possuem melhores propriedades que os materiais separados.

Recentemente, houve aumento considerável no desenvolvimento de compósitos poliméricos reforçados com partículas nanométricas. Esta classe de materiais é objeto de pesquisa e despertou o interesse de diversos segmentos da indústria alimentícia, automobilística e farmacêutica. Devido ao tamanho das partículas em nanoescala, estes nanocompósitos exibem propriedades melhoradas, quando comparados aos compósitos convencionais preparados a partir da mesma fonte (PASQUINI et al., 2010).

Tanto os polímeros sintéticos quanto os naturais já foram utilizados na preparação de nanocompósitos com celulose, na tentativa de conciliar e aprimorar as propriedades dos componentes puros. A interação das nanopartículas com a matriz, devido à grande área superficial das nanoestruturas, potencializa os efeitos na mesma (SILVA, et al., 2009).

Os bionanocompósitos podem ser obtidos pela incorporação física de nanocristais de celulose em matrizes biodegradáveis. As propriedades destes compósitos dependem da forma dos nanocristais de celulose, da matriz polimérica e da interação entre ambos. As partículas nanométricas, as quais têm área superficial específica elevada e interagem efetivamente com a matriz polimérica, potencializa os efeitos favoráveis aos nanocompósitos comparados com os compósitos elaborados com cargas em escalas maiores (SILVA et al., 2009).

2.4 Obtenção de nanocristais de celulose

As fibras possuem estrutura complexa, constituída de uma parede primária e uma secundária, conforme explicitado na Figura 1.

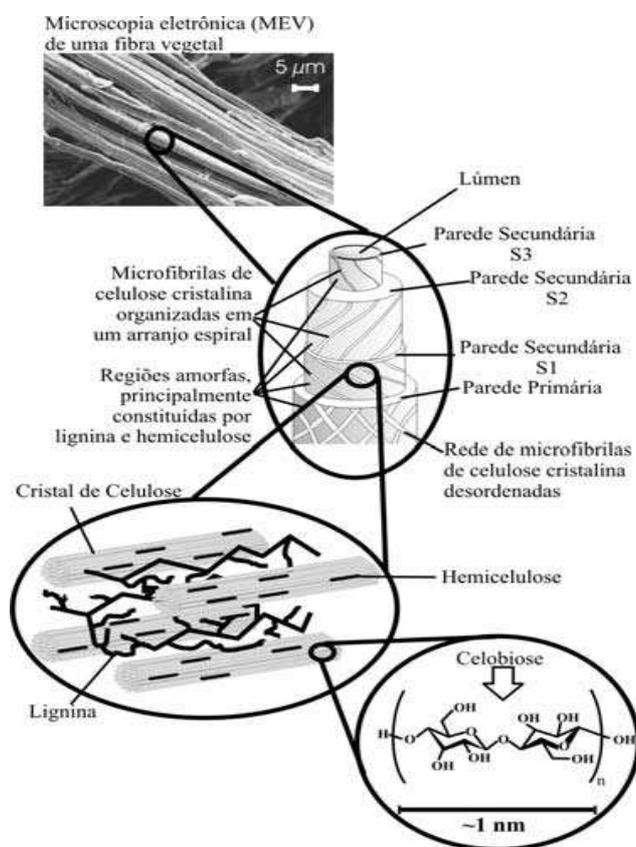


Figura 1 Estrutura da fibra vegetal
Fonte: Silva et al.,(2009)

Cada microfibrila é formada pela agregação de fibrilas primárias, que são constituídas por partes cristalinas e amorfas da fibra vegetal. A microfibrila pode ser considerada uma cadeia de cristais capilares, ligadas ao longo dela por

cadeias amorfas (PODSIADLO et al., 2005). Estes cristalitos medem cerca de 5 nm de largura, mas isso varia de acordo com a fonte da celulose. Eles são organizados em grupos para formar microfibrilas que têm 8-50 nm de diâmetro e com comprimento de poucos microns.

Nos últimos anos têm sido realizadas pesquisas sobre o isolamento de nanofibras de plantas para utilizá-las como carga em biocompósitos (ALEMDAR; SAIN, 2008b). A nanofibra, a qual pode ser isolada por vários tratamentos, são os cristais capilares, também conhecidos como *nanowhiskers* ou microcristais de celulose, com comprimentos que variam de 500 nm até 1-2 µm, e cerca de 8-20 nm, ou menos, de diâmetro (LIMA; BORSALI, 2004).

A nanofibra de celulose é um material cristalino com região altamente ordenada e, quando isoladas, apresentam-se em forma de bastonete, nanocristais que têm propriedades elétricas, ópticas, magnéticas e condutoras (HERRERA; MATHEW; OKSMAN, 2012).

A incorporação física dos nanocristais de celulose em uma matriz polimérica leva a nanocompósitos com excelentes propriedades (PASQUINI et al., 2010). Souza et al. (2010) desenvolveram nanocristais de celulose de curauá (*Ananas erectifolius*) por hidrólise ácida e verificaram que, com a adição de 4% em matriz de álcool polivinílico, a resistência à tração máxima aumentou 36% e o módulo de Young, 67%. Krishnaprasad et al. (2009) prepararam compósitos biodegradáveis de poli-hidroxibutirato com nanofibras de bambu e obtiveram materiais com melhores propriedades mecânicas.

Vários métodos para a preparação de nanocristais têm sido desenvolvidos nos últimos anos (CHERIAN et al., 2010; HERRERA; MATHEW; OKSMAN, 2012; JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012a). Estes métodos incluem tratamentos mecânicos por meio do cisalhamento ou da homogeneização a alta pressão, tratamentos químicos, como a hidrólise ácida,

bem como algumas combinações dos métodos mencionados (CHEN et al., 2009).

Entre os métodos desenvolvidos para a extração de nanocristais de celulose, a hidrólise ácida é o mais difundido e utilizado (BONDESON et al., 2006).

Os nanocristais estão sendo desenvolvidos pela utilização de resíduos agrícolas (ROSA et al., 2010 ; MORAIS et al., 2013 ; PASQUINI et al., 2010) e oriundos de processos industriais, como, por exemplo, o biorresíduo da produção de etanol (OKSMAN et al., 2010). Esta constitui uma área de pesquisa promissora, uma vez que pode contribuir significativamente com a diminuição dos resíduos descartados no ambiente.

2.5 Resíduos agroindustriais do beneficiamento de grãos

a) Café

O café (*Coffea* sp.) é uma das mais importantes *commodities* agroindustriais, sendo o Brasil um dos maiores produtores. Durante a produção e o processamento dos grãos são geradas grandes quantidades de resíduos, como cascas, polpas e folhas (PANDEY et al., 2000). No Brasil, a forma mais comum de processamento do café é por via seca, na qual o fruto é seco na sua forma integral, resultando em resíduos formados por casca e pergaminho, fornecendo rendimento de 50% do peso colhido.

A casca de café e a polpa eram utilizadas, anteriormente, apenas para a produção de fertilizantes e de ração animal, o que não era suficiente para a utilização de todo o resíduo produzido. Estudos recentes apontam a possibilidade de utilização destes resíduos em bioprocessos para a produção de cogumelos, ácidos orgânicos e enzimas (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Algumas pesquisas têm buscado alternativas para aumentar a utilização dos resíduos da cafeicultura, como, por exemplo, a produção de carvão ativo. Brum et al. (2008) produziram carvão ativo com pergaminho de café, como forma de reduzir seu descarte e agregar valor a esses subprodutos da indústria do café.

b) Arroz

O arroz é uma das principais culturas, cobrindo 1% da superfície da Terra, sendo cultivado em todos os continentes. Somente na Ásia, o arroz constitui de 60% a 70% da absorção total de calorias, em média, de mais de 2.000 milhões de pessoas. Na África e na América Latina, a produção e o consumo de arroz estão em expansão, como o segundo grão de cereal mais consumido em países de baixa renda e déficit alimentar (FOO; HAMEED, 2009).

Segundo Feng et al. (2004), no desenvolvimento das indústrias de beneficiamento do arroz são geradas cerca de 120 milhões de toneladas de resíduo fibroso por ano, correspondendo a um quinto da produção de arroz anual em todo o mundo.

A casca de arroz é um material termicamente estável, com cerca de 55% a 97% de sílica distribuída em sua estrutura composta por fases cristalinas e amorfas. Essas características possibilitam a sua utilização como reforço em matrizes poliméricas, o que pode reduzir significativamente o descarte destes resíduos no ambiente (AYSWARYA et al., 2012; ROSA et al., 2009).

Ayswarya et al. (2012) utilizaram cascas de arroz em compósitos de polietileno de alta densidade e obtiveram bons resultados para a propriedade mecânica. Rosa et al. (2012) desenvolveram nanocristais de celulose de casca de arroz por meio de um processo sem a utilização de cloro, resultando na produção de resíduos menos tóxicos.

3 CONCLUSÃO

A metodologia aplicada para a purificação da celulose é eficiente, uma vez que ocorre maior detecção do conteúdo celulósico dos resíduos do beneficiamento do café e da casca do arroz. As imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão mostram que é possível desenvolver nanocristais de celulose com a casca do arroz e com o resíduo do beneficiamento do café utilizando ácido sulfúrico 50% a 50 °C por 75 minutos, como condições de hidrólise. Nessas condições, são produzidos nanocristais com índices de cristalinidade inferiores aos índices dos resíduos branqueados, indicando que ocorre degradação da celulose durante a hidrólise ácida.

A adição de 3% de nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento de café nos biocompósitos de amido de mandioca não aumenta significativamente as propriedades mecânicas dos bionanocompósitos, mas aumenta a permeabilidade ao vapor de água e diminui a solubilidade em água dos mesmos.

As raízes revestidas com as dispersões dos bionanocompósitos têm variações na cor, acidez titulável, sólidos solúveis e pH, durante o armazenamento. Diminuição da firmeza e aumento da perda de massa são observados. Os revestimentos não eliminam totalmente a perda de massa das mandioquinhas-salsa, mas esta é menor do que nas amostras sem revestimento.

REFERÊNCIAS

AGNANTOPOULOU, E. et al. Development of Biodegradable Composites Based on Wood Waste Flour and Thermoplastic Starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 126, p. 272–280, 2012.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology**, v. 68, n. 2, p. 557–565, fev. 2008a.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues: wheat straw and soy hulls. **Bioresource technology**, v. 99, n. 6, p. 1664–71, abr. 2008b.

AYSWARYA, E. P. et al. Rice husk ash: a valuable reinforcement for high density polyethylene. **Journal of materials & design**, v. 41, p. 1–7, 2012.

BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. **Cellulose**, 13, p. 171–180, (2006).

BOTREL, D. A. et al. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1814–1820, 2010.

BRUM, S. S. et al. Preparação e caracterização de carvão ativado produzido a partir de resíduos do beneficiamento do café. **Química Nova** [online]. v. 31, n. 5, p. 1048-1052, 2008.

CHEN, D. et al. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 1, p. 709–716, set. 2012.

CHEN, Y. et al. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 4, p. 607–615, 2009.

CHERIAN, B. M. et al. Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 3, p. 720–725, jul. 2010.

CHUN, S.-J. et al. Preparation of ultrastrength nanopapers using cellulose nanofibrils. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 521–526, maio 2011.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, maio 2012.

FENG, Q. et al. Adsorption of lead and mercury by rice husk ash. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 278, p. 1–8, 2004.

FOO, K. .; HAMEED, B. . Utilization of rice husk ash as novel adsorbent: a judicious recycling of the colloidal agricultural waste. **Advances in colloid and interface science**, v. 152, n. 1-2, p. 39–47, nov. 2009.

HERRERA, M. A.; MATHEW, A. P.; OKSMAN, K. Comparison of cellulose nanowhiskers extracted from industrial bio-residue and commercial microcrystalline cellulose. **Materials Letters**, v. 71, p. 28–31, 2012.

IBRAHIM, N. A.; HADITHON, K. A.; ABDAN, K. Journal of Reinforced Plastics and Effect of Fiber Treatment on Mechanical Properties of Kenaf Fiber — Ecoflex. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, 2010.

JOHAR, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 93–99, maio 2012a.

JOSEPH, K.; MEDEIROS, E. S. Compósitos de Matriz Poliéster Reforçados por Fibras Curtas de Sisal. **Polimeros Ciência e Tecnologia**, p. 136–141, out./dez. 1999.

KRISHNAPRASAD, R. . et al. Mechanical and Thermal Properties of Bamboo Microfibril Reinforced Polyhydroxybutyrate Biocomposites. **Journal Polymer Environm**, v. 17, p. 109–114, 2009.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002

LIMA, M. M. S.; BORSALI, R. Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, Properties, and Applications. **Macromol. Rapid Commun.** n. 25, p. 771–787, 2004.

LI,R.et al. Cellulose whiskers extracted from mulberry -A novel biomass production. **Carbohydrate Polymers**, n. 76, p. 94-99, 2009.

MACHADO, B. A. S. et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v. 42, p. p.2085–2091, 2012.

MACHADO, M. L. C. et al. Estudo das Propriedades Mecânicas e Térmicas do Polímero Poli-3-Hidroxibutirato (PHB) e de Compósitos PHB / Pó de Madeira. **Polímeros**, v. 20, p. 65–71, 2010.

MOHANTY, A. K., MISRA, M., HINRICHSEN, G. Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. **Macromolecular Materials and Engineering**, p. 276-277, 2000.

MONTEIRO, S. N. et al. Comportamento Mecânico e Características Estruturais de Compósitos Poliméricos Reforçados com Fibras Contínuas e Alinhadas de Curauá . **Revista Matéria**, v. 11, p. 197–203, 2006.

MORAIS, J. P. S. et al. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 229–235, 2013.

OKSMAN, K. et al. Cellulose nanowhiskers separated from a bio-residue from wood bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 1, p. 146–152, 2010.

PANDEY, A et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical engineering journal**, v. 6, n. 2, p. 153–162, out. 2000.

PASQUINI, D. et al. Extraction of cellulose whiskers from cassava bagasse and their applications as reinforcing agent in natural rubber. **Industrial Crops e Products**, v. 32, n. 3, p. 486–490, 2010.

PHUONG, N. T.; SOLLOGOUB, C.; GUINAULT, A. Relationship between fiber chemical treatment and properties of recycled pp/bamboo fiber composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, 29(21), p. 3244–3256, 2010.

PODSIADLO, P. et al. Molecularly engineered nanocomposites: layer-by-layer assembly of cellulose nanocrystals. **Biomacromolecules**, n. 6, 2914–2918, 2005.

REDDY, N., YANG, Y., 2005. Structure and properties of high quality natural cellulose fibers from cornstalks. **Polymer**, n. 46, 5494–5500, 2005.

ROSA, M. F. et al. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers□: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 1, p. 83–92, 2010.

ROSA, S. M. L. et al. Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1131–1138, jan. 2012.

ROSA, S. MARIA L. et al. Studies on the Properties of Rice Husk Filled PP Composites – Effect of Maleated PP. **Materials Research**, v. 12, n. 3, p. 333–338, 2009.

SILVA, R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661–671, 2009.

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

SOUZA, S. F. DE. Obtenção de Nanofibras de Curauá e aplicação como reforço em compósitos baseados em PVA. 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, 2010.

WANG, B.; SAIN, M. Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. **Composites Science and Technology**, v. 67,n.11, p. 2521–2527, 2007.

ZULUAGA, R.et al. Cellulose microfibrils from banana rachis: effect of alkaline treatment on structural and morphological features. **Carbohydrate Polymers**. v. 76,n.1, 51–59, 2009.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Efeito dos nanocristais de celulose de resíduos do beneficiamento do café em biocompósitos de amido

Artigo redigido conforme normas da revista *Revista Carbohydrates Polymers*
(versão preliminar)

L. Pereira^a, I. Matos^a, D. A. de O. Silva^a, K. C. dos Reis^b, J. Pereira^a

^a Departamento Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 30347, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil

^b Centro Universitário de Lavras, Rua Padre José Poggel, 506, Caixa Postal 3141 - Centenário - Lavras - MG - CEP 37200-000

RESUMO

A incorporação de resíduos lignocelulósicos em escala nanométrica à matriz de amido possibilita melhoria de suas propriedades mecânicas e pode reduzir a absorção de umidade. Neste trabalho foram produzidos nanocristais de celulose de resíduos do beneficiamento do café e incorporados em matriz de amido de mandioca. Os resíduos foram purificados antes da obtenção dos nanocristais de celulose. Para observar as modificações nas fibras foi realizada análise espectroscópica na região do infravermelho (FTIR-ATR), cor, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raios X. A investigação estrutural dos nanocristais de celulose foi realizada por meio da microscopia eletrônica de transmissão (MET). As propriedades de barreira dos bionanocompósitos produzidos foram avaliadas. O índice de cristalinidade das fibras aumenta com o processo de purificação, mas reduz com a hidrólise ácida da fibra branqueada. Foram observados aumento na permeabilidade ao vapor de água dos bionanocompósitos e diminuição da solubilidade em água dos mesmos.

Palavras-chave: Compósitos, Casca de café, Pergaminho de café, Hidrólise ácida, Difração de raios X.

1 INTRODUÇÃO

O amido é um biopolímero obtido a partir de fontes vegetais e pode ser utilizado para a obtenção de plástico biodegradável (AGNANTOPOULOU et al., 2012). Devido ao forte caráter hidrofílico do amido, o biocompósito produzido com ele tem baixa resistência à umidade, o que compromete a sua utilização para o uso em embalagens de alguns alimentos.

Pesquisas estão sendo desenvolvidas para minimizar a baixa propriedade mecânica e sensibilidade à umidade, que são alguns dos problemas associados à matriz de amido. Para melhorar essas propriedades podem ser incorporadas nanoceluloses isoladas de fibras vegetais, como reportado por (KARIMI et al., 2014), além de agregar valor aos resíduos (DIGABEL; AVEROUS, 2006). Materiais como as nanopartículas de argilas também podem ser incorporadas para aumentar a barreira ao vapor de água da matriz de amido e melhorar sua propriedade mecânica (ZHANG et al., 2007).

O material celulósico presente na parede secundária das plantas é composto de microfibrilas formadas por regiões amorfas e cristalinas. Com a extração das regiões amorfas, que são mais susceptíveis ao ataque ácido, é produzida a celulose nanocristalina que vem sendo aplicada na indústria de embalagens e de cosméticos, dentre outras. O processo de produção de nanocristais de celulose é promissor e vem sendo desenvolvido a partir de diversas fontes, como palha de trigo (ALEMDAR; SAIN, 2008), casca de ervilha (CHEN et al., 2009), casca de abacaxi (CHERIAN et al. 2010), bagaço de cana-de-açúcar (MANDAL; CHAKRABARTY, 2011), casca de batata (CHEN et al., 2012) e resíduo da produção do bioetanol (OKSMAN et al., 2010).

A condição de elaboração dos nanocristais, seja por tratamento mecânico ou por hidrólise ácida, e as fontes celulósicas influenciam a forma e o

tamanho dos nanocristais e precisam ser aprimoradas. Dentre os processos utilizados, a hidrólise ácida, com ou sem tratamentos prévios na fibra, é o mais difundido na literatura. Plantas com considerável conteúdo celulósico têm sido utilizadas para a produção de nanocristais de celulose por hidrólise ácida (TEODORO, 2011).

Os resíduos do beneficiamento do café têm considerável conteúdo celulósico e seu uso na elaboração de nanocristais constitui uma alternativa para o aproveitamento destes resíduos agroindustriais.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de obter nanocristais de celulose dos resíduos do beneficiamento do café por meio de hidrólise ácida e utilizá-los no desenvolvimento de bionanocompósitos de amido de mandioca. Todos os materiais produzidos foram investigados quanto às suas propriedades químicas e físicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Casca e pergaminho do café seco naturalmente foram obtidos na unidade de beneficiamento de café experimental (Polo do Café) da Universidade Federal de Lavras e utilizados para a extração de nanocristais de celulose. Este material foi denominado resíduo do beneficiamento do café. Para a realização das análises foram utilizados hidróxido de sódio (Biofar), peróxido de hidrogênio (Dinâmica), ácido sulfúrico (Vetec), glicerol (Vetec), ácido acético (Synth), etanol (Vetec) e hidróxido de potássio (Synth). A membrana D9042 (Sigma Aldrich) foi utilizada para diálise da dispersão de nanocristais de celulose. O amido de mandioca utilizado foi fornecido pela empresa Inbramaq.

2.2 Preparação dos nanocristais de celulose a partir do resíduo do beneficiamento do café

2.2.1 Purificação da celulose

Os resíduos retirados do local de descarte após beneficiamento dos grãos de café foram higienizados com água, para a retirada de sujeiras superficiais e secos em estufa FANEM modelo 320-SE (Brasil), com circulação de ar a 80 °C, por 12 horas. Após a secagem, as amostras foram trituradas em moinho martelo tipo willey (Tecnal, Brasil) e analisaram-se as fibras que passaram pela peneira com malha de 40 mesh.

a) Mercerização

Os resíduos foram tratados com solução de hidróxido de sódio 10% na proporção 1:20 (m/v) (CHEN et al., 2012). O erlenmeyer foi selado e levado à autoclave FABRE (Brasil), a 121 °C, com 1,5 atm (atmosferas) de pressão por uma hora. Em seguida, as fibras foram lavadas até a neutralidade da água de lavagem e filtradas em tecido de organza. Esse processo foi repetido por três vezes e, depois, a fibra obtida foi levada à estufa com circulação de ar, a 65 °C, por 24 horas.

b) Branqueamento

Após o tratamento alcalino, o processo de branqueamento foi realizado com a adição de uma mistura de soluções de hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio, ambas a 10%, mantendo a proporção de fibra 1:20 (m/v). O frasco foi selado e autoclavado por uma hora, a 121 °C. Após a descompressão da autoclave, a suspensão obtida foi resfriada e as fibras lavadas até a neutralidade da água de lavagem. Este processo foi repetido por cinco vezes e, depois disso, a fibra obtida foi levada à estufa com circulação de ar, a 65 °C, por 24 horas.

Tanto o tratamento alcalino quanto o branqueamento foram realizados pelo método de explosão a vapor. Por meio deste método é possível eliminar ou reduzir os materiais não celulósicos presente nas fibras (CHERIAN et al., 2010).

2.2.2 Isolamento dos nanocristais de celulose

Os nanocristais de celulose foram extraídos por hidrólise ácida de acordo com Morais et al. (2013), com algumas modificações. Para o isolamento dos nanocristais, a celulose purificada foi submetida à hidrólise com ácido sulfúrico 50% com razão fibra ácido de 1:25 (m/v), a 50 °C, por 75 minutos.

Após o tempo de hidrólise, foram adicionados 250 mL de água gelada ao sistema para paralisar a reação. A dispersão obtida foi submetida a cinco ciclos de centrifugação, a 6.000 RPM, em centrífuga FANEN (Brasil), para a remoção do sobrenadante ácido. A diálise foi realizada em fluxo de água constante, até que o pH da água estivesse entre 6 e 7. Após a diálise, as suspensões foram sonicadas por 5 minutos para desagregação das partículas e submetidas à refrigeração em frascos de vidro, a 4 °C, para a conservação das mesmas.

2.3 Elaboração dos bionanocompósitos

Os bionanocompósitos de amido de mandioca plastificados com glicerol foram elaborados pelo processo *casting*, nas concentrações de 0 e 3% de nanocristais de celulose (base seca). Uma suspensão de nanocristais em água adicionadas de glicerol foi mantida sob agitação magnética, por uma hora e, em seguida, foram adicionados 3 g de amido de mandioca. Uma suspensão de amido (3 g/100 mL), glicerol e nanocristais de celulose foi aquecida até 70 °C, com agitação constante para a gelatinização do amido. Em seguida, 10 mL do gel foram vertidos em placas de polietileno com 9 cm de diâmetro e secos em estufa com circulação de ar FANEM modelo 320-SE (Brasil), a 34 °C, por 12 horas. Os bionanocompósitos foram armazenados em dessecador com solução saturada de cloreto de sódio com umidade relativa de 75%, até o momento da caracterização.

2.4 Caracterização

2.4.1 Composição química e física dos resíduos

Para determinar a composição química dos resíduos, o teor de umidade e de cinzas foi definido de acordo com AOAC (2012). Para a determinação do teor

de extratíveis seguiu-se a metodologia descrita na Norma M 3/89 (ABTCP, 1974). O teor de holocelulose foi calculado de acordo com Browing (1963) e, para a celulose, seguiu-se o procedimento descrito por Kennedy et al. (1987).

A cor (croma (C^*), L^* (luminosidade) e o ângulo hue (h)) das fibras, antes e após as etapas de mercerização e branqueamento, foram determinados utilizando-se espectrofotômetro Konica Minolta modelo CM-5 (Japão), empregando-se iluminante D65. Foi utilizado o sistema CIELab, em que L^* (luminosidade) varia de 0 (preto) a 100 (branco) e indica o quanto está clara ou escura uma amostra. O índice C^* representa a intensidade de cor ou saturação, e ângulo de tonalidade hue (h) representa o vermelho-púrpura em 0° , amarelo em 90° , azul esverdeado em 180° e azul em 270° . Valores de h próximos a 90° indicam tonalidade amarela. Em relação ao croma, quanto mais baixos forem os valores de C^* , menos intensa será a cor observada.

2.4.2 Microscopia eletrônica

2.4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura

A estrutura das fibras, antes e após tratamento químico, foi investigada por microscopia eletrônica de varredura, no Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras. As fibras foram dispostas sobre fita dupla face em stubs e levadas para estufa, a 70°C , durante 24 horas. Os filmes foram congelados em nitrogênio líquido e cortados em pequenos retângulos com um bisturi, para análise da região de fratura. Em seguida, as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro, pelo método “Sputtering”, com a utilização de um Sputter Coater Balzers SCD 050 e, então, observadas ao microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40 XVP, Inglaterra, a 20kV (MORAIS et al.,2013) .

2.4.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Para a verificação do tamanho e da forma dos nanocristais, uma gota da suspensão foi disposta em gride de cobre e contrastada com acetato de uranila 2%. Os grides foram secos em temperatura ambiente, por 24 horas e observados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM109, USA, sob tensão de aceleração de 80 kV (CHEN et al., 2012) . O comprimento e o diâmetro dos nanocristais foram determinados por meio da medida do comprimento e diâmetro de 50 cristais com o programa Image J 1.47v. Essa análise foi realizada no Núcleo de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Viçosa.

2.4.3 Birrefringência

A dispersão de nanocristais de celulose em água foi submetida à análise de birrefringência sob dois polarizadores cruzados, para a verificação da dispersão em água (OKSMAN et al., 2010).

2.4.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Amostras secas dos resíduos e nanocristais de celulose foram submetidas à análise espectroscópica na região do infravermelho, em equipamento Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA), com acessório de reflectância total atenuada (ATR) no Laboratório de embalagens da Universidade Federal de Viçosa. Os espectros foram obtidos na região de 4.000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , com um total de 32 varreduras por amostra (CHEN et al., 2009).

2.4.4 Difração de raios X (DRX)

Análises da estrutura cristalina dos resíduos, nanocristais e bionanocompósitos foram realizadas em difratômetro de raios X da marca Panalytical modelo X PRO (Holanda), com variação angular de 10-80°(2 θ), radiação de CoK α ($\lambda=1,78897$ Å) e velocidade de exposição de 5 °C min⁻¹, sob tensão de 40 KV(Morais et al.,2013) . O índice de cristalinidade das fibras foi calculado de acordo com a Equação 1, proposta por Segal, et al., (1959).

$$\% \text{ IC} = [1 - (I_{\text{am}} / I_{002})] \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

em que I_{am} é a intensidade de difração da fase amorfa no ângulo $2\theta = 22^\circ$, quando a intensidade é mínima e I_{002} é o pico de intensidade máxima localizado no ângulo 2θ entre 26° e 27° .

2.4.5 Espessura

A espessura dos bionanocompósitos foi medida com um micrômetro externo digital 0,001 mm (Instrutemp, Brasil), com sensor de medida com 0,25 mm de diâmetro em três pontos diferentes, considerando-se a espessura dos filmes como uma média entre as leituras de cinco repetições, sendo um total de 15 leituras e os resultados expressos em milímetros (FARIA; VERCELLHEZE; MALI, 2012).

2.4.6 Opacidade

A opacidade dos bionanocompósitos foi determinada em espectrofotômetro Konica Minolta modelo CM-5 (Japão), empregando-se iluminante D65. A percentagem de opacidade (Op) foi calculada a partir da relação entre a luminosidade (parâmetro L^*) do filme sobreposto sobre o padrão preto (PP) e a luminosidade (parâmetro L^*) do filme sobreposto sobre o padrão branco (PB), de acordo com a Equação 2.

$$Op (\%) = (L_{PP} / L_{PB}) \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

2.4.7 Propriedades mecânicas

A resistência à tração e a alongação na ruptura foram determinadas de acordo com o método padrão ASTM D 882-02 (ASTM, 2002), utilizando-se texturômetro TA. XT2 Plus (Stable Micro System, Reino Unido) com célula de carga de 50 kg. O corpo de prova preparado para as análises de resistência à tração e alongação na ruptura foi preparado com 80 mm de comprimento e 20 mm de largura.

Os parâmetros utilizados nos ensaios foram os seguintes: velocidade pré-teste 0,8 mm/segundo, velocidade de teste 0,8 mm/segundo, velocidade pós-teste 10,00 mm/segundo e a probe utilizada para a resistência à tração e porcentagem de alongamento na ruptura foi a A/TG, com distância entre garras de 50 mm. A resistência à tração foi calculada pela razão entre a força máxima e a área seccional do filme conforme a Equação 3.

$$\sigma = F/A \quad \text{Equação (3)}$$

em que σ é a resistência à tração, F a força de tração (N) e A a área da seção transversal inicial do corpo de prova (mm^2).

A alongação na ruptura foi calculada dividindo-se o diferencial de

extensão pela separação inicial das garras. Para cada repetição foram utilizados cinco corpos de prova, para melhor precisão na obtenção dos resultados.

2.4.8 Solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água

A determinação da solubilidade em água dos bionanocompósitos foi realizada conforme Fakhouri et al. (2007).

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos bionanocompósitos foi determinada com o método padrão E398 da ATSM (ASTM E398-03), utilizando-se um Permatran-W, modelo 1/50 G (USA). A amostra foi inserida entre duas máscaras de alumínio, com área interna de 12,6 cm², disposta na célula de difusão do equipamento. Os parâmetros utilizados na análise foram os seguintes: temperatura de 37,8 °C e umidade relativa controlada de 40% (permeante) e de 10% (lado seco).

2.4.9 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos, em que foram analisados os resíduos do beneficiamento de café sem tratamento químico, após a mercerização e o branqueamento. Foram desenvolvidos e caracterizados bionanocompósitos de amido de mandioca com a adição 0 e 3% de nanocristais de celulose de casca de café. Os resultados foram expressos com a média de cinco observações.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das fibras antes e após tratamento químico

Após os tratamentos químicos para purificação da celulose, os resíduos foram submetidos à análise do conteúdo de umidade, extratíveis, cinzas, holocelulose e celulose. Os resultados estão dispostos na Tabela 1.

O teor de umidade e cinzas reduziu após os tratamentos químicos apresentando diferença significativa entre os materiais analisados e menor valor de cinzas foi observado para o material branqueado. Isso indica que os constituintes minerais da amostra analisada foram lixiviados, quando tratados com hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio.

Segundo Bekalo e Reinhardt (2010), a casca de café é composta por celulose, hemicelulose, extratíveis, lignina, cinzas e sílica, e o teor de cinzas é de 6% a 7%, enquanto o de umidade é de 6% a 9%. O resultado observado neste trabalho para cinzas e umidade está de acordo com o relatado por estes autores. O teor de extratíveis presentes no resíduo do beneficiamento do café foi de 25,57%.

Tabela 1 Valores médios¹ e desvios padrões dos parâmetros umidade ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), cinzas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), celulose ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), e holocelulose ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), dos resíduos de café

Parâmetros	Tratamentos		
	RC	RCM	RCB
	$\text{g } 100\text{g}^{-1}$		
Umidade	7,83 a	4,47c	5,53b
Cinzas	5,47a	2,73b	2,25a
Holocelulose	67,9c	83,1b	84,4a
Celulose	46,6c	62,9b	65,9a

¹Média de cinco observações; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo Teste Tukey; RC = resíduo do beneficiamento café sem tratamento químico; RCM = resíduo do beneficiamento do café mercerizado; RCB = resíduo do beneficiamento do café branqueado

Com os tratamentos químicos ocorreu a purificação dos resíduos, e tanto o teor de holocelulose como o de celulose são maiores no material branqueado. Bekalo e Reinhardt (2010) relatam que a casca de café tem de 19% a 26% de celulose, valores menores que o observado neste trabalho.

Isso pode ser explicado pelo fato de que o resíduo analisado não era composto apenas por casca, mas também pelo pergaminho, que tem maior conteúdo celulósico que a casca de café (BRUM et al., 2008). Além disso, a composição química pode variar entre as diferentes variedades da planta e, até mesmo, entre as partes da mesma planta (BEKALO; REINHARDT, 2010).

A celulose é considerada um polímero semicristalino, por apresentar, em sua estrutura, moléculas de hemicelulose e lignina, constituintes amorfos, ligados aos cristais de celulose. As regiões amorfas são consideradas defeitos da estrutura e são responsáveis pela quebra das microfibrilas de celulose em monocristais, durante a hidrólise ácida (AZIZI-SAMIR; ALLOIN; DUFRESNE, 2005; BRAS et al., 2011).

O teor de celulose aumenta após os tratamentos químicos aplicados às fibras porque a hemicelulose e a lignina, que são macromoléculas amorfas, foram parcialmente removidas, deixando as cadeias de celulose mais expostas. Essa deslignificação ocorre por meio da dissolução da lignina em meio alcalino e isso demonstra que o método utilizado pode ser usado para a purificação da celulose. O teor de celulose do resíduo do beneficiamento do café está próximo dos valores encontrados para casca de coco e bagaço de cana-de-açúcar, os quais foram utilizados para a produção de nanocristais de celulose.

Os tratamentos químicos promoveram mudanças de cor dos resíduos e os resultados estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 Valores médios¹ de croma (C*), luminosidade (L*) e h (tonalidade) dos resíduos do beneficiamento do café

Parâmetros	Tratamentos		
	RC	RCM	RCB
L*	43,23c	47,28b	88,66a
C*	34,48a	34,48a	23,32b
h	67,57b	67,79b	88,56a

¹Média de cinco observações

Letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$), pelo Teste Tukey; RC = resíduo do beneficiamento do café sem tratamento químico ; RCM = resíduo do beneficiamento do café mercerizado; RCB = resíduo do beneficiamento do café branqueado

A eficiência dos tratamentos químicos também pode ser verificada com a diminuição dos valores do croma (C*) e aumento da luminosidade (L), para as amostras com a mercerização e o branqueamento. Isso indica que ocorreu a dissolução de gorduras, graxas, ceras, minerais, parte da hemicelulose e a quebra

da lignina e de outros materiais cromóforos, tornando a fibra com aspecto mais claro.

O resíduo do beneficiamento do café (RC) apresenta coloração marrom, como pode ser visualizado na Figura 1.



Figura 1 Imagens do resíduo do beneficiamento do café antes e após tratamento químico: (A) RC = resíduo do beneficiamento do café sem tratamento químico ; (B) RCM = resíduo do beneficiamento do café mercerizado; (C) RCB= resíduo do beneficiamento do café branqueado

Após o tratamento com hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio, o valor para a tonalidade (h) aumentou aproximando-se de 90°. A coloração marrom foi substituída pela cor amarela, evidenciando o seu clareamento. O valor de L* também aumenta, o que também é indício de clareamento das amostras. Parâmetros como concentração, tempo de exposição e temperatura influenciam o processo e devem ser controlados para que não ocorra degradação da fibra. Os resíduos do café, após cinco etapas de branqueamento, ainda

permaneceram com tonalidade amarela e isso pode ser indício da presença da lignina na amostra. Mais etapas não foram realizadas para que não ocorresse degradação da celulose, o que comprometeria a extração dos nanocristais.

3.2 Microscopia eletrônica

3.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os resultados da análise de microscopia eletrônica de varredura mostram a estrutura superficial dos resíduos antes e após o tratamento químico. Na Figura 2A observa-se a presença do pergaminho de café na amostra, uma vez que RC é composto pela casca e o pergaminho. Nestas, as fibras se apresentam íntegras, sem fissuras, ao contrário do que pode ser visualizado na Figura 2B, a qual retrata o resíduo de café submetido à mercerização com hidróxido de sódio, em que as fibras se apresentam visivelmente com aberturas ocasionadas pela deslignificação das mesmas. Esta redução parcial da lignina facilita o processo de branqueamento e o ataque do ácido às regiões amorfas da fibra (ROSA et al., 2010). As regiões amorfas são atacadas durante o processo de branqueamento e hidrólise, aumentando a densidade de empacotamento da celulose (ROWELL et al., 1997). As fibras são formadas por um feixe de células individuais chamadas de microfibrilas, unidas pela lignina e hemicelulose, de maneira a formar filamentos contínuos no sentido do comprimento da fibra. Com a deslignificação, as fibras são facilmente desfibriladas, como pode ser visualizado na Figura 2C, o que facilita o processo de hidrólise com o ácido sulfúrico para a produção dos nanocristais.

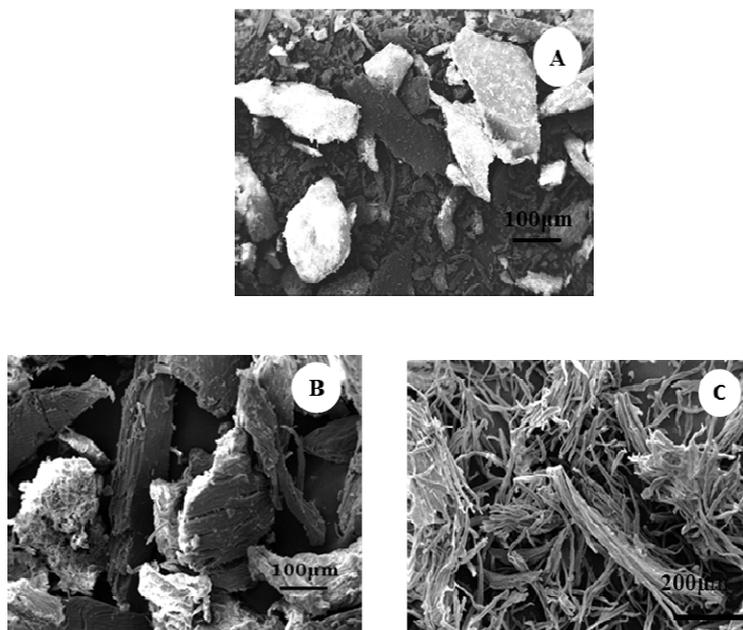


Figura 2 Eletromicrografias dos resíduos do beneficiamento do café antes e após tratamento químico: (A) RC = resíduo do beneficiamento do café sem tratamento; (B) RCM = resíduo do beneficiamento do café mercerizado; (C) RCB = resíduo do beneficiamento do café branqueado

3.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A cinética de hidrólise das regiões amorfas da celulose é mais rápida do que para as regiões cristalinas. O ataque ácido é feito nestas regiões por meio da quebra hidrolítica da ligação glicosídica, formando cristais individuais e menores. As dimensões e a forma dos nanocristais de celulose dependem das condições de hidrólise, como tempo, temperatura, razão fibra ácido e também da fonte do material celulósico, e são parâmetros que precisam ser controlados durante o processo (BRAS et al., 2011). A microscopia eletrônica de transmissão é a técnica mais utilizada para a verificação da estrutura dos nanocristais de celulose. Com o propósito de verificar a forma e o tamanho dos nanocristais de

celulose, as dispersões foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão e a eletromicrografia obtida está ilustrada na Figura 3A. Os nanocristais obtidos apresentaram forma alongada, similares aos nanocristais obtidos da celulose da casca de batata por (CHEN et al., 2012). Os nanocristais de celulose de RC apresentaram $354\pm 0,12$ nm de comprimento e $15,6\pm 8$ nm de diâmetro, valores menores que os obtidos para nanocelulose de casca de batata, cujo comprimento foi de 410 ± 183 nm.

A proporção entre as regiões cristalinas e amorfas nas fibras varia entre as espécies de plantas e as dimensões e a forma dos nanocristais depende da fonte da qual foram extraídos (MORAIS et al., 2013). Ainda de acordo com estes autores, as dimensões dos nanocristais são determinadas pelas condições de hidrólise e os pré-tratamentos, mas a fonte do material celulósico também deve ser considerada como fator importante. Esse resultado mostra que as condições de hidrólise utilizada foi eficiente para produzir os nanocristais de celulose.

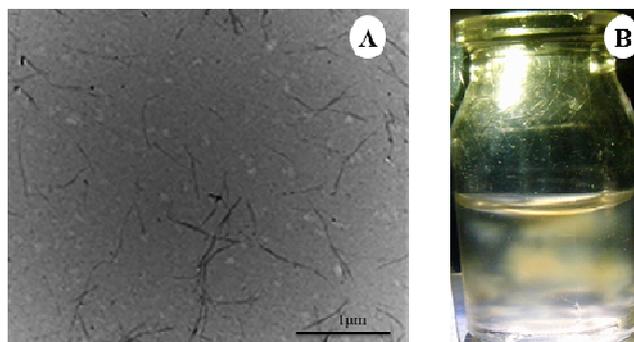


Figura 3 Eletromicrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão dos nanocristais de celulose da celulose do resíduo do beneficiamento do café (A); Fotografia da dispersão de nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café em água (B)

3.3 Birrefringência

A dispersão de nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento de café se apresentou birrefringente, quando observada sob dois polarizadores cruzados. A birrefringência indica que os nanocristais de celulose estão presentes e bem dispersos em água. Na Figura 3B observa-se a birrefringência da dispersão de nanocristais em água.

3.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O tratamento químico realizado nas fibras pode produzir mudanças em sua estrutura. Estas modificações foram observadas pela análise microscópica e podem ser comprovadas pela análise na região do infravermelho. Na Figura 4 mostram-se os espectros das fibras sem tratamento químico e das submetidas à mercerização, branqueamento e hidrólise ácida.

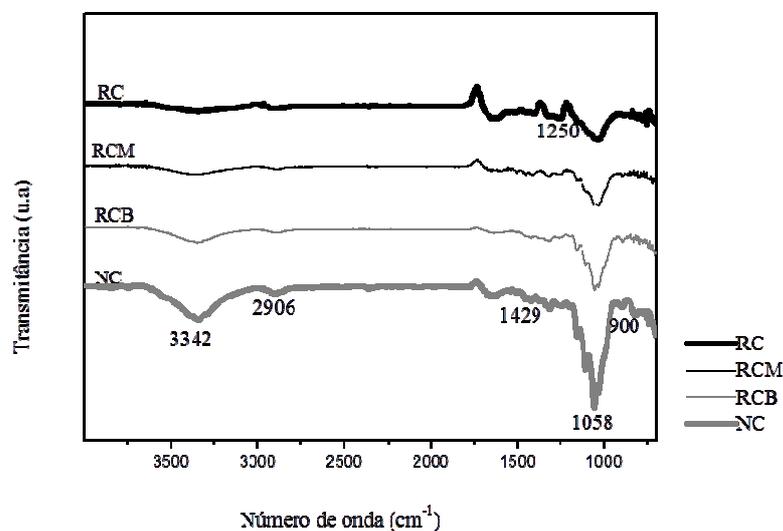


Figura 4 Espectro de infravermelho dos resíduos, antes e após tratamento químico: RC = resíduo café sem tratamento; RCM = resíduo café mercerizado; RCB = resíduo de café branqueado; NC= nanocristais de celulose de resíduo do café

O resíduo do beneficiamento do café apresentou uma banda de absorção em 3.347 cm^{-1} , característico do estiramento vibracional dos grupos O-H livres da estrutura da celulose. Este estiramento vibracional também aparece nos resíduos após mercerização e branqueamento nas bandas correspondentes às frequências de 3.331 cm^{-1} e 3.348 cm^{-1} , respectivamente. Os espectros dos resíduos após hidrólise apresentaram um aumento de intensidade destas bandas, indicando maior exposição dos grupos hidroxilas livres da celulose. Em RC aparece uma banda de absorção em 2.922 cm^{-1} , característica do estiramento da ligação C-H (CHEN et al., 2012).

Para RCM e RCB, os picos correspondentes foram em 2.888 cm^{-1} e 2.903 cm^{-1} . Com a hidrólise ácida, a banda de absorção foi em 2.906 cm^{-1} .

A fibra que não recebeu nenhum tratamento químico apresentou um pico em 1.647 cm^{-1} que, segundo Rosa et al. (2010) é devido à ligação C = O dos grupos ésteres da hemicelulose e ácidos carboxílicos presentes na estrutura da lignina. Há diminuição na intensidade desta banda após o branqueamento da fibra e isto pode ser um indício de remoção parcial da lignina amostra. Em RCM, os picos na região de 1.594 cm^{-1} e 1.505 cm^{-1} , 1.401 cm^{-1} e 1.423 cm^{-1} inferem a ligação C = C, devido ao estiramento do anel aromático da lignina (ALEMDAR; SAIN, 2008b). Essas bandas não aparecem no material submetido ao tratamento com peróxido de hidrogênio. A banda em 1.250 cm^{-1} representa o estiramento vibracional fora do plano da ligação C-O do grupo arila da lignina e aparece somente no espectro de RC.

Em RCB aparecem os picos nas regiões 1.315 cm^{-1} , correspondente à ligação CH_2 da celulose e 1.161 cm^{-1} , que corresponde ao estiramento assimétrico da ligação C-O-C da hemicelulose, celulose e lignina. A região de 1.034 cm^{-1} corresponde à ligação C-O da celulose e lignina (SUN et al. 2005).

As bandas próximas às regiões de 900 cm^{-1} a 898 cm^{-1} representam estiramento da ligação C-H da hemicelulose e celulose.

3.4 Difração de raios X

O índice de cristalinidade dos resíduos foi determinado a partir do gráfico de difração de raios X, conforme Figura 5. As ligações intermoleculares entre as cadeias de celulose formam uma estrutura ordenada, gerando uma estrutura cristalina que é determinante nas propriedades mecânicas e térmicas. Esta estrutura cristalina é mantida por ligações de hidrogênio entre as moléculas de celulose organizadas de forma regular. Alguns tratamentos químicos, como a mercerização e o branqueamento, podem afetar essa cristalinidade (ALEMDAR, SAIN, 2008a).

Os tratamentos químicos realizados nas fibras aumentaram seu conteúdo celulósico e, conseqüentemente, seu índice de cristalinidade. Para RC, foi encontrado um índice de cristalinidade de 18,2% que, com o tratamento alcalino e o branqueamento, aumentou para 53,1% e 65,6%, respectivamente. Isso ocorreu devido à desintegração das regiões amorfas e ao favorecimento da exposição das regiões cristalinas das cadeias de celulose através do seu empacotamento (ALEMDAR; SAIN, 2008a). Cherian et al. (2010) trataram a fibra de casca de abacaxi com hidróxido de sódio 2% em autoclave e obtiveram um aumento significativo na cristalinidade da fibra, comparada com a fibra sem tratamento químico. Rosa et al. (2010) trataram a fibra de coco com NaOH 2% e clorito de sódio e obtiveram 52,3% de cristalinidade.

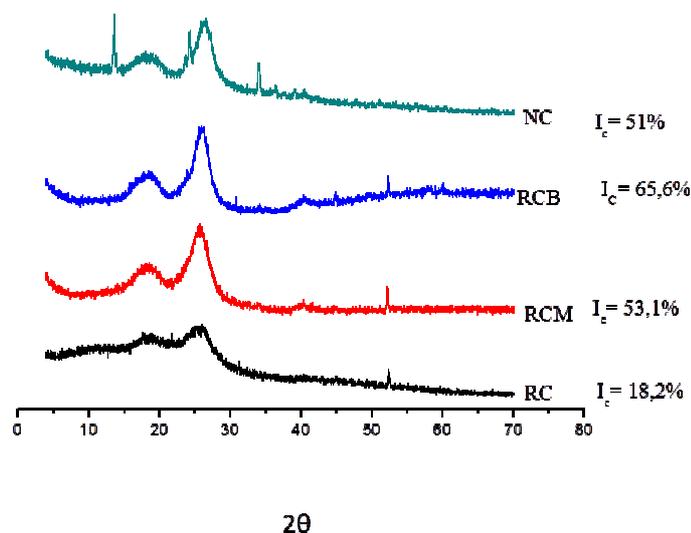


Figura 5 Difratoograma de raios X dos resíduos, antes e após tratamento químico: RC = resíduo do beneficiamento do café sem tratamento; RCM = resíduo do beneficiamento do café mercerizado; (C) RCB = resíduo do beneficiamento do café branqueado; NC = nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do de café

O resultado encontrado foi menor do que o observado neste trabalho, uma vez que o índice de cristalinidade de RC branqueado com hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio foi de 65,6%. Apesar de se tratar de fontes diferentes, isto mostra que processos de purificação da celulose sem o uso de cloro podem alcançar resultados tão significativos quanto os que usam o clorito de sódio.

O índice de cristalinidade dos nanocristais foi de 51%, sendo menor que o valor encontrado para a fibra branqueada, que foi de 65,6%. Isso pode ter ocorrido pela degradação da celulose durante a hidrólise através do ataque do ácido sulfúrico às regiões cristalinas, além das regiões amorfas da fibra. O tempo de exposição das fibras ao ácido foi de 75 minutos e, quando as fibras são

expostas a longo tempo de hidrólise além do ataque ácido às regiões amorfas, ele destrói também as regiões cristalinas, diminuindo o índice de cristalinidade (HABIBI et al., 2007).

O mesmo resultado foi encontrado por Teixeira et al. (2011) que hidrolisaram bagaço de cana-de-açúcar por 75 minutos e obtiveram uma dispersão marrom de nanocristais com índice de cristalinidade menor que o obtido com 30 minutos de hidrólise.

Era esperado um aumento do índice de cristalinidade, assim como ocorreu com o tratamento alcalino e o branqueamento, devido ao aumento da densidade de empacotamento da celulose (CHEN et al., 2009). Rosa et al. (2010) elaboraram nanocristais de celulose de fibra de coco por 120, 150 e 180 minutos e obtiveram nanocristais de celulose com índice de cristalinidade de 65,9%, 62,2 % e 62,5%, para uma etapa de branqueamento. O aumento do tempo de hidrólise foi apontado como causa da diminuição do índice de cristalinidade dos nanocristais.

3.5 Caracterização dos bionanocompósitos

3.5.1 Propriedades mecânicas e de barreira à umidade

Os resultados encontrados para as análises de caracterização dos nanocompósitos em matriz de amido elaborados com 3% de nanocristais de celulose estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 Valores médios¹ e desvios padrões obtidos para espessura (μm), resistência à tração (MPa), alongação (%), solubilidade em água (%), PVA ($\text{g } \mu\text{m}/\text{m}^2 \text{ dia kPa}$) e opacidade (%) dos filmes de amido e dos bionanocompósitos de amido de mandioca e 3% de nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café

Parâmetro	Bionanocompósitos	
	0%	3%
Espessura (μm)	0,03b	0,06a
Opacidade (%)	35,50a	36,14a
Resistência à tração (Mpa)	17,40a	16,40a
Elongação (%)	2,31a	2,28a
Solubilidade em água (%)	61,1a	45,9b
PVA ($\text{g}\mu\text{m}/\text{m}^2 \text{ dia kPa}$)	3,90b	4,32a

¹Média de cinco observações; Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente, pelo Teste F ($p < 0,05$)

O controle da espessura dos filmes é importante, pois determina as propriedades funcionais do filme e também proporciona boa reprodutibilidade nos testes aplicados. A espessura do filme pode determinar de que forma o mesmo será utilizado, uma vez que ela pode influenciar as propriedades de barreira à umidade e a gases (SOBRAL, 2000; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). O valor encontrado para a espessura do filme de amido de mandioca plastificado com glicerol foi menor que o obtido por Nascimento,

Calado e Carvalho (2012), que elaboraram filmes de amido de mandioca plastificados com glicerol com 0,133 mm de espessura.

A adição de 3% de nanocristais de celulose de casca de café aumentou a espessura dos filmes de amido de mandioca. Machado et al. (2012) adicionaram 0,3% de nanocristais de celulose de coco em filmes de amido de mandioca, os quais apresentaram espessuras de 0,15 mm. Este valor foi maior que o encontrado neste trabalho porque os autores utilizaram 6% de amido de mandioca. Karimi et al. (2014) elaboraram filmes de amido de milho ceroso nas concentrações de 0 a 10% de nanofibras de celulose de *Hibiscus cannabinus* e obtiveram materiais com espessura média de 0,4 mm. Schmidt et al. (2013) adicionaram ácido esteárico a filmes de amido de mandioca e estes tiveram espessura média de 0,085 mm.

A adição de nanocristais de celulose aos filmes de amido não alterou a opacidade. Fakhouri et al. (2007) avaliaram filmes compostos à base de amidos nativos e gelatina e encontraram 40,04% como valor máximo de opacidade.

Segundo Agnantopoulou et al. (2012) a adição de algumas cargas em matriz polimérica pode torná-la quebradiça, diminuindo a resistência à tração e à alongação. Os nanocristais de celulose são apontados como agentes de reforço por diversos autores e, com a incorporação de 3% na matriz de amido, ela permaneceu flexível.

Para que ocorra aumento da resistência à tração é necessária forte interação dos nanocristais com a matriz de amido, que ocorre por meio de ligação de hidrogênio. A dispersão dos nanocristais na matriz é outro fator que pode interferir, pois, quando dispersos de forma homogênea, ocorre melhoria na interface carga-matriz, melhorando suas propriedades. A resistência à tração e à alongação na ruptura não foi alterada significativamente com a incorporação dos nanocristais de celulose de resíduos do beneficiamento de café. Uma explicação

para este fato pode ter sido a formação de pontos de aglomeração de nanocristais, o que comprometeu a sua dispersão na matriz.

O estudo da solubilidade em água de materiais utilizados como embalagem é importante, pois pode determinar a forma de aplicação na conservação de alimentos. O aumento da solubilidade em água favorece a degradação da embalagem e limita a sua aplicação (VERCELHEZE et al., 2012). Os filmes elaborados apenas com amido e glicerol, após 24 horas de imersão em água, se apresentaram bem fragmentados, ao contrário do que ocorreu com os filmes adicionados de nanocristais de celulose, os quais se apresentaram opacos e inteiros.

O valor encontrado para a solubilidade dos biocompósitos de amido foi de 61,07% e, com a adição dos nanocristais, esse valor reduziu para 45,9%. Estes valores foram maiores que o observado por (JÚNIOR et al., 2011) para os filmes de amido de mandioca plastificados com glicerol, de 18,39% de solubilidade em água.

A permeabilidade ao vapor de água é medida em função da facilidade da passagem do vapor de água pela matriz polimérica Mali, Grossmann, Yamashita, (2010) e o seu conhecimento é importante para a definição da utilização dos filmes de amido como embalagem, uma vez que apresentam caráter hidrofílico. A adição de 3% de nanocristais na matriz de amido de mandioca não reduziu a permeabilidade ao vapor de água. O que se observou foi um aumento da permeabilidade, que pode ter sido ocasionado pela presença de poros na matriz e poucas ligações de hidrogênio entre as moléculas de celulose e da matriz de amido.

Chen et al. (2012) incorporaram 2% de nanocristais de casca de batata em filmes de amido e não observaram diminuição da permeabilidade ao vapor de água. Eles atribuíram esse fato à dominância do carácter hidrofílico do amido, comparado com o baixo conteúdo de nanocristais de celulose. Outra hipótese

pode ser a má dispersibilidade das nanoestruturas, pois uma dispersão homogênea de nanocargass na matriz cria obstáculos ao vapor de água, diminuindo a permeabilidade do mesmo (HENRIQUE et al., 2008).

3.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para verificar a estrutura o amido de mandioca, filme de amido e os bionanocompósitos elaborados com nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café foram submetidos à análise de microscopia eletrônica de varredura. Na Figura 6A são apresentados os grânulos de amido característicos do amido de mandioca, íntegros antes do proceso de elaboração dos biocompósitos. Com a gelatinização, estes perdem a cristalinidade e formam um gel opaco que, após o processo de secagem, formam finas películas. A região de fratura dos filmes está representada nas Figuras 6B e 6C, as quais correspondem aos biocompósitos de amido e os bionanocompósitos adicionados de 3% de nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café.

Os grânulos de amido gelatinizaram, produzindo uma película com superfície homogênea. Nos filmes com adição de nanocristais podem ser obervados alguns pontos claros que devem ser grânulos de amido que não gelatinizaram completamente ou aglomerados de nanocristais de celulose.

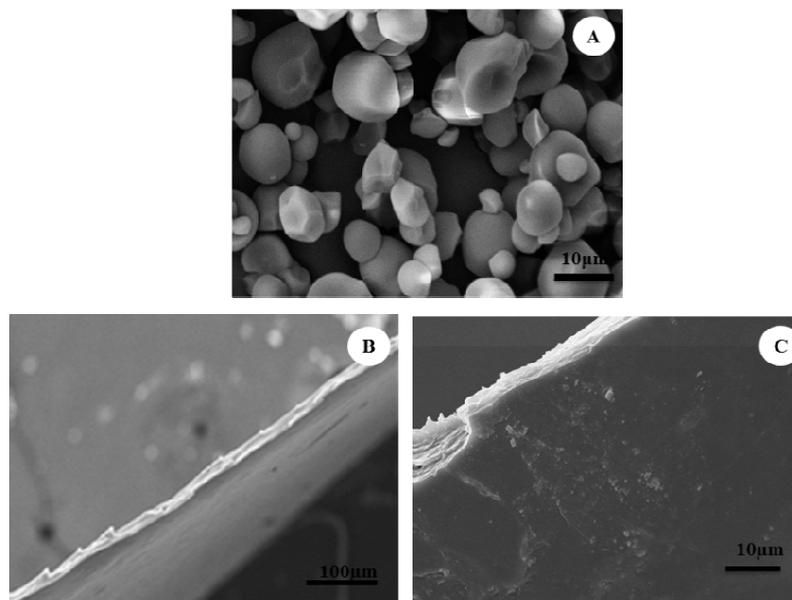


Figura 6 Eletromicrografia do amido de mandioca e dos biocompositos produzidos. (A) amido; (B) biocompósito de amido de mandioca e (C) bionanocompósitos com 3% de nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café

3.5.3 Índice de cristalinidade

O amido é um material semicristalino composto por moléculas de amilose e amilopectina e a cristalinidade do amido é devido à organização destas duas estruturas. A modificação na estrutura destas substâncias durante o processo de gelatinização e formação dos filmes pode ser verificada por meio da análise de difração de raios X, conforme representado na Figura 7.

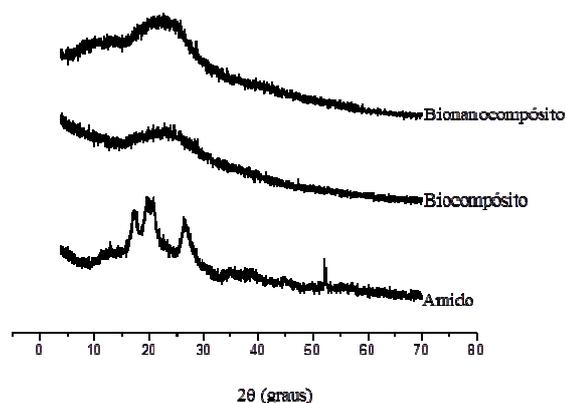


Figura 7 Difratoograma de raios X do amido de mandioca puro, dos biocompósitos e bionanocompósitos de amido de mandioca com 3% de nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café

O amido de mandioca apresenta picos de difração em $2\theta = 13,5^\circ$, $17,6^\circ$, $19,4^\circ$, $21,5^\circ$ e $26,4^\circ$. Com o desenvolvimento dos filmes de amido, os picos desaparecem em consequência do processo de gelatinização e estes se apresentam completamente amorfos, sem indícios da estrutura organizada que apresentavam antes do processamento. Assim como reportado por Chen, Kuo, Lai (2009b), o filme de amido de mandioca se apresentou completamente amorfo, sem nenhum pico com intensidade considerável. Isto mostra que o aquecimento da dispersão de amido e glicerol até a temperatura de gelatinização (70°C) foi suficiente para destruir a estrutura cristalina do amido de mandioca.

Com a adição dos nanocristais de celulose, a cristalinidade do biocompósito de amido apresenta uma melhor diferenciação entre a região cristalina e amorfa, como pode ser visualizado no difratograma.

4 CONCLUSÃO

A metodologia utilizada para a purificação da celulose é eficiente, uma vez que proporciona o branqueamento da fibra, comprovado pelos resultados obtidos com a análise colorimétrica das mesmas. Ocorre aumento do conteúdo celulósico nos resíduos após tratamento químico, devido à remoção dos constituintes amorfos presentes na fibra do resíduo do beneficiamento do café. Observa-se aumento do índice de cristalinidade do resíduo do beneficiamento do café branqueado, quando comparado com o que não foi tratado com hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio.

A análise das imagens de microscopia eletrônica de transmissão mostra que é possível elaborar nanocristais de celulose com as condições de hidrólise empregadas e que a hidrólise com ácido sulfúrico 50%, por 75 minutos, a 50 °C e razão fibra ácido de 1:25 (m/v) influenciaram a redução da cristalinidade dos nanocristais em relação à fibra branqueada.

A adição de 3% de nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento de café nos biocompósitos de amido de mandioca não aumenta as propriedades mecânicas e aumenta a permeabilidade ao vapor de água dos mesmos.

Os bionanocompósitos apresentam redução da solubilidade em água, o que é uma propriedade importante na elaboração de materiais para embalagem de alimentos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Capes, à Fapemig e ao CNPq, pelo apoio financeiro . Ao Núcleo de Microscopia eletrônica (NME) da Universidade Federal de Viçosa, pela realização das análises de microscopia eletrônica de transmissão e ao Laboratório de Análise de Microscopia Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras pela utilização do microscópio eletrônico de varredura.

REFERÊNCIAS

AGNANTOPOULOU, E. et al. Development of Biodegradable Composites Based on Wood Waste Flour and Thermoplastic Starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 126, p. 272–280, 2012.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: morphology, thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology**, v. 68, n. 2, p. 557–565, fev. 2008a.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues: wheat straw and soy hulls. **Bioresource technology**, v. 99, n. 6, p. 1664–71, abr. 2008b.

AMERICAM STANDART TESTING AND MATERIAL:
ASTD882/02: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic New York: Sheeting, 2002.

ASTM, E398-03, Standard test method for water vapour transmission rate of sheet materials using dynamic relative humidity measurements. In: American Society for Testing and Materials, ASTM BOOK of Standards, PA, USA. , 2003.

AZIZI SAMIR, M. S.; ALLOIN, F; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 2, p. 612-626, 2005.

BROWING, B.L. **The chemistry of wood new York**. [S.l.]: Interscience, 1963, 574p.

BEKALO, S. A.; REINHARDT, H.-W. Fibers of coffee husk and hulls for the production of particleboard. **Materials and Structures**, 43(8), p. 1049–1060, 2010.

BRAS, J., et al. Correlation between stiffness of sheets prepared from cellulose whiskers and nanoparticles dimensions. **Carbohydrate Polymers**, 84(1), p. 211–215, 2011.

BRUM, S. S., et al. Preparação e caracterização de carvão ativado produzido a partir de resíduos do beneficiamento do café. **Química Nova**, 31(5), p. 1048–1052, 2008.

CHEN, C.; KUO, W.S; LAI, L.S. Rheological and physical characterization of film-forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsiantao leaf gum. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 8, p. 2132-2140, 2009.

CHEN, D. et al. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n.1, p. 709-716, 2012.

CHEN, Y., et al. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers**, v.76, n.4, p. 607–615, 2009.

CHERIAN, B. M., et al. Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. **Carbohydrate Polymers**, v.81, n.3, p. 720–725, 2010.

DIGABEL, F. LE; AVEROUS, L. Effects of lignin content on the properties of lignocellulose-based biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, n.4, p. 537–545, 2006.

FAKHOURI, F. M., et al. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(2), p. 369–375, 2007.

FARIA, F.de O.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Physical properties of biodegradable films based on cassava starch, polyvinyl alcohol and montmorillonite. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 487-492, 2012.

HABIBI, Y., et al. Langmuir–Blodgett films of cellulose nanocrystals: Preparation and characterization. **Journal of Colloid and Interface Science**, 316, p. 388-397, 2007.

JÚNIOR, M. D. M., et al. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polimeros**, v 21, p. 67–72, 2011.

KARIMI, S., et al. Biodegradable starch-based composites: effect of micro and nanoreinforcements on composite properties. **Journal of Materials Science**, v.49,n.13, p. 4513–4521. 2014.

KENNEDY, E.; PHILLIPS, G. O; WILLIAMS, E. P. A. **Wood and celluloses: industrial utilization biotechnology structure and properties**, Ellis Horwood Chichester: E. Horwood, 1987. 1130 p.

MACHADO, B. A. S., et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v. 42, n.11, p. 2085–2091, 2012.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido □: produção , propriedades e potencial de utilização Starch films □: production , properties and potential of utilization. **Semina Ciências Agrárias**, 31, p. 137–156, 2010.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. **Carbohydrate Polymers**, v.86, n.3, p. 1291–1299, 2011.

MORAIS, J. P. S., et al. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v.91, n.1, p. 229–35, 2013.

NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V.; CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v.49, n.1, 588–595, 2012.

OKSMAN, K., et al. Cellulose nanowhiskers separated from a bio-residue from wood bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v.35, n.1, p. 146–152, 2010.

ROSA, M. F., et al. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers**, v.81, n.1, p. 83–92, 2010.

ROWELL, R.M. et al. Utilization of natural fibers in plastic composites: problems and opportunities. In: lignocellulosic - Plastics Composites. São Paulo, USP/UNESP, p. 23-51

SEGAL, L., et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, v.29, 786–794, 1959.

SCHMIDT, V. C. R. et al. Water vapor barrier and mechanical properties of starch films containing stearic acid. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 227–234, 2013.

SOBRAL, P. J. do A. . Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais 1. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p. 1251–1259, 2000.

SUN, X. F., et al. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. **Carbohydrate Research**, v.340, p. 97–106, 2005.

TEIXEIRA, E. D. M., et al. Sugarcane bagasse whiskers: Extraction and characterizations. **Industrial Crops and Products**, v.33, n.1, p. 63–66, 2011.

TEODORO, K. B. R. Whiskers de fibra de sisal obtidos sob diferentes condições de hidrólise ácida: efeito do tempo e da temperatura de extração. **Polimeros**, v.21, p. 280–285, 2011.

VERCELHEZE, A. E. S., et al. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. **Carbohydrate Polymers**, v.87, n.2, p. 1302–1310, 2012.

ZHANG, Q. X., et al. Preparation and crystalline morphology of biodegradable starch/clay nanocomposites. **Polymer**, v.48,n.24, p. 7193–7200, 2007.

ARTIGO 2

Bionanocompósito de amido de mandioca elaborados com nanocristais de celulose de casca de arroz

Artigo redigido conforme normas da Revista Carbohydrates Polymers (versão preliminar)

L. Pereira¹, K. C. dos Reis², I. Matos¹, J. Pereira¹

^a Departamento Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 30347, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil

^b Centro Universitário de Lavras, Rua Padre José Poggel, 506, Caixa Postal 3141 - Centenário - Lavras - MG - CEP 37200-000

RESUMO

A utilização da celulose em escala nanométrica pode melhorar as propriedades de biocompósitos de amido. Os objetivos, neste trabalho, foram desenvolver nanocristais de celulose da casca de arroz por meio da hidrólise ácida, aplicar em bionanocompósitos e verificar as propriedades mecânicas e de barreira. O material celulósico e os bionanocompósitos foram caracterizados quanto às propriedades morfológicas e microestruturais. Para verificar a modificação nas fibras, foi realizada análise espectroscópica na região do infravermelho. O índice de cristalinidade foi determinado por difração de raios X. As propriedades mecânicas e de barreira dos bionanocompósitos também foram avaliadas. O

índice de cristalinidade aumentou com os tratamentos químicos. Foi possível verificar o tamanho e a forma dos nanocristais que se apresentaram isolados quando analisados por microscopia eletrônica de transmissão. Os bionanocompósitos apresentaram maior resistência à umidade com diminuição da solubilidade em água. A elongação na ruptura aumentou com a incorporação dos nanocristais de celulose.

Palavras-chave: Nanocelulose, Resíduo agroindustrial, Hidrólise ácida, Propriedade mecânica, Compósitos.

1 INTRODUÇÃO

O arroz é consumido em diversas partes do mundo. Ao ser beneficiado, gera resíduos, produzindo palha, casca e farelo. Estes resíduos sólidos gerados são descartados ou aproveitados em outros processos, mas o grande volume produzido e a falta de um gerenciamento correto destes resíduos fazem com que se tornem um problema ambiental.

A casca de arroz é rica em sílica e tem considerável conteúdo celulósico. Assim como a sílica, um material inorgânico, os materiais celulósicos podem ser utilizados como cargas reforçativas em matrizes poliméricas, melhorando suas propriedades. Este resíduo lignocelulósico tem sido utilizado para a produção de carbetos de silício, sílica pura, adsorventes e carga em polímeros (Foletto, et al., 2005). O uso de materiais lignocelulósicos em escala nanométrica em matrizes poliméricas proporciona resultados mais promissores, quando comparados com escalas maiores. Compósitos produzidos utilizando amido como matriz têm propriedades de barreira e mecânicas reduzidas, quando comparadas com polímeros oriundos do petróleo. A nanocelulose é considerada uma alternativa para melhorar essas matrizes poliméricas de amido e as condições de sua preparação, bem como a forma de incorporação na matriz, vêm sendo pesquisadas (Angle; Dufresne, 2001; Dufresne, 2000; Karimi et al., 2014)).

Os nanocristais de celulose podem ser produzidos por hidrólise ácida após tratamento alcalino e as condições devem ser controladas com o propósito de obter nanocristais com alto índice de cristalinidade sem haver degradação da celulose cristalina. O tratamento alcalino tem sido empregado também para aumentar a adesão da fibra à matriz na qual é incorporada. Além de remover as gorduras e ceras, também torna os grupos hidroxilas livres na superfície da celulose (Ndazi et al., 2007).

A deslignificação em meio básico com peróxido de hidrogênio é uma alternativa sustentável à utilização de clorito de sódio no processo de branqueamento da celulose, devido à elevada toxidez deste último, causada pela produção de compostos organoclorados. Os resultados obtidos têm sido favoráveis à substituição, mas a eficiência do processo depende do controle das condições do tratamento empregado, tais como temperatura, concentração dos reagentes e tempo. Os nanocristais de celulose têm sido desenvolvidos a partir de materiais como casca de batata (CHEN et al., 2012) , palha de trigo (ALEMDAR; SAIN, 2008), casca de ervilha (CHEN et al., 2009) e bagaço de cana-de-açúcar (MANDAL; CHAKRABARTY, 2011) , dentre outras fontes. Rosa et al. (2012) desenvolveram nanocristais de celulose de casca de arroz sem a utilização de cloro, com boas propriedades de reforço.

Os objetivos, neste trabalho, foram obter e caracterizar nanocristais de celulose de casca do arroz purificada, incorporar em matriz de amido de mandioca e verificar as propriedades mecânicas, estruturais e de barreira à umidade dos bionanocompósitos obtidos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

A casca de arroz foi obtida na Unidade de Beneficiamento de Sementes (UBS) da Universidade Federal de Lavras, coletada no momento de beneficiamento do arroz. Para a realização das análises foram utilizados os reagentes hidróxido de sódio (Biofar), peróxido de hidrogênio (Dinâmica), ácido sulfúrico (Vetec), glicerol (Vetec), ácido acético (Synth), etanol (Vetec) e hidróxido de potássio (Synth). A membrana D9042 (Sigma Aldrich) foi utilizada para diálise da dispersão de nanocristais de celulose. O amido de mandioca utilizado foi fornecido pela empresa Inbramaq.

2.2 Preparação dos nanocristais de celulose a partir da casca de arroz

2.2.1 Purificação da celulose

Os resíduos retirados do local de descarte, após os grãos serem beneficiados, foram higienizados com água, para retirar sujeiras superficiais, e secos em estufa FANEM modelo 320-SE (Brasil), com circulação de ar a 80 °C, por 12 horas. Após a secagem, as amostras foram trituradas em moinho martelo tipo willey (Tecnal, Brasil) e analisadas as fibras que passaram pela peneira com malha de 40 mesh.

a) Mercerização

As fibras da casca de arroz foram tratadas com solução de hidróxido de sódio 10% na proporção 1:20 (m/v) (Chen et al., 2012). O erlenmeyer foi selado e levado à autoclave FABRE (Brasil), a 121 °C, com 1,5 atm (atmosferas) de

pressão, por uma hora. Em seguida, as fibras foram lavadas até a neutralidade da água de lavagem e filtradas em tecido de organza. Esse processo foi repetido três vezes e, depois, a fibra obtida foi levada à estufa com circulação de ar, a 65 °C, por 24 horas.

b) Branqueamento

Após o tratamento alcalino, o processo de branqueamento foi realizado com a adição de uma mistura de soluções de hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio, ambas a 10%, mantendo a proporção de fibra de 1:20 (m/v). O frasco foi selado e autoclavado, por uma hora, a 121 °C. Após a descompressão da autoclave, a suspensão obtida foi resfriada e as fibras lavadas até a neutralidade da água de lavagem. Este processo foi repetido cinco vezes e, depois disso, a fibra obtida foi levada à estufa com circulação de ar a 65 °C, por 24 horas. Tanto o tratamento alcalino quanto o branqueamento foram realizados pelo método de explosão a vapor. Por meio desse método é possível eliminar ou reduzir os materiais não celulósicos presente nas fibras (CHERIAN et al., 2010)

2.2.3 Isolamento dos nanocristais de celulose

Os nanocristais de celulose foram extraídos por hidrólise ácida, de acordo com Moraes et al. (2013), com algumas modificações. Para o isolamento dos nanocristais, a celulose purificada foi submetida à hidrólise com ácido sulfúrico 50%, com razão fibra ácido de 1:25(m/v), a 50 °C, por 75 minutos. Após o tempo de hidrólise, foram adicionados 250 mL de água gelada ao sistema, para paralisar a reação. A dispersão obtida foi submetida a cinco ciclos de centrifugação, a 6.000 rpm, em centrífuga FANEN (Brasil), para a remoção do sobrenadante ácido. A diálise foi realizada em fluxo de água constante até que o pH da água estivesse entre 6 e 7. Após a diálise, as suspensões foram

sonicadas por 5 minutos, para desagregação das partículas e submetidas à refrigeração, a 4 °C, para a conservação das mesmas.

2.3 Elaboração dos bionanocompósitos

Os bionanocompósitos de amido de mandioca plastificados com glicerol foram elaborados pelo processo *casting*, nas concentrações de 0 e 3% de nanocristais de celulose (base seca). Uma suspensão de nanocristais em água adicionada de glicerol foi mantida sob agitação magnética por uma hora e, em seguida, foram adicionados 3 g de amido de mandioca. Uma suspensão de amido (3 g/100 mL), glicerol e nanocristais de celulose foi aquecida até 70 °C, com agitação constante, para a gelatinização do amido. Em seguida, 10 mL do gel foram vertidos em placas de polietileno com 9 cm de diâmetro e secos em estufa com circulação de ar FANEM modelo 320-SE (Brasil), a 34 °C, por 12 horas. Os bionanocompósitos foram armazenados em dessecador com solução saturada de cloreto de sódio, com umidade relativa de 75%, até o momento da caracterização.

2.4 Caracterização

2.4.1 Composição química e física dos resíduos

Para definir a composição química dos resíduos, o teor de umidade e de cinzas foi determinado de acordo com AOAC (2012). Para a determinação do teor de extratíveis, seguiu-se a metodologia descrita na Norma M 3/89 (ABTCP, 1974). O teor de holocelulose foi determinado de acordo com Browing (1963) e, para a determinação da celulose, seguiu-se o procedimento descrito por Kennedy et al. (1987).

Os parâmetros de cor cor (C*) , ângulo hue (h) e L* (luminosidade) das fibras, antes e após as etapas de mercerização e branqueamento, foram determinados utilizando-se espectrofotômetro Konica Minolta modelo CM-5 (Japão), empregando-se iluminante D65. Foi utilizado o sistema CIELab, em que L* (luminosidade) varia de 0 (preto) a 100 (branco) e indica o quanto está clara ou escura uma amostra. O índice cor (C*) representa a intensidade de cor ou de saturação e o ângulo de tonalidade hue (h) representa o vermelho-púrpura em 0°, amarelo em 90°, azul esverdeado em 180° e azul em 270°. Valores de h próximos a 90° indicam tonalidade amarela. Em relação ao cor, quanto mais baixos forem os valores de C*, menos intensa será a cor observada.

2.4.2 Microscopia eletrônica

2.4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura

A estrutura das fibras antes e após tratamento químico foi investigada por microscopia eletrônica de varredura no Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras. As fibras foram dispostas sobre fita dupla face em stubs e levadas para estufa, a 70 °C, durante 24 horas. Os filmes foram congelados em nitrogênio líquido e cortados em pequenos retângulos, com um bisturi, para análise da região de fratura. Em seguida, as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro, pelo método “sputtering”, com a utilização de um Sputter Coater Balzers SCD 050 e, então, observadas ao microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40 XVP, Inglaterra a 20kV (MORAIS et al.,2013) .

2.4.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Para a verificação do tamanho e da forma dos nanocristais, uma gota da suspensão foi disposta em gride de cobre e contrastada com acetato de uranila 2%. Os grides foram secos em temperatura ambiente, por 24 horas e observados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM109, USA, sob tensão de aceleração de 80 kV (CHEN et al., 2012). O comprimento e o diâmetro dos nanocristais foram determinados por meio da medida do comprimento e do diâmetro de 50 cristais, com o programa Imaje J 1.47v. Essa análise foi realizada no Núcleo de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Viçosa.

2.4.3 Birrefringência

A dispersão de nanocristais de celulose em água foi submetida à análise de birrefringência sob dois polarizadores cruzados, para a verificação da presença dos nanocristais de celulose e sua dispersão em água (OKSMAN et al., 2010).

2.4.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Amostras secas dos resíduos e nanocristais de celulose foram submetidas à análise espectroscópica na região do infravermelho, em equipamento Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA) com acessório de reflectância total atenuada (ATR), no Laboratório de Embalagens da Universidade Federal de Viçosa. Os espectros foram obtidos na região de 4.000

cm⁻¹ a 400 cm⁻¹, com um total de 32 varreduras por amostra (CHEN et al., 2009).

2.4.5 Difração de raios X (DRX)

Análises da estrutura cristalina dos resíduos, nanocristais e bionanocompósitos foram realizadas em difratômetro de raios X da marca Panalytical modelo X PRO (Holanda), com variação angular de 10-80°(2θ), radiação de CoKα (λ=1,78897 Å) e velocidade de exposição de 5 °C min⁻¹, sob tensão de 40 KV (Morais et al.,2013). O índice de cristalinidade das fibras foi calculado de acordo com a Equação 1, proposta por Segal, et al. (1959).

$$\% \text{ IC} = [1 - (I_{\text{am}} / I_{002})] \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

em que I_{am} é a intensidade de difração da fase amorfa no ângulo $2\theta = 22^\circ$, quando a intensidade é mínima e I_{002} o pico de intensidade máxima localizado no ângulo 2θ , entre 26° e 27° .

2.4.6 Espessura

A espessura dos bionanocompósitos foi medida com um micrômetro externo digital 0,001 mm (Instrutemp, Brasil) com sensor de medida com 0,25 mm de diâmetro em 3 pontos diferentes, considerando-se a espessura dos filmes como uma média entre as leituras de cinco repetições, sendo um total de 15 leituras e os resultados expressos em milímetros (FARIA; VERCELLHEZE; MALI, 2012).

2.4.7 Opacidade

A opacidade dos bionanocompósitos foi determinada em espectrofotômetro Konica Minolta modelo CM-5 (Japão), empregando-se iluminante D65. A percentagem de opacidade (Op) foi calculada a partir da relação entre a luminosidade (parâmetro L^*) do filme sobreposto sobre o padrão preto (PP) e a luminosidade (parâmetro L^*) do filme sobreposto sobre o padrão branco (PB), de acordo com a Equação 2.

$$Op (\%) = (L_{PP} / L_{PB}) \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

2.4.8 Propriedades mecânicas

A resistência à tração e à elongação na ruptura foi determinada de acordo com o método padrão ASTM D 882-02 (ASTM, 2002), utilizando-se texturômetro TA. XT2 Plus (Stable Micro System, Reino Unido), com célula de carga de 50 kg. O corpo de prova preparado para as análises de resistência à tração e à elongação na ruptura foi preparado com 80 mm de comprimento e 20 mm de largura.

Os parâmetros utilizados nos ensaios foram os seguintes: velocidade pré-teste 0,8 mm/s, velocidade de teste 0,8 mm/s, velocidade pós-teste 10,00 mm/s; a probe utilizada para a resistência à tração e à porcentagem de alongamento na ruptura foi a A/TG, com distância entre garras de 50 mm. A resistência à tração foi calculada pela razão entre a força máxima e a área seccional do filme conforme a Equação 3.

$$\sigma = F/A \quad \text{Equação (3)}$$

em que σ é a resistência à tração, F a força de tração (N) e A a área da seção transversal inicial do corpo de prova (mm^2).

A elongação na ruptura foi calculada dividindo-se o diferencial de

extensão pela separação inicial das garras. Para cada repetição foram utilizados 5 corpos de prova.

2.4.9 Solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água

A determinação da solubilidade em água dos bionanocompósitos foi realizada conforme Fakhouri et al. (2007).

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos bionanocompósitos foi determinada com o método padrão E398 da ATSM (ASTM E398-03), utilizando-se um Permatran-W, modelo 1/50 G (USA). A amostra foi inserida entre duas máscaras de alumínio, com área interna de 12,6 cm², disposta na célula de difusão do equipamento. Os parâmetros utilizados na análise foram os seguintes: temperatura de 37,8 °C e umidade relativa controlada de 40% (permeante) e de 10% (lado seco).

2.5 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos, em que foram analisados os resíduos do beneficiamento de café sem tratamento químico, após a mercerização e a branqueamento. Foram desenvolvidos e caracterizados bionanocompósitos de amido de mandioca com a adição de 0 e 3% de nanocristais de celulose de casca de café. Os resultados foram expressos com a média de cinco observações.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos resíduos e dos nanocristais de celulose

A casca de arroz submetida a tratamento químico para purificação da celulose era composta por 8,9% de umidade, 11,72% de cinzas e 12,12% de extratíveis. Os resultados encontrados para o conteúdo celulósico e a cor das fibras da casca de arroz estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 Valores médios¹ dos teores de holocelulose e celulose da casca de arroz sem tratamento químico, da casca de arroz mercerizada e da casca de arroz branqueada

	Tratamento		
	RA	RAM	RAB
Holocelulose	93,78a	94,14a	95,98a
Celulose	43,58a	65,56b	79,79c

¹ Média de cinco observações ; RA = casca de arroz sem tratamento químico ; RAM = casca de arroz mercerizada ; RAB = casca de arroz branqueada

Para obter celulose pura de fontes vegetais é preciso retirar as estruturas que constituem a parte amorfa do material. Os componentes amorfos são formados por macromoléculas de lignina que atuam na fibra como agente cimentante entre os cristais de celulose e hemiceluloses, além dos extrativos, compostos solúveis como a pectina, gorduras, ceras amido e minerais. Os extrativos podem ser retirados por meio de solubilização em solvente orgânico ou inorgânico, sendo este método caracterizado por extração por lavagem.

De acordo com Ayrilmis; Heon e Hyung (2012), a casca de arroz tem de 25-35% de celulose e 7,75% de umidade. Neste trabalho, o conteúdo de celulose e umidade foi maior que o reportado por estes autores. Esses valores de

celulose apresentados são os presentes na fibra vegetal sem tratamento químico, na qual ainda estão presentes as hemiceluloses, as ligninas e os extrativos. Esse teor tende a aumentar com tratamentos químicos utilizados para purificação da celulose das fibras, como a mercerização e o branqueamento.

A purificação da celulose com hidróxido de sódio e um agente oxidante, como o peróxido de hidrogênio, promove o desmembramento do sistema composto por lignina, celulose e hemicelulose, por meio da deslignificação sem a destruição das fibrilas celulósicas (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001).

No processo de mercerização ou tratamento alcalino, a base mais utilizada é o hidróxido de sódio, nas concentrações de 2% a 17,5%, variando de acordo com a fonte lignocelulósica. O branqueamento após o tratamento alcalino completa o processo de deslignificação da fibra, o que possibilita alcançar melhores resultados para a hidrólise ácida por meio da oxidação em meio básico ou ácido (FARUK et al., 2012).

Como pode ser observado na Tabela 1, o conteúdo celulósico aumentou com o tratamento alcalino e o branqueamento, possivelmente explicado pela remoção das hemiceluloses e ligninas, deixando as cadeias de celulose livres. A intensidade da extração destes componentes depende das condições em que ela é realizada e vai influenciar o grau de cristalinidade da celulose obtida. A purificação da celulose da casca de arroz tem sido realizada com hidróxido de potássio 3% (LUDUEÑA et al., 2011), hidróxido de sódio 4% (m/v) (JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012), bem como outras concentrações de hidróxido de sódio, seguidas de tratamento com clorito de sódio acidificado. Com a purificação da celulose ocorre redução dos constituintes cromóforos presentes na fibra, ocasionando o seu clareamento. Os resultados obtidos para os parâmetros de cor estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 Valores médios¹ dos parâmetros C* (saturação), L*(luminosidade) e h (tonalidade) da casca do arroz sem tratamento químico, casca do arroz mercerizada, casca do arroz branqueada

Parâmetros	Tratamentos		
	RA	RAM	RAB
L	65,26b	58,12c	88,89a
C*	31,37b	34,56a	16,16c
h	76,30b	70,45c	87,01a

¹Média de cinco observações

RA = casca do arroz sem tratamento químico; RAM = casca do arroz mercerizada; RAB = casca de arroz branqueada

O valor de C* para a casca de arroz branqueada diminuiu em relação à fibra sem tratamento químico e a mercerizada, evidenciando a redução dos componentes que conferem cor à fibra, os quais, geralmente, são associados à presença da lignina e hemiceluloses (JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012). Comportamento oposto foi verificado para o parâmetro h (ângulo hue), que aumentou com o branqueamento da fibra, aproximando-se de 90°, que caracteriza a cor amarela.

A casca de arroz apresentou a mesma coloração alcançada por Johar; Ahmad; Dufresne(2012), que utilizaram clorito de sódio acidificado como agente oxidante. A evolução da purificação da celulose da casca de arroz pode ser verificada na Figura 1, em que se observa o clareamento das mesmas.

Os valores de L* e C* para a casca de arroz mercerizada aumentaram, o que explica a coloração mais escura, comparada com a de outros tratamentos analisados.

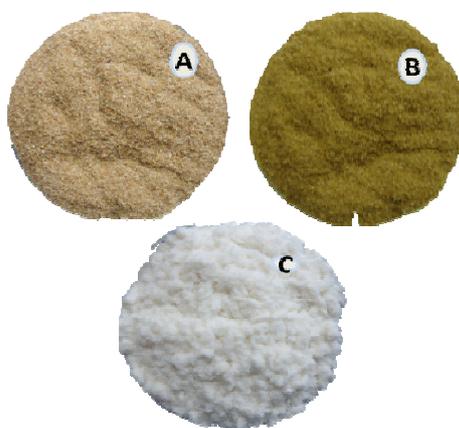


Figura 1 Imagens da casca do arroz: (A) RA = casca do arroz sem tratamento químico; (B) RAM = casca do arroz mercerizada ; (C) RAB = casca do arroz branqueada

3.2 Microscopia eletrônica

3.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Com a microscopia eletrônica de varredura foi possível verificar a estrutura das fibras após a ação do hidróxido de sódio durante o tratamento alcalino e do peróxido de hidrogênio com o branqueamento. Na Figura 2A, a casca de arroz sem tratamento químico se apresentou sem fissuras com estrutura fibrilar aparente. Já na Figura 2B podem ser observadas aberturas das fibras, o que mostra que as regiões amorfas foram parcialmente retiradas com a utilização de hidróxido de sódio 10% (m/v). O branqueamento da casca de arroz foi efetivo, uma vez que as fibras apresentaram maior conteúdo celulósico e as microfibrilas expostas, como pode ser visto na Figura 2C.

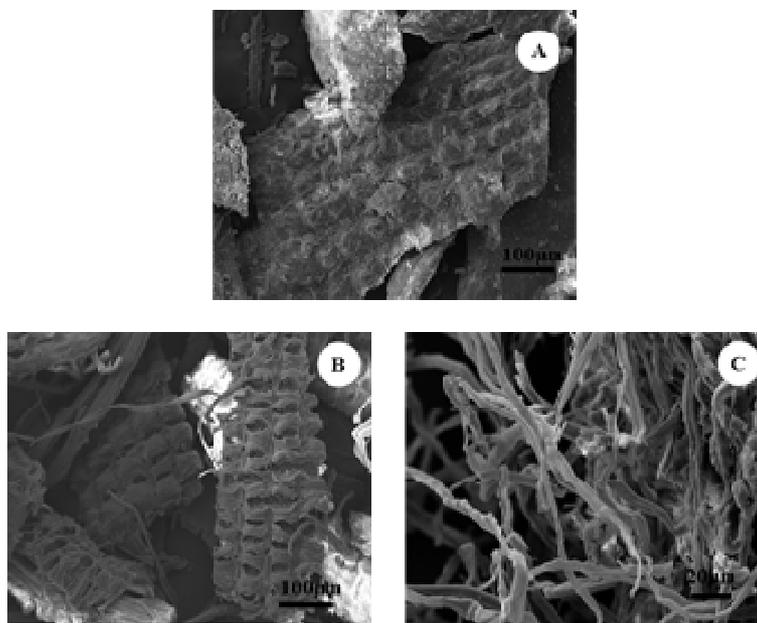


Figura 2 Eletromicrografias da casca do arroz: (A) RA = casca do arroz sem tratamento químico; (B) RAM = casca do arroz mercerizada ; (C) RAB = casca de arroz branqueada

3.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Uma das técnicas mais utilizadas para a verificação da estrutura dos nanocristais é a microscopia eletrônica de transmissão. Após a verificação da formação de cristais de celulose pela análise de birrefringência, o tamanho e a forma foram analisados por meio de imagens de microscopia eletrônica de transmissão (Figura 3A).

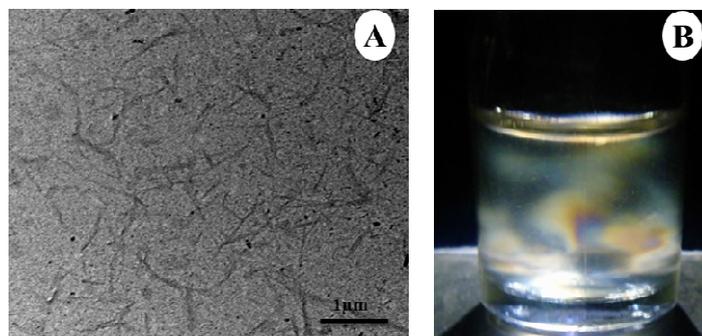


Figura 3 Eletromicrografia dos nanocristais de celulose da casca de arroz obtida por meio da microscopia eletrônica de transmissão (A); Fotografia da dispersão de nanocristais de celulose de casca do arroz em água

O tamanho médio dos nanocristais foi 238 ± 89 nm de comprimento e o diâmetro, de 19 ± 11 nm. A medida das dimensões foi possível porque os nanocristais se apresentaram isolados, devido à quebra das ligações de hidrogênio com o ataque ácido. A concentração de ácido utilizada neste trabalho foi menor que a utilizada por Rosa et al. (2012), que utilizaram ácido sulfúrico 64% e obtiveram nanocristais com comprimento variando de 100-400 nm e diâmetros de 6-14 nm. Estes resultados mostram que é possível isolar nanocristais de celulose de casca de arroz utilizando ácido sulfúrico 50%.

3.3 Birrefringência

A casca de arroz branqueada foi submetida à hidrólise em ácido sulfúrico para a produção dos nanocristais de celulose. Como produto da hidrólise, foi obtida uma dispersão de nanocristais que se apresentou birrefringente, quando submetida à avaliação sob polarizadores cruzados. A birrefringência ocorre devido ao alinhamento dos nanocristais de celulose e é um indicativo de boa dispersibilidade em água. Este fenômeno está ilustrado na Figura 3B.

3.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O objetivo da realização da análise de espectroscopia na região do infravermelho foi avaliar as modificações ocorridas nos resíduos antes e após o processo de hidrólise ácida. O espectro das amostras está representado na Figura 4.

As bandas de absorção na região do infravermelho em 3.341 cm^{-1} são características do estiramento dos grupos O-H livres das cadeias de celulose (ROSA et al., 2010). Com o processo de purificação e hidrólise da casca de arroz ocorre um aumento da intensidade da banda que corresponde ao grupo O-H do material inicial. Esse aumento indica maior exposição das hidroxilas livres na cadeia da celulose. O estiramento vibracional do grupo C-H aparece na região de 2.903 cm^{-1} , para os nanocristais de celulose, a 2.921 cm^{-1} , para a casca de arroz sem tratamento.

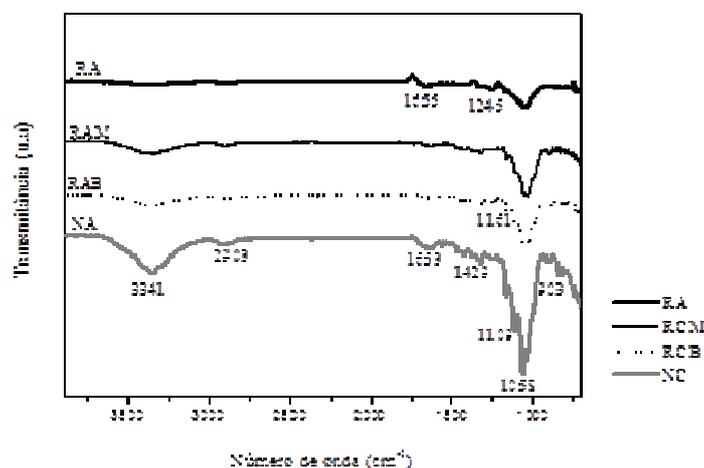


Figura 4 Espectro de infravermelho da casca de arroz : (RA) casca do arroz sem tratamento químico; (RAM) casca do arroz mercerizada; (RAB) casca do arroz branqueada; (NA) casca do arroz após hidrólise ácida

A banda em 1.655 cm^{-1} aparece no material sem tratamento químico (RA), após tratamento alcalino (1.634 cm^{-1}), branqueamento (1.643 cm^{-1}) e nos nanocristais de celulose (1.653 cm^{-1}). A presença destas bandas pode estar relacionada com a presença de água das amostras, isso porque, mesmo sendo submetida a processos de secagem, não é possível retirar toda a água das mesmas.

Em RA aparecem bandas de absorção de 1.509 cm^{-1} a 1.223 cm^{-1} , que não aparecem nos materiais submetidos ao tratamento alcalino, branqueamento e hidrólise ácida. Segundo Rosa et al. (2010), bandas de absorção em 1.509 cm^{-1} a 1.245 cm^{-1} são características da vibração da ligação C=C do anel aromático presente na estrutura da lignina.

As bandas nas regiões correspondentes a 1.317 cm^{-1} , 1.161 cm^{-1} e 1.035 cm^{-1} apareceram apenas nos materiais tratados com hidróxido de sódio, peróxido de hidrogênio e ácido sulfúrico. A região de 1.317 cm^{-1} corresponde à vibração do grupo CH_2 da celulose (SUN et al., 2005). A banda 1.161 cm^{-1} é o estiramento assimétrico da ligação C-O-C presente na celulose, hemicelulose e lignina. Já a banda de 1.035 cm^{-1} é da ligação C-O, presente tanto na estrutura da celulose quanto da lignina (ROSA et al., 2010).

O espectro dos nanocristais de celulose de casca de arroz (NA) apresentou bandas de absorção nas frequências 1.429 cm^{-1} e 1.109 cm^{-1} , que não estão presentes em RCB. A banda que aparece em 1.429 cm^{-1} é a da vibração simétrica do grupo CH_2 da estrutura da celulose.

3.4 Difração de raios X

A celulose nativa, quando exposta à hidrólise ácida, é quebrada em micro ou nanocristais que podem ser curtos ou longos, dependendo da fonte da

qual foram extraídos (MATHEW; THIELEMANS; DUFRESNE, 2008) . A cristalinidade do material obtido após esse processo pode ser indicada pelo índice de cristalinidade, determinado por meio da análise de difração de raios X.

A cristalinidade do material celulósico é definida como a massa de domínios cristalinos presentes no material celulósico. O valor pode variar de acordo com a fonte celulósica e tem efeito significativo nas propriedades físicas, mecânicas e químicas (AGARWAL; REINER; RALPH, 2010). A análise de difração de raios X foi a técnica utilizada para a determinação do índice de cristalinidade e os dados obtidos para as amostras, antes e após os tratamentos químicos, estão dispostos na Figura 5.

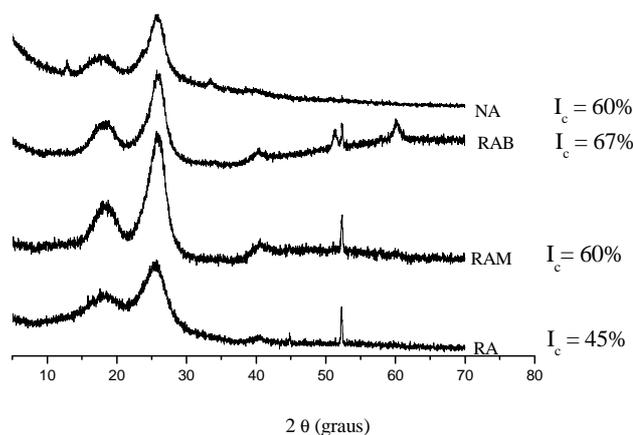


Figura 5 Difratoograma de raios X da casca de arroz: (RA) casca de arroz sem tratamento químico; (RAM) casca de arroz mercerizada; (RAB) casca de arroz branqueada; (NA) casca de arroz após hidrólise ácida

O índice de cristalinidade aumentou com o tratamento alcalino e o branqueamento das fibras. Os resultados encontrados estão de acordo com os apresentados na literatura para materiais lignocelulósicos. O índice de cristalinidade da casca de arroz branqueada com peróxido de hidrogênio e

hidróxido de sódio foi de 67%, o mesmo valor reportado por Rosa et al. (2012). Johar; Ahmad e Dufresne (2012) trataram a casca de arroz com hidróxido de sódio e clorito de sódio e obtiveram índice de cristalinidade de 57%. Os valores de cristalinidade observados por estes autores após tratamento alcalino (50,6%) foram menores que os observados neste trabalho (60%).

Chakraborty; Chowdhury; Saha (2011) também obtiveram aumento do índice de cristalinidade com o tratamento da casca de arroz com hidróxido de sódio. Este aumento foi devido ao ataque da base às regiões amorfas das fibras, favorecendo o empacotamento das cadeias da celulose.

O índice de cristalinidade observado para os nanocristais de celulose de casca de arroz foi de 60%, menor quando comparado com o índice da fibra branqueada. Uma explicação aceitável para o fato é que pode ter ocorrido ataque ácido não só nas regiões amorfas da fibra, mas também nos domínios cristalinos da celulose, causando sua degradação. Isso ocorre quando as fibras ficam expostas a condições severas de hidrólise, por tempo prolongado.

3.5 Caracterização dos bionanocompósitos

3.5.1 Propriedades mecânicas e de barreira à umidade

A espessura é uma propriedade que influencia as características dos filmes e o seu controle permite maior uniformidade do material produzido, bem como melhor análise de suas propriedades (VICENTINO; FLORIANO; DRAGUNSKI, 2011; HENRIQUE et al., 2008)

A espessura dos biocompósitos de amido de mandioca aumentou de 0,03 mm para 0,05 mm, quando foram adicionados 3% de nanocristais de celulose de casca de arroz. Estes valores foram maiores que o reportado por (VICENTINO; FLORIANO; DRAGUNSKI, 2011), que elaboraram biocompósitos de amido de

mandioca modificado com 0,010 mm de espessura. Al-hassan; Norziah (2012) elaboraram filmes de amido e gelatina transparentes e homogêneos, com 0,07 mm de espessura.

Boas propriedades mecânicas são alcançadas com a incorporação de nanocristais de celulose na matriz de amido, quando ocorre a percolação. Neste fenômeno, os nanocristais formam uma rede com a matriz, resultado de forte interação com a mesma por meio de ligações de hidrogênio. A resistência à tração dos biocompósitos de amido não se altera quando são produzidos os bionanocompósitos com a adição de 3% de nanocristais de celulose. A alongação na ruptura aumentou de 2,31% para 3,67%, o que indica maior flexibilidade dos bionanocompósitos.

A adição de nanocristais de celulose não alterou a opacidade dos filmes de amido, que variou de 35,52% para 36,14%. Isso mostra que a adição de 3% da dispersão de nanocristais não interferiu na transparência dos filmes.

O estudo da resistência à umidade dos filmes de amido é importante, principalmente pelo fato de que podem ser utilizados para a conservação de alimentos. Essas características vão indicar onde podem ser utilizados. A solubilidade dos filmes de amido com nanocristais diminuiu em relação aos elaborados apenas com amido de milho e glicerol. A solubilidade diminuiu de 61% para 49%. Essa diminuição pode ter sido causada pelo aumento das ligações de hidrogênio entre as hidroxilas livres das cadeias de celulose e as da matriz de amido, diminuindo a interação desta com as moléculas de água. Este efeito também pode ter ocasionado a redução da permeabilidade ao vapor de água dos filmes adicionados de nanocristais, que foi de 3,6 $\mu\text{m}/\text{m}^2/\text{dia}$ kPa, quando comparada com a da matriz de amido puro, que foi de 3,9 $\mu\text{m}/\text{m}^2/\text{dia}$ kPa.

3.5.2 Microscopia eletrônica de varredura

Os biocompósitos de amido e os bionanocompósitos foram observados através do microscópio eletrônico de varredura, para a verificação de sua estrutura morfológica e as eletromicrografias estão dispostas na Figura 6.

A superfície dos biocompósitos de amido (Figura 6A) se apresentou coesa e a região de fratura não apresentou mais de uma camada, como pode ser observado nos bionanocompósitos (Figura 6B).

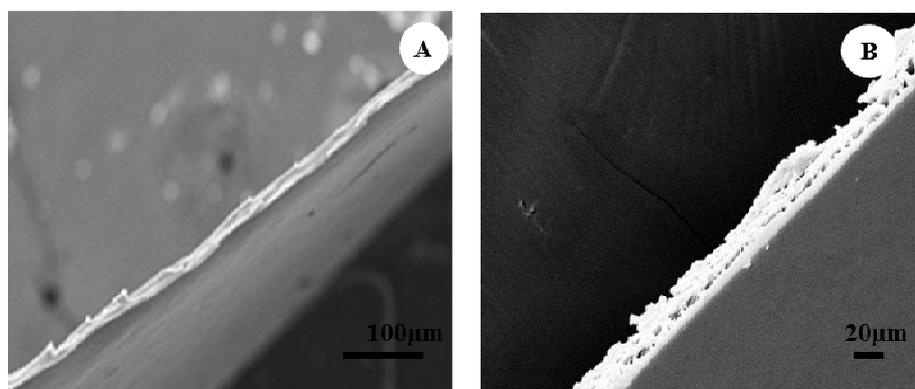


Figura 6 Eletromicrografias dos biocompósitos: Biocompósitos baseados em amido de mandioca(A); Bionanocompósitos baseados em amido de mandioca com nanocristais de celulose de casca de arroz (B)

3.5.3 Índice de cristalinidade

O amido de mandioca apresenta picos de difração em $2\theta = 13,5^\circ$, $17,6^\circ$, $19,4^\circ$, $21,5^\circ$ e $26,4^\circ$. A cristalinidade do amido diminui com o processo de gelatinização durante a elaboração dos filmes e esses picos de difração desaparecem. Isso ocorre devido às transformações que ocorrem com as moléculas de amilose e amilopectina, as quais são responsáveis pela cristalinidade da estrutura do amido. O biocompósito de amido se mostrou amorfo, não apresentando picos de difração. Com a incorporação dos

nanocristais nos biocompósitos, os picos característicos destas estruturas não foram observados. Isto pode ser índice de que houve intercalação dos nanocristais na matriz de amido, tal como ocorre quando é incorporada a montmorilonita. O difratograma com os resultados está disposto na Figura 7.

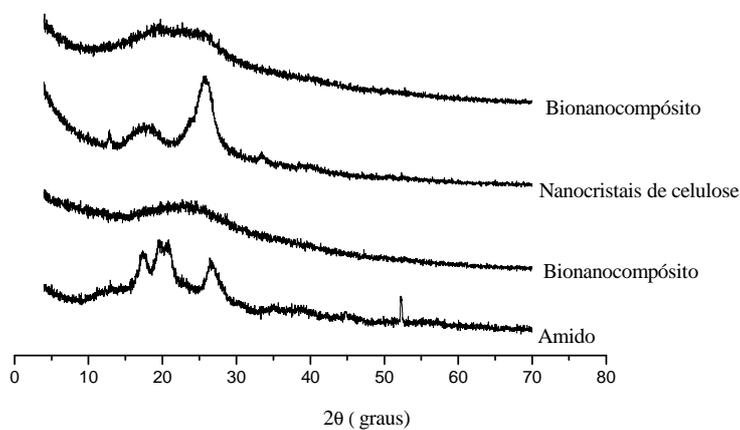


Figura 7 Difratograma de raios X para o amido, bionanocompósito baseado em amido de mandioca, nanocristais de celulose e bionanocompósito com 3% de nanocristais de celulose da casca do arroz

CONCLUSÃO

A metodologia utilizada no processo de purificação da celulose sem o uso de cloro é eficiente, uma vez que propicia aumento do índice de cristalinidade das cascas de arroz com o tratamento alcalino e o branqueamento. Com as condições de hidrólise desenvolvidas neste trabalho é possível o desenvolvimento de nanocristais de celulose de casca de arroz, mesmo utilizando a concentração de ácido 50%, a qual é menor do que as difundidas na literatura. Novos tempos de hidrólise devem ser avaliados para verificar a sua influência no índice de cristalinidade dos materiais lignocelulósicos, uma vez que o tempo de 75 minutos, utilizado para o isolamento dos nanocristais, pode ter sido maior que o necessário para hidrolisar somente as regiões amorfas e não degradar as regiões cristalinas.

A incorporação de 3% de nanocristais de celulose na elaboração dos bionanocompósitos aumenta a espessura e a alongação na ruptura dos mesmos. A solubilidade em água também é reduzida, assim como a permeabilidade ao vapor de água. Os nanocristais não influenciam a transparência dos biocompósitos.

A redução da resistência à umidade dos bionanocompósitos de amido é uma propriedade importante, que torna possível a sua utilização na construção de embalagens de alimentos. Uma das potencialidades do bionanocompósito produzido neste trabalho é a aplicação como revestimentos de vegetais, uma das formas de reduzir a deterioração durante o transporte e a comercialização dos mesmos.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, U. P.; REINER, R. S.; RALPH, S. A. Cellulose I crystallinity determination using FT-Raman spectroscopy: univariate and multivariate methods. **Cellulose**, 17(4), p. 721–733, 2010.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. (2008b). Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues: wheat straw and soy hulls. **Bioresource Technology**, 99(6), p. 1664–71, 2008b.

ANGLE, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized Starch / Tunicin Whiskers Nanocomposite Materials . 2 . **Mechanical Behavior**, v.34,n.9 , p. 2921–2931, 2001.

AMERICAN STANDART TESTING AND MATERIAL;
ASTD882/02: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. New York: [s.n.], 2002.

ASTM, E398-03, Standard test method for water vapour transmission rate of sheet materials using dynamic relative humidity measurements. In: American Society for Testing and Materials, ASTM BOOK of Standards, PA, USA. , 2003.

AYRILMIS, N., HEON, J., & HYUNG, T. Effect of resin type and content on properties of composite particleboard made of a mixture of wood and rice husk. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v.38, p.79–83, 2012

BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Química Nova**, v.24, n.6, p.819-829, 2001.

BROWING, B.L. **The chemistry of wood new York**. [S.l.]: Interscience, 1963, 574p.

CHAKRABORTY, S.; CHOWDHURY, S.; DAS SAHA, P. Adsorption of crystal violet from aqueous solution onto NaOH-modified rice husk. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 4, p. 1533-1541, 2011.

CHEN, et al. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 1, p. 709-716, 2012.

CHEN, Y., et al. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: Effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers**, v.76, n.4, p. 607-615, 2009.

DUFRESNE, A. Plasticized Starch/Tunicin Whiskers Nanocomposites. **Structural Analysis**, p. 8344-8353, 2000.

FAKHOURI, F. M., et al. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n. 2, p. 369-375, 2007.

FARIA, F.de O.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Physical properties of biodegradable films based on cassava starch, polyvinyl alcohol and montmorillonite. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 487-492, 2012.

FARUK, Omar et al. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000-2010. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 11, p. 1552-1596, 2012.

FOLETTTO, E. L., et al. Aplicabilidade das cinzas da casca de arroz. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1055-1060, 2005.

HENRIQUE, C. M., et al. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

JOHAR, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. **Industrial Crops and Products**, v.37, n.1, p. 93–99, 2012.

KARIMI, S., et al. Biodegradable starch-based composites: effect of micro and nanoreinforcements on composite properties. **Journal of Materials Science**, v.49,n.13, p. 4513–4521, 2014.

KENNEDY, E.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, E. P. A. **Wood and cellulose: industrial utilization biotechnology structure and properties**, Ellis Horwood. Chichester: E. Horwood, 1987. 1130 p.

LUDUEÑA, L., et al. Nanocellulose from rice husk following alkaline treatment to remove silica. v. 6, n. 2, p. 1440–1453, 2011.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. **Carbohydrate Polymers**, v.86, n.3, p. 1291–1299, 2011.

MATHEW, A. P.; THIELEMANS, W.; DUFRESNE, A. Mechanical properties of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. **Journal of applied polymer science**, v.109, n.6, 4065–4074, 2008.

MORAIS, J. P. S., et al. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v.91, n.1, p. 229–35, 2013.

NDAZI, B. S.; KARLSSON, S.; TESHAI, J. V.; NYAHUMWA, C. W. Chemical and physical modifications of rice husks for use as composite panels. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v.38, n.3, 925–935, 2007.

OKSMAN, K., ETANG, J. A., MATHEW, A. P., & JONOBI, M. Cellulose nanowhiskers separated from a bio-residue from wood bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v.35, n.1, 146–152, 2010.

ROSA, M. F., et al. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n.1, p. 83–92, 2010.

SEGAL, L., et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, p. 786–794, 1959.

SUN, X. F., et al. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 1, p. 97-106, 2005.

VICENTINO, S. L.; FLORIANO, P. A.; DRAGUNSKI, D. C. Filmes de amido de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. **Química Nova**, v34, n.88, p. 1309–1314, 2011.

ARTIGO 3

Aplicação de coberturas biodegradáveis à base de amido de mandioca e nanocristais de celulose na conservação da mandioquinha-salsa

Artigo redigido conforme normas da Revista *Postharvest Biology and Technology*

RESUMO

Coberturas ou revestimentos comestíveis têm sendo utilizadas e apresentam resultados promissores para elevar o tempo de vida útil dos vegetais. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar revestimentos de amido de mandioca elaborados com nanocristais de celulose na conservação da mandioquinha-salsa. As raízes de mandioquinhas-salsa com e sem revestimento foram submetidas a análises de cor, firmeza (N), sólidos solúveis, pH, acidez titulável ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$ ácido málico) e perda de massa (%), durante oito dias de armazenamento, em condições ambiente. Os parâmetros b^* e C^* decresceram, não foram observadas diferenças significativas na luminosidade (L^*) das raízes analisadas e o valor médio foi de 63,71. As raízes apresentaram variações no conteúdo de acidez, sólidos solúveis e pH, durante o armazenamento. Diminuição da firmeza e aumento da perda de massa foram observados para todos os tratamentos analisados. As coberturas não eliminaram a perda de massa das mandioquinhas-salsa, mas a cobertura com nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café apresentou menor perda de massa, durante o período de estocagem. A cobertura das raízes de mandioquinha-salsa com bionanocompósitos de amido apresenta potencial para aplicação na diminuição da perda de massa de vegetais.

Keywords: Nanotecnologia, Nanocristais de celulose, Resíduos agroindustriais, Conservação pós-colheita.

1 INTRODUÇÃO

A comercialização da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) pode ser comprometida por problemas que ocorrem logo depois da sua colheita. Dentre esses problemas estão sua rápida perda de massa e a sensibilidade a injúrias que podem ser de origem mecânica, produzida durante a colheita, o processamento e o transporte (HENZ et al., 2005).

Como forma de reduzir esses problemas pode ser utilizada refrigeração, uma das medidas pós-colheita mais utilizadas, embalagens com atmosfera modificada e revestimentos comestíveis. O uso de refrigeração, bem como o estudo de temperaturas adequadas para armazenamento precisa ser reavaliado, pois alguns vegetais, como a mandioquinha-salsa, podem sofrer injúrias pelo frio (MENOLLI et al., 2008).

A utilização de filmes e coberturas comestíveis tem sido pesquisada, por diversos autores, como forma de aumentar o tempo de vida útil de frutos e hortaliças (SOARES et al., 2007; PEREIRA et al., 2008; MENEGUEL; BENASSI; YAMASHITA, 2008). A maioria dos resultados encontrados na literatura é positiva e decorrente da redução da taxa metabólica dos vegetais, minimizando a perda de água e aumentando o período de comercialização dos mesmos. Coberturas de quitosana e gelatina aumentaram o tempo de vida útil de pimentão vermelho (POVERENOV, et al., 2014).

As coberturas podem ser elaboradas com amido, quitosana (ASSIS ; LEONI, 2003), proteína ou a combinação destes (FAKHOURI et al., 2007; PAN et al., 2014) , visando à obtenção de melhores propriedades de barreira ao vapor de água e a gases.

Revestimentos comestíveis têm sido utilizados com a adição de agente oxidante, agente antimicrobiano e materiais que reduzam hidrofobicidade dos

mesmos. Assim ocorre a diminuição de contaminação microbiológica, perda de nutrientes por oxidação e perda de água durante o armazenamento.

A produção de nanocompósitos com a incorporação de nanocristais de celulose em matriz biodegradável de amido pode reduzir a sua permeabilidade ao vapor de água. Eles funcionam como obstáculos que dificultam a difusão do vapor de água pela matriz, tornando-a menos permeável. Além disso, uma dispersão homogênea dos nanocristais na matriz é capaz de torná-la menos solúvel em água. Dessa forma, esses nanomateriais podem contribuir para a redução da perda de água dos vegetais.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a potencialidade das coberturas de amido com nanocristais de celulose para conservar raízes de mandioquinha-salsa à temperatura ambiente. As raízes de mandioquinha-salsa foram armazenadas durante oito dias e submetidas a análises físico-químicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Raízes de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) foram adquiridas no Ceasa da região de Contagem, MG, com um dia de colheita. Os nanocristais de celulose foram elaborados a partir de resíduos do processamento por via seca do café cereja. Nanocristais de celulose de casca de arroz também foram produzidos utilizando cascas de arroz que, assim como os resíduos de café, foram obtidas nas unidades de beneficiamento da Universidade Federal de Lavras. O glicerol foi adquirido da empresa Synth. O amido foi doado pela empresa Inbramaq.

2.2 Preparação e revestimento das mandioquinhas-salsa

Após a seleção manual de raízes com tamanho uniforme e ausência de injúrias, as mandioquinhas-salsa foram lavadas com água corrente, imersas em solução de hipoclorito de sódio 100 mg L⁻¹ durante 10 minutos, enxaguadas novamente em água corrente e secas à temperatura ambiente.

Os revestimentos foram desenvolvidos pelo processo *casting*, utilizando 3% de amido de mandioca (m/v), plastificados com 20% glicerol (m/v). Para a elaboração dos filmes com nanopartículas, foram adicionados 3% da dispersão de nanocristais de celulose. Essa concentração foi definida em testes prévios. Foi considerado um tratamento com revestimento sem nanocristais de celulose (AP), um tratamento contendo 3% de nanocristais de celulose de resíduo do café (AC), um tratamento contendo nanocristais de celulose de casca de arroz (AA) e um tratamento controle sem revestimento (C).

Durante o revestimento, as raízes foram imersas nas soluções filmogênicas específicas por dois minutos e drenadas para escorrer o excesso. Três raízes foram dispostas em bandejas de poliestireno e armazenadas em condições ambientais com a temperatura variando de 20,9 °C - 28,9°C e umidade relativa de 49% - 77% e submetidas à análise físico-química a cada dois dias, por um período de oito dias de armazenamento.

2.2 Análises de caracterização das mandioquinhas-salsa

2.2.1 Cor

A diferença de cor entre as mandioquinhas-salsa revestidas e a amostra controle foi determinada utilizando-se espectrofotômetro Konica Minolta modelo CM-5 (Japão), trabalhando com D₆₅ (luz do dia), de acordo com Sobral (1999) e usando os padrões CIELab. A determinação foi feita por meio da medida de L*, a* e b* de três pontos aleatórios da casca, totalizando nove leituras por tratamento. Os valores de luminosidade (L*) variam de 0 (preto) a 100 (branco). A coordenada a* varia de verde (-60) a vermelho (+60) e a coordenada b*, de azul (-60) a amarelo (+60). Além da diferença de cor, também foram avaliados a luminosidade (L*), b* (cromaticidade) e croma (C*), para a verificação da ocorrência de alteração da cor das raízes durante o armazenamento. Para o cálculo da diferença de cor foi utilizada a Equação 1.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad \text{Equação 1}$$

em que ΔL , Δa e Δb representam a diferença entre os parâmetros L*, a*, b* das amostras revestidas no tempo avaliado e o tratamento controle (sem revestimento), de acordo com metodologia descrita por Gennadios et al. (1996).

2.2.2 Acidez titulável e pH

A acidez titulável foi determinada em relação ao conteúdo de ácido málico, utilizando-se 10 g de mandioquinha-salsa diluída em 90 mL de água destilada e titulando com NaOH 0,1N, usando a fenolftaleína como indicador. O pH do homogenato obtido com as raízes foi medido diretamente em potenciômetro digital (Tecnal, modelo TEC-3MP, Brasil), de acordo com a técnica da AOAC (2012).

2.2.3 Sólidos solúveis

A concentração de sólidos solúveis (SS) foi determinada em refratômetro digital (Atago, modelo PAL-1, Japão), com compensação automática de temperatura, sendo os teores registrados com precisão de 0,1% a 25 °C, e o conteúdo expresso em °Brix AOAC (2012).

2.3.4 Firmeza

A firmeza das amostras foi verificada por meio da análise realizada utilizando-se um analisador de textura TA. XT2 Plus (Stable Micro System, Reino Unido), com célula de carga de 50 kg. Para a realização dos ensaios foi utilizada velocidade de pré-teste de 0,8 mm/s, velocidade pós-teste 10,00 mm/s, utilizando uma probe SMS P/3. Os valores obtidos foram expressos em Newton (N).

2.3.5 Perda de massa

A perda de massa foi determinada pela diferença do peso inicial da raiz obtido no início do experimento (P_i) e o peso obtido em cada tempo de armazenamento (P_f), dividido pelo peso inicial (P_i), utilizando uma balança semianalítica (Shimadzu, modelo BL3200H, Philippines), sendo o valor expresso em % perda de massa (PM). A perda de massa pode ser calculada por meio da Equação 2.

$$\text{Perda de massa (\%)} = (P_i - P_f) / P_i * 100$$

Equação 2

2.3.6. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5, com quatro tratamentos, dos quais um tratamento controle em que a mandioca não foi revestida (C), três coberturas de amido de mandioca (AA; AC; AP) e cinco tempos de armazenamento (0, 2, 4, 6 e 8 dias). As avaliações das condições de qualidade das mandiocinhas foram realizadas a cada dois dias, nos quais foram feitas análises físico-químicas das amostras.

2.3.6. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o software Sisvar versão 5.3 (Build 77) (FERREIRA, 2010). Quando houve diferença significativa ($p < 0,05$), os resultados foram analisados por meio de regressão linear para a variável tempo de armazenamento. Os

critérios adotados para considerar resultados significativos foram: R^2 maior que 70%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Cor

De acordo com a análise de variância (ANOVA), para as variáveis b^* e C^* não foram observadas diferenças significativas a $p < 0,05$ entre os tratamentos analisados. A interação tratamento *versus* tempo também não foi significativa. Somente o tempo de armazenamento exerceu influência significativa para estas variáveis. Para as variáveis L^* (luminosidade) e ΔE não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, tempo e interação entre eles. Os resultados da análise de variância estão dispostos na Tabela 1.

A análise de diferença de cor foi realizada entre a amostra controle e as amostras revestidas, para verificar a interferência da cor das coberturas nos parâmetros de cor das mandioquinhas-salsa, durante o armazenamento. Não foi encontrada diferença significativa entre as amostras revestidas e a amostra sem revestimento. A diferença de cor média foi de 6,08.

Tabela 1 Resultado da análise de variância (quadrado médio) para os parâmetros de cor (b^* , L^* , C^* e ΔE) da mandioquinha-salsa analisados ao longo do tempo de armazenamento

Fonte de variação	Quadrado médio				
	GL	b^*	L^*	C^*	ΔE
Trat	3	19,5 ^{ns}	19,8 ^{ns}	24,9 ^{ns}	15,2 ^{ns}
Tempo	4	427 [*]	24,9 ^{ns}	427 [*]	20,1 ^{ns}
Trat*tempo	12	8,59 ^{ns}	8,98 ^{ns}	9,44 ^{ns}	4,75 ^{ns}
Resíduo	40	11,4	11,3	11,1	12,4
CV(%)		12,04	5,28	11,12	57,9

Trat-Tratamento; ns- não significativo $p < 0,05$; *-Significativo a $p < 0,05$ pelo teste Scott-Knott

Para a variável b^* não foram observadas diferenças significativa entre os tratamentos AA (mandioquinhas-salsa revestidas com filme de amido e nanocristais de celulose de casca de arroz), AC (mandioquinhas-salsa revestidas com filme de amido e nanocristais de celulose de resíduos do beneficiamento de café), AP (mandioquinhas-salsa revestidas com filme de amido) e C (mandioquinhas-salsa sem revestimento) durante o armazenamento. A variável tempo apresentou influência significativa na cromaticidade das mandioquinhas-salsa durante o armazenamento e a curva desta variação está representada na Figura 1.

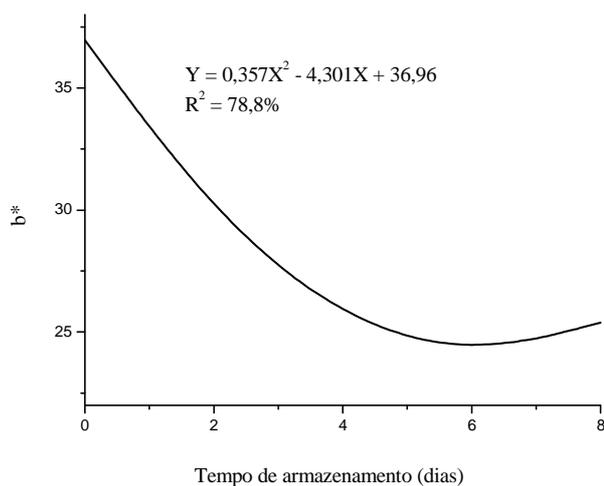


Figura 1 Curva da variação de b^* das mandioquinhas-salsa revestidas com solução filmogênica em função do tempo de armazenamento

A cromaticidade b^* no tempo zero foi de 36,96, que diminui até o sexto dia de armazenamento e aumenta no oitavo dia. Esse aumento pode estar relacionado com o aparecimento de pontos pretos nas amostras, a partir do sexto dia de armazenamento. Estes resultados mostram que a cor amarela característica da mandioquinha-salsa diminuiu durante a estocagem e as

coberturas não influenciaram a redução da cor. Esse processo ocorre devido à perda de carotenóides, um dos responsáveis pela coloração amarela das mandioquinhas. Esse mesmo comportamento foi observado por para a mandioquinha-salsa, em um mix de vegetais minimamente processados armazenados sob refrigeração (ALVES et al., 2010).

Uma análise da saturação da cor (C^*) mostra que somente o tempo influenciou significativamente durante o armazenamento. A variação do croma das amostras de mandioquinha-salsa está representada na Figura 2.

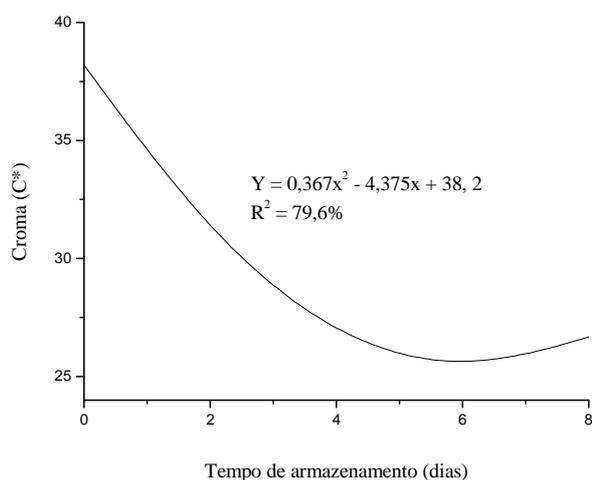


Figura 2 Variação do Croma (C^*) das mandioquinhas-salsa, em função do tempo de armazenamento

A saturação de cor no tempo zero foi de 38,2, decrescendo até o sexto dia e aumentando no oitavo dia. Este comportamento está de acordo com o observado para a coordenada b^* , que também decresceu ao longo do armazenamento.

Luminosidade (L*)

Não foi observada diferença significativa para L* entre os tratamentos analisados. A interação entre tempo *versus* tratamento também não foi significativa. O valor médio encontrado foi de 63,72, para os tratamentos. O valor de L* mostra o quão claro ou escuro está uma amostra, podendo mostrar a ocorrência de escurecimento em vegetais minimamente processados. Mesmo não havendo diferença significativa entre os tratamentos e o tempo de armazenamento, foi observada tendência de diminuição dos valores de L* durante o período de estocagem das mandioquinhas-salsa. Esta diminuição pode ser devido ao aparecimento de pontos escuros nas cascas das raízes a partir do quarto dia, influenciando os parâmetros L*, b* e C*.

Estes pontos estavam concentrados no local em que havia sinais de injúria que possivelmente ao longo do armazenamento escureceram.

Os resultados da análise de variância (quadrado médio) para as análises de acidez titulável, pH, sólidos solúveis, firmeza e perda de massa das mandioquinhas estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 Resultado da análise de variância (quadrado médio) para as variáveis acidez titulável (mg ácido málico 100g⁻¹), pH, acidez titulável (AT), sólidos solúveis(SS), firmeza(N), e perda de massa (%) da mandioquinha-salsa analisada ao longo do tempo de armazenamento

Fonte de Variação	Quadrado médio					
	GL	pH	AT	SS	F	PM
Tratamento	3	0,401*	0,0129 *	7,13 *	18,4*	11,4 ns
Tempo	4	0,622 *	0,0754 *	1,71 *	21,3 *	993*
Trat*tempo	12	0,340*	0,0166 *	2,64 *	8,58 *	1,13 ns
Resíduo	40	0,044	0,00413	0,617	2,50*	22,7
CV (%)		16,35	3,22	17,43	6,92	21,9

Trat: tratamento; AT: acidez titulável; SS: sólidos solúveis; F: firmeza; PM: perda de massa; ns: não significativo p<0,05; * Significativo a p<0, pelo teste Scott-Knott

Os resultados obtidos por meio da análise de variância (ANOVA) apresentaram interação significativa entre o tempo de armazenamento *versus* tratamento ($p < 0,05$). Não houve modelo matemático que se ajustasse para os tratamentos AA, AC e AP. O tratamento C (sem revestimento) se ajustou ao modelo quadrático e o teor de acidez titulável ao longo do armazenamento está representado na Figura 3.

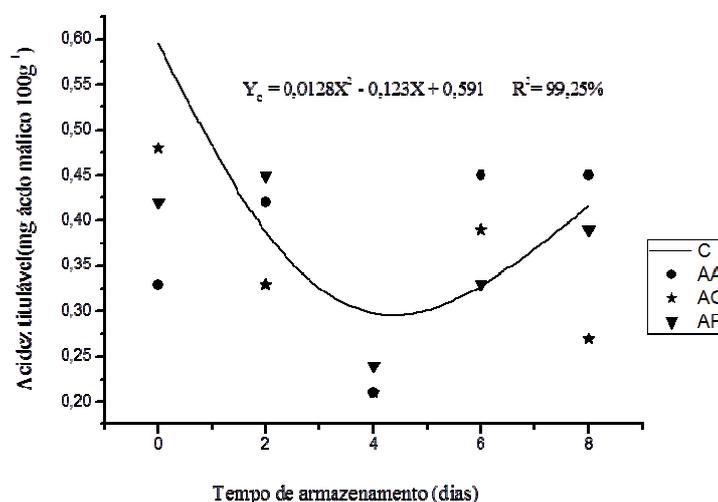


Figura 3 Valores médios¹ observados para o efeito dos tratamentos, sob a acidez titulável (AT), ao longo do armazenamento: (AA) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de casca de arroz; (AC) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café; (AP) mandioquinhas-salsa revestidas com biocompósito de amido de mandioca; (C) mandioquinhas-salsa sem revestimento

¹Média de 3 observações

A acidez é um parâmetro que influencia o sabor e o aroma dos vegetais. Os valores de acidez titulável variaram durante o armazenamento e um aumento do teor de ácido málico foi observado para o tratamento AA. No início do

armazenamento, a acidez titulável foi de 0,3 mg de ácido málico 100 g^{-1} e aumentou para 0,5 mg de ácido málico 100 g^{-1} , nos dois últimos dias de armazenamento. Este comportamento também foi observado no revestimento de goiabas com cera de carnaúba. Resultados opostos foram observados para os tratamentos AC e AP, nos quais houve diminuição da acidez no final do experimento, em relação ao tempo zero (JACOMINO et al., (2003). Os valores de acidez titulável para AC e AP no tempo zero foram de 0,5 mg de ácido málico 100 g^{-1} e, no oitavo dia de armazenamento, esse valor decresceu para 0,3 mg de ácido málico 100 g^{-1} e 0,4 mg de ácido málico 100 g^{-1} , respectivamente. Esta redução do valor da acidez (Figura 3) é causada pelo consumo de ácidos orgânicos no processo respiratório das raízes de mandioquinha-salsa, ou seja, redução do conteúdo de ácido málico. De acordo com o observado nos dois últimos dias de armazenamento o tratamento AA se mostrou mais eficiente na manutenção da acidez titulável das raízes de mandioquinha-salsa.

Quanto ao tratamento C, o teor de acidez diminuiu até o quarto dia de armazenamento, provavelmente devido ao aumento do processo respiratório que ocorre por meio do consumo de ácidos orgânicos. A partir do sexto dia, o processo respiratório diminuiu, pois o teor de ácidos orgânicos voltou a aumentar, com conseqüente aumento do conteúdo de ácido málico que ocorreu até o final do armazenamento. A acidez titulável de goiaba resvestida com cobertura de amido de mandioca e quitosana armazenadas a $22\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $62\pm 6\%$ de umidade relativa também diminuiram ao longo do armazenamento (SOARES et al., 2011).

Em mangas revestidas com películas biodegradáveis de amido de mandioca também ocorre diminuição da acidez conforme reportado anteriormente por Assis et al. (2011). Segundo Pinheiro; Vilas Boas; Lima (2005), a diminuição da acidez pode significar o início da fase de

senescência, devido à redução do metabolismo dos ácidos orgânicos presentes.

3.3 pH

De acordo com a ANOVA, a interação do tempo *versus* tratamento foi significativa a $p < 0,05$ pelo teste Scott-Knott. A variação do pH dos diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento está representada na Figura 4. Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, durante todos os tempos de estocagem.

No tempo zero, em que as raízes tinham um dia de colheita, o pH do tratamento controle (sem revestimento) foi de 6,98, ou seja, maior que o observado para as amostras revestidas. Esse valor decresceu até o quarto dia e praticamente não variou do quarto ao sexto dia, aumentando no oitavo dia de armazenamento. A partir do quarto dia, as amostras revestidas apresentaram maiores valores de pH e permaneceram até o sexto dia, reduzindo no final do armazenamento.

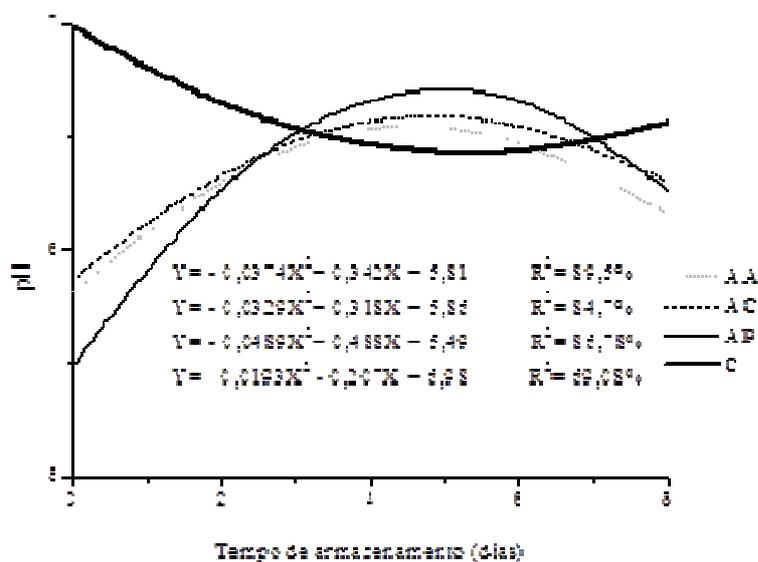


Figura 4 Curva de variação do pH para os tratamentos em função do tempo de armazenamento: (AA) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de casca de arroz; (AC) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café; (AP) mandioquinhas-salsa revestidas com biocompósito de amido de mandioca; (C) mandioquinhas-salsa sem revestimento

No oitavo dia, o pH da mandioquinha-salsa sem revestimento foi maior que o das amostras revestidas. Tendência de redução dos valores de pH de morangos revestidos com coberturas de amido de fruta-de-lobo, ao longo do tempo de armazenamento foi observada por FERREIRA et al. (2011). Comportamento semelhante também foi observado por Clemente e Oliveira (2012), quando revestiram mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) com fécula de mandioca e houve aumento do pH, seguido de queda no final do tempo de armazenamento. A redução destes valores é consequência do consumo dos

ácidos orgânicos no processo de respiração e transpiração.

As coberturas não impedem a ocorrência dos processos bioquímicos nas raízes de mandiquinha-salsa, pois a queda de pH no final do armazenamento é indicativa de transpiração do fruto. Isto é possível pela natureza semipermeável das coberturas de amido que favorecem o transporte de gases, ideal para a conservação do produto vegetal.

3.4 Sólidos solúveis

Os resultados para sólidos solúveis foram determinados em °Brix. A análise de variância dos resultados obtidos mostrou que a interação entre os tratamentos *versus* tempo de armazenamento foi significativa ($p < 0,05$). Foram observadas diferenças significativas para os tratamentos AA, AC durante o armazenamento, mas não houve ajuste a um modelo matemático. O tratamento C ajustou ao modelo linear, conforme pode ser visualizado na Figura 5.

O tratamento AP não apresentou diferença significativa e o valor médio obtido ao longo do tempo de estocagem foi de 4,46 °Brix.

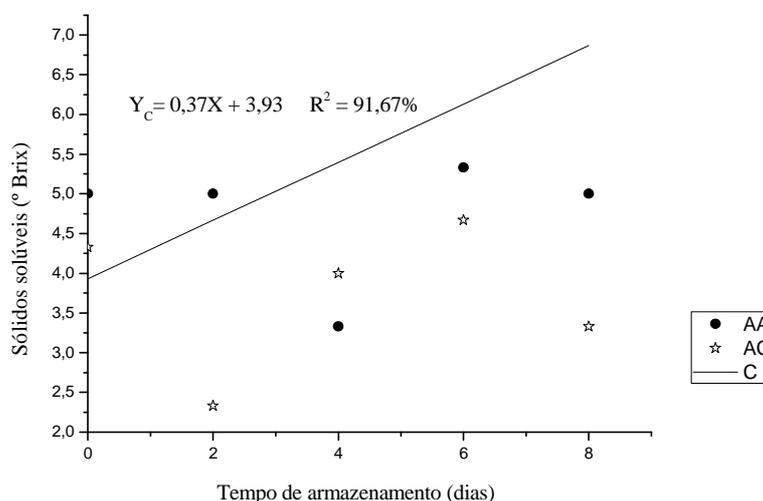


Figura 5 Valores médios¹ observados para o efeito dos tratamentos, sob o teor de sólidos solúveis (°Brix), ao longo do armazenamento: (AA) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de casca de arroz; (AC) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café e curva de variação dos sólidos solúveis em função do tempo de armazenamento para mandioquinhas-salsa sem revestimento (C)

As mandioquinhas revestidas com o tratamento AA não apresentaram variação do teor de sólidos solúveis, durante os dois primeiros dias de armazenamento. No quarto dia houve redução deste valor, que não se manteve, aumentando no sexto dia. No oitavo dia foi encontrado o mesmo valor de sólidos solúveis presente no início da estocagem. Para as raízes revestidas com AC, houve redução do teor de sólidos do tempo zero ao tempo dois. Em seguida, houve um aumento no tempo seis, mas diminuiu no tempo oito. A redução do teor de sólidos solúveis pode estar associada com o consumo de açúcares durante o processo de respiração, diminuindo as reservas energéticas (ANDREUCETTI et al., 2007).

As amostras que não foram revestidas apresentaram aumento de sólidos solúveis. O aumento dos sólidos solúveis da amostra controle, principalmente no final do tempo de armazenamento, pode estar associado à perda de massa devido ao processo de transpiração ou respiração. Esses processos aumentam a concentração de sólidos solúveis, devido à perda da água (ANDREUCETTI et al., 2007)

O aumento de sólidos solúveis foi atribuído por Souza et al. (2009) à elevação da taxa do metabolismo do amido, bem como ao consumo de açúcares oriundos do processo de respiração das hortaliças.

3.5 Firmeza

A interação entre tempo *versus* tratamento apresentou diferença significativa. O tempo foi significativo apenas para os tratamentos AA e C, não tendo influência sobre a firmeza dos tratamentos AC e AP. Não houve modelo matemático que se ajustasse aos resultados obtidos para o tratamento C, assim como os resultados observados para os tratamentos AC e AP. Dessa forma, eles foram representados na Figura 6.

Os tratamentos AC e AP se apresentaram mais firmes ao longo do tempo de armazenamento, mostrando que as coberturas têm influência sobre a manutenção da firmeza das mandioquinhas e impediram o amolecimento da parede celular e, conseqüentemente, da firmeza. O tratamento AC apresentou maior valor de firmeza quando comparado ao AP, possivelmente devido à presença dos nanocristais de celulose. A formação das ligações de hidrogênio entre os nanocristais de celulose e as moléculas de amido forma uma barreira ao vapor de água, o que pode contribuir para a redução da perda de sólidos por transpiração.

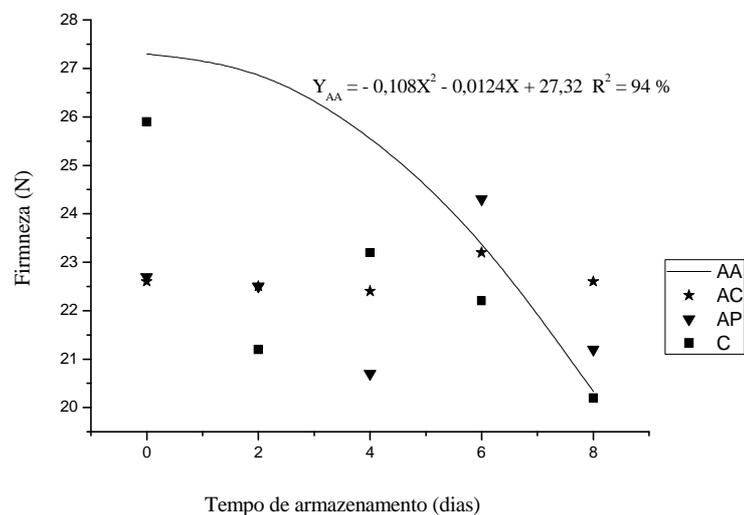


Figura 6 Valores médios¹ observados para o efeito dos tratamentos, sob a firmeza (N) ao longo do armazenamento: (AC) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café; (AP) mandioquinhas-salsa revestidas com biocompósito de amido de mandioca; (C) mandioquinhas-salsa sem revestimento, (AA) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose da casca do arroz

¹Média de 3 observações

O tratamento AA (bionanocompósito com nanocristais de celulose da casca de arroz) apresentou maior firmeza no tempo zero e os resultados se ajustaram ao modelo quadrático e essa maior firmeza, possivelmente, se deve a diferenças entre as amostras e não tem relação com o revestimento analisado.

Assim como para os outros tratamentos, ocorre diminuição da firmeza ao longo dos demais tempos de armazenamento, com exceção dos tratamentos AC e AP, nos quais houve aumento da firmeza, com consequente redução no oitavo dia. No último dia de armazenamento, os tratamentos AA e C eram os menos firmes.

3.6 Perda de massa

A perda de massa é consequência do processo de respiração e transpiração dos vegetais e, muitas vezes, pode ser influenciada pela temperatura de armazenamento (HENRIQUE; EVANGELISTA, 2006). Em uma análise dos resultados obtidos neste trabalho observou-se que a perda de massa das mandioquinhas-salsa aumentou ao longo do tempo de armazenamento, para todos os tratamentos estudados. Não houve interação significativa entre os tratamentos *versus* tempo de armazenamento e a perda de massa aumentou com o tempo de estocagem.

Conforme apresentado na Figura 7, a perda de massa foi menor nos dois primeiros dias de armazenamento, sendo maior para todos os tratamentos no oitavo dia.

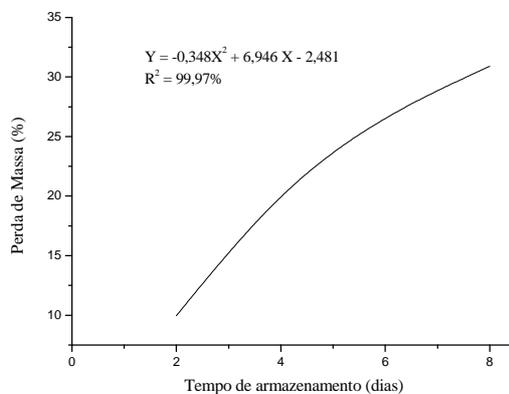


Figura 7 Curva de variação da perda de massa das raízes de mandioquinhas-salsa revestidas com solução filmogênicas de amido de mandioca e sem revestimento, ao longo do armazenamento

Mesmo não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos, as coberturas apresentaram menores valores para a perda de massa ao longo do período de estocagem quando comparadas com as mandioquinhas-salsa sem revestimento conforme pode ser visualizado na Figura 8.

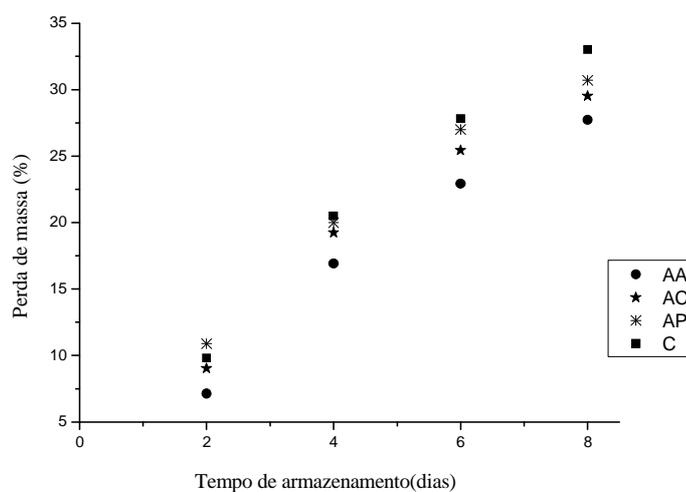


Figura 8 Valores médios¹ observados para o efeito dos tratamentos, na perda de massa (%) ao longo do armazenamento: (AC) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose de resíduo do beneficiamento do café; (AP) mandioquinhas-salsa revestidas com biocompósito de amido de mandioca; (C) mandioquinhas-salsa sem revestimento, (AA) mandioquinhas-salsa revestidas com bionanocompósitos desenvolvidos com nanocristais de celulose da casca do arroz

3 CONCLUSÃO

As coberturas não influenciam na cor das mandioquinhas-salsa revestidas.

As raízes de mandioquinhas-salsa apresentam variações no conteúdo de acidez, sólidos solúveis e pH, durante o armazenamento.

A presença dos nanocristais de celulose auxilia na manutenção da firmeza e sólidos solúveis das mandioquinhas-salsa revestidas.

As coberturas não eliminam a perda de massa das mandioquinhas-salsa.

Os resultados encontrados mostram que as amostras revestidas com o filme elaborado com nanocristais de celulose do resíduo do beneficiamento do café apresentam menor perda de massa em relação aos demais tratamentos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Capes pelo apoio Financeiro.

REFERÊNCIAS

ALVES, J. A., et al. Vida útil de produto minimamente procesado composto por abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.88, p. 1309–1314, 2011.

ANDREUC CETTI, C., et al. Qualidade pós-colheita de frutos de tomate cv. Andréa tratados com etileno 1. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.1, p. 122–126, 2007.

ASSIS, J. S.; BATISTA, P. F.; DOS SANTOS, O. O. Efeito do tratamento hidrotérmico e diferentes revestimentos na conservação pós-colheita de mangas ‘Tommy Atkins’. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n. 1, p. 140–146, 2011.

ASSIS, O. B.; LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, (30), 33-38, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. 17. ed. Gaithersburg [s.n.], 2012. v. 1, 1170 p.

FAKHOURI, F. M., et al. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 369–375, 2007.

FERREIRA, D. F. Sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 4. [S. l.]: SISVAR, 2010.

GENNADIOS, A. et al. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 3, p. 585-589, 1996.

HENRIQUE, C. M.; EVANGELISTA, R. M. Minimal processing of organic carrots through the use of biodegradable films. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 7–14, 2006.

HENZ, G. P., et al. Danos causados pelo impacto de queda na qualidade pós-colheita de raízes de mandioquinha-salsa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.4, p. 881–886, 2005.

JACOMINO, A. P., et al. Postharvest conservation of guavas through carnauba wax emulsion applications. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p. 401-405, 2003.

MENEGUEL, R. F. DE A.; BENASSI, M. D. T.; YAMASHITA, F. Sodium alginate edible coating for blackberry (*Rubus ulmifolius*) fruits. **Semina Ciências Agrárias**, v. 29, p. 609–618, 2008.

MENOLLI, L. N., et al. Role of oxidative enzymes on the darkening induced by chilling of arracacha roots. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.30, n.1, p. 57-63, 2008.

PAN, H. et al. Blend-modification of soy protein/lauric acid edible films using polysaccharides. **Food chemistry**, v.151, p. 1-6, 2014.

PINHEIRO, A. C. M.; BOAS, E. V. D. B. V.; LIMA, L. C. Influência do CaCl_2 sobre a qualidade pós-colheita do abacaxi cv. pérola. **Ciência. Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p. 32-36, 2005.

POVERENOV, E., et al. Postharvest Biology and Technology Effects of a composite chitosan – gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 96, p. 106–109, 2014.

SOARES, N. D. F. F., et al. Avaliação de revestimento contendo extrato de mostarda e da sanitização na conservação de batata-baroa. **Revista Ceres**, v.54 , n.314, p. 383-388, 2007.

SOARES, N. D. F. F., et al. Antimicrobial edible coating in post-harvest conservation of guava. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.SPE1, p. 281-289, 2011.

SOUZA, P. A., et al. Conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de fécula de mandioca ou filme de PVC. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, 2009.