



**DANIELLY DE OLIVEIRA BEGALI**

**BLENDAS POLIMÉRICAS ATIVAS DE  
AMIDO/PECTINA/MICROPARTÍCULA DE LIGNINA POR  
CASTING E EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA**

**LAVRAS - MG**

**2020**

**DANIELLY DE OLIVEIRA BEGALI**

**BLENDAS POLIMÉRICAS ATIVAS DE  
AMIDO/PECTINA/MICROPARTÍCULA DE LIGNINA POR *CASTING* E  
EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA**

Dissertação apresentado ao Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Nutrição e Desenvolvimento de Produto e Embalagens para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Prof.<sup>a</sup> (a). Dr (a). Soraia Vilela Borges  
Orientadora

**LAVRAS - MG**

**2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Begali, Danielly de Oliveira.

Blendas poliméricas ativas de amido/pectina/micropartícula de  
lignina por *casting* e extrusão termoplástica / Danielly de Oliveira

Begali. - 2020.

107 p. : il.

Orientador(a): Soraia Vilela Borges.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Polímeros renováveis. 2. Propriedade antioxidante. 3.  
Polissacarídeos. I. Borges, Soraia Vilela. II. Título.

**DANIELLY DE OLIVEIRA BEGALI**

**BLENDAS POLIMÉRICAS ATIVAS DE AMIDO/PECTINA/MICROPARTÍCULA  
DE LIGNINA POR *CASTING* E EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA  
ACTIVE POLYMERIC BLENDS OF STARCH / PECTIN / LIGNIN  
MICROPARTICLE BY CASTING AND THERMOPLASTIC EXTRUSION**

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 24 de julho de 2020

Dr. Fabiana Queiroz UFLA

Dr. Alfredo Rodrigues de Sena Neto UFLA

Dr. Cassiano Rodrigues de Oliveira UFV



Prof(a). Dr(a). Soraia Vilela Borges

Orientador(a)

**LAVRAS – MG  
2020**

Aos meus pais pelo apoio incondicional em todos os momentos difíceis da minha trajetória acadêmica. Ao meu namorado que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus por ter me mantido na trilha certa durante o Mestrado com saúde e forças para chegar até o final.

Aos meus pais Luiz e Regina, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória.

Agradeço ao meu namorado Pedro, que sempre esteve ao meu lado durante o meu percurso acadêmico.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida para a realização desse Mestrado.

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos por proporcionar um ambiente propício para o desenvolvimento do meu projeto.

A todos amigos e colegas do Laboratório de Embalagens e Encapsulação pelo conhecimento compartilhado durante esta jornada.

Em especial agradeço a minha amiga Ana Carolina e a Laura que sempre me ajudaram com suas experiências desde o início deste projeto.

A minha professora orientadora Soraia, pelas contribuições dadas durante todo o processo.

Sou grata aos professores Luís Roberto, Alfredo e Cassiano por todo conhecimento compartilhado e pelo apoio técnico prestado durante toda a minha caminhada no Mestrado.

Ao Núcleo de Estudos em Taxonomia Polifásica de *Aspergillus* e *Penicillium* (NETAX) por todo conhecimento compartilhado, e ao Laboratório de Micologia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) e à Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ) ambos localizados na UFLA, por me ajudarem em muitas análises.

Aos meus amigos e todos aqueles que acreditaram em mim e que de alguma forma contribuíram para a conclusão desta etapa.

A todos, meu sincero agradecimento!

*“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”*

*(Leonardo da Vinci)*

## RESUMO

Nesse trabalho foi avaliado a incorporação de micropartículas de ligninas em filmes de amido termoplástico e em blendas de amido termoplástico com pectina termoplástica com o intuito de produzir filmes ativos para serem incorporados em alimentos com auto poder de oxidação. A primeira etapa do trabalho visou avaliar a ação mecânica da quebra da lignina Kraft em micropartículas e o efeito na modificação das suas propriedades. Na segunda etapa avaliou-se a interação do filme de amido termoplástico com diferentes concentrações (0%, 1%, 2%, 4% e 6% m/m de micropartículas de lignina ultrassonicada usando o processo *casting*. Na terceira parte, avaliou-se a incorporação das micropartículas de lignina nas blendas de amido termoplástico (TPS)/pectina termoplástica (TPP) em diferentes proporções obtidas por extrusão. Os resultados mostram que as partículas foram reduzidas de 6,6µm para 3,1µm e a ação mecânica manteve as propriedades analisadas da micropartícula de lignina Kraft, que possuem propriedades antioxidantes. A avaliação estrutural por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier demonstraram que em filmes de amido termoplástico obtidos por casting o aumento da concentração de micropartículas ultrassonicadas resultou em formação de agregados com perda de interação entre os polímeros. Os filmes com a incorporação das micropartículas de lignina tiveram um aumento na resistência térmica, apresentaram atividade antioxidante e barreira a luz UV visível. Somente os filmes com 1 e 2% de MPLU não foram prejudicados nas propriedades mecânicas, podendo estes serem utilizados como controle de oxidação em alimentos. Aqueles filmes também apresentaram melhores resistência térmica, atividade antioxidante e barreira à radiação UV visível. Diante das propriedades analisadas, observou-se que a pectina promoveu maior resistência mecânica às blendas e proteção à radiação UV - visível. Ao incorporar as micropartículas de lignina, observou-se que as blendas com 25% e 50% de pectina termoplástica obtiveram uma melhora na estabilidade térmica. A blenda com 25% de pectina termoplástica, promoveu um aumento no alongamento a ruptura e deformação. Esta blenda também promoveu 100% da proteção a radiação UV- visível devido à tonalidade marrom escuro. Em relação às propriedades de permeação os filmes com 25% e 50 % de pectina termoplástica apresentaram baixa permeabilidade ao oxigênio (48% e 65%) e a propriedade antioxidante aumentou de 2,7% para 71,08% e 4,1% para 79,28%, respectivamente com a incorporação de micropartículas de lignina. Conclui-se que os filmes obtidos por extrusão tiveram melhores resultados nas propriedades mecânicas, óptica e proteção à radiação UV - visível, devido à melhor dispersão das micropartículas de lignina na matriz polimérica, sendo a blenda polimérica com 25% de concentração de pectina termoplástica e 4% de micropartículas de lignina uma boa alternativa para aplicação em alimentos que são sensíveis ao contato com oxigênio e radiação UV - visível.

**Palavra-chave:** Polissacarídeos. Polímeros Naturais. Embalagem Ativa.

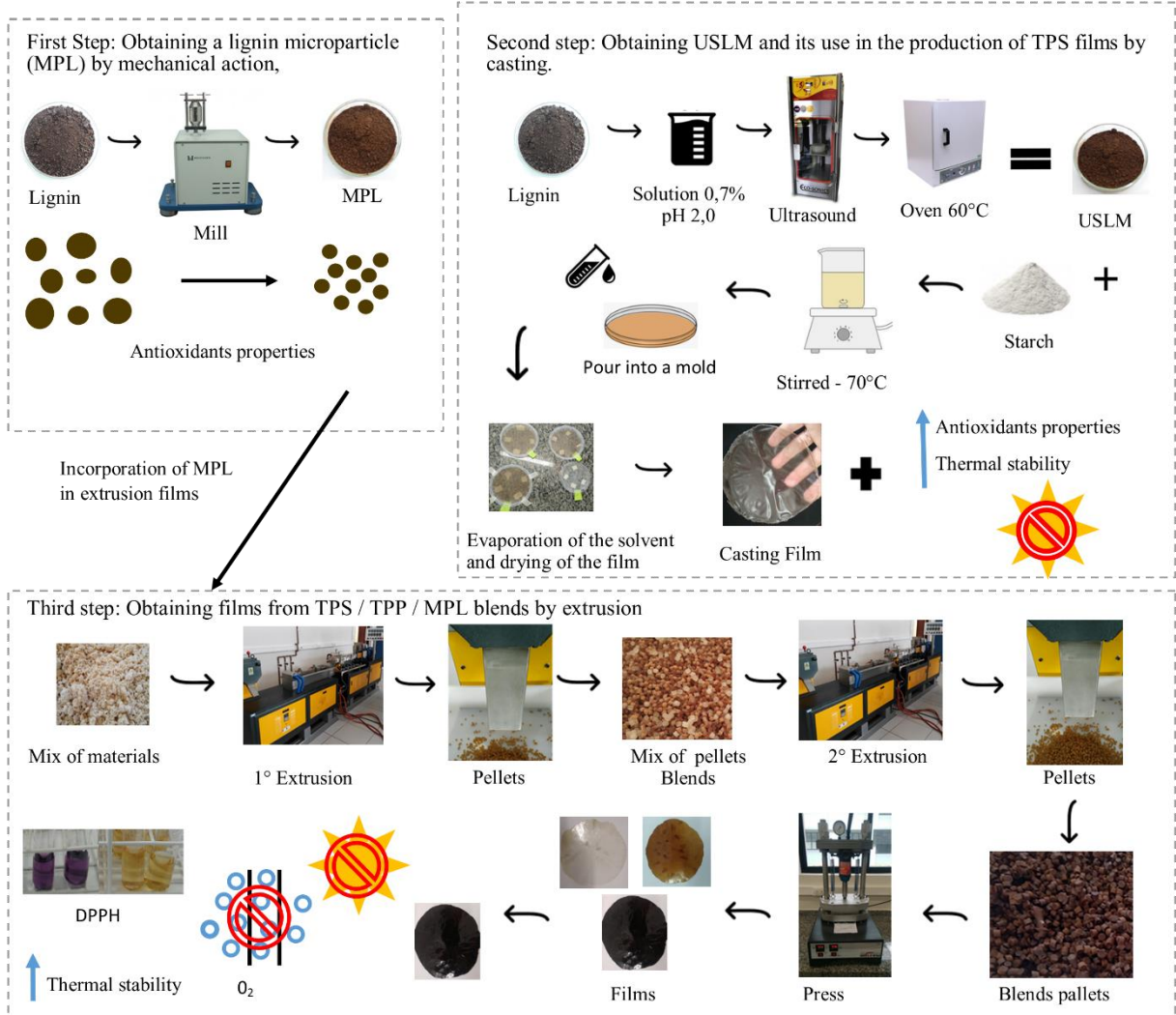


## ABSTRACT

In this work, the incorporation of lignin microparticles in thermoplastic starch films and blends of thermoplastic starch with thermoplastic pectin was evaluated to produce active films to be incorporated into foods with auto-oxidation power. The first stage of the work aimed to evaluate the mechanical action of breaking Kraft lignin into microparticles and the effect on the modification of its properties. In the second step, the interaction of the thermoplastic starch film with different concentrations was evaluated (0%, 1%, 2%, 4% and 6% m/m of ultrasonic lignin microparticles using the *casting* process. In the third part, the incorporation of lignin microparticles in the blends of thermoplastic starch (TPS) / thermoplastic pectin (TPP) was evaluated in different proportions obtained by extrusion. The results show that the particles were reduced from 6.6 $\mu$ m to 3.1 $\mu$ m and the mechanical process maintained the analyzed properties of the Kraft lignin microparticle, which have antioxidant properties. The structural evaluation by scanning electron microscopy and infrared spectroscopy with Fourier transform demonstrated that in thermoplastic starch films obtained by casting, the increased concentration of ultrasonic microparticles resulted in the formation of aggregates with loss of interaction between the polymers. The films with the incorporation of lignin microparticles had an increase in thermal resistance, showed antioxidant activity and barrier to visible UV light. Only films with 1 and 2% MPLU were not affected by their mechanical properties, which can be used to control the oxidation reaction in food. Those films also showed better thermal resistance, antioxidant activity and the barrier to visible UV radiation. Given the properties analyzed, it was observed that pectin promoted greater mechanical resistance to blends and UV radiation protection - visible. By incorporating lignin microparticles, it was observed that blends with 25% and 50% of thermoplastic pectin achieved an improvement in thermal stability. The blend with 25% of thermoplastic pectin, promoted an increase in elongation to rupture and deformation. This blend also promoted 100% UV-visible radiation protection due to dark brown color. Regarding the permeation properties, films with 25% and 50% of thermoplastic pectin presented low permeability to oxygen (48% and 65%) and the antioxidant property increased from 2.7% to 71.08% and 4.1% to 79,28%, respectively with the incorporation of lignin microparticles. It is concluded that the films obtained by extrusion had better results in the mechanical properties, optics and UV protection - visible, due to the better dispersion of lignin microparticles in the polymer matrix, Polymer blends with 25% concentration of thermoplastic pectin and 4% lignin microparticles are a good alternative for application in foods that are sensitive to oxygen contact and visible - UV radiation.

**Keyword:** Polysaccharides. Natural Polymers. Active Packaging.

# GRAPHICAL ABSTRACT



## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>PRIMEIRA PARTE</b> .....  | 12 |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 12 |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | 14 |
| <b>2.1 Polímeros Biodegradáveis</b> .....  | 14 |
| <b>2.4 Amido</b> .....   | 19 |
| <b>2.5 Pectina</b> .....   | 22 |
| <b>2.6 Embalagens Ativas</b> .....   | 24 |
| <b>2.6.1 Antimicrobiana</b> .....  | 25 |
| <b>2.6.2 Antioxidante</b> .....  | 26 |
| <b>2.7 Lignina</b> .....   | 27 |
| <b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....  | 31 |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | 32 |
| <b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....   | 43 |
| <b>ARTIGO 1 - ESTUDO DAS PROPRIEDADES DAS MICROPARTÍCULAS DE LIGNINA OBTIDAS POR AÇÃO MECÂNICA</b> .....   | 43 |
| <b>ARTIGO 2 - BLENDA BIOPOLIMÉRICAS ATIVAS DE AMIDO TERMOPLÁSTICO E MICROPARTÍCULA DE LIGNINA</b> .....  | 59 |
| <b>ARTIGO 3 - EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE MICROPARTÍCULA DE LIGNINA NAS PROPRIEDADES DA BLENDAS TERMOPLÁSTICA DE AMIDO/PECTINA OBTIDA POR EXTRUSÃO</b> ..... | 83 |

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, filmes de blendas à base de polímeros naturais, apresentam garantia de segurança alimentar e impacto ambiental desprezível. Por isso, é crescente o interesse no desenvolvimento de embalagens para alimentos constituídas por esses filmes, a fim de substituir os polímeros sintéticos que não são de fontes renováveis e biodegradáveis. Os polímeros mais utilizados na elaboração dessas blendas são os polissacarídeos, como, por exemplo, amido e pectina.

O amido é um polissacarídeo constituído principalmente de duas moléculas, a amilose, e a amilopectina, responsáveis pelas regiões amorfas e cristalinas do grânulo, respectivamente. A aplicação do amido em filmes depende da sua conversão a amido termoplástico (TPS), um material amorfo homogêneo, pela desestruturação e destruição dos grânulos através da adição de um solvente, aquecimento, plastificante e agitação (MIRANDA; CARVALHO, 2011; XIE et al., 2014; ZDRAHALA, 1997).

A pectina é um polissacarídeo natural e renovável, muito utilizada na produção de geleias e como espessante, gelificante e estabilizante em alimentos processados. É constituída principalmente por ácido D-galacturônico com ligações  $\alpha$  1,4, parcialmente esterificada com grupos metila. Ela é classificada de acordo com o seu grau de esterificação, sendo de baixa metoxilação com valores menores que 50% de grupos carboxil esterificados e de alta metoxilação com valores superiores a 50% de grupos carboxil esterificados (CAZÓN et al., 2017; SOARES et al., 2013).

Os filmes produzidos a partir da mistura de dois ou mais polímeros tem como objetivo melhorar as propriedades mecânicas e de permeabilidade a água e a gases. Além disso, podem ser adicionados materiais funcionais que melhoraram a qualidade dos filmes e aumentam a integridade dos alimentos, estendendo sua vida útil (HERNANDEZ-IZQUIERDO; KROCHTA, 2008).

Um desses materiais que tem sido utilizado para melhorar as propriedades dos filmes produzidos com polímeros naturais é a lignina. Possui uma estrutura amorfa tridimensional composta por unidades de fenilpropano: p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e seringil (S). Há vários grupos funcionais presentes na lignina tais como: hidroxila, metoxila, carbonila e carboxila.

Esses grupos, em conjunto com as unidades fenilpropanóides, são responsáveis por inibir processos de oxidação e pelo efeito antimicrobiano. No entanto, essa atividade é dependente do método utilizado na extração e da origem da lignina (BERTOLO et al., 2019; GARCÍA et al., 2010; LIU et al., 2019; SUNTHORNVARABHASA; LIENGPAYOONB; SUWONSICHONC, 2017).

A produção dos filmes é feita principalmente por dois processos: *casting* e extrusão. O *casting*, consiste na dissolução do polímero em um solvente produzindo-se uma solução de formação de filme, seguida do espalhamento da solução em uma superfície e posterior obtenção do filme após a evaporação do solvente. Esse método tem aplicações industriais muito limitadas. Já a extrusão, é alicada na produção de filmes comerciais, por meio do comportamento termoplástico das matérias primas em baixos níveis de umidade durante o processamento (CHEVALIER et al., 2018; DENG et al., 2018; HERNANDEZ-IZQUIERDO; KROCHTA, 2008; OCHOA-YEPES et al., 2019; WANG et al., 2020).

Os objetivos do presente trabalho foram:

- a) Avaliar as propriedades da micropartícula de lignina obtida por ação mecânica,
- b) Avaliar as propriedades mecânica, térmica, estrutural, de barreira antioxidante e antimicrobiana dos filmes com diferentes concentrações de micropartícula de lignina obtida por ultrassonicação nas blendas de amido termoplástico pelo método casting.
- c) Investigar o efeito de diferentes concentrações das blendas de amido termoplástico/pectina termoplásticas e a incorporação das micropartículas de lignina, obtida por ação mecânica, através do método de extrusão. Onde analisou-se as propriedades mecânicas, térmica, estrutural, barreira e a propriedade antioxidante.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Polímeros Biodegradáveis

Os filmes biodegradáveis vêm despertando o interesse da comunidade científica por apresentarem potencialidade como materiais de embalagens, uma vez que melhoram a qualidade e reduzem perdas de alimentos, além de cooperarem com a preservação do meio ambiente.

De acordo com a IUPAC (1997), polímeros biodegradáveis são polímeros susceptíveis à degradação por atividade biológica e pela atividade catalítica das enzimas, acarretando uma diminuição da sua massa molar durante a degradação. Os polímeros biodegradáveis podem ser obtidos por duas fontes principais, renováveis, que são denominados biopolímeros e de origem petroquímica. Dentre as fontes renováveis encontram-se as proteínas (soro, caseína, glúten, proteína de soja), os polissacarídeos (amido, celulose, pectina), os de microrganismos (PHA - hidroxialcanoatos e PHB – polihidroxibutirato) e os de biotecnologia, através da fermentação (PLA – poli (ácido láctico)). Além desses, há diversos outros biopolímeros, como por exemplo, os polissacarídeos de origem marinha, como é o caso do alginato e a carragena. Já os polímeros biodegradáveis de origem petroquímica são mais restritos sendo alguns deles, o PCL (policaprolactonas), PGA (poli (ácido glicólico)) e PBSA (poli (butileno ssuccinato - co - adipato)) (DIN et al., 2020; MOHAME; EL-SAKHAWY; EL-SAKHAWY, 2020; ZHONG et al., 2020).

Há diversos estudos sendo realizados com esses polímeros para produzir embalagens e filmes para alimentos. Porém, para alcançar benefícios semelhantes dos polímeros não biodegradáveis são produzidas as blendas, misturas de dois ou mais biopolímeros e adição de outros compostos como fibras, agentes de reforço e óleos essenciais para alcançar propriedades desejáveis. Alguns exemplos de estudos mais recentes são: blendas de isolado proteico de soro com álcool polivinílico (PVOH) (LARA et al., 2019), isolado proteico de soro com polianilina (DE OLIVEIRA et al., 2019b), quitosana com polianilina (DE OLIVEIRA et al., 2019a), mucilagem de oro–pro-nobis (OLIVEIRA et al., 2019), argila montmorilonita, quitosana e  $\alpha$ -tocoferol (DIAS et al., 2019), amido com casca de tomate (MANRICH et al., 2017), gluten de trigo com nanopartículas de lignina (YANG; KENNY; PUGLIA, 2015), gelatina, caseína e amido (PELLA et al., 2020), pectina com óleo de copaíba (NORCINO et al., 2020) e nanocristal de celulose em blenda de PHB/PCL (GARCIA-GARCIA et al., 2018).

Atualmente, há um interesse expressivo em relação aos polímeros biodegradáveis, principalmente devido à demanda por alimentos de alta qualidade, às preocupações ambientais sobre o descarte dos materiais não biodegradáveis das embalagens convencionais e às oportunidades para criar novos mercados para as matérias-primas formadoras de filme (YOUSSEF et al., 2015).

De acordo com Dhanapal et al. (2012), os filmes biodegradáveis são classificados de acordo com o tipo de molécula usada em sua preparação. Os filmes simples são aqueles elaborados com componente; os compostos, são elaborados com dois ou mais componentes. Vários autores têm mostrado que os filmes compostos possuem melhores propriedades que os filmes simples (LEUANGSUKRERK et al., 2014; WEI et al., 2015).

Denavi et al. (2009) reportam que os principais constituintes para uma boa formação de filmes são polímeros de elevada massa molar, o solvente e o plastificante. Nesse sentido, os filmes necessitam conter substâncias que formem uma matriz resistente e que tenham capacidade de adesão às superfícies dos alimentos. Karbowiak et al. (2008) citam que as interações inter e intramoleculares e ligações cruzadas das cadeias poliméricas são fatores determinantes na formação de filmes.

Estudos têm sido desenvolvidos para a viabilidade da substituição total ou parcial de polímeros sintéticos por polímeros biodegradáveis misturando-se polímeros de diferentes naturezas na forma de blendas poliméricas ou bioblendas (mistura de polímeros naturais e sintéticos)(FARIA; FRANCHETTI, 2010; RAHMAN et al., 2012; SIONKOWSKA, 2011).

Polímeros biodegradáveis são polímeros são naturalmente degradados pela ação de micro-organismos como bactérias, fungos e algas, levando-se à formação de compostos mais simples, como água, metano e dióxido de carbono (PORTA et al., 2015; QUENTAL et al., 2010).

A biodegradação de polímeros é um processo complexo, no qual, ocorre por hidrólise e/ou oxidação. Vários fatores contribuem para biodegradação dos polímeros, tais como: configuração estéreo-espacial, o balanço entre hidrofobicidade e hidrofiliabilidade, a flexibilidade conformacional e a presença de determinados grupos funcionais na cadeia principal (HUANG, 2002).

## **2.2 Blendas**

Uma blenda polimérica é uma mistura de dois ou mais polímeros por meio de interdifusão, criando interações entre cadeias. Para sua formação é necessário a avaliação das

propriedades térmicas, de sorção e força/resistência determinadas pelo tipo de ligação entre os componentes, sua compatibilidade e o caráter da estrutura supramolecular formada (CANEVAROLO Jr., 2006; KUN; PUKÁNSZKY, 2017; ROGOVINA, 2016).

A interação molecular entre as cadeias poliméricas é predominantemente do tipo secundária, tais como, ligações de hidrogênio, eletrostáticas e dipolo, elétrons  $\pi$  e complexos de transferência de carga de interações específicas (SIONKOWSKA, 2011). Assim, quando as interações são fracas obtém-se uma mistura heterogênea com partículas dispersas grandes e, nas interações fortes é obtido uma mistura homogênea sem partículas visíveis (KUN; PUKÁNSZKY, 2017).

Dessa forma, uma blenda pode ser miscível ou imiscível, compatibilizada ou não, sendo dependente das propriedades de cada polímero e do interesse tecnológico. A miscibilidade está relacionada a capacidade de dois ou mais polímeros se misturarem em nível molecular. Isso gera uma única fase com comportamentos físico-químicos intermediários ao comportamento de cada polímero, resultando numa mistura homogênea (LUNA et al., 2015).

A imiscibilidade das blendas é caracterizada por duas ou mais fases que são separadas por interfaces, podendo ainda apresentar incompatibilidade, resultante da baixa dispersão de uma das fases na matriz e da baixa adesão entre estas. Assim para melhorar a miscibilidade das blendas é necessário a adição de compatibilizantes nos quais tem ambas moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, que faz com que a tensão interfacial tende a zero, tornando a blenda miscível. (LUNA et al., 2015; REESHA et al., 2015).

A elaboração de blendas poliméricas é para obtenção de propriedades desejáveis para produzir filmes e embalagens, além de ser uma tecnologia convencional de baixo custo. O principal objetivo de preparar blenda é aproveitar o máximo desempenho possível da mistura sem alterar drasticamente as propriedades dos componentes (YU; DEAN; LI, 2006).

Na maioria das vezes, a combinação de polímeros naturais visa melhorar a resistência mecânica e ao impacto, de barreira contra gases, transparência e maleabilidade. Além disso, uma blenda, proporciona a elaboração de embalagens/filmes biodegradáveis de fonte renovável e biodisponível. Assim, são produzidos materiais com propriedades novas e sinérgicas, possibilitando a incorporação de aditivos e gerando embalagens com atividades específicas (VARGAS JÚNIOR, 2014).

O desenvolvimento de embalagens biodegradáveis à base de blendas com atividade multifuncional, tais como antioxidante e/ou antimicrobiana dentre outras, apresenta-se como uma alternativa potencial de suprir as perspectivas de interesse industrial e científico. Dentro do universo dessas alternativas, pode-se citar: conservação de alimentos, minimização do uso



de aditivos conservadores incorporados diretamente aos alimentos (perigo químico-toxicológico) e ainda diminuição do consumo de matérias-primas não renováveis com a redução do tempo de degradação das embalagens na natureza, comparada com o tempo requerido pelos polímeros sintéticos, que é estimado em aproximadamente 300 anos sob condições ambientais (OHTAKE et al., 1998).

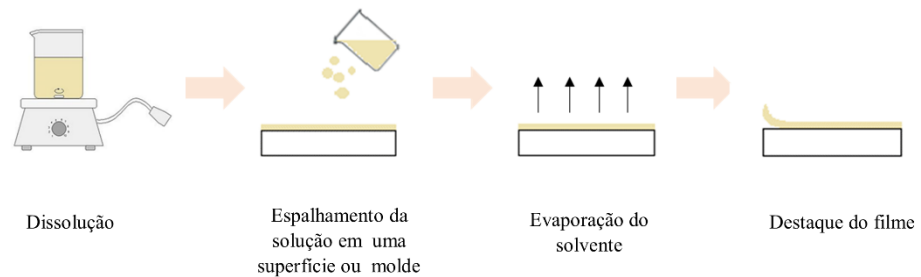
### 2.3 Métodos de obtenção de blendas

Para a elaboração das blendas poliméricas diferentes processos podem ser utilizados, sendo destaques os métodos *casting* e extrusão.

O método *casting* consiste na dissolução do polímero em um solvente adequado para produzir uma solução de formação de filme, seguida do espalhamento da solução em uma superfície e um filme é obtido após a evaporação do solvente (Figura 1). Durante a evaporação do solvente, ocorre um aumento da viscosidade da solução elevando a concentração de sólidos e surgimento de interações intermoleculares. As vantagens desse método incluem o controle da distribuição uniforme da espessura, boa transparência, baixa névoa, além de propriedades mecânicas e de barreira a água ajustável. Porém há algumas desvantagens nesse processo: um maior tempo de secagem e o alto custo de processamento devido à baixa produção que envolve à dificuldade de expansão da produção de filmes em escala industrial (CHEVALIER et al., 2018; DENG et al., 2018; OCHOA-YEPES et al., 2019; WANG et al., 2020).

Os principais fatores que afetam a produção via *casting* são temperatura, tempo, tipo e concentração de solvente, pH da solução, plastificante, temperatura e umidade relativa do ambiente durante a secagem do filme. Esses fatores afetam as propriedades mecânica e de permeabilidade a água e a gases que são totalmente influenciadas pelas associações e dissociações intermoleculares que ocorrem durante a produção do filme (CIANNAMEA; STEFANI; RUSECKAITE, 2014; THAKUR et al., 2019).

Figura 1 - Representação esquemática da produção de filmes pelo método *casting*

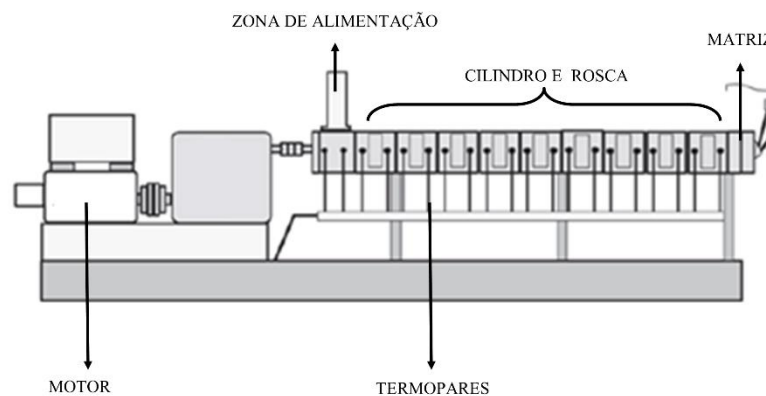


Fonte: Do Autor (2020).

A extrusão é um método produtivo para processar grandes volumes de polímeros. Esse processo envolve energia térmica e mecânica. É tecnologia adequada para elaboração de filmes biodegradáveis, ativos e comestíveis (OCHOA-YEPES et al., 2019).

Uma extrusora consiste em uma zona de alimentação (onde se coloca o polímero ou a blenda para passar por extrusão), um cilindro de metal fixo aquecido que contém uma ou duas roscas que transportam a matéria-prima da extremidade de alimentação do barril para a matriz (Figura 2) (VERBEEK; VAN DEN BERG, 2010). Durante o processo ocorrem as seguintes operações: alimentação, transporte, aquecimento, resfriamento, compressão, cisalhamento, reação, mistura, fusão, homogeneização, "amorfização" (conversão de domínios cristalinos de polímero em domínios amorfos), cozimento e modelagem (HERNANDEZ-IZQUIERDO e KROCHTA, 2008; WAGNER JR.; MOUNT III; GILES JR., 2014).

Figura 2 - Representação esquemática dos componentes de uma extrusora.



Fonte: Adaptado de Wagner Jr., Mount III e Giles Jr., 2014.

Desta maneira faz-se necessário avaliar as variáveis que influenciam e afetam o processo de extrusão, sendo elas, temperatura (perfil de temperatura) que varia de acordo com o polímero a ser utilizado, tempo de permanência, efeito de tensão e cisalhamento, velocidade e configuração do parafuso, relação comprimento-diâmetro do parafuso, adição de umidade e tamanho e forma da matriz. Todos esses fatores se mal avaliados e aplicados podem prejudicar as propriedades mecânica, de permeação e térmica do filme a ser produzido (HERNANDEZ-IZQUIERDO; KROCHTA, 2008; LEKUBE et al. 2019; OCHOA-YEPES et al., 2019; VERBEEK; VAN DER BERG, 2010).

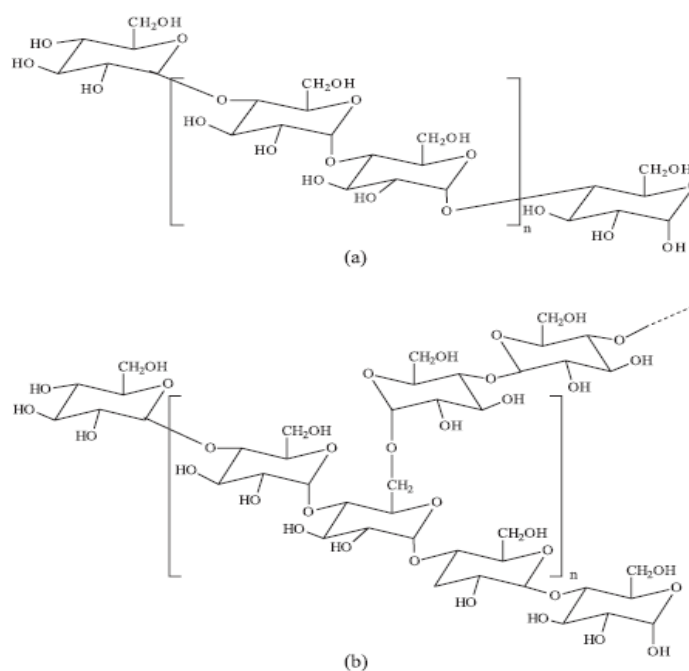
## 2.4 Amido

O amido é um polissacarídeo de reserva energética, que pode ser proveniente de uma grande variedade de plantas. Entre as principais citam-se: milho, mandioca, batata, arroz e trigo. É abundante na natureza, biodegradável e de baixo custo. A fonte de amido é de grande importância para a preparação de materiais com diferentes propriedades, às quais podem estar relacionadas ao teor de amilose/amilopectina e ainda ao tamanho do grânulo de amido (LIU et al., 2009; VIEYRA; AGUILAR-MÉNDEZ; MARTÍN-MARTÍNEZ, 2013).

O amido é um polissacarídeo constituído por unidades repetidas de D-glucose, sendo apresentadas de duas formas: amilose e amilopectina. A amilose, uma molécula de cadeia linear de  $\alpha$ 1,4-D-glucopiranosose e a amilopectina é constituída por cadeias lineares e ramificadas com ligações  $\alpha$ 1,4 -D-glucopiranosose e  $\alpha$ -1,6. A amilopectina é o principal constituinte dos grânulos de amido sendo assim responsável pelas regiões cristalinas no mesmo. As regiões amorfas são formadas por moléculas de amilose (Figura 3). Contudo a quantidade desses dois componentes varia de acordo com a origem botânica do amido, sendo que o proveniente do milho possui 28% de amilose e 72% de amilopectina. No amido obtido da mandioca há menor teor de amilose e maiores de teores de amilopectina, sendo respectivamente 14-18% e 86-82% (IMBERTY et al., 1991; MENDES, 2009; MIGUEL, 2014; NAFCHI et al, 2013; TEIXEIRA, 2007).

O amido é amplamente utilizado em receitas culinárias e na indústria de alimentos como espessante e gelificante. Entretanto, além do seu uso comum, pesquisas são realizadas para seu uso na elaboração de embalagens biodegradáveis. Porém, para esta finalidade o amido precisa ser submetido ao processamento térmico, que envolve múltiplas reações químicas e físicas, tais como a gelatinização e a retrodegradação. Após esses processos o amido é denominado como amido termoplástico (TPS) (VAN SOEST et al., 1996; LIU et al., 2009).

Figura 3 - Estrutura dos principais constituintes do amido: (a) amilose e (b) amilopectina.



Fonte: Corradini et al. (2005)

A gelatinização do amido ocorre com a adição de um solvente, como a água e aquecimento. A adição da água promove ligações de hidrogênio com as hidroxilas presentes no amido, proporcionando assim o inchamento granular sem desordem da estrutura. Com o aquecimento estas ligações são rompidas e provocam o afastamento das cadeias moleculares e como consequência uma diminuição das interações entre as cadeias. Desta forma ocorre uma desordem estrutural e por consequência redução da cristalinidade e obtenção de um material termoplástico, amorfo (LIU et al., 2009; MENDES, 2009; MIGUEL, 2014; NAFCHI et al., 2013; TEIXEIRA, 2007).

A retrodegradação é um processo que ocorre após a gelatinização, ou seja, após a desordem estrutural dos grânulos de amido. Ela consiste na recristalização do amido, principalmente da amilose com cadeia linear que se reorganiza com maior facilidade que a molécula de amilopectina de cadeia ramificada (MIGUEL, 2014; TEIXEIRA, 2007). Esse processo consiste na conversão do amido do estado amorfo (gelatinizado) para o estado cristalino (KEETELS; OOSTERGETEL; VLIET, 1996).

De uma maneira geral, filmes à base de amido, apresentam propriedades mecânicas e de barreira inferiores aos materiais sintéticos clássicos. Assim, para melhorar essas propriedades faz-se necessário a adição de compostos plastificantes e materiais de reforço, tais como fibras naturais, nanopartículas ou micropartículas na matriz polimérica (AQLIL et al., 2017; COLLAZO-BIGLIARDI et al., 2019).

A natureza e a concentração do agente plastificante podem influenciar fortemente as propriedades mecânicas e reológicas do TPS, melhorando a flexibilidade e a processabilidade dos polímeros (IMRE; PUKÁNSZKY, 2013). Segundo Wilpiszewska e Spychaj (2011), os plastificantes utilizados são compostos polares de baixo peso molecular, tais como, água, ureia, formamida e glicerol.

A adição de um plastificante produz alterações microestruturais na matriz polimérica, envolvendo uma redução nas forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas. Ou seja, ele ocupa espaços entre as cadeias poliméricas, reduzindo as forças secundárias entre elas e alterando a organização molecular tridimensional dos polímeros, tendo como consequência a redução da energia necessária para o movimento molecular e a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias (JARAMILLO et al., 2016; PASINI CABELLO et al., 2015).

Devido às múltiplas transições de fase, a microestrutura e as propriedades mecânicas dos materiais à base de amido dependem, em grande medida, das técnicas e condições de processamento utilizadas (LIU et al., 2009). Filmes biodegradáveis à base de amido apresentam boas propriedades de barreira a oxigênio e gases e boas propriedades óticas. No entanto, apresentam limitações quanto às propriedades mecânicas e de barreira à água (AQLIL et al., 2017; AZEVEDO et al., 2017; PÉLLA et al., 2020).

A elaboração de um filme à base de amido termoplástico sem a adição de algum outro componente não é favorável para aplicar em alimentos devido as características já descritas acima. Com isso, estudos são necessários em que adiciona ao TPS outros polímeros naturais ou sintéticos, beneficiando a elaboração do filme biodegradável. Estas misturas de polímeros são denominadas como blendas. As principais características desejadas das blendas com TPS são aperfeiçoar algumas propriedades tais como resistência, elasticidade e barreira a O<sub>2</sub> e água.

Mendes et al. (2016) elaboraram blendas de amido de milho com quitosana através do método de extrusão e relataram um aumento da extensibilidade e estabilidade térmica ao incorporar a quitosana no filme. Já Azevedo et al. (2017) notaram que ao incorporarem isolado proteico de soro na matriz de amido termoplástico, através do método de extrusão, alcançaram uma maior resistência, menor flexibilidade e transparência dos filmes.

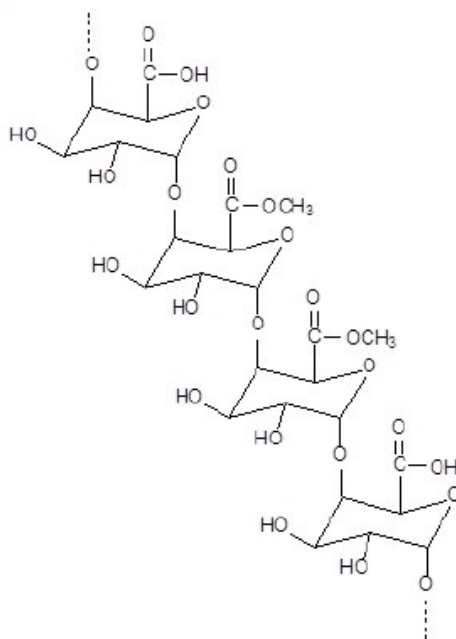
Collazo-Bagliardi et al. (2019) também trabalharam com a elaboração de filmes de amido termoplástico através do método de extrusão, porém, diferente dos outros autores eles adicionaram extratos ativos e fibras de celulose isolados de casca de arroz ou café no qual melhorou as propriedades mecânica e de permeação, além das propriedades antioxidante e antimicrobiana. E Gray et al. (2018), ao elaborarem blendas de polietileno de baixa densidade/amido termoplástico, observaram melhora nas propriedades de barreira e de resistência ao adicionarem nanocristais de celulose.

Comparativamente ao desenvolvimento de novos materiais, as blendas apresentam baixo custo, e conferem grande versatilidade à indústria de transformação de plástico. As blendas de TPS com outros polímeros têm como objetivo melhorar ou modificar as propriedades do TPS, além de reduzir o custo, uma vez que o amido é um dos materiais, possíveis de serem plastificados, mais baratos disponíveis (AMASS, AMASS; TIGHE, 1998; YU; DEAN; LI, 2006).

## 2.5 Pectina

A pectina é um polissacarídeo estrutural encontrado na parede celular das plantas, principalmente em frutas cítricas. Sua estrutura química é formada basicamente por uma cadeia linear  $\alpha$  - (1-4) – D - ácido galacturônico e ligações glicosídicas (Figura 3). Quando mais da metade dos grupos carboxila encontram-se sob a forma éster metílico (-COOCH<sub>3</sub>) são classificadas como pectina de alto grau de metoxilação (HM - high methoxyl). Quando menos da metade dos grupos carboxila encontram-se sob a forma éster metílico são chamadas de pectina de baixa metoxilação (LM - low methoxyl) (MCCLEMENTES; DECKER, 2019; SAKAI et al., 1993; SOARES et al., 2013).

Figura 4 - Estrutura da pectina



Fonte: Róz et al. (2016).

A indústria alimentícia utiliza muito a pectina em geleias, doces, sucos e outros produtos alimentícios devido às suas propriedades gelificante, espessante e estabilizante. Além disso há grandes vantagens no seu uso, pois, não é tóxico, é biodegradável e obtido de recursos renováveis (CAZÓN et al., 2017; EZATI; RHIM, 2020).

Estudos vem sendo realizados para utilização da pectina em produção de embalagens para alimentos, na forma de filmes comestíveis, com a finalidade de aumentar a segurança dos alimentos e estender a vida de prateleira (CHAIWARIT et al., 2018; GUTIERREZ-PACHECO et al., 2016; LEI et al., 2019).

Para a obtenção de filmes biodegradáveis e ativos à base de pectina muitos trabalhos utilizam o método casting por ser de mais fácil processabilidade. Assim, são produzidos filmes de pectina com nanopartícula de prata (SHANKAR et al., 2016), pectina com nanopartículas de curcumina e enxofre (EZATI; RHIM, 2020), pectina com óleo de laranja (CHAIWARIT et al., 2018), pectina com purê de mamão e nanoemulsão de cinamaldeído (OTTONI et al., 2014), pectina reforçada com borra de café (MENDES et al., 2019) pectina com nanoemulsão de óleo de copaíba (NORCINO et al., 2020), quitosana/gelatina e pectina com óleo essencial de alecrim (YEDDES et al., 2020).

Já pelo método de extrusão, poucos trabalhos foram publicados, evidenciando a necessidade de estudos para preencher lacunas nessa área do conhecimento. Liu et al. (2008) estudaram filmes comestíveis antimicrobianos de pectina e outros hidrocolóides alimentares por método de extrusão. Fishman et al. (2000) avaliaram filmes de amido/pectina plastificada com glicerol pelo método de extrusão. Fishman et al. (2004) elaboraram filmes de pectina e glicerol com diferentes combinações de albedo de laranja e amido. Finalmente, Roz et al. (2016) avaliaram a susceptibilidade à água e das propriedades mecânicas de blenda extrusada reativa de amido-pectina termoplástica com ácido cítrico.

Os filmes de pectina trazem as vantagens de melhorar as propriedades de barreira contra gases e de migração de lipídeos. Contudo, são altamente hidrofílicos e com baixa resistência mecânica, limitando sua aplicação como embalagem. Assim, pesquisas estão buscando elaborar blendas poliméricas que combinam mais de um polímero e utilizam plastificantes e/ou compatibilizantes para melhorar as características desejáveis para aplicação como embalagem para alimentos (CAZÓN et al., 2017; EZATI; RHIM, 2020; SHANKAR et al., 2016).

## **2.6 Embalagens Ativas**

As embalagens exercem várias funções importantes que contribuem para a qualidade dos alimentos e produtos alimentícios, tais como, proteção e facilidade de transporte. Porém, devido ao crescimento populacional e por consequência ao aumento das necessidades, o transporte de longa distância é limitante para se manter o frescor dos alimentos embalados sem sinais de deterioração até a chegada da mesa do consumidor (TOPUZ; UYAR, 2020).

Assim, devido às necessidades de estender a vida de prateleira dos alimentos e garantir sua qualidade, vem sendo desenvolvidas embalagens ativas, com função de prolongar a vida útil dos alimentos e garantir sua qualidade e integridade (YILDIRIM et al., 2018).

De acordo com a regulamentação europeia (EC) N° 450/2009 a elaboração de materiais ativos destina-se a prolongar o prazo de validade ou a manter ou melhorar a condição de alimentos embalados. Além disso, esses materiais são projetados para incorporar componentes que liberariam ou absorveriam substâncias nos alimentos embalados ou nos ambientes que envolvem a comida/alimento.

Há diferentes sistemas de embalagem ativa, sendo eles divididos em sistemas de eliminação ativa (absorvedores) e sistemas de liberação ativa (emissores). O primeiro está relacionado à eliminação de oxigênio (previne a descoloração e crescimento de fungo) do interior da embalagem e absorção de etileno liberado por frutas e vegetais climatéricos. Já o



segundo sistema consiste na adição de compostos antioxidantes (melhoram a estabilidade oxidativa) ou antimicrobianos (inibem ou retardam o crescimento de microrganismos) e na redução de emissão de dióxido de carbono (reduz o volume do espaço livre na embalagem de atmosfera modificada) (YILDIRIM et al., 2018).

Além disso, a preocupação com a saúde do consumidor e com os problemas ambientais, requerem o desenvolvimento de embalagens ativas constituídas de compostos bioativos naturais e biodegradáveis. Dentre eles, destacam-se os que promovem ação antimicrobiana e antioxidante, evitando crescimento de microrganismos e retardando a oxidação nos alimentos (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010).

### **2.6.1 Embalagem Antimicrobiana**

A embalagem antimicrobiana tem como objetivo inibir o crescimento microbiano e, por consequência, manter a qualidade, frescor e segurança dos alimentos, prolongando o tempo de vida útil (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002). Diante disso, o material de embalagem, o produto e o ambiente interagem para prolongar a fase *lag* e/ou reduzir a taxa de crescimento dos microrganismos. Essa categoria de embalagem ativa representa uma alternativa à incorporação direta de aditivos no produto e os problemas associados a essa prática (SUPPAKUL et al., 2006, 2008).

A embalagem antimicrobiana apresenta agentes que podem ter origem natural (origem microbiana, animal ou vegetal), como as bacteriocinas e óleos vegetais, ou ter origem química (obtidos sinteticamente por reações químicas), podendo ser orgânicos e inorgânicos. Estas substâncias possuem potencial aplicação na conservação de alimentos (HAN, 2005).

A incorporação de agentes antimicrobianos pode ocorrer de três maneiras diferentes: contato direto da superfície contendo o agente antimicrobiano com o alimento, incorporação durante o processamento ou adição na embalagem (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

A aplicação direta da superfície de substâncias antibacterianas em alimentos tem benefícios limitados porque os agentes ativos são neutralizados quando em contato ou difundidos rapidamente da superfície para os alimentos. A incorporação de agentes antimicrobianos durante a preparação de alimentos pode resultar na sua interação com os mesmos, e com consequente redução da sua atividade, gerando efeito limitado sobre a microflora presente. A utilização de filmes poliméricos contendo agentes antimicrobianos pode ser mais eficiente, pois permite uma migração lenta dos agentes ativos para a superfície do

produto, ajudando assim a manter altas concentrações quando elas são necessárias (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

Deste modo, a incorporação de substâncias antimicrobianas em polímeros, para acondicionamento de alimentos pode ser importante alternativa para prolongar o tempo de vida útil e promover a segurança, reduzindo a taxa de crescimento de microrganismos específicos. Além disso, a embalagem antimicrobiana pode funcionar como um esterilizante ou desinfetante. Tais materiais de embalagem antimicrobiana reduziram significativamente o potencial de recontaminação dos produtos. Em uma última análise, pelo menos no conceito, isto poderia resultar em alimentos esterilizados, especialmente líquidos (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; HOTCHKISS, 1997).

São alguns exemplos os filmes antimicrobiano obtidos por extrusão: PLA com nanoestruturas de celulose e lignina (YANG et al., 2016b, 2016c), PEBD e PLA com extrato de semente de *grapefruit* (WANG; RHIM, 2016), filmes compostos de amido / argila / polietileno (PIROOZ; NAVARCHIAN; EMTIAZI, 2018), filmes obtidos por casting: carboximetil xilana contendo óleo essencial de alcaçuz (LUIS et al., 2019), filme de acetato de celulose com nanotubos de carbono e isotiocianato de alilo (DIAS et al., 2018), filmes comestíveis compostos de pectina e glucomanana konjac com polifenol de chá (LEI et al., 2019) e biofilme ativo de quinoa e amido com nanopartículas de ouro (PAGNO et al., 2015).

### 2.6.2 Antioxidante

A oxidação pela molécula é um dos principais processos de degradação nos produtos alimentícios e ocorre como consequência da remoção de elétrons de um substrato (tipicamente: oxigênio, nitrogênio ou contendo enxofre) para um átomo de oxigênio presente no ambiente, o que dá origem a radicais livres. Radicais livres são altamente reativos com outras moléculas, devido aos seus elétrons não pareados, assim conduzindo uma reação em cadeia. Essas reações provocam perda dos valores nutricionais devido à degradação de ácidos graxos essenciais, vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e *off flavors* (sabores e odores indesejáveis). Essa reação é acelerada pela presença de um catalisador (ex.: luz, íons de metais e calor) (MARTINS; SENTANIN; SOUZA, 2019; MCCLEMENTES; DECKER, 2019; NERIN; TOVAR; SALAFRANCA, 2008).

Assim para evitar ou diminuir a velocidade dessas reações indesejáveis nos alimentos, a indústria alimentícia adiciona antioxidantes, que são compostos aromáticos, que interagem com os radicais livres e oxigênio, responsáveis por promover a reação de oxidação em

vitaminas, pigmentos naturais e lipídeos (MARTINS; SENTANIN; SOUZA, 2019; MCCLEMENTES; DECKER, 2019; NERIN; TOVAR; SALAFRANCA, 2008).

Antioxidantes podem ser naturais ou sintéticos, e ambos têm que ser seguros para a saúde. Os naturais, são substâncias bioativas, que fazem parte da constituição de diversos alimentos, como por exemplo frutas e vegetais. Os mais utilizados são os carotenos, tocoferóis, ácido ascórbico e o ácido cítrico. Os sintéticos, possuem estruturas semelhante aos compostos fenólicos naturais, são amplamente utilizados nos produtos alimentícios. Os principais são: o hidroxianisol de butila (BHA), hidroxitolueno de butila (BHT) e hidroquinona de tert-butila (TBHQ). Porém, esses antioxidantes sintéticos, por mais que sejam liberados como aditivos alimentares, têm seu uso controlado, pois podem oferecer risco de toxicidade (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; EÇA et al., 2014; NERIN; TOVAR; SALAFRANCA, 2008).

Devido ao seu risco, consumidores vem preferindo produtos alimentícios que contenham antioxidantes naturais, por oferecem baixo risco de toxidade e ter maior segurança. Assim pesquisas são realizadas para a substituição dos antioxidantes sintéticos por naturais nos produtos alimentícios e além disso esses compostos bioativos naturais estão sendo empregados para a elaboração de embalagem ativas com a finalidade de estender a vida de prateleira e garantir maior segurança e qualidade aos alimentos.

Dias et al. (2019) obtiveram resultados positivos ao avaliarem o potencial antioxidante de filmes ativos elaborados por casting de quitosana/montmorilonita/  $\alpha$  tocoferol na redução da oxidação lipídica em salmão. Já Azevedo et al. (2019) avaliaram o efeito antioxidante de filmes obtidos por extrusão de amido termoplástico/isolado proteico de soro/ óleo essencial de alecrim e demonstraram ser uma boa alternativa para embalagem ativa.

Orsuwan e Sothornvit (2018) tiveram bons resultados antioxidantes em amendoim torrado ao elaboraram um filme nanocompósito de farinha de banana plastificado ativo incorporado com óleo essencial de alho pelo método casting. Carvalho et al. (2019) ao elaborarem bionanocompósitos de isolado proteico de soro/nanofibra de celulose/óleo essencial de tomilho pelo método casting provaram ser muito eficazes na prevenção da oxidação da carne moída.

## **2.7 Lignina**

A lignina é o segundo mais abundante recurso natural renovável e biodegradável ao lado da celulose. É uma macromolécula, de natureza aromática e complexa. Suas moléculas são polares e hidrofóbicas. São constituídas por macromoléculas de grupos fenólicos, o qual é

formado por várias unidades de monolignóis que são constituídos por 3 unidades de fenil propano sendo eles, p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S). A lignina possui grupos funcionais, tais como, hidroxila, carbonila, carboxila e metoxila, responsáveis pela atividade biológica (Figura 4) (ESPINOZA-ACOSTA et al., 2016; HENRY; HARPER; DADMUN, 2012; KUN; PUKANSZKY, 2017; NASEEM et al., 2016).

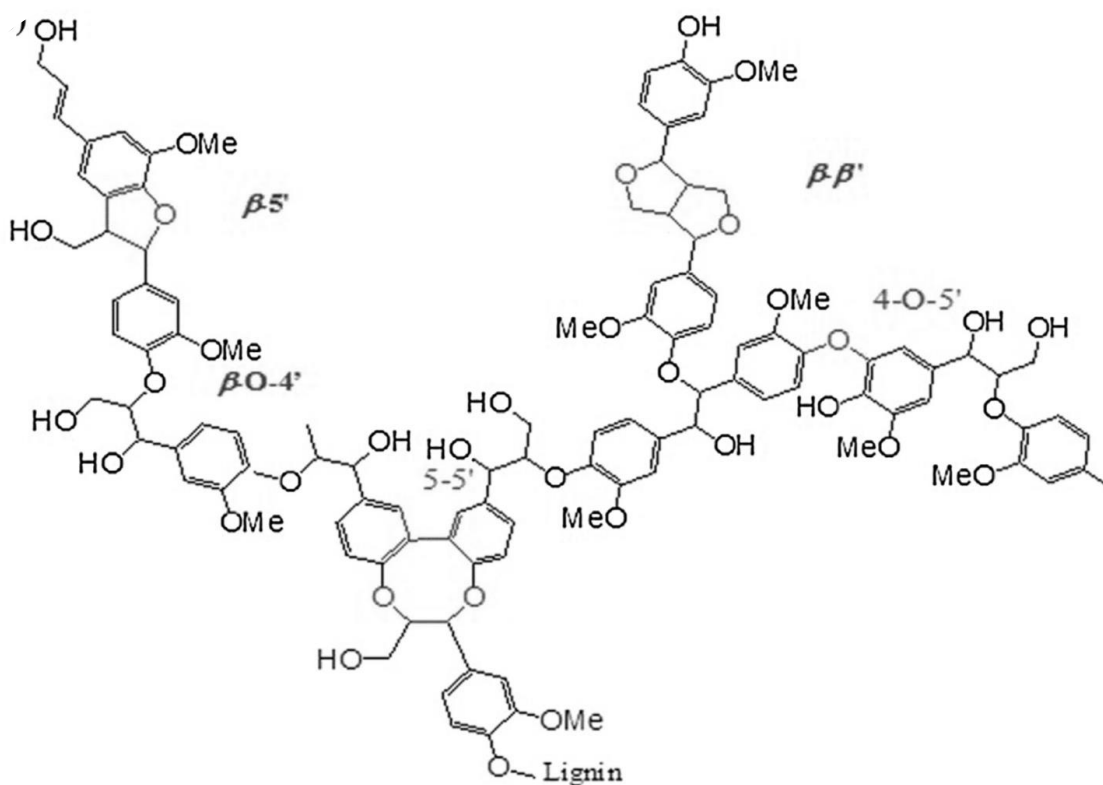
A maioria das plantas possui lignina, mas, sua composição e estrutura varia de acordo com sua origem e processo de extração. Por exemplo, plantas herbáceas contêm os três monômeros aromáticos (p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S)) porém, nas plantas lenhosas (madeira) são predominantes os monômeros guaiacila (G) e siringila (S) (ESPINOZA-ACOSTA et al., 2016).

Para a extração de lignina da madeira há, pelo menos, cinco processos distintos, sendo eles, processo soda, processo Kraft, processo sulfito (lignosulfonatos), processo de solvente orgânico e o processo de explosão de vapor. Devido a esta diferença de processos há vários tipos de lignina que são comercializadas, cada uma com uma especificidade e a escolha do tipo da lignina vai depender de onde se deseja aplicar, qual a finalidade de seu uso. (KUN; PUKANSZKY, 2017).

Contudo, pesquisas mostram que para a realização de compósitos com lignina e polímeros é necessário avaliar a polaridade e suas interações e, como consequência, a necessidade da aplicação de plastificante e/ou compatibilizante como agente de modificação de interação para melhor formação de blendas (NASEEM et al., 2016; KUN; PUKANSZKY, 2017).

A lignina é considerada um dos materiais mais resistentes na natureza, conferindo firmeza, impermeabilidade e rigidez ao conjunto de fibras de celulose além da resistência ao ataque de microrganismos. Como parte da estrutura, a lignina age como “adesivo” preenchendo os espaços entre e em torno das cadeias de celulose e hemiceluloses, agindo como suporte estrutural. Devido a essas propriedades, a lignina pode ser empregada para obtenção de materiais com alto valor agregado, compósitos (MORAIS et al., 2005; THIELEMANS et al., 2002).

Figura 5 - Representação da estrutura da lignina.



Fonte: Naseem et al. (2016)

Estudos realizados com a incorporação de nanopartícula de lignina em polímeros, comprovaram efeitos positivos nas propriedades mecânicas, térmica, bloqueio a luz UV e também como filme ativo com propriedades antioxidante e antimicrobiana. Alguns trabalhos, como de Yang, Kenny e Puglia (2015) estudaram a adição de nanopartícula de lignina (LNP) no glúten de trigo para obtenção de bionanocompósito resultando em um melhor desempenho mecânico (resistência à tração e módulo de Young), melhor estabilidade térmica e menor sensibilidade à água.

Yang et al (2016a) avaliaram a adição de nanopartícula de lignina em filmes de álcool polivinílico (PVA) /quitosana para embalagem ativa. O filme obtido demonstrou uma melhora no desempenho mecânico, bloqueou a luz UV e retardou a degradação térmica devido a incorporação da LNP. Além disso os autores demonstraram que a LNP e a quitosana juntas obtiveram uma boa atividade antioxidante e antimicrobiana.

Hu et al (2016) realizaram uma blenda de PVA e um copolímero enxertado de ácido acrílico com lignina usando o método *casting*. A incorporação da lignina modificada melhorou as propriedades mecânica, térmica e a temperatura de degradação térmica aumentou

significativamente em relação ao PVA puro. A blenda se mostrou homogênea e miscível pois a análise de Tg mostrou uma única fase.

Yang et al. (2016b) avaliaram o efeito sinérgico de nanoestruturas de celulose e lignina em PLA para uma embalagem antibacteriana para alimentos e demonstraram que o sistema binário melhorou a resistência à tração e módulo de elasticidade, bloqueou a luz UV e obteve um efeito positivo na atividade biocida de filmes de PLA (nanopartículas de lignina e nanocristais de celulose) contra um patógeno de planta bacteriana de tomate.

Vários trabalhos demonstram a possibilidade do uso de nanopartícula de lignina (LNP) como potencial princípio ativo para incorporação em polímeros obtendo novos materiais de contato com alimentos, sugerindo sua possível aplicação como formulações de embalagens ativas. Desse modo, haveria uma possível diminuição do uso de conservantes sintéticos, no qual estudos demonstram alguns malefícios em seu uso em alimentos.

Além do mais, a lignina demonstra ser um potencial recurso natural de reforço para elaboração de embalagens biodegradáveis. E outro ponto positivo do uso da lignina é a sua forma de obtenção, extraída de resíduos de milho, de produção de celulose e da produção de etanol. Desta maneira, o seu uso contribui para a diminuição do impacto ambiental.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A embalagem desempenha várias funções, tais como: contenção, proteção, informação e venda. Dentre elas a função de proteção se destaca, pois tem relação direta com a segurança do consumidor. Nesse contexto, as propriedades de barreira contra a ação de fatores ambientais representam um papel de grande importância na estabilidade de alimentos durante a estocagem.

Um dos principais materiais utilizados para a fabricação de embalagem são os materiais poliméricos, devido ao seu baixo custo, leveza e versatilidade na produção de diversos formatos e sistemas de fechamento. Entretanto, a maioria dos polímeros utilizados para elaboração das embalagens não são renováveis e nem biodegradáveis. Esses tipos de embalagens prejudicam significativamente o meio ambiente, devido ao tempo que levam para serem degradados no meio ambiente. Por causa da preocupação ambiental, estudos vêm sendo realizados para a produção de embalagens com matéria-prima renovável e biodegradável.

Várias pesquisas são realizadas na área de embalagem, dentre elas, a elaboração de blendas com características biodegradáveis, antimicrobianas e antioxidante que possam ser aplicadas em alimentos e que são comercializados a fim de reduzir os polímeros convencionais e melhorar a qualidade do produto alimentício.

Dessa maneira o presente trabalho apresenta relevância, uma vez que busca desenvolver filmes biodegradáveis ativos, que promovem a redução dos impactos negativos ao meio ambiente. Possuem a finalidade de estender a vida de prateleira e garantir melhor segurança e qualidade aos alimentos, afim de diminuir o uso de aditivos sintético. Os materiais utilizados são polissacarídeos, resíduo da produção de geleias e produção de papel e celulose. Recursos baratos, amplamente disponíveis e renováveis, proporcionando assim maior aproveitamento e valorização desses materiais.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: Uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blend of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. **Polymer International**, Birmingham, UK, v. 47, p. 89-144, mar. 1998. Wiley Online Library. [https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/\(SICI\)1097-0126\(1998100\)47:2<89::AID-PI86>3.0.CO;2-F](https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/(SICI)1097-0126(1998100)47:2<89::AID-PI86>3.0.CO;2-F).

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Glenview, USA, v. 3, p. 113-126, jun. 2002. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00012-7).

AQLIL, M. et al. Graphene Oxide Filled Lignin/Starch Polymer Bionanocomposite: Structural, Physical, and Mechanical Studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.1], v. 65, p. 10571–10581, nov. 2017. ACS Publications. <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04155>.

AZEVEDO, V. M. et al. Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, Lavras, MG, Brazil, v. 157, p. 971–980, Feb. 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.046>.

AZEVEDO, V. M. et al. Thermoplastic starch/whey protein isolate/rosemary essential oil nanocomposites obtained by extrusion process: Antioxidant polymers. **Journal of Applied Polymer Science**, Lavras, v. 136, p.47619, feb. 2019. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/app.47619>.

BERTOLO, M. R. V. et al. Lignins from sugarcane bagasse: Renewable source of nanoparticles as Pickering emulsions stabilizers for bioactive compounds encapsulation. **Industrial Crops & Products**, Campinas, São Paulo, Brazil, v. 140, p. 111591, nov. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111591>.

CANEVAROLO Jr., S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2. ed. rev. e ampl. São Paulo: Artliber, 2006.

CARVALHO, R. A. et al. Biopolymers of WPI/CNF/TEO in preventing oxidation of ground meat. **Journal of Food Processing and Preservation**, Lavras, Brazil, v. 43, n. 12, p.14269, Oct. 2019. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1111/jfpp.14269>.

CAZÓN, P. et al. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, Querétaro, México, v. 68, p. 136-148, jul. 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>.

CHAIWARIT, T. et al. Use of Orange Oil Loaded Pectin Films as Antibacterial Material for Food Packaging. **Polymers**, Chiang Mai, Thailand, v. 10, p.1144, oct. 2018. Mdpi <https://doi.org/10.3390/polym10101144>.

CHEVALIER, E. et al. Development and characterization of a novel edible extruded sheet



based on different casein sources and influence of the glycerol concentration. **Food Hydrocolloids**, France v. 75, p. 182-191, feb. 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.028>.

CIANNAME, E. M.; STEFANI, P. M.; RUSECKAITE, R. A. Physical and mechanical properties of compression molded and solution casting soybean protein concentrate based films. **Food Hydrocolloids**, Mar del Plata, Argentina, v. 38, p. 193-204, jul. 2014. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.013>.

COLLAZO-BIGLIARDIA, S.; ORTEGA-TOROB, R.; CHIRALTA, A. Improving properties of thermoplastic starch films by incorporating active extracts and cellulose fibres isolated from rice or coffee husk. **Food Packaging and Shelf Life**, Valencia, Spain, v. 22, p. 100383, Dec. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100383>.

CORRADINI, E. et al. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Carlos, SP, Brasil, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005. Scielo Brasil. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282005000400011>.

DE OLIVEIRA, A. C. S. et al. Chitosan/Polyaniline Conductive Blends for Developing Packaging: Electrical, Morphological, Structural and Thermal Properties. **Journal of Polymers and the Environment**, Lavras, Minas Gerais, Brazil, v. 27, n. 10, p. 2250-2258, oct. 2019a. Springer. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10924-019-01519-7>.

DE OLIVEIRA, A. C. S. et al. Development of whey protein isolate/polyaniline smart packaging: Morphological, structural, thermal, and electrical properties. **Journal of Applied Polymer Science**, Lavras, Minas Gerais, Brazil, v. 136, n. 14, p. 47316, nov. 2019b. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/app.47316>.

DENAVI, G. et al. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, La Plata, Argentina, v. 90, n. 3, p. 341-349, feb. 2009. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.001>.

DENG, L. et al. Characterization of gelatin/zein films fabricated by electrospinning vs solvent casting. **Food Hydrocolloids**, Hangzhou, China v. 74, p. 324-332, jan. 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.023>.

DHANAPAL, A. et al. Edible films from polysaccharides. **Food Science and Quality Management**, v. 3, p. 9-18, 2012.

DIAS, M. V. et al. Thermal and morphological properties and kinetics of diffusion of antimicrobial films on food and a simulant. **Food Packaging and Shelf Life**, Lavras, MG, Brazil, v. 16, p. 15–22, jun. 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.007>.

DIAS, M. V. et al. Effect of active films incorporated with montmorillonite clay and  $\alpha$ -tocopherol: Potential of nanoparticle migration and reduction of lipid oxidation in salmon. **Packaging Technology and Science**, Lavras, MG, Brazil, v. 32, p.39–47, oct. 2019. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/pts.2415>.

DIN, M. I. et al. Potential perspectives of biodegradable plastics for food packaging application- review of properties and recent developments. **Food Additives & Contaminants: Part A**, Lahore, Pakistan, vol. 37, n. 4, p. 665–680, Feb. 2020. Taylor & Francis. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1080/19440049.2020.1718219>.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH $\cdot$ <sup>1</sup>. **Ciência e Tecnologia em Alimentos, Campinas**, v. 26, n. 2, p. 446-452, abr.-jun. 2006. Scielo Brasil. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000200031>.

EÇA, K. S. et al. Films and edible coatings containing antioxidants – a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, Brazil, v. 17, n. 2, p. 98-112, Apr. /jun. 2014. Scielo Brasil. <https://doi.org/10.1590/bjft.2014.017>.

ESPINOZA-ACOSTA, J. L. et al. Antioxidant, Antimicrobial, and Antimutagenic Properties of Technical Lignins and Their Applications. **BioResources**, [S.1], v. 11, n<sup>o</sup> 2, p.5452-5481, mar. 2016. Open Journal Systems at NC State University. [https://doi.org/10.15376/biores.11.2.Espinoza\\_Acosta](https://doi.org/10.15376/biores.11.2.Espinoza_Acosta).

European Commission. 2009. **EU Guidance to the Commission Regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into the contact with food (version 1.0)**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32009R0450> Acessado em 21 de maio de 2020.

EZATI, P.; RHIM, J. W. pH-responsive pectin-based multifunctional films incorporated with curcumin and sulfur nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, Seoul, Republic of Korea, v. 230, p. 115638, Feb. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115638>.

FARIA, A.U.; FRANCHETTI, S.M.M. Biodegradação de Filmes de Polipropileno (PP), Poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) e Blenda de PP/PHB por Microrganismos das Águas do Rio Atibaia. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Rio Claro, SP, Brasil, v. 20, p.141-147, jun. 2010. Scielo Brasil. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282010005000024>.

FISHMAN, M. L. et al. Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, Wyndmoor, USA, v. 41, p. 317–325, Apr. 2000. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00117-4).

FISHMAN, M. L. et al. Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch. **Carbohydrate Polymers**, Wyndmoor, USA, v. 57, p. 401–413, sep. 2004. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.05.014>.

GARCÍA, A. et al. Study of the antioxidant capacity of *Miscanthus sinensis* lignins. **Process Biochemistry**, Donostia-San Sebastián, Spain, v. 45, p. 935–940, jun. 2010. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.02.015>.

GARCIA-GARCIA, D. et al. Reinforcing capability of cellulose nanocrystals obtained from pine cones in a biodegradable poly(3-hydroxybutyrate)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PHB/PCL) thermoplastic blend. **European Polymer Journal**, Alicante, Spain, v. 104, p. 10–18, jul. 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.04.036>.

GRAY, N. et al. Influence of cellulose nanocrystal on strength and properties of low density polyethylene and thermoplastic starch composites. **Industrial Crops and Products**, Karaj, Iran, v. 115, p. 298–305, mai. 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.017>.

GUTIERREZ-PACHECO, M. M. et al. Combinational Approaches for Antimicrobial Packaging: Pectin and Cinnamon Leaf Oil. In **Antimicrobial food packaging**, San Diego: Academic Press, p. 609-617, Feb. 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800723-5.00050-4>.

HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. In: AHVENAINEN, R. **Novel Food Packaging Techniques**. Boca Raton: CRC Press, p. 50-70, 2005.

HENRY, N.; HARPER, D.; DADMUN, M. Optimizing Noncovalent Interactions Between Lignin and Synthetic Polymers to Develop Effective Compatibilizers. **Macromolecular Chemistry and Physics**, Knoxville, USA, v. 213, p. 1196-1205, may. 2012. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/macp.201100633>.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M.; KROCHTA, J.M. Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation: A Review. **Journal of Food Science**, Davis, USA, v. 73, n. 2, p. 30-39, jan. 2008. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1111/j.1750-3841.2007.00636.x>.

HOTCHKISS, J. H. Food-packaging interactions influencing quality and safety. **Food Additives Contaminants**, Ithaca, NY, USA, v. 14, p. 601-607, jan. 1997. Taylor & Francis. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1080/02652039709374572>.

HU, X. Q. et al. From waste to functional additives: thermal stabilization and toughening of PVA with lignin. **RSC Advances**, Chengdu, China, v. 6, p. 13797–13802, jan. 2016. The Royal Society of Chemistry's. <https://doi.org/10.1039/c5ra26385a>.

HUANG, S. J. An overview of biodegradable polymers and biodegradation of polymers. In: SCOTT, G. **Degradable Polymers: Principles and Applications**. 2. ed., Springer, Dordrecht, cap. 2, p. 17-26, 2002. Springer. [https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1007/978-94-011-0571-2\\_2](https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1007/978-94-011-0571-2_2)

IMBERTY, A. et al. Recent Advances in Knowledge of Starch Structure. **Starch/Stärke**, [S.1], v. 43, n. 10, p. 375-384, 1991. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/star.19910431002>.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in Bio-based and Biodegradable Polymer Blends. **European Polymer Journal**, Budapest, Hungary, v. 49, p. 1215-1233, jun. 2013. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.01.019>.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. Disponível em <<https://doi.org/10.1351/goldbook>> Acessado em 05 maio 2020.

JARAMILLO, C. M. et al. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on

cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, Buenos Aires, Argentina, v. 151, p. 150–159, oct. 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>.

KARBOWIAK, T. et al. Diffusion of small molecules in edible films: Effect of water and interactions between diffusant and biopolymer. **Food Chemistry**, Dijon, France, v. 106, p. 1340-1349, feb. 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.076>.

KEETELS, C. J. A. M.; OOSTERGETEL, G. T.; VLIET, T. V. Recrystallization of amylopectin in concentrated starch gels. **Carbohydrate Reserch**. Wageningen, The Netherlands, v. 30, p. 61-64, may 1996. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(96\)00057-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(96)00057-4).

KUN, D.; PUKÁNSZKY, B. Polymer/lignina blends: Interations, properties, applications. **European Polymer Jurnal**, Budapest, Hungary, v. 93, p. 618-641, Aug. 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.04.035>.

LARA, B. R. B. et al. Morphological, mechanical and physical properties of new whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, Lavras, MG, Brazil, v. 19, p.16–23, mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.010>.

LEI, Y. et al. Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol. **Food Hydrocolloids**, Sichuan Province, China, v. 94, p.128–135, sep. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.011>.

LEKUBE, B. L. et al. Influence of processing on the mechanical properties and morphology of starch-based blends for film applications. **Journal of Applied Polymer Science**, Wels, Austria, v. 136, n. 39, p. 47990, may. 2019. Wiley Online Library. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/app.47990>

LEUANGSUKRERK, M. et al. Properties of konjac glucomannan–whey protein isolate blend films. **LWT-Food Science and Technology**, Bangkok,Thailand, v. 59, p. 94-100, nov. 2014. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.029>.

LIU, H. et al. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science**, Guangzhou, China, v.34, p. 1348–1368, Dec. 2009. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.07.001>.

LIU, L. S. et al. A preliminary study on antimicrobial edible films from pectin and other food hydrocolloids by extrusion method. **Journal of Natural Fibers**, Wyndmoor, PA, v. 5, n. 4, p. 366-382, dec. 2008. Taylor & Francis. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1080/15440470802460643>.

LIU, Z. H. et al. Defining lignin nanoparticle properties through tailored lignin reactivity by sequential organosolv fragmentation approach (SOFA). **Green Chemistry**, USA, v. 21, p. 245–260, jan. 2019. The Royal Society of Chemistry. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1039/C8GC03290D>.

LUÍS, A. et al. Development of a carboxymethyl xylan film containing licorice essential oil

with antioxidant properties to inhibit the growth of foodborne pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, Covilhã, Portugal, v. 111, p. 218–225, aug. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.040>.

LUNA, C. B. B. et al. Desenvolvimento de Blendas Poliméricas visando a Tenacificação dos Polímeros: Uma revisão. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, Campina Grande, PB, v. 36, n. 1, p. 67-80, jan./jun. 2015. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0375.2015v36n1p67>.

MANRICH, A. et al. Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. **Carbohydrate Polymers**, São Carlos, SP, Brazil v. 164, p. 83–91, may 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.075>.

MARTINS, F. C.O.L.; SENTANIN, M. A.; SOUZA, D. Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications. **Food Chemistry**, Patos De Minas, MG, Brazil, v. 272, p. 732–750, jan. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.060>.

MCCLEMENTES, D. J.; DECKER, E. A. Lipídeos. In: DAMODARAN, Srinivasan. **Química de alimentos de Fennema** [recurso eletrônico]/Srinivasan Damodaram, Kirt L. Parkin: tradução Adriano Brandelli ... [et al.]; revisão técnica: Adriano Brandelli. – 5. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2019, cap. 4, p. 176-236. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582715468/cfi/190!/4/2@100:0.00>> Acesso em 20 mai. 2020.

MENDES, F. M.. **Produção e caracterização de bioplásticos a partir de amido de batata**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MENDES, J. F. et al. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, Lavras, MG, Brazil, v. 137, p. 452–458, feb. 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.093>.

MENDES, J. F. et al. Development and physical-chemical properties of pectin film reinforced with spent coffee grounds by continuous casting. **Carbohydrate Polymers**, Lavras, MG, Brazil, v. 210, p. 92–99, apr. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.058>.

MIGUEL, O. D. **Blendas de amido termoplástico e polietileno grafitizado (enxertado)**. 2014. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e Área de Concentração em Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais). Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2014.

MIRANDA, V.R.; CARVALHO, A.J.F. Blendas Compatíveis de Amido Termoplástico e Polietileno de Baixa Densidade Compatibilizadas com Ácido Cítrico. **Polímeros**, São Carlos, SP, Brazil, v. 21, p. 353-360, dec. 2011. Scielo Brasil. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282011005000067>.

MOHAME, S. A. A.; EL-SAKHAWY, M.; EL-SAKHAWY, M. A. M. Polysaccharides, Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. **Carbohydrate Polymers**, Dokki Giza, Egypt, v. 238, p.116178, jun. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>

MORAIS, S. A. L. de; NASCIMENTO, E. A. do; MELO, D. C. de. Análise da madeira do *Pinus oocarpa* parte II: caracterização estrutural da lignina de madeira moída. **Revista Árvore**, Uberlândia, MG, Brazil. v. 29, p. 471-478, may/jun. 2005. Scielo Brasil. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622005000300015>.

MU, C. et al. Preparation and properties of dialdehyde carboxy methyl cellulose crosslinked gelatina edible films. **Food Hydrocolloids**, Sichuan, China, v. 27, p. 22-29, may 2012. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.09.005>.

NAFCHI, A. M. et al. Thermoplastic starches: Properties, challenges, and prospects. **Starch-Stärke**, Semanan, Iran v. 65, n. 1-2, p. 61-72, jan. 2013. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/star.201200201>.

NASEEM, A. et al. Lignin-derivates based polymers, blends and composites: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, Faisalabad, Pakistan, v. 93, p. 296-313, dec. 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.030>.

NERÍN, C.; TOVAR, L.; SALAFRANCA, J. Behaviour of a new antioxidant active film versus oxidizable model compounds. **Journal of Food Engineering**, Zaragoza, Spain, v. 84, p. 313–320, jan. 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.05.027>.

NORCINO, L. B. et al. Pectin films loaded with copaiba oil nanoemulsions for potential use as bio-based active packaging. **Food Hydrocolloids**, Lavras, MG, Brazil, v. 106, p. 105862, sep. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105862>.

OCHOA-YEPES, O. et al. Influence of process (extrusion/thermo-compression, *casting*) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. **Carbohydrate Polymers**, Buenos Aires, Argentina, v. 208, p. 221–231, mar. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.030>.

OHTAKE, Y. et al. Oxidative degradation and molecular weight change of LDPE buried under bioactive soil for 32–37 years. **Journal of Applied Polymer Science**, Tokyo, Japan v. 70, p. 1643-1659, dec. 1998. Wiley Online Library. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19981128\)70:9<1643::AID-APP1>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19981128)70:9<1643::AID-APP1>3.0.CO;2-V).

OLIVEIRA, N. L. et al. Development and characterization of biodegradable films based on *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Industrial crops and products**, Lavras, MG, Brazil, v. 130, p. 499-510, apr. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.014>.

ORSUWAN, A.; SOTHORNVIT, R. Active Banana Flour Nanocomposite Films Incorporated with Garlic Essential Oil as Multifunctional Packaging Material for Food Application. **Food and Bioprocess Technology**, Nakhonpathom, Thailand v. 11, p. 1199–1210, mar. 2018. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2089-2>.

OTTONI, C. G. et al. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. **Food Hydrocolloids**, São Carlos, SP, Brazil, v. 41, p. 188-194, dec. 2014. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.04.013>.

PAGNO, C. H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, Porto Alegre, RS, Brazil, v. 173, p. 755–762, apr. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.068>.

PASINI CABELLO, S. D. Influence of plasticizers in pectin films: Microstructural changes. **Materials Chemistry and Physics**, San Luis, Argentina, v. 162, p. 491–497, jul. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.06.019>.

PÉLLA, M. C. G. et al. Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. **Food Chemistry**, Maringa, Parana, Brazil, v. 309, p.125764, mar. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125764>.

PIROOZ, M.; NAVARCHIAN, A. H.; EMTIAZI, G. Antibacterial and Structural Properties and Printability of Starch/Clay/Polyethylene Composite Films. **Journal of Polymers and the Environment**, Isfahan, Iran, v. 26, p.1702–1714, jun. 2018. Springer. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-1056-8>.

PORTA, R. et al. Microstructure and properties of bitter vetch (*Vicia ervilia*) protein films reinforced by microbial transglutaminase. **Food Hydrocolloids**, v. 50, p. 102–107, aug. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.04.008>.

QUENTAL, A.C. et al. Blendas de PHB e seus copolímeros: miscibilidade e compatibilidade. **Química Nova**, Campinas, SP, Brazil, v. 33, p. 438–446, 2010. Scielo Brasil. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000200035>.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meatindustry. **Meat Science**, Parma, Italy, v. 62, p. 373–380, nov. 2002. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00121-3).

RAHMAN, M. M.; KARIM, R.; MUSTAFA, A.I.; KHAN, M. A. Preparation and Characterization of Bio blends from Gelatinand Linear Low-Density Polyethylene (LLDPE) by Extrusion Method. **Journal of Adhesion Science and Technology**, Dhaka, Bangladesh, v. 26, p.1281–1294, jul. 2012.

REESHA, K. V. et al. Development and characterization of an LDPE/chitosan composite antimicrobial film for chilled fish storage. **International Journal of Biological Macromolecules**, Cochin, India, v. 79, p. 934–942, aug. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.06.016>.

ROGOVINA, S. Z. Biodegradable Polymer Composites Based on Synthetic and Natural Polymers of Various Classes. **Polymer Science Series C**, Moscow, Russia, v. 58, n. 1, p. 62–73, jul. 2016. Springer. <https://doi.org/10.1134/S1811238216010100>.

RÓZ, A. L. da et al. Water Susceptibility and Mechanical Properties of Thermoplastic Starch–Pectin Blends Reactively Extruded with Edible Citric Acid. **Materials Research**, São Carlos, SP, Brazil, v. 19, n. 1, p. 138–142, jan./feb. 2016. Scielo Brasil. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2015-0215>.

SAKAI, T. et al. Pectin, Pectinase, and Protopectinase: Production, Properties, and Applications. **Advances in applied microbiology**, Osaka, Japan, v.39, p. 213-294, 1993. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70597-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70597-5).

SHANKAR, S. et al. Preparation of pectin/silver nanoparticles composite films with UV-light barrier and properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, Republic of Korea, Republic of Korea, v.92, p. 842–849, nov. 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.107>.

SIONKOWSKA, A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. **Progress in Polymer Science**, Torun, Poland, v. 36, n. 9, p.1254-1276, sep. 2011. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.05.003>.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, Bangkok, Thailand, v. 24, p. 770-775, nov. /dec. 2010. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.003>.

SOARES, G. A. et al. Blends of cross-linked high amylose starch/pectin loaded with diclofenac. **Carbohydrate Polymers**, Araraquara, SP, Brazil, v. 91, p. 135-142, jan. 2013. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.014>.

SUNTHORNVARABHASA, J.; LIENGPAYOONB, S.; SUWONSICHONC, T. Antimicrobial kinetic activities of lignin from sugarcane bagasse for textile product. **Industrial Crops & Products**, Bangkok, Thailand, v. 109, p. 857–861, dec. 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.059>.

SUPPAKUL, P. et al. Characterization of Antimicrobial Films Containing Basil Extracts. **Packaging Technology and Science**, Bangkok, Thailand, v. 19, p. 259–268, apr. 2006. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/pts.729>.

SUPPAKUL, P. et al. Efficacy of polyethylene-based antimicrobial films containing principal constituents of basil. **LWT - Food Science and Technology**, Bangkok, Thailand v. 41 p. 779–788, jun. 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.006>.

TEIXEIRA, E. de M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

THAKUR, R. et al. Starch-based films: Major factors affecting their properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, Ourimbah, Australia, v. 132, p.1079–1089, jul. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.190>.

THIELEMANS, W. et al. Novel applications of lignin in composite materials. **Journal of Applied Polymer Science**, Newark, Delaware, v.83, p. 323–331, nov. 2002. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/app.2247>.

TOPUZ, F., UYAR, T. Antioxidant, antibacterial and antifungal electrospun nanofibers for food packaging applications. **Food Research International**, Thuwal, Saudi Arabia, v. 130, p. 108927, apr. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108927>.



VAN SOEST, J. J. G. et al. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, Wageningen, Netherlands, v. 5, p.11- 22, oct. 1996. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0926-6690\(95\)00048-8](https://doi.org/10.1016/0926-6690(95)00048-8).

VARGAS JÚNIOR, Á. **Blendas de Polietileno-Amido Duo-Funcionais: Ações Antioxidante e Antimicrobiana em Produto Carne**. 2014. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Florianópolis – SC, 132 p., 2014.

VERBEEK, C. J. R.; VAN DEN BERG, L. E. Extrusion Processing and Properties of Protein-Based Thermoplastics. **Macromolecular Materials and Engineering**, Hamilton, New Zealand, v. 295, p. 10–21, jan. 2010. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/mame.200900167>.

VIEYRA, H.; AGUILAR-MÉNDEZ, M. A.; MARTÍN-MARTÍNEZ, E. S. Study of Biodegradation Evolution During Composting of Polyethylene–Starch Blends Using Scanning Electron Microscopy. **Journal of Applied Polymer Science**, México, v.127. p. 845-853, apr. 2013. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/app.37818>.

WAGNER JR., J. R.; MOUNT III, E. M.; GILES JR., H. F. **Twin Screw Extruder Equipment**. In: \_\_\_\_\_ **Extrusion: The Definitive Processing Guide and Handbook**, 2 ed., Oxford, Ed.: William Andrew, cap. 11, p.125-148, 2014.

WANG, L. F.; RHIM, J. W. Grapefruit seed extract incorporated antimicrobial LDPE and PLA films: Effect of type of polymer matrix. **LWT - Food Science and Technology**, Jeonnam, Republic of Korea, v. 74, p. 338-345, dec. 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.066>.

WANG, P. et al. Characterization and antioxidant activity of trilayer gelatin/dextran-propyl gallate/gelatin films: Electrospinning versus solvent *casting*. **LWT - Food Science and Technology**, Hangzhou, China v. 128, p. 109536, jun. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109536>.

WEI, X. et al. Structure and properties of moisture-resistant konjac glucomannan films coated with shellac/stearic acid coating. **Carbohydrate Polymers**, Jinan, China v. 118, p. 119-125, mar. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.009>.

WILPISZEWSKA, K.; SPYCHAJ, T. Ionic liquids: media for starch dissolution, plasticization and modification. **Carbohydrate Polymers**, Szczecin, Poland, v. 86, p. 424-428, aug. 2011. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.001>.

XIE, F. et al. Characteristics of starch-based films plasticised by glycerol and by the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate: A comparative study. **Carbohydrate Polymers**, Brisbane, Australia, v. 111, p. 841–848, oct. 2014. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.058>

YANG, W. et al. Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging. **Industrial Crops and Products**, Terni, Italy, v. 94, p. 800–811, dec. 2016a. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.061>.

YANG, W. et al. Synergic effect of cellulose and lignin nanostructures in PLA based systems for food antibacterial packaging. **European Polymer Journal**, Terni, Italy, v. 79, p. 1–12, jun. 2016b. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.04.003>.

YANG, W., et al. Effect of cellulose and lignin on disintegration, antimicrobial and antioxidant properties of PLA active films. **International Journal of Biological Macromolecules**, Terni, Italy, v. 89, p. 360–368, aug. 2016c. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.068>

YANG, W.; KENNY, J. M.; PUGGLIA, D. Structure and properties of biodegradable wheat gluten bionanocomposites containing lignin nanoparticles. **Industrial Crops and Products**, Terni, Italy, v. 74, p. 348–356, nov. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.032>.

YEDDES, W. et al. Gelatin-chitosan-pectin films incorporated with rosemary essential oil: Optimized formulation using mixture design and response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, Borj Cédria, Tunisia, v. 154, p. 92–103, jul. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.092>.

YILDIRIM, S. et al. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Wädenswil, Switzerland, v. 17, p. 165-199, 2018. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>

YOUSSEF, A. M. et al. Mechanical and antibacterial properties of novel high-performance chitosan/nanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, Giza, Egypt, v. 76, p. 25-32, may 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.016>.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**, Melbourne, Australia, v. 31, p. 576 - 602, jun. 2006. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.03.002>.

ZDRAHALA, R. J. Thermoplastic starch revisited. Structure/ property relationship for “dialed-in” biodegradability. **Macromolecular Symposia**, v. 123, p. 113–121, mar. 1997. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/masy.19971230112>.

ZHONG, Y. et al. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, Nanjing, China, v. 3, p. 27-35, jan. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2019.11.002>.

## SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

### ARTIGO 1

#### ESTUDO DAS PROPRIEDADES DAS MICROPARTÍCULAS DE LIGNINA OBTIDAS POR AÇÃO MECÂNICA

**Artigo redigido conforme norma da revista *Canadian Journal of Chemical Engineering*  
“Versão Preliminar”**

#### RESUMO

A lignina é um polímero natural renovável, de baixo custo que vem despertando interesses para produção de micropartículas devido às suas propriedades ativas. Assim o presente trabalho visou comparar as micropartículas de lignina Kraft produzidas por moagem e a lignina Kraft através das análises: análises morfológicas, estruturais, térmicas, tamanho de partículas, potencial zeta, índice de polidispersão, atividade antioxidante e antimicrobiana. Para avaliar se as micropartículas potencializaram suas propriedades. As partículas foram reduzidas de 6,6µm para 3,1µm. O potencial zeta e o índice de polidispersão revelaram que as micropartículas possuem maior instabilidade, maior tendência de aglomeração, porém possuem maior homogeneidade do que a lignina Kraft, conforme comprovado pela microscopia eletrônica de varredura. A degradação térmica não foi influenciada pela ação mecânica. Através da difração de raios-X verificou-se que as amostras possuem predominantemente partes amorfas. Na análise de espectroscopia na região do infravermelho observou que as micropartículas mantiveram os picos característicos da lignina Kraft, porém com menor intensidade. Tanto a lignina quanto a micropartícula não tiveram efeito antimicrobiano contra as bactérias analisadas. Por outro lado, a análise antioxidante por 2,2-difenil-1-picril-hidrazil comprovou o efeito antioxidante das amostras independente da concentração testada. Diante dos resultados, conclui-se que a ação mecânica reduziu o tamanho da partícula, tornou-se mais homogêneo, manteve a resistência térmica e teve boa atividade antioxidante.

**Palavra-chave:** Moagem. Resíduos. Propriedade Antioxidante. Partículas.

## 1 INTRODUÇÃO

A lignina é uma macromolécula tridimensional altamente reticulada, em que é responsável por fornecer força e proteção às plantas. Encontrada em grande quantidade como subprodutos da fabricação de polpa de celulose para papel e da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica.<sup>[1,2]</sup>

Além disso, ela apresenta uma estrutura química complexa, composto por várias unidades de fenilpropano originário de três álcoois aromáticos, sendo eles,  $\rho$ -coumaril ( $\rho$ -hidroxifenil, H), coniferil (guaiacil, S) e sinapil (siringila, S).<sup>[2,3]</sup> A sua estrutura química depende de uma série de fatores, incluindo sua origem botânica, as condições ambientais e as condições de extração da lignina. A maioria das técnicas de obtenção da lignina consistem na clivagem de ligações covalentes da lignina natural e resultam na solubilização de fragmentos do polímero. Podem apresentar diferentes atividades antioxidante e antimicrobiana sob diferentes condições de extração (temperatura e a taxa de solvente/resíduo).<sup>[3,4]</sup>

Para potencializar suas propriedades ativas, estudos de técnicas de obtenção de nano ou micropartículas vem sendo realizados. Yang et al. <sup>[5]</sup> realizaram um trabalho de valorização de nanopartículas de lignina de alto rendimento isoladas por ácidos como materiais orgânicos antioxidantes/antimicrobianos inovadores e concluíram que o procedimento empregado foi eficiente para o efeito antioxidante e antimicrobiano.

Quando se obtém partículas menores, elas tornam-se mais disponíveis para a reação, havendo melhora na dispersão sobre a superfície a ser inserida. Além disso, a redução de tamanho de partículas pode oferecer compostos mais bioativos, sendo potencialmente substitutos de produtos sintéticos em alimentos ou em cosméticos.<sup>[6,7]</sup> Ainda em tamanhos menores observam-se melhores interações com outros materiais, como por exemplo, os polímeros, na elaboração de blendas poliméricas para produção de embalagens biodegradáveis e ativas.<sup>[8]</sup>

Há várias pesquisas sobre desenvolvimento de nano e micro partículas de lignina de diferentes recursos por métodos químicos. Como exemplos temos, precipitação em solução de etileno glicol,<sup>[9]</sup> tetrahidrofurano (THF) e etileno glicol como solvente,<sup>[10]</sup> degradação enzimática,<sup>[11]</sup> dissolução em etileno glicol com diferentes ácidos e diferentes pH.<sup>[12]</sup> No entanto, há muito poucos estudos sobre a redução de partículas por métodos físicos. Sendo os principais encontrados, por homogeneizador de alto cisalhamento<sup>[13]</sup> e irradiação ultrassônica.<sup>[6,14]</sup>

O presente estudo visa a elaboração de micropartículas de lignina Kraft por processo de moagem, e compará-la com a lignina Kraft que são sofreu o processo de moagem. Avaliando suas propriedades químicas, térmicas, estruturais, seu efeito antioxidante e antimicrobiano, visando futuro emprego em embalagens ativas antioxidantes e antimicrobianas.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

A lignina isolada de licor negro Kraft, foi doada pelo Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Bioativos e Soluções Tecnológicas da Universidade Federal de Viçosa (Campus Rio Paranaíba). Metanol da Vetec, 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) da Sigma Aldrich, Agar Mueller Hinton (Kasvi, Pinhals, PR, Brasil), caldo Heart and Brain Infusion (BHI, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), caldo Tryptic Soy (TSB, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia) e papel filtro qualitativo da Qualy.

O equipamento utilizado para obtenção de micropartículas foi o moinho de bolas com câmara fechada, modelo Te-350, Tecnal (São Paulo, Brazil).

### **2.2 Métodos**

#### **2.2.1 Obtenção de Micropartículas**

As micropartículas de lignina foram produzidas com o auxílio do moinho de bola com câmara fechada, modelo Te-350, Tecnal (São Paulo, Brazil). Foram colocadas 10g de amostras no recipiente do próprio moinho juntamente com uma esfera de aço e acoplada ao equipamento. A amostra foi submetida a agitação por 2 minutos e o procedimento foi repetido 3 vezes para a obtenção das micropartículas de lignina.

#### **2.2.2 Caracterização das micropartículas**

##### **2.2.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A análise morfológica foi feita por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada no microscópio LEO

EVO 40 XVP (Zeiss, Cambridge, Inglaterra), com voltagem de aceleração de 18,59 kV. As amostras em pó, foram fixadas em *stubs* por meio de fita adesiva dupla face de carbono, e revestidas por banho de ouro sob metalização a vácuo.

### 2.2.2.2 Difração de Raios – X (DRX)

A difração de raios X foi conduzida em um difratômetro Shimadzu XRD-6000 (Kyoto, Japan), com radiação de filtro de Cu- $k_{\alpha 1}$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), operando a 30kV e 30mA. As amostras foram fixadas em suporte de alumínio e analisadas a uma taxa de varredura de  $2^\circ/\text{min}$ , com  $2\theta$  variando de  $4$  a  $70^\circ$  e temperatura ambiente. As curvas foram tratadas com o software Origin 8.5 e o índice de cristalinidade relativa (IC) das amostras foram calculados de acordo com a Equação 1<sup>[15]</sup>:

$$Icr = (Hc/(Hc+Ha)) \times 100 \quad (1)$$

Onde: *Icr* é o índice de cristalinidade (%), *Ha* é a altura correspondente a fase amorfa em relação à linha base e *Hc* é a altura correspondente ao pico cristalino.

### 2.2.2.3 Tamanho de Partícula, Potencial Zeta e Índice de Polidispersão

Estas análises foram realizadas em triplicata utilizando o instrumento Zeta Potential Analyser modelo ZS 3600 da Malvern Instruments (Worcestershire, UK). O equipamento permite a determinação de tamanhos de partícula pelo método de espalhamento dinâmico de luz. O potencial zeta é uma medida capaz de mensurar a carga elétrica decorrente da interação de um material com determinado líquido. A medida de potencial zeta se dá pela unidade de mV e para a análise dos dados, a medida foi relatada como a média de 5 leituras. O índice de polidispersão, fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos das partículas.

### 2.2.2.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O método de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizado para identificar grupos funcionais presentes nos filmes. As análises de FTIR foram realizadas no instrumento Spectrometers JASCO FT-IR 4100 (Tokyo, Japan), por reflexão total atenuada (ATR) e com cristal de diamante. A faixa espectral utilizada foi de  $4000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$  com número de escaneamentos igual a 256 e resolução de  $1 \text{ cm}^{-1}$ .

### 2.2.2.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada para estudar a estabilidade térmica das partículas de lignina. Utilizou-se o instrumento DTG60H-SHIMADZU (Kyoto, Japan). A análise foi realizada sob atmosfera de N<sub>2</sub> com vazão de 50mL / min, aquecimento de 50 a 600°C, razão de aquecimento de 10°C/min.

### 2.2.2.6 Avaliação da atividade antioxidante

Para o método de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), foram preparadas soluções de micropartículas de lignina a 1%, 2%, 4% e 6% em solução de metanol 80%. A análise foi realizada em triplicata. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 3 min e permaneceu em repouso à temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, as misturas foram agitadas novamente por 3 min em Vortex. Uma alíquota do extrato metanólico de micropartículas de lignina (amostra) foi adicionada com 3,9mL de DPPH a 0,1 mM em metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 1 min e deixada em repouso no escuro por 30 min a 60 min. A absorbância foi medida a 517 nm usando um espectrômetro (SPECTROPHOTOMETER SP 2000UV). O metanol 80% com DPPH 0,1 mM foi utilizado como controle. A atividade sequestradora de radicais foi calculada de acordo com a Equação 2<sup>[16]</sup>:

$$RSA (\%) = ((A \text{ amostra} - A \text{ controle})/A \text{ controle}) \times 100 \quad (2)$$

Onde:

*RSA* = Radical scavenging activity (Atividade de eliminação do radical)

*A controle*: Absorbância da solução DPPH sem a amostra

*A amostra*: Absorbância da amostra com DPPH

### 2.2.2.7. Avaliação da atividade antimicrobiana

#### 2.2.2.7.1 Soluções de micropartículas de lignina Kraft em DMSO

Soluções de micropartículas de lignina Kraft foram preparadas nas concentrações de 1%, 2%, 4% e 6% (m/v) em DMSO (dimetilsulfóxido) para a realização da análise.

#### 2.2.2.7.2 Microrganismos e condições de cultura

As bactérias estudadas foram , *Escherichia coli* (EPEP055) e *Staphylococcus aureus* (ATCC13565).

As cepas bacterianas (cepas-mãe) foram armazenadas em meio de congelamento contendo glicerol (15%), peptona (5 g L<sup>-1</sup>), extrato de levedura (3 g L<sup>-1</sup>), NaCl (5 g L<sup>-1</sup>), pH 7.2 ± 7.4; em freezer sob refrigeração a - 4°C. A ativação das bactérias foi realizada repicando-se a cepa em 5 mL de caldo Heart and Brain Infusion (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após a ativação, uma alíquota desse meio foi transferida para um tubo contendo caldo Tryptic Soy (TSB) até alcançar turbidez de referência de uma solução-padrão McFarland de 0.5 resultando numa solução de cultura de 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. A turbidez foi ajustada em um intervalo de 0.08 a 0.1 Å utilizando-se um espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC, Japan) a 625 nm.<sup>[17]</sup>

#### **2.2.2.8 Teste de difusão em ágar**

A metodologia aplicada foi o teste de disco-difusão em ágar, conforme o método Kirby-Bauer descrito na norma M2-A8 da NCCLS<sup>[17]</sup> para bactérias e M38-A da NCCLS<sup>[18]</sup> para fungos. Os testes foram realizados em triplicata.

Para avaliar o efeito antibacteriano, 100 µL do inóculo (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) foi espalhado com o auxílio da alça de Drigalski na superfície de uma placa contendo Agar Mueller Hinton. Foram colocados na superfície discos de papel filtro (5mm de diâmetro) e adicionado aos discos 10 µL da suspensão de micropartículas de lignina nas concentrações de 1, 2, 4 e 6%. As placas foram incubadas em BOD a 37°C por 24 horas. Após este período foi analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o tamanho de cada halo.

### **3 RESULTADOS**

#### **3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A Figura 1 mostra as micrografias das ligninas *in natura* (A e B) e das micropartículas de lignina (C e D). As Figura 1A e 1B, revelam a heterogeneidade de tamanho da amostra de lignina, sendo possível observar alguns aglomerados. Por outro lado, as Figura 1C e 1D apresentam maior homogeneidade, com partículas em escala micro. Apesar de possuir partículas mais uniformes, observa-se a presença de aglomerados em alguns pontos, o que proporciona irregularidades de tamanho.



Desta maneira, pode-se afirmar que a ação mecânica aplicada na amostra foi suficiente para reduzir o tamanho das partículas. E que tanto a lignina kraft quanto as micropartículas de lignina kraft estavam em forma e tamanho irregularmente distribuídos. Para comprovar o que é mostrado nas micrografias, foi analisado o tamanho das partículas, o potencial zeta e seu índice de polidispersividade.

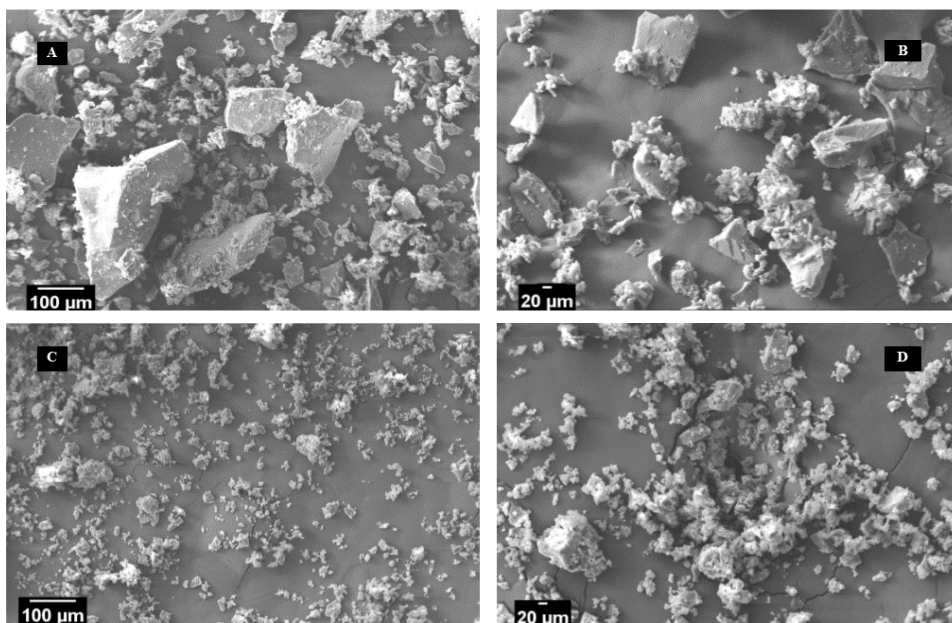


Figura 1 - Análise de microscopia eletrônica de varredura de lignina kraft (A e B) e das micropartículas de lignina kraft (C e D).

### 3.2 DRX

A Figura 4 apresenta os difratogramas para as amostras de lignina kraft e micropartículas de lignina kraft nos quais foi possível observar a presença predominante de regiões amorfas e alguns picos indicando regiões cristalinas. Regiões cristalinas não são características da estrutura da lignina por causa de sua natureza amorfa. Isso indica a presença de material inorgânico como suspeita na análise de TG (Tabela 2) devido a altas porcentagens de resíduos. A lignina kraft possui picos de maiores e menores intensidades em relação as micropartículas de lignina Kraft. Essa variação na intensidade dos picos é atribuída às alterações na estrutura do cristal durante o procedimento de moagem, que por consequência levaram a ruptura de áreas cristalinas e formação de domínios cristalinos modificados após o procedimento de moagem para obtenção da micropartícula.<sup>[11]</sup>

Ao calcular o índice de cristalinidade, a lignina Kraft obteve um índice igual a 16% e 84% de halo amorfo, em que a intensidade máxima de 933 foi em  $2\theta = 33,89^\circ$  e a intensidade

mínima de 89,95 foi em  $2\theta = 48,28^\circ$ , no entanto, a micropartícula de lignina obteve índice de cristalinidade 15,6%, halo amorfo de 84,4% e a intensidade máxima foi de 746,78 em  $2\theta = 32^\circ$  e a intensidade mínima foi de 89,95 em  $2\theta = 48,87^\circ$ . Isso demonstra que a ação mecânica realizada para obter as micropartículas não interferiu na cristalinidade da amostra.

Luo et al.<sup>[19]</sup> e Rangam et al.<sup>[11]</sup> explicam que a lignina é vítrea e com pouca ou nenhuma estrutura cristalina devido a sua rede estrutural complexa entre os grupos funcionais. Essa afirmação comprova o resultado encontrado no presente estudo onde a maior porcentagem encontrada é do halo amorfo em ambas amostras.

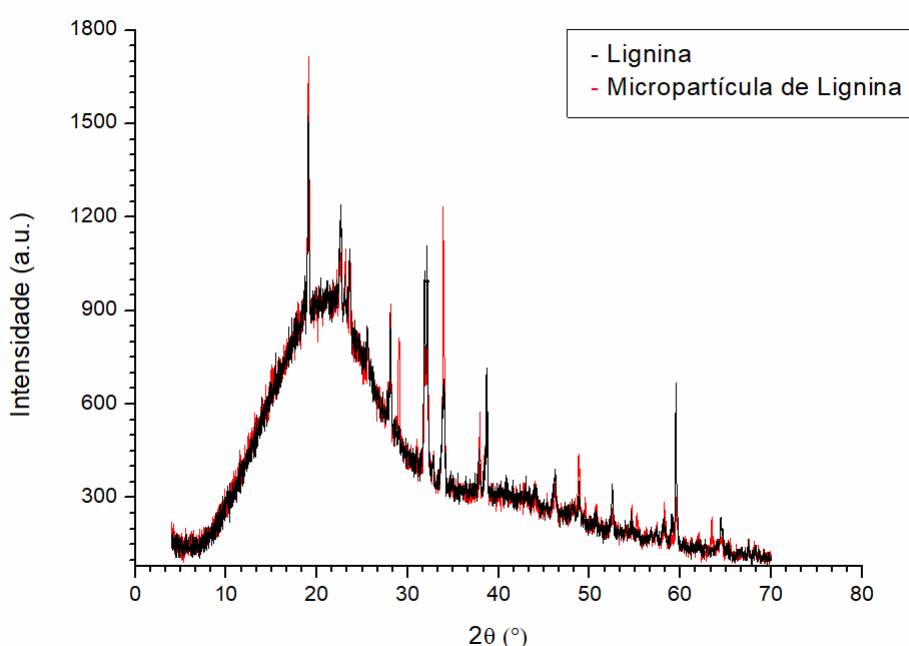


Figura 2 - Difratograma da lignina Kraft e das micropartículas de lignina Kraft.

### 3.3 Tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão

Na Tabela 1, pode-se observar que o tamanho das partículas da lignina Kraft que sofreram ação mecânica foi reduzido mais que 50%, contudo não alcançou a escala nanométrica. Para ser considerada nanopartícula, o tamanho tem que ser  $\leq 100$  nm (0,1  $\mu$ m).

O potencial zeta é uma medida da carga da bicamada elétrica que recobre as partículas, sendo um indicativo de estabilidade das nanopartículas em suspensão. Quando os valores são superiores a + 30 mV ou inferiores a - 30 mV, maior é a repulsão eletrostática entre as partículas, tornando-as mais estáveis, pois as partículas estão mais carregadas. Assim por causa

do efeito de repulsão, a formação de possíveis aglomerados é impedida.<sup>[20]</sup> No entanto, os valores encontrados para lignina Kraft *in natura*, e para micropartícula de lignina Kraft (TABELA 1), estão entre -30 mV e + 30 mV indicando atração eletrostática que provoca aglomerações das partículas suspensas e maior instabilidade da solução aquosa em pH 2,0.

Tabela 1 - Potencial zeta, índice de polidispersividade (IPD), tamanho de partícula das amostras de lignina kraft e micropartícula de lignina kraft.

| Amostra               | Potencial zeta (mV) | IPD              | Tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) |
|-----------------------|---------------------|------------------|--|
| <b>Lignina Kraft</b>  | - 20,5 $\pm$ 0,12   | 0,841 $\pm$ 0,13 | 6,567 $\pm$ 0,15                       |
| <b>Micropartícula</b> | 4,01 $\pm$ 0,77     | 0,580 $\pm$ 0,24 | 3,097 $\pm$ 0,47                       |

Liu et al.<sup>[21]</sup> explicam que o valor negativo do potencial zeta encontrado na lignina Kraft *in natura*, é parcialmente devido às cargas negativas dos grupos fenóis presentes na lignina e parcialmente devido à adsorção de íons hidroxila na superfície hidrofóbica da lignina. Desta forma, a carga superficial negativa pode estabilizar eletrostaticamente as partículas de lignina e, assim, impedir sua agregação.

Diante dos valores, observa-se que as micropartículas obtiveram um valor de potencial zeta mais próximo de zero, indicando uma maior atração eletrostática em relação a amostra lignina Kraft, ou seja, sendo estas portanto mais estáveis. Suspeita-se que isto se deve energia aplicada na ação mecânica que ao reduzir o tamanho das partículas, provavelmente aumentou a área superficial específica, causando redistribuição de cargas negativas e, por consequência promovendo aglomerações.

Yang et al.<sup>[12]</sup> obtiveram nanopartículas com potencial zeta inferior a -30 mV. Os autores ressaltaram que isso é justificado devido ao alto número de porções fenólicas que sofrem um mecanismo de transferência de elétrons acoplados a prótons, ou seja, a alta densidade de grupos oxigenados na superfície das partículas de lignina. Desta maneira, pode-se suspeitar que a lignina Kraft aqui analisada possua baixa densidade de porções fenólicas, não promovendo assim esta reação.

Para melhor avaliar as partículas observou o índice de polidispersão, no qual, mede-se o grau relativo de espalhamento em relação à média dos diâmetros das partículas de uma dada amostra, ou seja, refere-se à variedade do tamanho da amostra relativo à sua distribuição. Esse valor varia na escala de 0 a 1 e quanto menor, mais monodispersa e conseqüentemente, menos heterogênea é a amostra.<sup>[22]</sup> Assim, foi avaliado que por mais que a micropartícula possua maior instabilidade, maior tendência de aglomeração, elas são mais uniformes em tamanho médio e

distribuição, do que em relação à lignina Kraft, que possui um índice de dispersão mais próximo de 1 (TABELA 1) esses resultados corroboram com as micrografias apresentadas na Figura1.

### 3.4 FTIR

A Figura 3 apresenta os espectros de FTIR para a lignina Kraft *in natura* e micropartículas de lignina Kraft. Pode ser observado que os espectros são semelhantes, diferindo apenas na intensidade das bandas, sendo que a lignina Kraft *in natura* possui picos mais intensos do que em relação a micropartícula. Essa semelhança entre as amostras indica que houve pouca alteração na estrutura química após ser submetida a moagem.

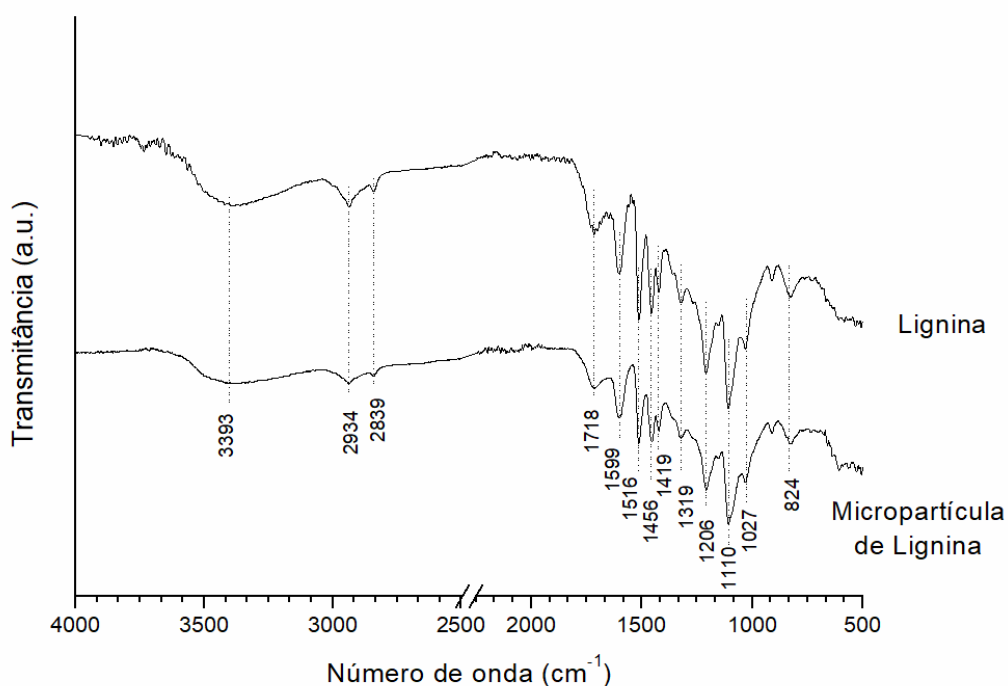


Figura 3 - Análise de FTIR das amostras de lignina Kraft e das micropartículas de lignina Kraft.

Os espectros de ambas as ligninas se assemelham a estudos já realizados, onde o número de onda  $3393\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao grupo hidroxila em estruturas aromática, como por exemplo compostos fenólicos que envolvem ligações de hidrogênio. Em  $2934\text{ cm}^{-1}$ ,  $2839\text{ cm}^{-1}$  e  $1456\text{ cm}^{-1}$  observam-se bandas de C-H que se estendem dos grupos metoxila, metila ou metileno das cadeias laterais aromáticas, indicando ramificações na estrutura da lignina. As vibrações dos anéis aromáticos presentes em ambas as ligninas são identificadas em  $1599\text{ cm}^{-1}$ ,  $1516\text{ cm}^{-1}$  e  $1419\text{ cm}^{-1}$ . Na banda  $1718\text{ cm}^{-1}$  são demonstradas as vibrações de ligações C=O de grupamentos carboxílicos. Já as bandas nos números de onda de  $1325\text{ cm}^{-1}$ ,  $1206\text{ cm}^{-1}$ ,  $1110\text{ cm}^{-1}$  e  $1027$

$\text{cm}^{-1}$  foram associadas as vibrações dos anéis aromáticos característicos, sendo estes, siringil e guaiacil. A banda em  $824 \text{ cm}^{-1}$  é um indicativo da presença das vibrações de deformação das ligações C-H nos anéis aromáticos. [1,12,23]

### 3.5 Análise Termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica mostrada na Figura 4 demonstra os eventos térmicos das amostras que foram submetidas a variação de temperatura em atmosfera de  $\text{N}_2$ . Observa-se que em ambas as amostras há uma massa residual de aproximadamente 40% (Tabela 4), onde o pico máximo de perda de massa da lignina Kraft foi em torno de  $356^\circ\text{C}$  e da micropartícula de lignina Kraft em  $351^\circ\text{C}$  (Figura 4). Três etapas de degradação são observadas em ambas as amostras de lignina: I) temperatura máxima em torno de  $47^\circ\text{C}$  a  $141^\circ\text{C}$  relacionada com a perda de água, ou seja, desidratação da amostra; II) temperatura máxima em torno de  $228^\circ\text{C}$  ocorre a pirólise ativa e a degradação das hemiceluloses; III) temperatura máxima em torno de  $356^\circ\text{C}$  pela degradação da lignina. [12,24]

Tabela 2 - Parâmetros térmicos da lignina Kraft antes e depois da obtenção da micropartícula.

| Amostras              | Tmax <sup>a</sup> (°C)       |                 |                 |                 | Perda de Massa (%)          |                |                |                | Massa Residual em 600 °C (%) |
|-----------------------|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|------------------------------|
|                       | Tp <sup>b</sup> <sub>1</sub> | Tp <sub>2</sub> | Tp <sub>3</sub> | Tp <sub>4</sub> | P <sub>1</sub> <sup>c</sup> | P <sub>2</sub> | P <sub>3</sub> | P <sub>4</sub> |                              |
| <b>Lignina Kraft</b>  | 68,58                        | 140,95          | 227,83          | 356,06          | 0,8                         | 3,15           | 8,81           | 34,78          | 40,83                        |
| <b>Micropartícula</b> | 47,00                        | 136,37          | 228,52          | 351,39          | 1,07                        | 3,47           | 8,84           | 31,17          | 39,98                        |

<sup>a</sup>Temperatura máxima (Tmax); <sup>b</sup> Temperatura do pico (Tp); <sup>c</sup> Pico (P).

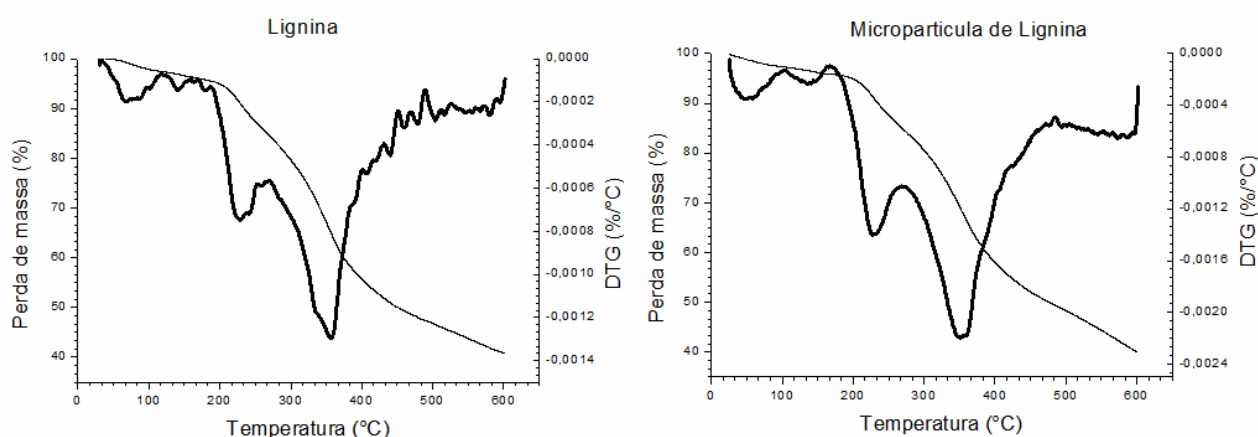


Figura 4 - Análise Termogravimétrica das amostras de lignina Kraft e das micropartículas de lignina Kraft.

Essas etapas dos eventos térmicos também foram observados por Chen et al.<sup>[11]</sup> que extraíram a lignina de *Miscanthus sinensis*; por Garcia et al.<sup>[23]</sup> que trabalharam com lignina de licor negro para biocombustível e Yang et al.<sup>[12]</sup> que trabalharam com obtenção de nanopartícula de lignina alcalina em diferentes pH. Entretanto, cada trabalho teve uma variação pequena na faixa de temperatura das etapas de degradação térmica em relação ao presente estudo.

Chen et al.,<sup>[11]</sup> que também trabalharam com lignina Kraft, relataram uma massa residual de 44,46%. Garcia et al.<sup>[23]</sup> estudaram a degradação de ligninas alcalina e organosolv e obtiveram massa residual de 20-25% e 30-40% consecutivamente. Os autores explicam que a taxa máxima de perda de massa depende da estrutura da lignina, dos grupos funcionais, das ligações, e, portanto, da origem e dos tratamentos aplicados.

Pequenas diferenças puderam ser observadas para as ligninas obtidas pelos diversos tratamentos utilizados. O resíduo obtido após a degradação térmica também está relacionado à complexidade das estruturas das moléculas de lignina e ao seu grau de ligações. Além disso, altas porcentagem de massa residual pode indicar a presença de matéria inorgânica na lignina, o que pode ter proporcionado a formação de picos na análise de DRX (Figura 2), uma vez que a estrutura da lignina é praticamente amorfa não tendo picos característicos de regiões cristalinas.<sup>[23,25]</sup> Desta forma, altas porcentagens de resíduos implicam em uma alta estabilidade térmica da amostra, isto é, uma estrutura tridimensional complexa e presença de contaminantes, o que indica impurezas na amostra de lignina analisada.

Observa-se que a degradação térmica não foi influenciada pela ação mecânica aplicada para produção de micropartículas. Em ambas as amostras tiveram resultados semelhantes.

### **3.6 Atividade antioxidante**

A lignina está sendo estudada como um potencial agente antioxidante, devido presença de anéis aromáticos na estrutura química. Esses grupos funcionais agem através da doação de hidrogênio reduzindo ou até mesmo evitando a oxidação em alimentos com alto teor de lipídeos, ou seja, retardando a formação de radicais livres.

Percebe-se pela Tabela 3, que todas as concentrações tiveram atividade antioxidante. Para o tempo 30 minutos a concentração 6% foi a única que diferiu significativamente das outras amostras. Para o tempo de 60 minutos, a ação antioxidante para as concentrações analisadas ficou próximas.

Tabela 3 - Análise antioxidante pelo método de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) de diferentes concentrações das micropartículas de lignina Kraft.

| Micropartícula de Lignina Kraft | RSA (%)                    |                            |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                 | Tempo 30                   | Tempo 60                   |
| Concentrações (%)               |                            |                            |
| <b>1</b>                        | 41.41 ± 0,64 <sup>a</sup>  | 40.77 ± 1,51 <sup>a</sup>  |
| <b>2</b>                        | 46.83 ± 2,67 <sup>ab</sup> | 48.96 ± 3,08 <sup>ab</sup> |
| <b>4</b>                        | 53.46 ± 4,44 <sup>b</sup>  | 50.86 ± 5,64 <sup>ab</sup> |
| <b>6</b>                        | 74.45 ± 4,06 <sup>c</sup>  | 55.42 ± 4,36 <sup>b</sup>  |

Cada valor é a média das repetições com o desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 5\%$ ).

Resultados similares foram encontrados por Yang et al.<sup>[12]</sup> e García et al.<sup>[23]</sup> ao trabalharem com nanopartículas de lignina alcalina, lignina organosolv e lignina soda. Entretanto ao avaliarmos outros trabalhos podemos observar que a atividade antioxidante foi inferior à encontrada neste trabalho, como é o caso Kaur, Uppal e Sharmar<sup>[7]</sup> com lignina modificada, Garcia et al.<sup>[25]</sup> com lignina alcalina e organosolv e Bertolo et al.<sup>[24]</sup> com nanopartícula de lignina alcalina. Esta diferença pode ser justificada pelo método distinto aplicado para avaliar a atividade antioxidante, e por que os dois primeiros mencionados avaliaram a lignina sem ser em micro ou nanopartícula o que pode ter ocasionado a grande diferença dos resultados quando comparados ao presente trabalho.

### 3.7 Atividade Antimicrobiana

Diante do teste de disco de difusão aplicado para as soluções de lignina Kraft e da micropartícula de lignina Kraft nas concentrações de 10, 20, 40 e 60 mg/ml em dimetilsulfóxido (DMSO) em pH 2,00 pode-se observar que nenhuma das amostras tiveram efeito antimicrobiano contra as bactérias *S. aureus* (Gram-positiva) e *E. coli* (Gram-negativa), e não tiveram efeito antifúngico contra o fungo *Aspergillus niger*, nas quais, não houve formação de halos de inibição, como mostra na Figura 5.

Entretanto, vários trabalhos mostraram resultados diferentes ao trabalharem com diferentes tipos de lignina. Dong et al.<sup>[26]</sup> e Dong et al.<sup>[4]</sup> ao avaliarem a lignina alcalina com baixo teor de enxofre observaram que os extratos exibiram atividades antimicrobianas contra bactérias Gram-positivas (*Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*) e leveduras (*Candida lipolytica*), mas não bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* O157: H7 e *Salmonella Enteritidis*) ou bacteriófago MS2.

Klein et al.<sup>[27]</sup> avaliaram o efeito da lignina Kraft com bactéria gram-positiva (*S. aureus*) em diferentes pH (2 a 5) e obteve um resultado satisfatório contra o microrganismo principalmente em pH 5. Kaur, Uppal e Sharma<sup>[7]</sup> avaliaram a atividade antimicrobiana de lignina modificadas quimicamente (por reações de acetilação, epoxidação e hidroximetilação) e observou-se que a lignina epóxi é mais eficaz entre as ligninas não modificadas e modificadas contra *Bacillus sp.* e *Klebsiellas*.

Em geral, os componentes fenólicos com grupos funcionais contendo oxigênio (como grupo hidroxila, grupos carbonila e grupos éster) na cadeia lateral são menos inibitórios do que se houver a presença de ligações duplas e grupos metila que aumentam o efeito biocida dos fenóis. A estrutura da cadeia lateral e a natureza dos grupos funcionais dos compostos fenólicos são os principais determinantes do efeito antimicrobiano da lignina.<sup>[12]</sup>

Assim, suspeita-se que o resultado encontrado neste trabalho é devido à variação de lignina encontrada em cada matéria-prima o que faz variar a disponibilidade de grupos funcionais ativos que possuem ação inibitória contra microrganismo. Além disso, outro motivo limitante é a sua estrutura complexa, na qual os grupos funcionais não estão biodisponíveis.

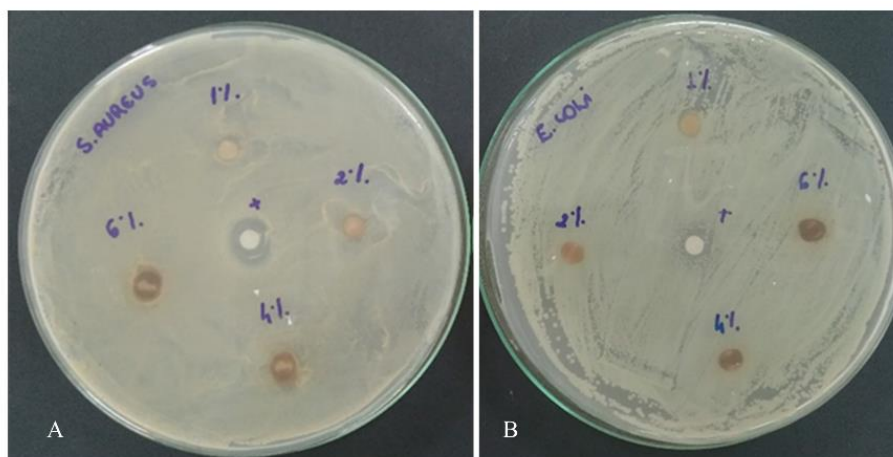


Figura 5 - Análise Microbiológica da solução de micropartícula de lignina Kraft em DMSO contra bactéria gram-positiva (*S. aureus* (A)), gram-negativa (*E. coli* (B)), nas concentrações 1%, 2%, 4% e 6% .

## CONCLUSÃO

A ação mecânica promoveu a redução do tamanho da partícula, uma maior homogeneidade das partículas, boa resistência térmica. Além disso, as partículas apresentaram ótima atividade antioxidante podendo ser utilizadas em embalagens ativas para evitar oxidação dos alimentos.



## REFERENCIAS

- [1] J. Chen, C. Liu, S. Wu, J. Liang, M. Lei, *RSC Adv.* **2016**, 6, 107970.
- [2] J. L. Espinoza-Acosta, P. I. Torres-Chávez, B. Ramírez-Wong, C. M. López-Saiz, B. Montañón-Leyva, *BioResources* **2016**, 11, 5452.
- [3] W. Gao, P. Fatehi, *Can J Chem Eng.* **2019**, 9, 2827.
- [4] X. Dong, M. Dong, Y. Lu, A. Turley, T. Jin, C. Wu, *Ind. Crop. Prod.* **2011**, 34, 1629.
- [5] W. Yang, J. S. Owczarek, E. Fortunati, M. Kozanecki, A. Mazzaglia, G. M. Balestra, J. M. Kenny, L. Torre, D. Puglia, *Ind. Crop. Prod.* **2016**, 94, 800.
- [6] R. A. C. Gomide, A. C. S. Oliveira, D. A. C. Rodrigues, C. R. Oliveira, O. B. G. Assis, M. V. Dias, S. V. Borges. *J Polym Environ* 2020,1.
- [7] R. Kaur, S. K. Uppal, P. Sharma, *Sugar Tech* **2017**, 19, 675.
- [8] A. Tribot, G. Amer, M. A. Alio, H. Baynast, C. Delattre, A. Pons, J.-D. Mathias, J.-M. Callois, C. Vial, P. Michaud, C.-G. Dussap, *Eur. Polym. J.* **2019**, 112, 228.
- [9] Y. Ge, Q. Wei, Z. Li, *BioResources* **2014**, 9, 6699.
- [10] M. Lievonen, J. J. Valle-Delgado, M. Mattinen, E.-L. Hult, K. Lintinen, M. A. Kostianen, A. Paananen, G. R. Szilvay, H. Setälä, M. Österberg, *Green Chem.* **2016**, 18, 1416
- [11] A. Rangan, M. V. Manchiganti, R. M. Thilaividankan, S. G. Kestur, R. Menon, *Ind. Crop. Prod.* **2017**, 103, 152.
- [12] W. Yang, E. Fortunati, D. Gao, G. M. Balestra, G. Giovanale, X. He, L. Torre, J. M. Kenny, D. Puglia, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, 6, 3502.
- [13] S. S. Nair, S. Sharma, Y. Pu, Q. Sun, S. Pan, J. Y. Zhu, Y. Deng, A. J. Ragauskas, *ChemSusChem* **2014**, 7, 3513.
- [14] I.A. Gilca, V. I. Popa, C. Crestini, *Ultrason Sonochem* **2015**, 23, 369.
- [15] S. H. D. Hulleman. M. G. Kalisvaart, F. H. P. Janssen, H. Feil, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Polym.* **1999**, 39, 351.
- [16] Y. Byun, Y. T. Kim, S. Whiteside, *J. Food Eng.* **2010**, 100, 239.
- [17] National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*; Approved Standard. NCCLS Document M2-A8. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.

- [18] National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference Methods for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standards*. NCCLS Document M38-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
- [19] J. Luo, J. Genco, B. Cole, R. Fort, *BioResources* **2011**, 6, 4566.
- [20] L. Pandochi, *Estudo do comportamento coloidal de suspensão de fibra de celulose, carbonato de cálcio, amido catiônico: variação da força iônica e do pH* [dissertação]. Araraquara, SP. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química 2009.
- [21] Z.-H. Liu, N. Hao, S. Shinde, Y. Pu, X. Kang, A. J. Ragauskas, J. S. Yuan, *Green Chem.* **2019**, 21, 245.
- [22] J. Zhou, J. Tong, X. Su, L. Ren, *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, 91, 1186.
- [23] A. García, A. Toledano, M. A. Andrés, J. Labidi, *Process Biochem.* **2010**, 45, 935.
- [24] M. R. V. Bertolo, L. B. B. Paiva, V. M. Nascimento, C. A. Gandin, M. O. Neto, C. E. Driemeier, S. C. Rabelo, *Ind. Crop. Prod.* **2019**, 140, 111591.
- [25] A. Garcia, M. G. Alriols, G. Spigno, J. Labidi, *Biochem. Eng. J.* **2012**, 67, 173.
- [26] L. Dong, L. Yin, Q. Xia, X. Liu, X.-Q. Gong, Y. Wang, *Catal. Sci. Technol.* **2018**, 8, 735.
- [27] S. E. Klein, A. Alzagameem, J. Rumpf, I. Korte, J. Kreyenschmidt, M. Schulze. *Coatings* **2019**, 9, 44.

## ARTIGO 2

### BLENDAS BIOPOLIMÉRICAS ATIVAS DE AMIDO TERMOPLÁSTICO E MICROPARTÍCULA DE LIGNINA

**Artigo redigido conforme norma da revista *Packaging Technology and Science* “Versão Preliminar”**

#### RESUMO

Os filmes de amido possuem baixa resistência mecânica, alta permeabilidade a gases e água. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da incorporação de micropartículas de lignina ultrassonicada (0%, 1%, 2%, 4% e 6%) em filmes de amido termoplástico em diferentes propriedades, além da capacidade antimicrobiana e antioxidante. Pela avaliação estrutural por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier foi observada um aumento de aglomerados e menor interação entre os polímeros com o aumento da concentração de micropartículas. As micropartículas de lignina ultrassonicadas aumentou a temperatura *onset* e máxima dos picos dos filmes, indicando maior resistência térmica. Os filmes com as micropartículas se tornaram mais frágeis e quebradiços devido às fraturas provocadas pelas aglomerações, a solubilidade aumentou e a permeabilidade ao vapor de água não foi alterada. Devido à cor marrom, os filmes com as micropartículas tiveram uma diminuição na transparência, o que proporcionou uma proteção maior contra a luz UV visível. A atividade antioxidante aumentou com o aumento da concentração das micropartículas de lignina (1%, 2%, 4% e 6%), entretanto, não detectou-se nenhum efeito antimicrobiano contra bactérias gram-positiva, gram-negativa e fungo avaliado. Os filmes com a incorporação das micropartículas de lignina tiveram um aumento na resistência térmica, apresentaram atividade antioxidante e barreira a luz UV visível. Somente os filmes com 1 e 2% de MPLU não foram prejudicados nas propriedades mecânicas, podendo estes serem utilizados como controle de oxidação em alimentos.

**Palavra-chave:** Biodegradável. Polímero Renovável. Embalagem Ativa.

## 1 INTRODUÇÃO

Os polímeros sintéticos, a base de petróleo, são muito usados nas indústrias de embalagem. No entanto, demoram muito tempo para serem degradados no meio ambiente, o que traz grandes problemas ambientais. Com isso, é importante encontrar substitutos para esses polímeros, especialmente para embalagens de curto prazo e aplicações descartáveis.<sup>1</sup>

Os filmes biodegradáveis podem reduzir os problemas ambientais associados às embalagens de alimentos. Normalmente produzidos de fontes renováveis e de baixo custo com amido, celulose, lignina, quitosana, isolado proteico de soja.<sup>2</sup>

O amido é um dos principais recursos renováveis que está sendo estudado para a produção de filmes. É um carboidrato polimérico constituído por duas principais macromoléculas, a amilose (cadeia linear) e a amilopectina (altamente ramificada).<sup>3,4</sup> Por causa das unidades monoméricas rígidas e um alto número de ligações de hidrogênio, o amido puro é quebradiço. Para obter um material mais resistente e dúctil que possa ser processado como os termoplásticos convencionais, realiza-se o rompimento do amido com a adição de plastificante a elevada temperatura e ação mecânica, um processo conhecido como “gelatinização”, o qual desestrutura os grãos e regiões semicristalinas do amido nativo. Com as condições adequadas resultará em um material amorfo homogêneo conhecido como amido termoplástico.<sup>4,5,6,7</sup>

Entretanto, os filmes de amido possuem baixa resistência mecânica, alta permeabilidade a gases e água.<sup>8</sup> Estudos envolvendo a adição de outros polímeros e agentes de reforço com a finalidade de melhorar estas propriedades tais como, celulose,<sup>9,10</sup> fibra de coco,<sup>11</sup> quitosana,<sup>12,13</sup> pectina,<sup>14</sup> poli acetato de vinila (PVA)<sup>15</sup> têm sido encontrados na literatura.

A lignina é um polímero fenólico amorfo de estrutura complexa, encontrado nas paredes celulares das plantas, resultante da copolimerização de três monômeros fenilpropanóides, álcoois de coniferil, sinapil e  $\rho$ -coumaril, conectados via carbono-carbono e ligações éter.<sup>16</sup> Devido à presença de grupos funcionais em sua estrutura, a lignina possui propriedades antioxidante e antimicrobiana. Além disso, quando adicionada a uma matriz polimérica, melhora as propriedades mecânicas e térmicas. Recentemente vários estudos têm explorado as propriedades da lignina em diferentes matrizes poliméricas como, por exemplo, isolado proteico de soro de leite,<sup>17</sup> ácido polilático (PLA),<sup>18,19</sup> poli acetato de vinila (PVA),<sup>20</sup> glúten de trigo,<sup>2</sup> poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxicvalerato)(PHBV),<sup>21</sup> proteína isolada de soja,<sup>22</sup> amido.<sup>23</sup>

Devido aos poucos estudos com utilização de micropartículas de lignina ultrassonicada em matrizes amiláceas, sendo ambos materiais a serem valorizados, o objetivo deste estudo é

avaliar a eficiência de micropartículas como agente de reforço, atividade antioxidante e antimicrobiana na elaboração de filme biodegradável com propriedades ativas.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Para a elaboração dos filmes foi utilizado o amido, doado pela empresa Cassava S/A; o glicerol fornecido pela empresa Sigma-Aldrich. A lignina isolada de licor negro Kraft, doada pelo Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Bioativos e soluções Tecnológicas da Universidade Federal de Viçosa (Campus Rio Paranaíba). Demais reagentes foram comprados: glicerol (Sigma-Aldrich), metanol (Vetec), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH - Sigma Aldrich), caldo Heart and Brain Infusion (BHI, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), caldo Tryptic Soy (TSB, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), Malt Extract Agar (MEA, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), Tween 80 (Synth, Diadema, SP, Brasil), Agar Mueller Hinton (Kasvi, Pinhals, PR, Brasil).

### **2.2 Métodos**

#### **2.2.1 Síntese da micropartícula de lignina (MPLU)**

As micropartículas de lignina ultrassonicada (MPLU) foram obtidas de acordo com a metodologia descrita por Gomide et al.,<sup>17</sup> produzidas a partir de uma suspensão aquosa de lignina na concentração de 0,7% que foi submetida por 60 minutos em banho de gelo e ultrassonicação (Sonifier Cell Disruptor Branson, Modelo 450D, Manchester, UK) a frequência de 20 kHz, força de 400 W e amplitude de 100%. O total de 60 minutos foi contabilizado em quatro tempos de 15 minutos alternados por 10 minutos de repouso. Antes da sonicação, o pH da solução foi ajustado para 2,0 com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 M). Em seguida, foram submetidas à estufa a 60°C por 24 horas. As micropartículas ultrassonicada foram reservadas para serem dispersas nos filmes de amido termoplástico em diferentes concentrações (1%, 2%, 4% e 6%).

#### **2.2.2 Planejamento experimental e elaboração dos filmes**

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições, variando-se a concentração de MPLU (0%, 1%, 2%, 4% e 6% p/p em relação a peso do amido),

denominados como L0, L1, L2, L4 e L6. Estas partículas foram adicionadas em suspensões de amido modificado a 3% (m/v) e 20% de glicerol (m/m) de glicerol em relação à massa de amido. As suspensões foram agitadas em agitador magnético a 750 rpm sob aquecimento até temperatura de gelatinização do amido (70 °C) e mantida a agitação por mais 5 min nesta temperatura.<sup>24</sup> Em seguida a solução foi vertida em um molde para secagem de todo solvente e obtenção do filme consecutivamente.

### **2.2.3 Condicionamento e espessura**

Após a retirada dos filmes das placas, os mesmos foram condicionados a  $23 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $50 \pm 5\%$ , respectivamente, durante 48 horas antes do início das análises.<sup>25</sup> A espessura média dos filmes foi medida em 15 pontos distintos, utilizando-se micrômetro digital Mitutoyo (precisão 0.01 mm; Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil).

### **2.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A análise morfológica foi feita por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada no microscópio LEO EVO 40 XVP (*Zeiss*, Cambridge, Inglaterra), com voltagem de aceleração de 18,59 kV. As amostras em pó foram fixadas em *stubs* por meio de fita adesiva dupla face de carbono, e revestidas por banho de ouro sob metalização a-vácuo.

### **2.2.5 Espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para obter informações dos grupos funcionais presentes nos filmes. As análises de FTIR foram realizadas no instrumento Spectrometers Varian 600-IR Series (California, United States), com acessório Gladi ATR acoplado da PIKE technologies para análises por ATR e com cristal de diamante. A faixa espectral será de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com número de escaneamentos igual a 32 e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### **2.2.6 Análise termogravimétrica (TGA)**

A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada para estudar a estabilidade térmica dos filmes, utilizando-se instrumento DTG60H (SHIMADZU, Kyoto, Japan) sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50mL / min, aquecimento de 25 a 500°C, razão de aquecimento de 10 °C/min.

### **2.2.7 Propriedade mecânica (perfuração, tração e deformação)**

As análises de perfuração e tração foram realizadas em Analisador de Textura Stable Micro Systems (modelo TA-XT2, Inglaterra), com célula de carga de 1 kN. Para a análise de perfuração, as amostras dos filmes foram cortadas em quadrados de 3x3 cm, submetidas às medidas de espessura em 4 pontos distintos e fixadas em um suporte metálico com orifício central para passagem da sonda de forma perpendicular. Os parâmetros que foram utilizados durante o teste foram: sonda esférica de 5,0 mm de diâmetro (sonda A/TG), velocidade de deslocamento da sonda de 0,8 mm/s e distância percorrida após tocar a amostra de 1 cm. Para cada tratamento foram analisados 15 corpos de prova.<sup>26</sup> A resistência à perfuração/espessura (RP, N/mm) foi calculada por meio da divisão do valor da força máxima obtida no ponto de ruptura pela espessura do filme, com o objetivo de eliminar o efeito da variação da espessura sobre os resultados. Já a deformação (D, mm) foi determinada por meio do ponto de ruptura dos corpos de prova.

Para o teste de tração, as amostras foram cortadas em tiras de 10x1,5 cm; medidas as espessuras em 4 pontos distintos e fixadas no suporte da sonda pelas duas extremidades. Os parâmetros que foram utilizados durante a análise foram: separação inicial entre as garras de 50 mm e velocidade de deslocamento de 0,8 mm/s. Para cada tratamento foram analisados 15 corpos de prova.<sup>27</sup> A resistência máxima à tração (RT, MPa) foi calculada pela divisão da força máxima pela seção transversal do corpo de prova. A porcentagem de alongamento na ruptura (ALR) foi calculada pela relação entre o alongamento do corpo de prova e seu comprimento inicial. Para o módulo de elasticidade (ME, MPa) traçou-se uma tangente à curva tensão de tração x deformação na região linear (região elástica), calculando-se a razão entre a tensão e a deformação correspondente.<sup>28</sup>

### 2.2.8 Solubilidade dos filmes

A solubilidade dos filmes em água foi determinada por meio da porcentagem de matéria solúvel da amostra de biofilme, segundo Gontard e Guilbert,<sup>29</sup> com algumas modificações. As amostras foram cortadas em quadrados de 3x3 cm e colocadas em estufa de secagem por 24 horas a 105 °C, com posterior resfriamento e pesagem. Em seguida, cada corpo de prova foi mergulhado em 50mL de água destilada e mantidos sob agitação a 100 rpm, a 25°C por 24 horas. Após este período, as amostras foram novamente secas sob as mesmas condições utilizadas inicialmente e pesadas. A solubilidade dos filmes em água foi então determinada conforme Equação 1.

$$\text{Solubilidade (\%)} = ((M_{\text{inicial}} - M_{\text{final}})/M_{\text{inicial}}) \times 100 \quad (1)$$

Onde:  $M_{\text{inicial}}$  é a massa (g) da amostra seca no início da análise e  $M_{\text{final}}$  é a massa (g) no final da análise.

### 2.2.9 Permeabilidade a vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi realizada pelo método gravimétrico. Os corpos de prova de cada tratamento foram cortados em discos de 1cm de diâmetro e fixados em cápsulas contendo sílica-gel em seu interior. Estas foram acondicionadas em dessecadores com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e umidade relativa de  $75 \pm 3\%$  sob temperatura de  $23 \pm 1$  °C. Após a montagem das cápsulas, realizou a pesagem em intervalos de 1 hora durante 8 horas para se obter o ganho de massa relacionado à transferência de vapor de água através do filme.<sup>30</sup> A taxa de permeabilidade ao vapor de água e a permeabilidade ao vapor de água foram calculadas segundo as Equação 2 e 3, respectivamente:

$$\text{TPVA} = G/(t \cdot A) \quad (2)$$

Onde: TPVA é a taxa de permeabilidade ao vapor de água (g água/ (m<sup>2</sup>. dia)); G/t é o coeficiente angular da reta (g água/dia) e A é a área de permeação do corpo de prova (m<sup>2</sup>).

$$\text{PVA} = \text{TPVA} \cdot e/(\rho_s (\text{UR}_1 - \text{UR}_2)) \quad (3)$$

Onde: PVA é a permeabilidade ao vapor de água (g m<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>); TPVA a taxa de permeabilidade ao vapor de água;  $e$  é a espessura média do corpo de prova (μm);  $\rho_s$  a pressão de saturação de vapor de água à temperatura de ensaio (2809 KPa);  $\text{UR}_1$  umidade relativa da câmara e  $\text{UR}_2$  umidade relativa do interior da cápsula.



### 2.2.10 Propriedades óticas do filme

Os parâmetros que foram obtidos pela análise de cor serão:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e índice de saturação ( $C^*$ ), calculando através da fórmula:  $C^* = [(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$ . A análise de cor dos filmes foi realizada utilizando um colorímetro espectrofotométrico modelo CM-700 (Kônica Minolta, Japão), com fonte de luz D65, ângulo observador de  $10^\circ$  e reflectância especular incluída (SCI). As leituras foram realizadas com os filmes sobrepostos em papel de coloração branca.

A transparência dos filmes foi medida em espectrofotômetro Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália) a 600nm, retirando-se a medida de porcentagem de transmitância (%T), segundo ASTM D1746-03.<sup>31</sup> Os filmes foram cortados em pedaços de 3x1 cm e fixados de forma a permitir que o feixe do equipamento atravessasse os corpos de prova sem nenhum obstáculo. A transparência (T) foi calculada de acordo com a Equação 4:

$$T = (\text{Log \%T}) / \delta \quad (4)$$

Onde:  $\delta$  é a espessura do filme (mm).

### 2.2.11 Atividade antioxidante

Para o método de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 0,2 g de filme foi cortado em pequenos pedaços e misturados com 2 mL de metanol 80% .A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 3 min e permaneceu em repouso a temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, as misturas foram agitadas novamente por 3 min em Vortex. Uma alíquota do extrato metanólico foi adicionada com 3,9 mL de DPPH a 0,1 mM em metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 1 min e deixada em repouso no escuro por 30 min e 60 min. A absorbância foi medida a 517 nm usando um espectrômetro (SPECTROPHOTOMETER SP 2000UV, Monza, Italy). O metanol 80% com DPPH 0,1 mM foi utilizado como controle. A atividade sequestradora de radicais foi calculada de acordo com a Equação 3:<sup>32</sup>

$$\text{RSA (\%)} = ((A \text{ amostra} - A \text{ controle}) / A \text{ controle}) \times 100 \quad (5)$$

Onde:

*A controle*: Absorbância da solução DPPH sem a amostra.

*A amostra*: Absorbância da amostra com DPPH.

### 2.2.12 Ação antimicrobiana

#### 2.2.12.1 Soluções de MPLU em DMSO

Foi realizado soluções de MPLU nas concentrações de 1%, 2%, 4% e 6% (m/v) em dimetilsulfóxido (DMSO) para a realização da análise.

### **2.2.12.2 Microrganismos e condições de cultura**

As bactérias e os fungos estudados, *Escherichia coli* (EPEP055), *Staphylococcus aureus* (ATCC13565) e *Aspergillus niger* (CCDCA10462) foram obtidas da Coleção de Cultura de Microrganismos do Laboratório de Micotoxinas e Micologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

As cepas bacterianas (cepas-mãe) foram armazenadas em meio de congelamento contendo glicerol (15%), peptona (5 g L<sup>-1</sup>), extrato de levedura (3 g L<sup>-1</sup>), NaCl (5 g L<sup>-1</sup>), pH 7.2 ± 7.4; em freezer sob refrigeração a -4 °C. A ativação das bactérias foi realizada repicando-se a cepa em 5 mL de caldo Heart and Brain Infusion (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após a ativação, uma alíquota desse meio foi transferida para um tubo contendo caldo Tryptic Soy (TSB) até alcançar turbidez de referência de uma solução-padrão McFarland de 0.5 resultando numa solução de cultura de 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. A turbidez foi ajustada em um intervalo de 0.08 a 0.1 Å utilizando-se um espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) a 625 nm.<sup>33</sup>

Cada espécie de fungo foi cultivada em placas de Petri contendo Malt Extract Agar (MEA) a 25 ° C por 7 dias em uma BOD. Após o período de incubação, a suspensão de esporos de fungos foi preparada em água destilada estéril contendo 1% de Tween 80. Uma câmara de Neubauer (Sigma, São Paulo, Brasil) foi usada para determinar a contagem de esporos que foi ajustada para 10<sup>6</sup> esporos mL<sup>-1</sup>.

### **2.2.12.3 Teste de difusão em ágar**

A metodologia aplicada foi o teste de disco-difusão em ágar, conforme o método Kirby-Bauer descrito na norma M2-A8 da NCCLS<sup>33</sup> para bactérias e M38-A da NCCLS<sup>34</sup> para fungos. Os testes foram realizados em triplicata.

Para avaliar o efeito antibacteriano, 100 µL do inóculo (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) foi espalhado com o auxílio da alça de Drigalski na superfície de uma placa contendo Agar Mueller Hinton. Foram colocados na superfície discos de papel filtro (5mm de diâmetro) e adicionado aos discos 10 µL da suspensão de micropartículas de lignina nas concentrações de 1, 2, 4 e 6%. No teste usando os filmes de amido com lignina nas concentrações de 0, 1, 2, 4 e 6%, estes foram adicionados diretamente na superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas em BOD

a 37°C por 24 horas. Após este período foi analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o tamanho de cada halo.

Para testar o efeito antifúngico, 100 µL da suspensão de esporos ( $10^6$  esporos mL<sup>-1</sup>) foi transferido para a placa de Petri contendo MEA, pela técnica de espalhamento de superfície com auxílio da alça de Drigalski. Foram colocados na superfície da placa, discos de papel-filtro estéreis de 5 mm de diâmetro embebidos com 10µL da suspensão de MPLU nas concentrações de 1, 2, 4 e 6%. No teste com os filmes de amido com MPLU nas concentrações de 0, 1, 2, 4 e 6%, estes foram adicionados diretamente ao meio de cultura com os fungos. As placas foram incubadas em BOD à 25°C por 72 horas. Após este período foi analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o tamanho de cada halo.

### **2.2.13 Análise Estatística**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os resultados de espessura (mm), solubilidade (%), RP (Mpa), D (mm), RT (Mpa), ALR (%), ME (MPa), PVA ( $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ), propriedades ópticas e atividade antioxidante foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software SISVAR,<sup>35</sup> com  $p < 0,05$  e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Turkey. Para os resultados de MEV, FTIR, TGA e atividade antimicrobiana foram realizadas análises descritivas.

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Observa-se que os filmes são heterogêneos, e que há separação de fases provocada pelas aglomerações de MPLU que não solubilizaram na solução de amido, tendo como consequência, defeitos, como, por exemplo, poros, protuberância, saliência, que aumentam gradativamente com o aumento da concentração de MPLU (Figura 1). Esta separação de fase entre os polímeros é devido à diferença química entre eles. O amido é polar e hidrofílico, já as MPLU são apolares e hidrofóbicas. Porém, percebe-se que a uma pequena interação entre eles, provavelmente provocada pela formação de pontes de hidrogênio entre os grupos carboxila presentes nas MPLU e as hidroxilas do amido. Entretanto, essas interações reduzem à medida que a concentração de MPLU aumenta na matriz, promovendo assim os defeitos demonstrados na Figura 1.<sup>23,36</sup>

Além disso, interações entre os polímeros é afetada pela estrutura complexa da MPLU, sua forma de extração e sua origem, que varia a quantidade de grupos funcionais presentes para reação que em pequena quantidade podem proporcionar interações fracas entre os polímeros.<sup>19,23,37</sup>

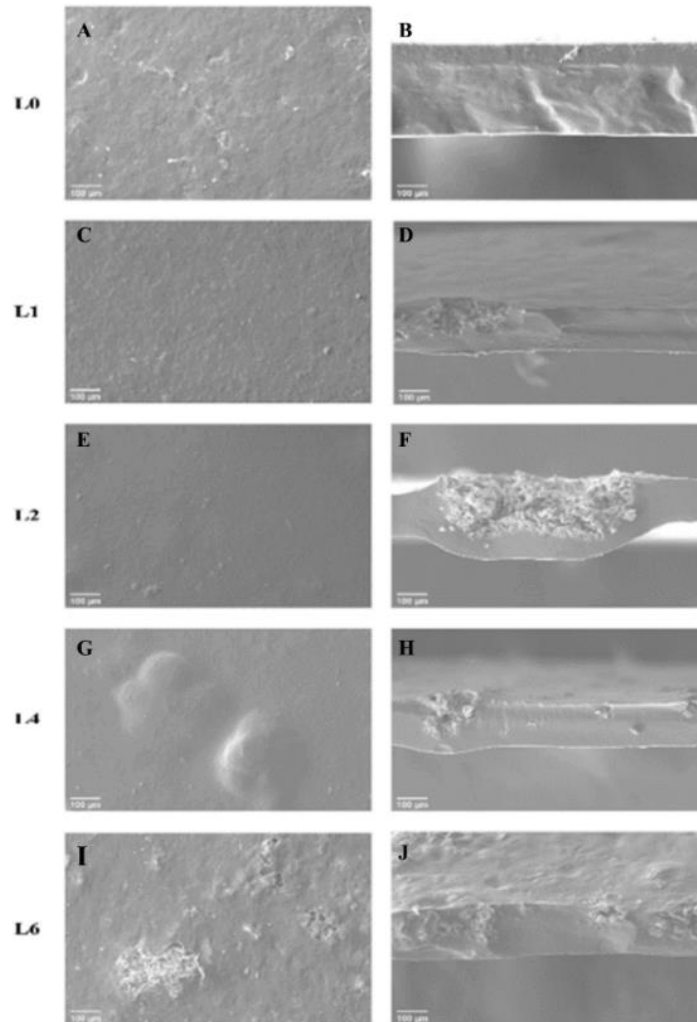


Figura 1 - Micrografias de superfícies (a, c, e, g, i) e sessão transversal (b, d, f, h, j) dos filmes de amido termoplástico com MPLU nas concentrações de 0% (L0), 1% (L1), 2% (L2), 4% (L4) e 6% (L6).

### 3.2 Espectroscopia na região de infravermelho (FTIR)

A espectroscopia é uma ferramenta essencial para analisar a mudança de interação das blendas. De uma forma geral (Figura 2), pode-se observar que o filme sem MPLU (L0) e os filmes com MPLU (L1, L2, L4 e L6) apresentam bandas em números de onda semelhantes. Entretanto, as bandas das amostras contendo MPLU resultaram em um aumento da intensidade

com o aumento da concentração de MPLU no filme em relação ao filme de amido termoplástico sem MPLU.

O espectro da amostra L0 possui bandas características do amido termoplástico, sendo elas, em  $3296\text{ cm}^{-1}$  associado ao estiramento do grupo OH relacionado ao amido, glicerol e água. As bandas  $2936\text{ cm}^{-1}$  e  $2861\text{ cm}^{-1}$  estão associadas às vibrações de estiramento C-H dos grupos alifáticos do esqueleto de hidrocarbonetos do amido, glicerol-amido. A banda em  $1645\text{ cm}^{-1}$  corresponde às interações de hidroxila, água absorvida na região amorfa. Em  $1421\text{ cm}^{-1}$  há a banda característica de glicerol, em  $1380\text{ cm}^{-1}$  encontra-se a banda relacionada às vibrações C-O de álcool ou grupo éter do glicerol e carboidratos do amido. Em  $1157\text{ cm}^{-1}$  temos a banda da ligação C-O-C associada a ligações glicosídicas  $\alpha$  1,4; em  $1089\text{ cm}^{-1}$  temos ligações C-O-C do anel glicopiranosose. Já em  $1028\text{ cm}^{-1}$  e  $940\text{ cm}^{-1}$  temos bandas relacionadas ao estiramento C-O e as ligações C-O-C, respectivamente. Finalmente, o anel glicopiranosose possui absorção característica na banda em  $865\text{ cm}^{-1}$ .<sup>11,38,39,40,41,42</sup>

Após a adição da MPLU, foi observado um deslocamento do pico -OH, sugerindo a formação de uma interação entre o amido termoplástico e a MPLU. Foi observado uma banda ampla de absorção localizada em  $3275\text{ cm}^{-1}$ , com um deslocamento de  $21\text{ cm}^{-1}$  em comparação com o filme L0 ( $3296\text{ cm}^{-1}$ ). Estas alterações são atribuídas às interações entre os grupos -OH e carbonila da MPLU e amido termoplástico através das ligações de hidrogênio. Esta hipótese pode ser provada pela mudança na absorção do pico em  $1754\text{ cm}^{-1}$  (L0) para  $1727\text{ cm}^{-1}$  nos filmes com MPLU, no qual está associado ao pico típico da estrutura éster carbonil (-C=O), mostrando um comportamento semelhante ao da banda de -OH. Isto indica também a formação de interações entre os grupos -C=O da MPLU e -OH do amido termoplástico.<sup>20,43,44,45</sup>

Houve um aumento gradativo das intensidades dos picos em relação ao aumento da concentração da MPLU, o que pode ser atribuído à redução da interação entre o amido termoplástico e a micropartícula de lignina.<sup>22</sup> Em consequência, observou que as MPLU interagiram parcialmente com o amido termoplástico e que quanto maior a sua concentração menor foi sua interação, devido a maior aglomeração das MPLU com o aumento da sua concentração. Esses resultados corroboram com os obtidos na microscopia eletrônica de varredura demonstrada na Figura 1.

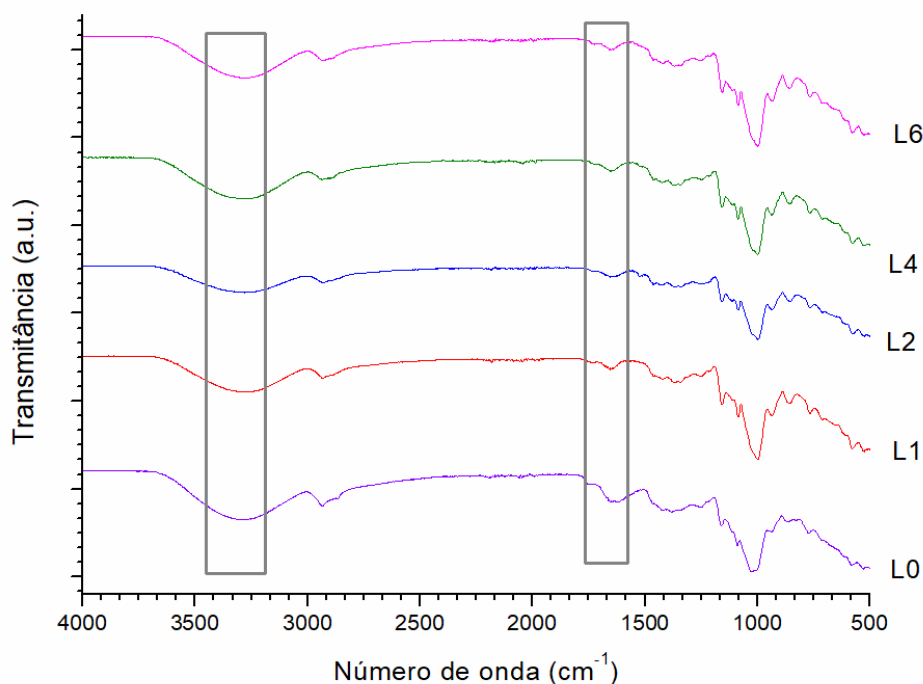


Figura 2 - Análise de FTIR dos filmes de amido termoplástico com adição de MPLU.

### 3.3 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas de TG e DTG dos filmes foram realizadas na intenção de avaliar o efeito das MPLU no comportamento de degradação e estabilidade térmica do amido termoplástico, na qual é demonstrada das Figura 3a e 3b e Tabela 1. Ao analisar o gráfico de DTG na Figura 3b, percebe-se que há dois picos em ambas as amostras, o primeiro em torno de 80°C está relacionado com a volatilização da água e do glicerol e o segundo pico está relacionada à degradação do amido e da lignina em torno de 300°C de acordo com o demonstrado na Tabela 1.<sup>43,46</sup>

A temperatura onset (*T<sub>onset</sub>*) e a temperatura máxima (*T<sub>max</sub>*) dos picos subiram gradativamente com o aumento da concentração de MPLU incorporadas nos filmes de amido termoplástico indicando a melhora na estabilidade térmica destes filmes. Esta melhora térmica é devido à presença de compostos aromáticos na estrutura da MPLU.<sup>23</sup>

Ao ser analisada a perda de massa na Tabela 1, observa-se que a mesma aumentou com a adição de lignina nas concentrações de 1, 2 e 4 %. Esses valores são coerentes com os resultados de *T<sub>onset</sub>* e *T<sub>max</sub>*, nos quais a adição de lignina aumentou a estabilidade térmica.<sup>23,37</sup> Contudo na amostra contendo 6% de lignina (L6), a perda de massa foi praticamente igual à

perda da amostra sem lignina (L0). Isto se deve aos danos provocados pelos aumentos das aglomerações de MPLU na matriz de amido termoplástico (Figura 1) facilitando a degradação do polímero. Essas aglomerações foram provocadas pela diferença de estrutura química entre os materiais.<sup>37,47</sup>

Contudo, observa-se que ocorre a interação entre o amido termoplástico e a MPLU através das ligações de hidrogênio entre os grupos ésteres carbonil da MPLU e hidroxilas do amido termoplástico, entretanto estas interações diminuem com o aumento da concentração de MPLU na matriz de amido termoplástico. Este fenômeno também é visualizado na microscopia eletrônica de varredura (Figura 1) e FTIR (Figura 2).<sup>23,37,47</sup>

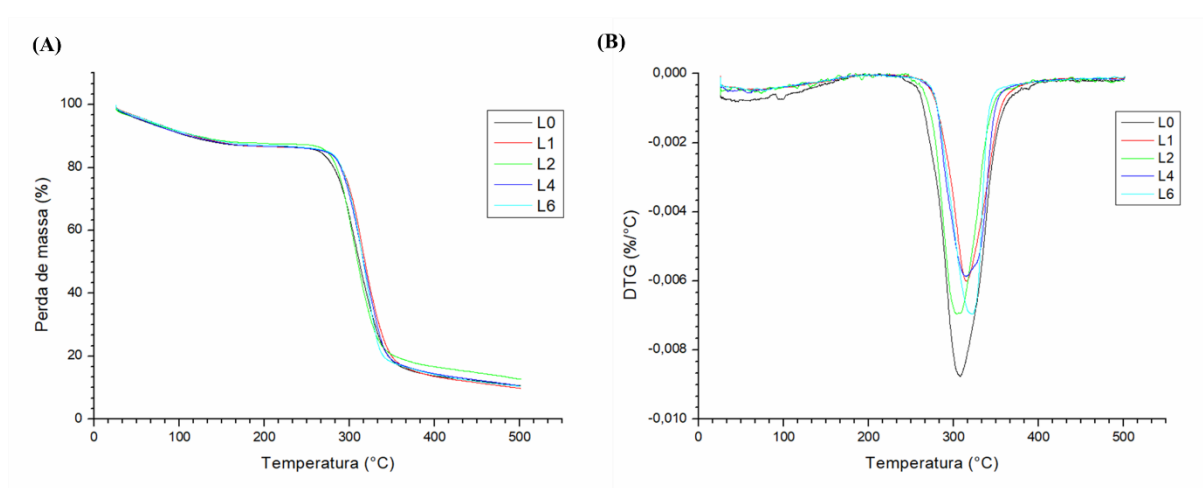


Figura 3 - Análise Termogravimétrica dos filmes de amido termoplástico com MPLU.

Tabela 1 - Parâmetros térmicos dos filmes de amido termoplástico com MPLU.

| Filmes | T onset (°C) | Tmax (°C)* | Perda de massa (%) |
|--------|--------------|------------|--------------------|
| L0     | 226          | 306,98     | 89,36              |
| L1     | 243          | 311,06     | 94,06              |
| L2     | 244          | 312,40     | 91,12              |
| L4     | 253          | 314,92     | 92,51              |
| L6     | 254          | 319,26     | 89,61              |

\*Temperatura máxima do pico máximo.

### 3.4 Propriedades mecânicas

De modo geral (Tabela 2) houve redução nas propriedades mecânicas de filmes adicionados de MPLU, notadamente para alongamento na ruptura, resistência a tração e resistência a punctura, em que, chega a perder 57%, 62% e 84,4% respectivamente. Em relação ao ME até níveis de 2% de MPLU (L1 e L2) não prejudicou essa propriedade. A redução dos

valores das propriedades mecânicas pode ser justificada pela diferença química entre o amido termoplástico (polar e hidrofílico) e a MPLU (apolar e hidrofóbico), provocando separação de fases, aglomerações de micropartículas em determinados pontos que aumentam de acordo com o aumento da concentração de MPLU, provocando danos aos filmes, como é demonstrado nos resultados de análise microscopia eletrônica de varredura (Figura 1) e FTIR (Figura 2).<sup>37,47</sup> Outra hipótese é que devido a quantidade de MPLU utilizada promoveu-se fracas interações entre os grupos funcionais presentes na MPLU e amido termoplástico e que o glicerol (polar) utilizado como plastificante não foi suficiente para tolerar a incompatibilidade das blendas devido à alta quantidade de MPLU que são hidrofóbicas.<sup>23</sup>

Tabela 2 - Propriedades mecânicas de amido termoplástico e com diferentes concentrações de micropartícula de lignina.

| Filmes    | RT (MPa)                 | ME (MPa)                  | ALR (%)                  | RP (N/mm)                   | D (mm)                   |
|-----------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| <b>L0</b> | 2,04 ± 0,78 <sup>a</sup> | 1,04 ± 0,16 <sup>a</sup>  | 4,59 ± 3,03 <sup>a</sup> | 127,2 ± 49,77 <sup>a</sup>  | 1,53 ± 0,68 <sup>a</sup> |
| <b>L1</b> | 1,42 ± 0,52 <sup>a</sup> | 0,76 ± 0,22 <sup>ab</sup> | 2,41 ± 0,29 <sup>a</sup> | 46,82 ± 21,48 <sup>ab</sup> | 0,84 ± 0,40 <sup>a</sup> |
| <b>L2</b> | 1,13 ± 0,32 <sup>a</sup> | 0,69 ± 0,02 <sup>ab</sup> | 2,26 ± 0,88 <sup>a</sup> | 38,59 ± 9,45 <sup>b</sup>   | 0,75 ± 0,34 <sup>a</sup> |
| <b>L4</b> | 0,89 ± 0,31 <sup>a</sup> | 0,56 ± 0,07 <sup>b</sup>  | 1,99 ± 0,62 <sup>a</sup> | 27,79 ± 13,29 <sup>b</sup>  | 0,66 ± 0,27 <sup>a</sup> |
| <b>L6</b> | 0,78 ± 0,39 <sup>a</sup> | 0,48 ± 0,11 <sup>b</sup>  | 1,99 ± 0,54 <sup>a</sup> | 19,85 ± 5,96 <sup>b</sup>   | 0,62 ± 0,20 <sup>a</sup> |

Cada valor é a média das repetições com o desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 5\%$ ).

Resultados diferentes foram encontrados por Aqlil et al.<sup>37</sup> ao elaborarem filmes de amido de trigo com 1% de lignina extraída de bagaço de cana de açúcar em que houve um aumento de 32 MPa para 45 MPa para módulo de elasticidade e 3,37 MPa para 3,9 MPa para resistência a tração, entretanto, para a análise de alongamento na ruptura houve uma redução de 21 % para 18%. Yang, Kenny e Puglia<sup>2</sup> ao trabalharem com glúten de trigo e nanopartícula de lignina (3%), extraída de biomassa de bioetanol, também obtiveram resultados positivos, em que houve um aumento no módulo de elasticidade (de 180,5 para 553,2 MPa) e a resistência à tração (de 5,5 para 13,3 MPa) e redução do alongamento na ruptura (de 29,7 para 28%) com o aumento da concentração de nanopartículas de lignina.

A diferença nos resultados obtidos pelos autores Aqlil et al.<sup>37</sup> e Yang, Kenny e Puglia<sup>2</sup> está diretamente relacionada ao tipo de amido, à quantidade de lignina utilizada, à variedade, ao pH utilizado e ao tamanho da partícula, que proporcionam maior quantidade dos grupos funcionais disponíveis para interagir com a matriz amilácea por meio principalmente das ligações de hidrogênio.



### 3.5 Espessura, Solubilidade dos filmes, Permeabilidade a vapor de água (PVA)

A espessura é um parâmetro que influencia a barreira ao vapor de água e na solubilidade dos filmes. A espessura dos filmes aumenta com o aumento da concentração de MPLU (Tabela 3). Porém, isso não melhorou as propriedades de PVA e solubilidade dos filmes, provavelmente devido à diminuição das ligações de hidrogênio entre o amido termoplástico e as MPLU, provocando assim lacunas na rede polimérica e fraca adesão interfacial provocada pela incompatibilidade entre os polímeros.<sup>48,49</sup>

A análise de solubilidade é um importante parâmetro para definir a qual tipo de alimento o filme pode ser aplicado, líquido ou sólido, de alto ou baixo teor umidade. Deste modo, pode ser observado na Tabela 3 que a solubilidade dos filmes de amido termoplástico aumenta com a maior concentração de MPLU. Isso é justificado pela presença de defeitos, como rachaduras e poros nos filmes (Figura 1), devido à aglomeração da lignina no filme de amido. Este efeito é aumentado, quanto maior for a concentração de micropartículas nos filmes, facilitando assim a difusão das moléculas de água na matriz e sua solubilização no meio aquoso.<sup>37</sup>

Tabela 3 - Análise de solubilidade, TPVA e PVA ( $\times 10^{-13}$ ) dos filmes.

| Filmes    | Espessura (mm)        | Solubilidade (%)       | PVA ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$ ) |
|-----------|-----------------------|------------------------|---|
| <b>L0</b> | $0,077 \pm 0,01^a$    | $0,059 \pm 0,013^a$    | $1,83 \pm 0,19^a$   |
| <b>L1</b> | $0,117 \pm 0,01^{ab}$ | $0,080 \pm 0,035^a$    | $2,48 \pm 0,48^a$   |
| <b>L2</b> | $0,112 \pm 0,02^{ab}$ | $0,080 \pm 0,013^a$    | $2,53 \pm 0,85^a$   |
| <b>L4</b> | $0,126 \pm 0,03^{ab}$ | $0,112 \pm 0,025^{ab}$ | $3,08 \pm 0,60^a$   |
| <b>L6</b> | $0,144 \pm 0,02^b$    | $0,187 \pm 0,038^{ab}$ | $2,99 \pm 0,77^a$   |

Cada valor é a média das repetições com o desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 5\%$ ).

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) é uma característica importante a ser avaliada para a substituição de polímeros tradicionais utilizados em embalagens. Convencionalmente, os filmes devem limitar, ou pelo menos reduzir a troca de umidade entre o alimento e o meio ambiente externo, com o objetivo de garantir e preservar qualidade dos alimentos. Para isso é necessário ter um material insolúvel ou de baixa solubilidade em água, ou seja, que tenha caráter hidrofóbico.

As MPLU possuem baixa afinidade com a água, ao contrário do amido que é hidrofílico, e dessa forma esperava-se uma redução na PVA com a incorporação das MPLU. Entretanto, a PVA aumentou com o aumento de concentração de MPLU nos filmes (Tabela 3), o que não é desejável para embalagem. Este resultado pode ser correlacionado com a análise microestrutural (Figura 1) em que se observou formação de poros e aglomerações, que

promoveu uma rede de polímeros menos densa, provocados pela incompatibilidade química entre amido termoplástico e MPLU, o que facilitou a difusão das moléculas de água através da matriz polimérica, tornando os filmes mais permeáveis e mais solúveis em água.<sup>9,37</sup>

No entanto, este resultado contradiz o efeito da tortuosidade, em que a incorporação de partículas impermeáveis em uma matriz polimérica atua como um obstáculo à difusão (aumento o caminho tortuoso), portanto, à permeação de moléculas de água. Porém, isso só ocorre quando há uma boa compatibilidade entre a matriz polimérica e as partículas utilizadas como reforço.<sup>50</sup>

### 3.6 Propriedades ópticas dos filmes

Como evidenciado pela Tabela 4, a transparência dos filmes diminui com o aumento da concentração de MPLU, que são naturalmente marrons escuros, aumentando a capacidade de barreira a luz UV-visível. Semelhantes resultados foram observados por Yang, Kenny e Puglia<sup>2</sup> em bionanocompósito de glúten de trigo com nanopartículas de lignina, e Yang et al.<sup>19</sup> em filmes de PLA com nanocristais de celulose e nanopartículas de lignina.

Tabela 4 - Análise de propriedades óticas dos filmes.

| Filmes | Transparência              | L*                        | a                          | b                          | h°                         | C*                        |
|--------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| L0     | 25,17 ± 2,12 <sup>a</sup>  | 28,94 ± 1,86 <sup>a</sup> | - 0,14 ± 0,04 <sup>a</sup> | - 0,56 ± 0,03 <sup>a</sup> | 255,86 ± 4,01 <sup>a</sup> | 0,58 ± 0,03 <sup>a</sup>  |
| L1     | 17,30 ± 0,67 <sup>ab</sup> | 29,11 ± 1,57 <sup>a</sup> | 0,49 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 1,16 ± 0,28 <sup>ab</sup>  | 66,07 ± 4,57 <sup>b</sup>  | 1,27 ± 0,26 <sup>a</sup>  |
| L2     | 15,80 ± 0,69 <sup>b</sup>  | 28,43 ± 1,72 <sup>a</sup> | 1,26 ± 0,11 <sup>ab</sup>  | 2,38 ± 0,07 <sup>bc</sup>  | 62,06 ± 1,97 <sup>b</sup>  | 2,67 ± 0,11 <sup>ab</sup> |
| L4     | 13,37 ± 1,35 <sup>b</sup>  | 30,11 ± 1,87 <sup>a</sup> | 2,14 ± 0,82 <sup>bc</sup>  | 3,52 ± 1,23 <sup>c</sup>   | 58,78 ± 0,95 <sup>b</sup>  | 4,12 ± 1,48 <sup>bc</sup> |
| L6     | 10,04 ± 1,57 <sup>c</sup>  | 29,58 ± 2,48 <sup>a</sup> | 2,84 ± 0,52 <sup>c</sup>   | 4,59 ± 0,88 <sup>c</sup>   | 58,17 ± 1,03 <sup>b</sup>  | 5,40 ± 1,01 <sup>c</sup>  |

Cada valor é a média das repetições com o desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p < 5%).

Os filmes de amido termoplástico com diferentes concentrações de MPLU apresentaram valores L\* estatisticamente idênticos ao do filme L0, ou seja, todas as amostras apresentaram baixa luminosidade. O valor a\* aumentou de -0,14 ± 0,04 (L0) para 2,84 ± 0,52 (L6) (indicando a tendência para o vermelho); o valor b\* aumentou de -0,56 ± 0,03 (L0) para 4,59 ± 0,88 (L6) (indicando uma tendência para o amarelo). O ângulo hue (h°) diminui de 255,86 ± 4,01 (L0) para 58,17 ± 1,03 (L6) e o croma (C\*) aumentou de 0,58 ± 0,03(L0) para 5,40 ± 1,01 (L6) (Tabela 4). Tais parâmetros caracterizam a coloração dos filmes de amido termoplástico com MPLU como marrom intenso que aumentou gradativamente com o aumento da concentração de MPLU que possui naturalmente uma cor marrom escuro avermelhado. Já o filme de amido termoplástico puro é visualmente incolor como é demonstrado na Figura 4.

Resultados semelhantes foram encontrados por Núñez-Flores et al.<sup>36</sup> em filmes de gelatina com lignina comercial ( $L^* = 25,84$ ,  $a^* = 1,98$  e  $b^* = 1,05$ ) que apresentou uma coloração marrom intensa.

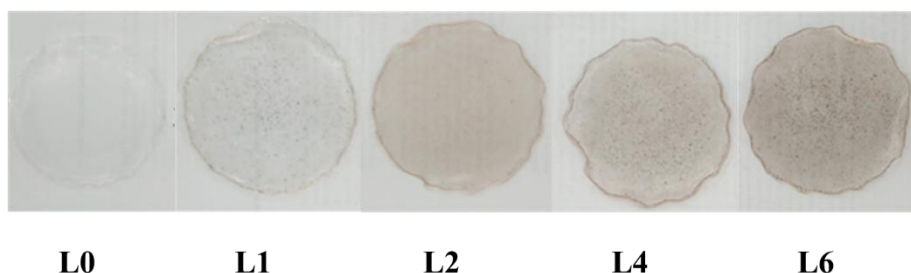


Figura 4: Filmes de amido termoplástico com diferentes concentrações de micropartícula de lignina: L0 (0%), L1 (1%), L2 (2%), L4 (4%) e L6 (6%).

### 3.7 Atividade Antioxidante

A lignina possui grupos funcionais, complexos polifenólicos que proporcionam atividade antioxidante em filmes com propriedades ativas.<sup>36,45,51</sup>

Observa-se na Tabela 5 a resposta antioxidante por migração de substâncias pelas MPLU nos filmes em diferentes concentrações diretamente imersos em solução de metanol por 30 minutos e 60 minutos. A amostra L0 não mostrou atividade antioxidante, como esperado. Quando foi incorporado 1% de micropartículas de lignina, o valor RSA (%) subiu, mas não significativamente. Entretanto, ao adicionar 2% das micropartículas de lignina o resultado aumentou diferenciando-se das amostras de 0 e 1% de MPLU. As amostras L4 e L6 tiveram as melhores respostas de atividade antioxidante, diferenciando-se de todas as outras amostras com menor concentração de micropartículas de lignina. No tempo 30 minutos para 60 minutos é notável um aumento dos valores RSA (%), com a manutenção das diferenças entre amostras. Podendo assim concluir que as amostras L4 e L6 tiveram melhores resultados independentemente do tempo analisado.

Em estudos que avaliaram a atividade antioxidante de nanopartículas de lignina em PVA<sup>45</sup> e em PLA<sup>18</sup> resultados superiores ao presente trabalho foram obtidos, usando uma concentração menor de nanopartículas de lignina. Esta diferença pode ser justificada pela ação antioxidante ser superior com o aumento da área superficial específica. As nanopartículas seriam capazes de sofrer maior dissolução em água e, portanto, os grupos funcionais e hidroxila se tornariam mais biodisponíveis, obtendo assim melhores resultados.<sup>52</sup>

Tabela 5 - Análise de Atividade Antioxidante dos filmes de TPS com micropartículas de lignina.

| Filmes    | RSA (%)                   |                           |
|-----------|---------------------------|---------------------------|
|           | 30 min.                   | 60 min.                   |
| <b>L0</b> | 1,28 ± 0,78 <sup>a</sup>  | 1,88 ± 1,93 <sup>a</sup>  |
| <b>L1</b> | 12,96 ± 2,95 <sup>a</sup> | 13,46 ± 2,90 <sup>a</sup> |
| <b>L2</b> | 39,19 ± 4,53 <sup>b</sup> | 41,62 ± 4,90 <sup>b</sup> |
| <b>L4</b> | 65,90 ± 2,19 <sup>c</sup> | 69,35 ± 2,14 <sup>c</sup> |
| <b>L6</b> | 66,97 ± 7,05 <sup>c</sup> | 70,22 ± 6,49 <sup>c</sup> |

Cada valor é a média das repetições com o desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 5\%$ ).

### 3.8 Atividade Antimicrobiana

Observou-se que as soluções de micropartículas de lignina em DMSO e os filmes com micropartícula de lignina não apresentaram efeito antibacteriano, independentemente da concentração de lignina, contra as bactérias *S. aureus* (gram -positiva) e *E. coli* (gram-negativa), e não tiveram efeito antifúngico contra os fungos *Aspergillus niger* (Figura 5).

Resultado semelhante foi encontrado por Arancibia et al.<sup>22</sup> ao avaliarem os filmes de isolado proteico de soja com 0,6% de lignina alcalina contra leveduras (*Debaryomyces hansenii*) e fungos (*Penicillium expansum* e *Fusarium oxysporum*).

Entretanto, Yang et al.<sup>19</sup> relataram resultados opostos ao avaliarem o efeito positivo de nanopartículas de lignina incorporada em filmes de PLA na concentração de 3% contra bactérias Gram – (*Xanthomonasaxonopodis* pv. *Vesicatoria*, *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni* e *Pseudomonas syringae* pv *tomato*).

Como pôde ser observado, os trabalhos que tiveram efeito positivo contra alguns microrganismos utilizaram a lignina na forma de nanopartículas. A transformação de micropartículas para nanopartículas aumenta a área superficial e por consequência proporciona mudanças nas interações químicas e físicas como, por exemplo, a melhoria da solubilidade e estabilidade das partículas em meio aquoso.<sup>53,54,55</sup>

Além disso, Yang et al.<sup>56</sup> relataram que ao transformar a lignina em nanopartículas, a mudança da estrutura química, pureza e massa molecular promove alteração na estrutura da cadeia lateral e a natureza dos grupos funcionais dos compostos fenólicos nos quais são os principais determinantes do comportamento da atividade antioxidante e antimicrobiana da lignina.

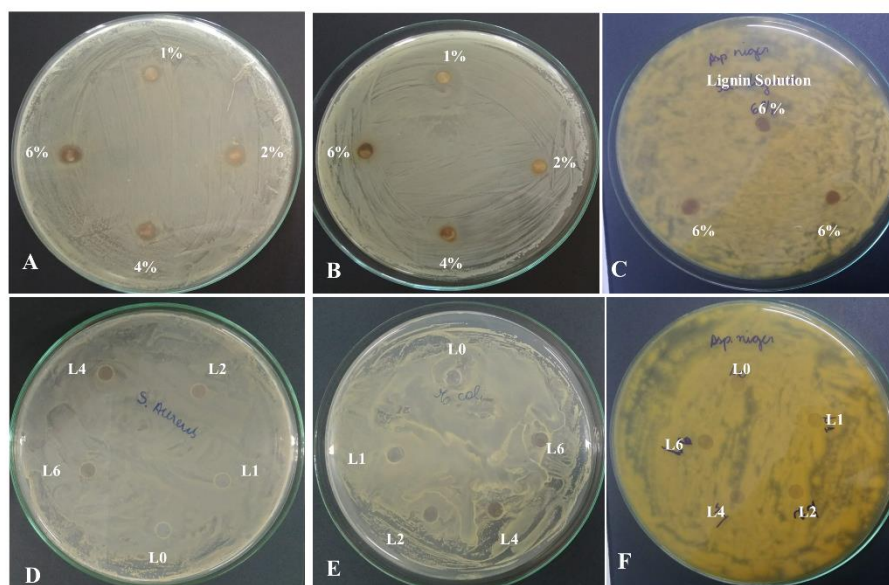


Figura 5 - Resultado da análise microbiológica das soluções de MPLU (A,B,C) e dos filmes de amido termoplástico puro e com micropartícula de lignina (D,E,F). Bactéria gram-positiva (A e D) *Staphylococcus aureus*, bactéria gram-negativa (B e E) *Escherichia coli* e fungo (C e F) *Aspergillus niger*.

#### 4 CONCLUSÃO

Os filmes com a incorporação das micropartículas de lignina tiveram um aumento na resistência térmica, apresentaram atividade antioxidante e barreira a luz UV visível. Somente os filmes com 1 e 2% de MPLU não foram prejudicados nas propriedades mecânicas, podendo estes serem utilizados como controle de oxidação em alimentos. Contudo, para a melhoria das propriedades mecânicas e de permeação ao vapor de água é necessário a utilização de um agente tensoativo na elaboração dos filmes.

## REFERÊNCIAS

1. Schwach E, Averous L. Starch-based biodegradable blends: morphology and interface properties. *Polym Int* 2004; 53: 2115–2124. doi:10.1002/pi.1636.
2. Yang W, Kenny JM, Puglia D. Structure and properties of biodegradable wheat gluten bionanocomposites containing lignin nanoparticles. *Ind Crop Prod* 2015; 74: 348–356. doi:10.1016/j.indcrop.2015.05.032.
3. Domene-Lopez D, Guillén MM, Martín-Gullón I, García-Quesada JC, Montalbán MG. Study of the behavior of biodegradable starch/polyvinyl alcohol/rosin blends. *Carbohydr Polym* 2018; 202:299–305. doi:10.1016/j.carbpol.2018.08.137.
4. Xie F, Flanagan BM, Li M, et al. Characteristics of starch-based films plasticised by glycerol and by the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate: A comparative study. *Carbohydr Polym* 2014; 111: 841–848. doi:10.1016/j.carbpol.2014.05.058.
5. Liu H, Xie F, Yu L, Chen L, Li L. Thermal processing of starch-based polymers. *Prog Polym Sci* 2009; 34: 1348–1368, 2009. doi:10.1016/j.progpolymsci.2009.07.001.
6. Ozeren DH, Olsson RT, Nilsson F, Hedenqvist MS. Prediction of plasticization in a real biopolymer system (starch) using molecular dynamics simulations. *Mater Des* 2020; 187: 108387. doi:10.1016/j.matdes.2019.108387.
7. Wilpiszewska K, Szychaj T. Ionic liquids: Media for starch dissolution, plasticization and modification. *Carbohydr Polym* 2011; 86: 424–428. doi:10.1016/j.carbpol.2011.06.001.
8. Heydari A, Alemzadeh I, Vossoughi M. Functional properties of biodegradable corn starch nanocomposites for food packaging applications. *Mater Des* 2013; 50: 954–961. doi:10.1016/j.matdes.2013.03.084.
9. Babae M, Jonoobi M, Hamzeh Y, Ashori A. Biodegradability and mechanical properties of reinforced starch nanocomposites using cellulose nanofibers. *Carbohydr Polym* 2015; 132: 1–8. doi:10.1016/j.carbpol.2015.06.043.
10. Collazo – Bigliardi S, Ortega-Toro R, Chiralt A. Improving properties of thermoplastic starch films by incorporating active extracts and cellulose fibres isolated from rice or coffee husk. *Food Packag Shelf Life* 2019; 22: 100383. doi:10.1016/j.fpsl.2019.100383.
11. Lomeli-Ramirez MG, Kestur SG, Manríquez-González R, Iwakiri S, Muniz GB, Flores-Sahagun TS. Bio-composites of cassava starch-green coconut fiber: Part II—Structure and properties. *Carbohydr Polym* 2014; 102: 576 – 583. doi:10.1016/j.carbpol.2013.11.020.
12. Bonilla J, Talón E, Atarés L, Vargas A, Chiralt A. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. *J Food Eng* 2013 ; 118 : 271–278. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.04.008.
13. Talón E, Trifkovic KT, Nedovic VA, et al. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydr Polym* 2017; 157:1153–1161. doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.080.

14. Meneguim AB, Cury BSF, Evangelista RC. Films form resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. *Carbohydr Polym* 2014; 90: 140-149. doi:10.1016/j.carbpol.2013.07.077.
15. Sreekumar PA, Haque SKM, Afzal HM, Sadique Z, Al-Haethi MA. Preparation and characterization of microcellulose reinforced polyvinyl alcohol/starch biocomposites. *J Compos Mater* 2019; 53(14): 1933–1939. doi:10.1177/0021998318816437.
16. Kaur R, Uppal SK, Sharma P. Antioxidant and Antibacterial Activities of Sugarcane Bagasse Lignin and Chemically Modified Lignins. *Sugar Tech* 2017; 19(6): 675–680. doi:10.1007/s12355-017-0513-y.
17. Gomide RAC, Oliveira ACS, Rodrigues DAC, et al. Development and Characterization of Lignin Microparticles for Physical and Antioxidant Enhancement of Biodegradable Polymers. *J Polym Environ* 2020; 28: 1326–1334. doi:10.1007/s10924-020-01685-z.
18. Yang W, Fortunati E, Dominici F, et al. Effect of cellulose and lignin on disintegration, antimicrobial and antioxidant properties of PLA active films. *Int J Biol Macromol* 2016b; 89: 360–368. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.04.068.
19. Yang W, Fortunati E, Dominici F, et al. Synergic effect of cellulose and lignin nanostructures in PLA based systems for food antibacterial packaging. *Eur. Polym. J* 2016c; 79: 1–12. doi:10.1016/j.eurpolymj.2016.04.003.
20. HU X-Q, Ye D-Z, Tang J-B, Zhang L-J, Zhang X. From waste to functional additives: thermal stabilization and toughening of PVA with lignin. *RSC Adv*; 2016; 6: 13797–13802. doi:10.1039/c5ra26385a.
21. Camargo FA, Innocentini-Mei LH, Lemes AP, Moraes SG, Durán N. Processing and characterization of composites of poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and lignin from sugar cane bagasse. *J Compos Mater* 2011; 46(4):417–425. doi:10.1177/0021998311418389.
22. Arancibia MY, López-Caballero ME, Gómez-Guillén MC, Montero P. Release of volatile compounds and biodegradability of active soy protein lignin blend films with added citronella essential oil. *Food Control* 2014; 44: 7-15. doi:10.1016/j.foodcont.2014.03.025.
23. Çalgeris I, ÇakmakÇi E, Ogan A, Kahraman MV, Kayaman-Apohan N. Preparation and drug release properties of lignin–starch biodegradable films. *Starch/Starke* 2012; 64: 399–407. doi:10.1002/star.201100158.
24. Soares NDF, Lopes FA, Medeiros EAA, et al. Avaliação de revestimento contendo extrato de mostarda e da sanitização na conservação de batata-baroa. *Revista Ceres* 2007; 54 (314):383-388.  
<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/21042/artigo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Accessed February 25, 2020.
25. ASTM. *Standard practice for conditioning plastics for testing*. ASTM D618-00. ASTM book of standards. Philadelphia, PA: ASTM, 2000.

26. ASTM. *Standard test method for slow rate penetration resistance of flexible barrier films and laminates*. ASTM F1306-90. ASTM book of standards. Philadelphia, PA: ASTM, 2001.
27. ASTM. *Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting*. ASTM D882-02. ASTM book of standards. Philadelphia, PA: ASTM, 2002.
28. Sarantópoulos CIGL, Oliveira LD, Padula M, Coltro L, Alves RM, Garcia EE, eds. *Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades*. 2<sup>th</sup> ed. Campinas: CETEA/ITAL; 2002
29. Gontard N, Guilbert S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: Mathlouthi M. (eds) *Food Packaging and Preservation*. Boston, MA: Springer, 1994, pp. 159-181.
30. ASTM. *Standard test methods for water vapor transmission of materials*. ASTM E96-00. ASTM book of standards. Philadelphia, PA: ASTM, 2002.
31. ASTM. *Standard test method for transparency of plastic sheeting*. ASTM D1746-03. ASTM book of standards. Philadelphia, PA: ASTM, 2003.
32. Byun H, Kim YT, Whiteside S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with  $\alpha$ -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *J Food Eng* 2010;100 (2):39-244. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.04.005.
33. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*; Approved Standard. NCCLS Document M2-A8. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
34. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference Methods for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi*; Approved Standards. NCCLS Document M38-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
35. Ferreira, DF. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Científica Symposium* 2008; 6 (2): 36-41. <http://www.dex.ufla.br/~danielff/meusarquivospdf/art63.pdf>. Accessed January 15, 2020
36. Núñez-Flores R, Giménez B, Fernández-Martín F, López-Caballero ME, Montero MP, Gómez-Guillén MC. Physical and functional characterization of active fish gelatin films incorporated with lignin. *Food Hydrocolloids* 2013;30: 163-172. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.017.
37. Aqlil M, Nzenguet AM, Essamlali Y, Snik A, Larzek M, Zahouily M. Graphene Oxide Filled Lignin/Starch Polymer Bionanocomposite: Structural, Physical, and Mechanical Studies. *J Agr Food Chem* 2017; 65:10571–10581. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04155.
38. Miranda VR, Carvalho AJF. Blendas Compatíveis de Amido Termoplástico e Polietileno de Baixa Densidade Compatibilizadas com Ácido Cítrico. *Polímeros* 2011; 21 (5):353-360. doi:10.1590/S0104-14282011005000067.



39. Jaramillo CM, Gutiérrez TJ, Goyanes S, Bernal C, Famá L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydr Polym* 2016;151: 150–159. doi:10.1016/j.carbpol.2016.05.025.
40. Kizil R, Irudayaraj J, Seetharaman K. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *J Agr Food Chem* 2002; 50: 3912-3918. doi:0.1021/jf011652p.
41. Mendes JF, Paschoalin RT, Carmona VB, et al. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. *Carbohydr Polym* 2016; 137: 452–458. doi:10.1016/j.carbpol.2015.10.093.
42. Tavares KM, Campos A, Mitsuyuki MC, Luchesi BL, Marconcini JM. Corn and cassava starch with carboxymethyl cellulose films and its mechanical and hydrophobic properties. *Carbohydr Polym* 2019; 223: 115055. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115055.
43. Kaewtatip K, Thongmee J. Studies on the structure and properties of thermoplastic starch/luffa fiber composites. *Mater Des* 2012; 40: 314–318. doi:10.1016/j.matdes.2012.03.053.
44. Tian D, Hu J, Bao J, Chandra RP, Saddler JN, Lu C. Lignin valorization: lignin nanoparticles as high-value bio-additive for multifunctional nanocomposites. *Biotechnol Biofuels* 2017; 10(1):192. doi:10.1186/s13068-017-0876-z.
45. Yang W, Owczarek JS, Fortunati E, et al. Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging. *Ind Crop Prod* 2016a; 94: 800–811. doi:10.1016/j.indcrop.2016.09.061.
46. Prachayawarakorn J, Ruttanabus P, Boonsom P. Effect of Cotton Fiber Contents and Lengths on Properties of Thermoplastic Starch Composites Prepared from Rice and Waxy Rice Starches. *J Polym Environ* 2011;19: 274–282. doi:10.1007/s10924-010-0273-1.
47. Zhang C, Nair SS, Chen H, Yan N, Farnood R, Li F-Y. Thermally stable, enhanced water barrier, high strength starch biocomposite reinforced with lignin containing cellulose nanofibrils. *Carbohydr Polym* 2020; 230: 115626. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115626.
48. Luís A, Pereira L, Domingues F, Ramos A. Development of a carboxymethyl xylan film containing licorice essential oil with antioxidant properties to inhibit the growth of foodborne pathogens. *LWT-Food Sci Technol* 2019; 111: 218–225. doi:10.1016/j.lwt.2019.05.040.
49. Pélla MCG, Silva OA, Pellá MG, et al. Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. *Food Chem* 2020; 309: 125764. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125764.
50. Wolf C, Angellier-Coussy H, Gontard N, Doghieri F, Guillard V. How the shape of fillers affects the barrier properties of polymer/non-porous particles nanocomposites: a review. *J Membr Sci* 2018; 556: 393–418. doi:10.1016/j.memsci.2018.03.085.
51. Dong X, Dong M, Lu Y, Turley A, Tony J, Wu C. Antimicrobial and antioxidant activities of lignin from residue of corn stover to ethanol production. *Ind Crop Prod* 2011; 34: 1629–1634. doi:10.1016/j.indcrop.2011.06.002.

52. Espinoza-Acosta JL, Torres-Chávez PI, Ramírez-Wong B, López-Saiz CM, Montañón-Leyva B. Antioxidant, Antimicrobial, and Antimutagenic Properties of Technical Lignins and Their Applications. *BioResources* 2016; 11 (2):5452-5481. doi:10.15376/biores.11.2.Espinoza\_Acosta.
53. Beisl S, Miltner A, Friedl A. Lignin from Micro- to Nanosize: Production Methods. *Int J Mol Sci* 2017;18 (6): 1244. doi:10.3390/ijms18061244.
54. Hussain F, Hojjati M, Okamoto M, Gorga RE. Review article: Polymer-matrix Nanocomposites, Processing, Manufacturing, and Application: An Overview. *J Compos Mater* 2006; 40 (17). doi:10.1177/0021998306067321.
55. Xu T, Zhang N, Nichols HL, Shi D, Wen X. Modification of nanostructured materials for biomedical applications. *Mater Sci Eng C* 2007; 27: 579–594. doi:10.1016/j.msec.2006.05.029.
56. Yang W, Fortunati E, Gao D, et al. Valorization of Acid Isolated High Yield Lignin Nanoparticles as Innovative Antioxidant/Antimicrobial Organic Materials. *ACS Sustain Chem Eng* 2018; 6: 3502–3514. doi:10.1021/acssuschemeng.7b03782.

### ARTIGO 3

## EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE MICROPARTÍCULA DE LIGNINA NAS PROPRIEDADES DA BLENDAS TERMOPLÁSTICA DE AMIDO/PECTINA OBTIDA POR EXTRUSÃO

**Artigo redigido conforme norma da revista Industrial Crops and Products “Versão Preliminar”**

### RESUMO

A lignina é um agente de reforço com propriedades ativas que vem sendo incorporado na elaboração de blendas poliméricas biodegradáveis afim de melhorar suas propriedades. Desta forma, o presente estudo objetivou elaborar filmes de amido termoplástico com diferentes concentrações de pectina termoplástica e 4% de micropartícula de lignina como agente de reforço e agente ativo. Observou-se que a pectina aumentou o módulo de elasticidade, elevou em 573,6 % a resistência à tração e diminuiu 87,1% do alongamento na ruptura. Além disso, a pectina aumentou a proteção a luz UV para 100% em 320nm e 95,9% em 400nm. Já ao incorporar as micropartículas de lignina observou-se que as blendas com 25% e 50% de pectina termoplástica obtiveram uma melhora na estabilidade térmica em comparação com as blendas sem pectina. A blenda com 25% de pectina termoplástica, promoveu um aumento de 75,8% e 34% no alongamento à ruptura e deformação, respectivamente. Esta blenda ainda aumentou para 100% a proteção à luz UV devido à tonalidade marrom escuro. Em relação às propriedades de permeação os filmes com 25% e 50 % de pectina termoplástica, observou-se reduzida permeabilidade ao oxigênio (48% e 65%) e a propriedade antioxidante aumentou de 2,7% para 71,08% e 4,1% para 79,28%, respectivamente. Desta forma, percebe-se que a elaboração de blenda polimérica com 25% de concentração de pectina termoplástica incorporada com micropartículas de lignina, é uma boa alternativa para aplicação em alimentos que são sensíveis ao contato com oxigênio e a luz UV.

**Palavra-chave:** Extrusão. Biodegradável. Antioxidante.

## 1. INTRODUÇÃO

O amido e a pectina são polímeros naturais que despertam interesse de pesquisadores e indústrias na elaboração de filmes biodegradáveis, por serem de recursos renováveis, atóxico, de baixo custo, terem ampla disponibilidade e, no caso de a pectina ser extraída de resíduos do processamento de frutas cítricas. Além disso, esses dois polímeros têm a vantagem de serem produzidos usando a técnica de extrusão, podendo assim simular melhor o uso dos filmes de biopolímeros em escala industrial (Róz et al., 2016).

Uma maneira de melhorar as propriedades dos filmes biodegradáveis é o uso de agentes de reforço, como a lignina, uma macromolécula complexa, encontrado nas plantas juntamente com a celulose e a hemicelulose, sendo utilizada na fabricação de filmes afim de melhorar as propriedades mecânicas e térmica, bloquear parcialmente luz UV e antioxidante. A molécula de lignina apresenta variados grupos funcionais em diferentes proporções na sua estrutura, dependendo de sua origem, conferindo-lhe tais propriedades (Gomide et al., 2020; Yang et al., 2016a, 2016b). A lignina também apresenta propriedades intrínsecas, como alto grau de reticulação entre as unidades, natureza hidrofóbica, estrutura amorfa e tridimensional que a tornam atrativa para diversas aplicações (Aqlil et al., 2017; Yang et al., 2016b).

Não há na literatura trabalhos publicados com a produção de filmes constituídos por amido, pectina e lignina por extrusão. Filmes elaborados por casting já foram estudados, como, por exemplo, amido/pectina (Meneguim et al., 2017; Moreira et al., 2012; Róz et al., 2016) ou amido/lignina (Aqlil et al., 2017; Zhang et al., 2020). Já por extrusão há poucos trabalhos sendo eles: amido/pectina (Fishman et al., 2000, 2004) e amido/lignina (Baumberger et al., 1997). Já para blendas de pectina/lignina as pesquisas são relacionadas à elaboração de hidrogel para área biomédica (Borisenkov et al., 2016) e não para filmes. O objetivo deste trabalho é avaliar as propriedades dos filmes produzidos com amido e pectina termoplásticos, quando sofrem a incorporação de micropartículas de lignina após extrusão.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material

Para a elaboração dos filmes foi utilizado amido (406 R03 - Cassava S/A); pectina de alta metoxilação (75,7% - Dinâmica Química); o glicerol (P.A. 99,5% - Sigma-Aldrich); ácido esteárico (P.A. 95% - Êxodo Científica); ácido cítrico (P.A. 99,7% - Proquimios Comércio e Indústria Ltda). A lignina isolada de licor negro Kraft, doada pelo Laboratório de

Desenvolvimento de Produtos bioativos e soluções Tecnológicas da Universidade Federal de Viçosa (Campus Rio Paranaíba). Além disso, utilizou-se metanol (Vetec), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich).

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Síntese de micropartícula de lignina (MPL)**

As micropartículas de lignina (MPL) foram produzidas com o auxílio do moinho de bola com câmara fechada, modelo Te-350, Tecnal (São Paulo, Brazil). Foram colocadas 10g de amostras de lignina no recipiente do próprio moinho juntamente com uma esfera de aço e acoplada ao equipamento. A amostra foi submetida à agitação por 2 minutos e o procedimento foi repetido 3 vezes para a obtenção das micropartículas de lignina.

### **2.2.2. Elaboração dos filmes**

Para a elaboração de todas as formulações foi utilizada uma extrusora dupla rosca corrotacional modelo SJSL 20 NZ Phill Polymer (L/D=40 and screw diameter (D) = 20 mm) com rotação de 100 rpm variando somente o perfil de temperatura.

Para obtenção do amido termoplástico (TPS), colocou-se o amido em estufa a 45°C por 24 hrs. Em seguida, o amido foi misturado com glicerol (24% m/m em relação à massa do amido), água destilada (14% m/m), ácido esteárico (1% m/m), ácido cítrico (1% m/m) em relação a massa total. Posteriormente a mistura foi submetida à extrusão com perfil de temperatura: 80°C, 80°C, 90°C, 90°C, 100°C, 100°C, 110°C. A mistura foi peletizada (na própria extrusora operando com rotação de 120 rpm, com tamanho de 2 mm). O material peletizado foi reservado para preparação das blendas (Azevedo et al., 2017).

Para obtenção da pectina termoplastificada (TPP): a pectina (49% m/m em relação a massa total) foi misturada com glicerol (25% m/m em relação à massa de pectina), água destilada (30% v/v), ácido cítrico (1,5% m/m) em relação a massa total. Posteriormente foi submetido à extrusão com diferentes níveis de temperatura: 35°C, 50°C, 75°C, 90°C, 100°C, 100°C e 90°C. A mistura foi peletizada e reservada para a realização das blendas, assim como na termoplastificação do amido (Azevedo et al., 2017).

Posteriormente os pellets obtidos foram misturados sem e com a incorporação 4% das micropartículas de lignina (em relação à massa de amido e pectina), foram submetidos à extrusão com diferentes níveis de temperatura: 50°C, 70°C, 75°C, 85°C, 90°C, 100°C e 100°C. As proporções das quantidades de TPS, TPP e da micropartícula de lignina (MPL) estão descritas na Tabela 1. A blenda foi peletizada e reservada.

Em seguida, as blendas, obtidas foram submetidas à prensagem nas seguintes condições: colocou-se 10g de pellets entre duas placas de inox e colocou na prensa, deixando a temperatura alcançar e estabilizar a 110°C. Após foi aplicada a força de 5 toneladas por 5 vezes, depois 1 vez de 5 toneladas por 5 minutos e por último 1 vez de 5 toneladas por 5 minutos (Azevedo et al., 2017).

Tabela 1 - Formulação das blendas poliméricas submetidas a extrusão.

| Tratamentos   | TPS (%) | TPP (%) | MPL (%) |
|---------------|---------|---------|---------|
| <b>P0L0</b>   | 100     | 0       | 0       |
| <b>P25L0</b>  | 75      | 25      | 0       |
| <b>P50L0</b>  | 50      | 50      | 0       |
| <b>P75L0</b>  | 25      | 75      | 0       |
| <b>P100L0</b> | 0       | 100     | 0       |
| <b>P0L4</b>   | 100     | 0       | 4       |
| <b>P25L4</b>  | 75      | 25      | 4       |
| <b>P50L4</b>  | 50      | 50      | 4       |
| <b>P75L4</b>  | 25      | 75      | 4       |
| <b>P100L4</b> | 0       | 100     | 4       |

### 2.2.3. Condicionamento e espessura

Após a obtenção dos filmes, os mesmos foram condicionados a  $23 \pm 2$  °C e em umidade relativa de  $50 \pm 5\%$ , durante 48 horas antes do início das análises (ASTM D618-00, 2000). A espessura média dos filmes foi medida por meio da leitura de 15 pontos distintos, utilizando micrômetro digital Mitutoyo (precisão 0.01 mm; Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil).

### 2.2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise morfológica foi feita por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) realizada no microscópio LEO EVO 40 XVP (Zeiss, Cambridge, Inglaterra), com voltagem de aceleração de 15 kV. Para a MEV, as amostras com aproximadamente 2 mm x 2 mm, foram fixadas em *stubs*, para observação da superfície e do corte transversal, por meio de fita adesiva dupla face de carbono, e revestidas por banho de ouro sob metalização à vácuo.

### **2.2.5. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para obter informações dos grupos funcionais presentes nos filmes. As análises de FTIR, no instrumento Spectrometers Variam 600-IR Series (California, United States), com acessório Gladi ATR acoplado da PIKE technologies para análises por reflexão total atenuada (ATR) e com cristal de diamante. A faixa espectral foi de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com número de escaneamentos igual a 256 e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### **2.2.6. Análise termogravimétrica (TGA)**

A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada para estudar a estabilidade térmica das formulações e foi realizada em um instrumento DTG60H-SHIMADZU (Kyoto, Japan), sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50mL/ min, aquecimento de 50 a 600°C, razão de aquecimento de 10°C/min.

### **2.2.7. Propriedades Mecânicas**

As análises de perfuração e tração foram realizadas em Analisador de Textura Stable Micro Systems (modelo TA-XT2, Inglaterra), com célula de carga de 1 kN. Para a análise de perfuração, as amostras dos filmes foram cortadas em quadrados de 3x3 cm, submetidas às medidas de espessura em 4 pontos distintos e fixadas em um suporte metálico com orifício central para passagem da sonda de forma perpendicular. Os parâmetros que foram utilizados durante o teste são: sonda esférica de 5,0 mm de diâmetro (sonda A/TG), velocidade de deslocamento da sonda de 0,8 mm/s e distância percorrida por ela após tocar a amostra de 1 cm. Para cada tratamento foram analisados 15 corpos de prova (ASTM F1306-90, 2001). A resistência à perfuração/espessura (RP, N/mm) foi calculada por meio da divisão do valor da força máxima obtida no ponto de ruptura pela espessura do filme, com o objetivo de eliminar o efeito da variação da espessura sobre os resultados. Já a deformação (D, mm) foi determinada por meio do ponto de ruptura dos corpos de prova.

Para o teste de tração, as amostras foram cortadas em tiras de 10x1,5 cm; medidas as espessuras em 3 pontos distintos e fixadas no suporte da sonda pelas duas extremidades. Os parâmetros que foram utilizados durante a análise foram: separação inicial entre as garras de 50 mm e velocidade de deslocamento de 0,8 mm/s. Para cada tratamento foram analisados 15

corpos de prova (ASTM D882-02, 2002). A resistência máxima à tração (RT, MPa) foi calculada pela divisão da força máxima pela área transversal do corpo de prova. A porcentagem de alongamento na ruptura (ALR) foi calculada pela relação entre o alongamento do corpo de prova e seu comprimento inicial. Para o módulo de elasticidade (ME, MPa) traçou uma tangente à curva tensão de tração x deformação na região linear (região elástica), calculando a razão entre a tensão e a deformação correspondente (Sarantópoulos e Teixeira, 2002).

### 2.2.8. Solubilidade

A solubilidade dos filmes em água foi determinada por meio da porcentagem de matéria solúvel da amostra de biofilme, segundo Gontard e Guilbert (1994), com algumas modificações. As amostras foram cortadas em quadrados de 3x3 cm e colocadas em estufa de secagem por 24 horas a 105 °C, com posterior resfriamento e pesagem. Em seguida, cada corpo de prova foi mergulhado em 50 mL de água destilada e mantidos sob agitação a 100 rpm, a 25°C por 24 horas. Após este período, as amostras foram novamente secas sob as mesmas condições utilizadas inicialmente e pesadas. A solubilidade dos filmes em água foi então determinada conforme Equação 1.

$$\text{Solubilidade (\%)} = ((M_{\text{inicial}} - M_{\text{final}}) / M_{\text{inicial}}) \times 100 \quad (1)$$

Onde:  $M_{\text{inicial}}$  é a massa (g) da amostra seca no início da análise e  $M_{\text{final}}$  é a massa (g) no final da análise.

### 2.2.9. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi realizada pelo método gravimétrico. Os corpos de prova de cada tratamento foram cortados em discos de 1cm de diâmetro e fixados em cápsulas contendo sílica-gel em seu interior. Estas foram acondicionadas em dessecadores com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e umidade relativa de  $75 \pm 3\%$  sob temperatura de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ . Após a montagem das cápsulas, realizou-se pesagem em intervalos de 8 horas durante 5 dias para se obter o ganho de peso relacionado à transferência de vapor de água através do filme (ASTM E 96-00, 2002). A taxa de permeabilidade ao vapor de água e a permeabilidade ao vapor de água foram calculadas segundo as Equação 2 e 3, respectivamente:

$$\text{TPVA} = G / (t \cdot A) \quad (2)$$

Onde: TPVA é a taxa de permeabilidade ao vapor de água (g água/ (m<sup>2</sup>. dia)); G/t é o coeficiente angular da reta (g água/dia) e A é a área de permeação do corpo de prova (m<sup>2</sup>).



$$PVA = TPVA \cdot e / (\rho_s (UR_1 - UR_2)) \quad (3)$$

Onde: PVA é a permeabilidade ao vapor de água ( $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ); TPVA a taxa de permeabilidade ao vapor de água;  $e$  é a espessura média do corpo de prova ( $\mu\text{m}$ );  $\rho_s$  a pressão de saturação de vapor de água à temperatura de ensaio (2809 kPa);  $UR_1$  umidade relativa da câmara e  $UR_2$  umidade relativa do interior da cápsula.

### 2.2.10. Permeabilidade ao oxigênio ( $\text{PO}_2$ )

Para esta análise foram selecionadas as quatro blendas que obtiveram melhores resultados nas análises de estabilidade térmica (TG/DTG), propriedade mecânica, solubilidade e PVA, sendo duas sem MPL e duas com MPL. A taxa de transmissão de oxigênio dos filmes foi mensurada usando Oxtran (Mocon 1/50, Minnesota - EUA), a 50% de umidade relativa (UR), a 23°C e 1 atm de gradiente de pressão parcial de oxigênio. A permeabilidade ao oxigênio ( $\text{PO}_2$ ) ( $\text{cm}^3 \text{mm m}^{-2} \text{dia}^{-1} \text{atm}^{-1}$ ) foi calculada multiplicando-se taxa de transmissão ao oxigênio pela espessura dos filmes. Os testes foram realizados em duplicata (Bonilla et al., 2013).

### 2.2.11. Atividade Antioxidante

Para o método de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 0,2 g de filme foi cortado em pequenos pedaços e misturados com 2 mL de metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 3 min e permaneceu em repouso a temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, as misturas foram agitadas novamente por 3 min em Vortex. Uma alíquota do extrato metanólico foi adicionada com 3,9 mL de DPPH a 0,1 mM em metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 1 min e deixada em repouso no escuro por 30 min e 60 min. A absorvância foi medida a 517 nm usando um espectrômetro (SPECTROPHOTOMETER SP 2000UV, Monza, Italy). O metanol 80% com DPPH 0,1 mM foi utilizado como controle. A atividade sequestradora de radicais foi calculada de acordo com a Equação 3 (Byun et al., 2010):

$$\text{RSA} (\%) = ((A_{\text{amostra}} - A_{\text{controle}}) / A_{\text{controle}}) \times 100 \quad (5)$$

Onde:

*A controle*: Absorvância da solução DPPH sem a amostra

*A amostra*: Absorvância da amostra com DPPH

### 2.2.12. Propriedades ópticas

Os parâmetros que foram obtidos pela análise de cor foram:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e índice de saturação ( $C^*$ ), calculando através da fórmula:  $C^* = [(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$ . A análise de cor dos filmes foi realizada utilizando um colorímetro espectrofotométrico modelo CM-700 (Kônica Minolta, Japão), com fonte de luz D65, ângulo observador de  $10^\circ$  e reflectância especular incluída (SCI). As leituras foram realizadas com os filmes sobrepostos em papel de coloração branca.

A transparência dos filmes foi medida em espectrofotômetro Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália) a 600 nm, retirando-se a medida de porcentagem de transmitância (%T), segundo ASTM D1746-03 (2003). Os filmes foram cortados em pedaços de 3x1 cm e fixados de forma a permitir que o feixe do equipamento atravessasse os corpos de prova sem nenhum obstáculo. A transparência foi calculada de acordo com a Equação 4:

$$T = (\text{Log \%T}) / \delta \quad (4)$$

Onde: T é a transparência do filme.

$\delta$  é a espessura do filme (mm).

A capacidade de absorção da luz UV dos filmes foi avaliada usando o espectrofotômetro BEL SPECTRO S-2000 (Monza, Itália) com porcentagem de transmitância em 280 nm, 320 nm, 400nm, 600 nm e 800 nm, respectivamente.

### 2.2.13. Análise Estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 3 repetições. Os resultados de espessura (mm), solubilidade (%), RP (MPa), D (mm), RT (MPa), ALR (%), ME (MPa), PVA ( $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ),  $\text{PO}_2$  ( $\text{cm}^3 \text{mm m}^{-2} \text{dia}^{-1} \text{atm}^{-1}$ ), propriedades ópticas, atividade antioxidante foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software SISVAR (Ferreira, 2008), ( $p < 0.05$ ) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey. Para os resultados de MEV, FTIR e TGA foram realizadas análises descritivas.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. MEV

As micrografias superficiais das blendas sem MPL apresentam uma estrutura homogênea, compacta, sem presença de poros, com alguns pontos de amido não plastificado

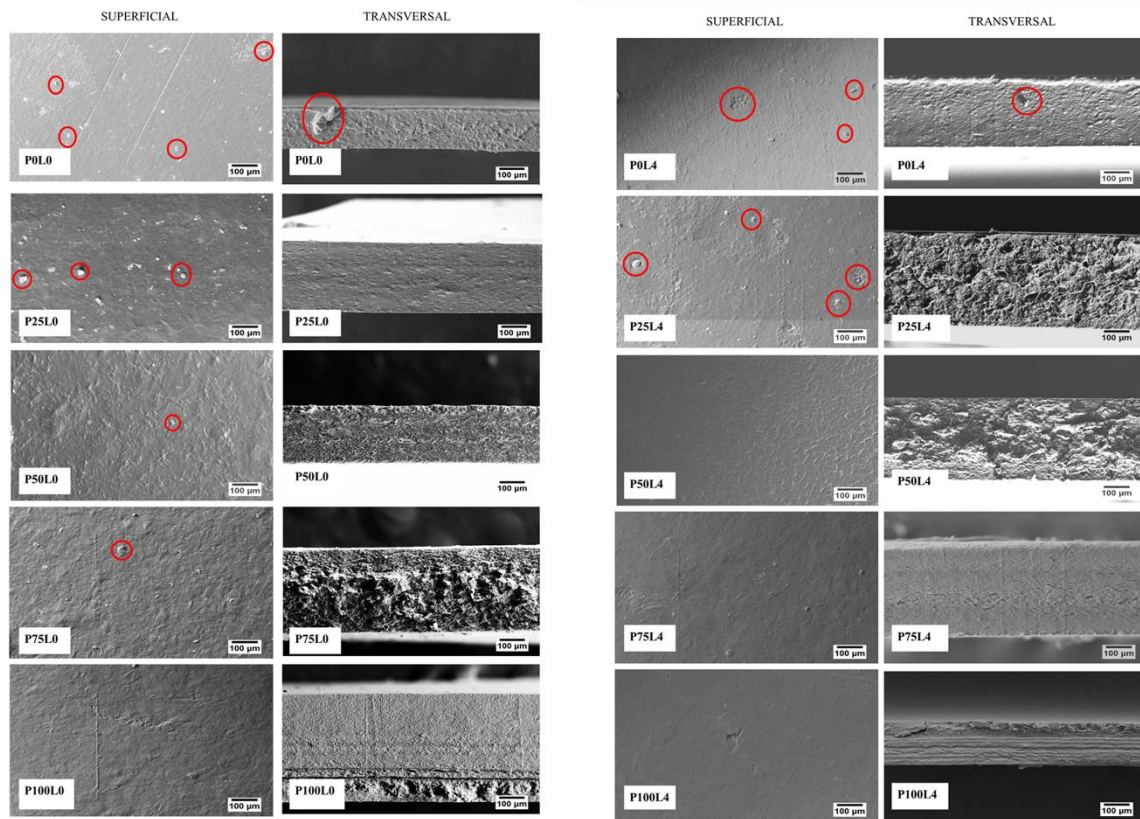
ou que sofreu retrodegradação que diminuem com o aumento da concentração de pectina termoplástica. Essas características se mantêm com a incorporação das MPL. No entanto, MPL não dispersas são encontradas nas formulações com maior concentração de amido termoplástico (POL4 e P25L4), que reduzem com o aumento da concentração de pectina termoplástica.

A explicação para a presença de MPL não dispersas nas blendas com maior concentração de amido termoplástico seria a diferença de polaridade dos polímeros. O amido é polar, a pectina possui partes polares e apolares, já a lignina Kraft é apolar de acordo com o pH. Com isso, a lignina interage com a parte apolar da pectina por ligações covalentes e de hidrogênio, formando filmes mais uniformes. Já o amido interage parcialmente com a lignina, devido a diferença de polaridade, através de ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais das moléculas (Aqlil et al., 2017; Borisenkov et al., 2016).

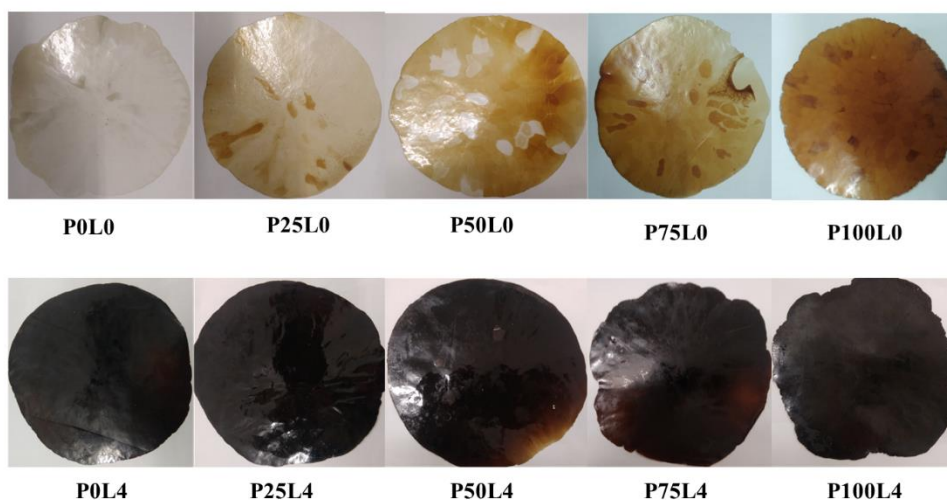
Além da melhor afinidade entre a pectina e a lignina, pressupõe-se que a maior uniformidade das blendas com maior concentração de TPP, seja devido à menor viscosidade da pectina, que carrearam melhor as MPL dentro da extrusora, promovendo assim uma melhor dispersão das MPL (Borisenkov et al., 2016).

Observa-se que o amido e a pectina possuem forte adesão interfacial, devido à similaridade de suas estruturas, pois ambos são polissacarídeos, tornando assim blendas miscíveis. A pectina possui uma cadeia praticamente linear em que ocupa maior volume/espaco que proporciona menor viscosidade quando comparada ao amido, que possui uma estrutura ramificada, ocupando um menor espaço tendo assim uma maior viscosidade (Canteri et al., 2012; Moreira et al., 2012).

Irregularidades como protuberâncias, saliências e rugosidades estão presentes principalmente na seção transversal devido à região de fratura das blendas e a termoprensagem. Além disso, sugere-se uma possível segregação de fases favorecida pelo modo de processamento das blendas, com obtenção dos pellets dos polímeros plastificados separadamente para posterior preparação das blendas. Por consequência, na extrusão das blendas, os pellets com menor viscosidade (TPP) fluíram mais rapidamente na extrusora, não dando o tempo suficiente de misturar totalmente com o polímero de maior viscosidade (TPS) promovendo assim uma separação de fases dos polímeros. Isso é observado na Figura 2, onde as partes mais claras e transparentes referem-se ao amido, e as partes marrom-escuras são relativas à pectina e a coloração marrom claro é referente à mistura dos dois polímeros (Moreira et al., 2012).



**Fig. 1.** Micrografias de MEV dos filmes obtidos por extrusão: (I) filmes P0L0 (100% TPS), P25L0 (75% TPS/25% TPP), P50L0 (50% TPS/50% TPP), P75L0 (25% TPS/75% TPP), P100L0 (100% TPP), P0L4 (100% TPS/ 4% MPL), P25L4 ( 75% TPS/25% TPP/ 4% MPL), P50L4 (50% TPS/50% TPP/ 4% MPL), P75L4 (25% TPS/75% TPP/4% MPL), P100L4 (100% TPP/4% MPL).



**Fig. 2.** Filmes obtidos após o processo de extrusão e prensa: P0L0 (100% TPS), P25L0 (75% TPS/25% TPP), P50L0 (50% TPS/50% TPP), P75L0 (25% TPS/75% TPP), P100L0 (100% TPP), P0L4 (100% TPS/ 4% MPL), P25L4 ( 75% TPS/25% TPP/ 4% MPL), P50L4 (50% TPS/50% TPP/ 4% MPL), P75L4 (25% TPS/75% TPP/4% MPL), P100L4 (100% TPP/4% MPL).

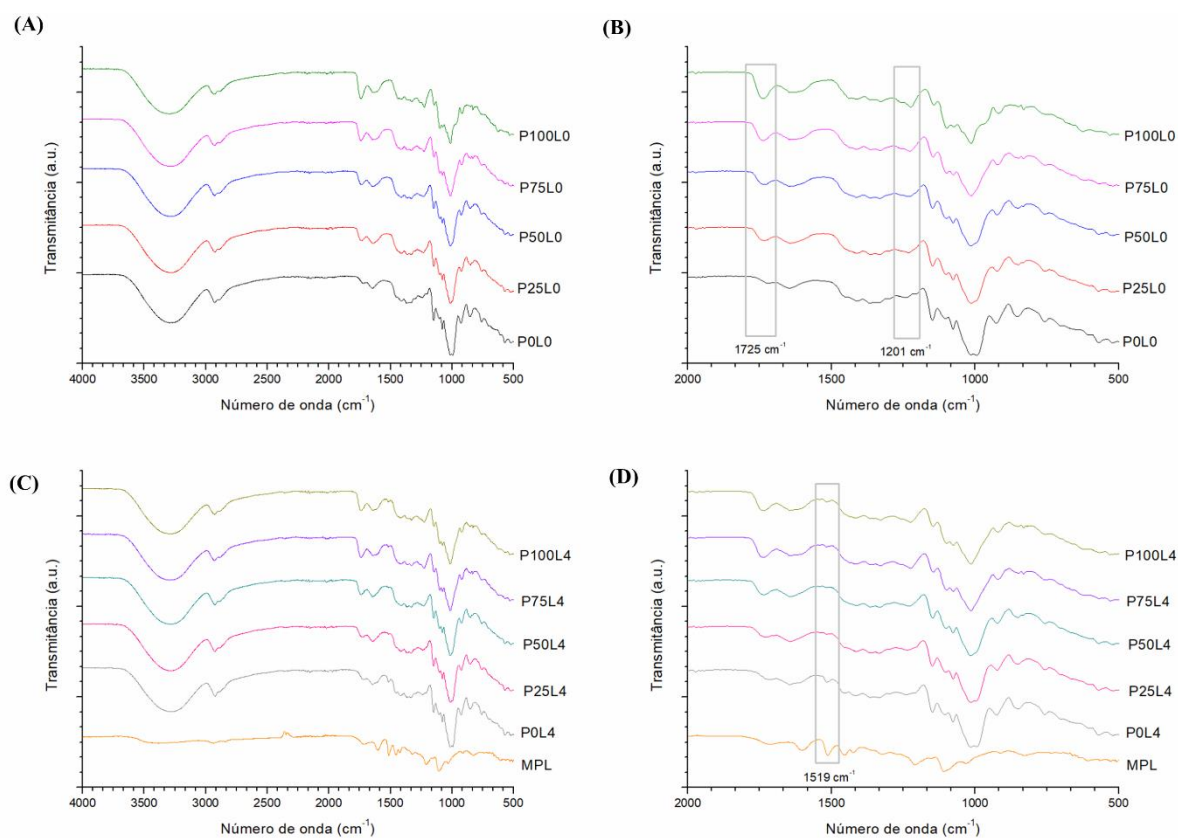
### 3.2. FTIR

A espectroscopia na região do infravermelho foi realizada para identificar as possíveis interações entre o TPS, TPP e as MPL nas blendas poliméricas.

Verifica-se na Figura 3 que todos os espectros apresentam a similaridades das estruturas dos polímeros, sendo essas bandas observadas em  $3287\text{ cm}^{-1}$  (estiramento das vibrações O-H), em  $2924\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-H, relativo a ácido esteárico e de grupos metileno e grupo metil da cadeia polimérica da pectina), em  $1649\text{ cm}^{-1}$  (ligações de hidrogênio com a água) e em  $925\text{ cm}^{-1}$  e em  $1149\text{ cm}^{-1}$  (ligações glicosídicas  $\alpha$  1,4). Outras bandas comuns estão presentes em  $1076\text{ cm}^{-1}$  (vibrações de alongamento C-O-C da estrutura sacarídica, anel glicopiranoose), em  $1016\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-OH), em  $1410\text{ cm}^{-1}$  (banda característica do plastificante, glicerol) e em  $1739\text{ cm}^{-1}$  e  $1201\text{ cm}^{-1}$  (bandas atribuídas aos ácidos esteárico e cítrico e às ligações ésteres da pectina) (Aqlil et al., 2017; Ezati e Rhim, 2020; Khanoonkon et al., 2016; Mendes et al., 2016; Miranda & Carvalho, 2011; Shankar et al., 2016).

Ao analisar o espectro da micropartícula de lignina observam-se bandas características dessa macromolécula, em  $1599\text{ cm}^{-1}$ , em  $1516\text{ cm}^{-1}$  e em  $1419\text{ cm}^{-1}$  devido a vibrações C-C dos anéis aromáticos. As bandas localizadas em  $1319\text{ cm}^{-1}$ ,  $1206\text{ cm}^{-1}$  e  $1110\text{ cm}^{-1}$  são as relativas a vibrações dos anéis de siringil e guaiacil. A banda em  $1027\text{ cm}^{-1}$  refere-se às unidades guaiacil e a banda  $824\text{ cm}^{-1}$  é relativa à deformação na vibração das bandas C-H dos anéis aromáticos (Chen et al., 2016; Wen et al., 2013).

Observa-se apenas uma leve mudança na intensidade das bandas em  $1725\text{ cm}^{-1}$  e em  $1201\text{ cm}^{-1}$  relacionadas aos grupamentos ésteres da pectina, devido à variação de concentração deste componente nas blendas. (Ezati e Rhim, 2020; Shankar et al., 2016). A adição de MPL adicionou compostos aromáticos às blendas pelo aparecimento de um pico em  $1519\text{ cm}^{-1}$ , mais pronunciado nas blendas P0L4, P50L4 e P100L4, devido a existência de anéis aromáticos da lignina (Aqlil et al., 2017). Esta adição, contudo, não promoveu a formação de novas interações entre os componentes das blendas. Não foram observadas mudanças nas faixas de absorção das bandas descritas. Por outro lado, as interações descritas anteriormente, foram, de certo modo, reforçadas, principalmente ligações de hidrogênio (Mendes et al., 2016).



**Fig. 3.** Espectro de FTIR das blendas de TPS/TPP ( A e B) e TPS/TPP/MPL (C e D).

### 3.3. TG/DTG

A análise termogravimétrica é essencial para avaliar a que temperatura as amostras analisadas sofrem degradação térmica, e se são sensíveis ou resistente ao calor.

Verifica-se no gráfico de DTG (Figura 4C) que os filmes de TPS puro (P0L0) e de TPP puro (P100L0) possuem 3 picos de degradação, já as blendas possuem quatro etapas de degradação. Observa-se que em todas as formulações a primeira etapa está relacionada à evaporação e perda de água (de 50°C a 120°C). Os filmes de TPS puro (P0L0) e TPS com MPL(P0L4) apresentam mais duas etapas de degradação térmica características do amido termoplástico e da lignina. Sendo elas: (II) 120°C – 255°C remoção do glicerol adicionado como plastificante e decomposição das hemiceluloses presentes nas MPL, com perda de massa de 15,86 % e 10,8%, (III) 300° - 350°C degradação do amido e lignina, com 50,51 % e 51,10 % de perda de massa (Alqil et al., 2017; Bertolo et al., 2019; Jaramillo et al., 2016).

Observa-se que os filmes de TPP (P100L0) e TPP com MPL (P100L4) apresentam mais duas etapas comumente encontradas. A primeira refere-se à degradação do glicerol em 160°C, com perda de massa 15,21% e 25,14%, e degradação da pectina em 240°C, com 37,54 % e 43,08 % de perda de massa, respectivamente (Menegin et al., 2017; Shankar et al., 2016).

Percebe-se que o filme TPP apresenta menor estabilidade térmica em relação ao filme TPS (P0L0), onde a formulação P100L0 apresenta temperatura máxima de 224°C e a formulação P0L0, temperatura máxima de 312°C. Isso se deve principalmente pela diferença da estrutura molecular dos polímeros (Moreira et al., 2012).

Ao analisar as blendas com e sem MPL, observam-se as etapas características de ambos os polímeros. Isso demonstra que as blendas são imiscíveis, pois só houve sobreposição dos picos (Figura 4D), conforme previamente relatado por Moreira et al., (2012).

Verifica-se um aumento da *Tonset* nas blendas com 25% e 50% de TPP em relação a formulação de 100% TPS. Entretanto, nas blendas com maior concentração de TPP (75%) houve uma redução da *Tonset*. A adição de MPL não alterou este parâmetro, exceto, a com 75% (P75L4) houve uma redução da sua temperatura.

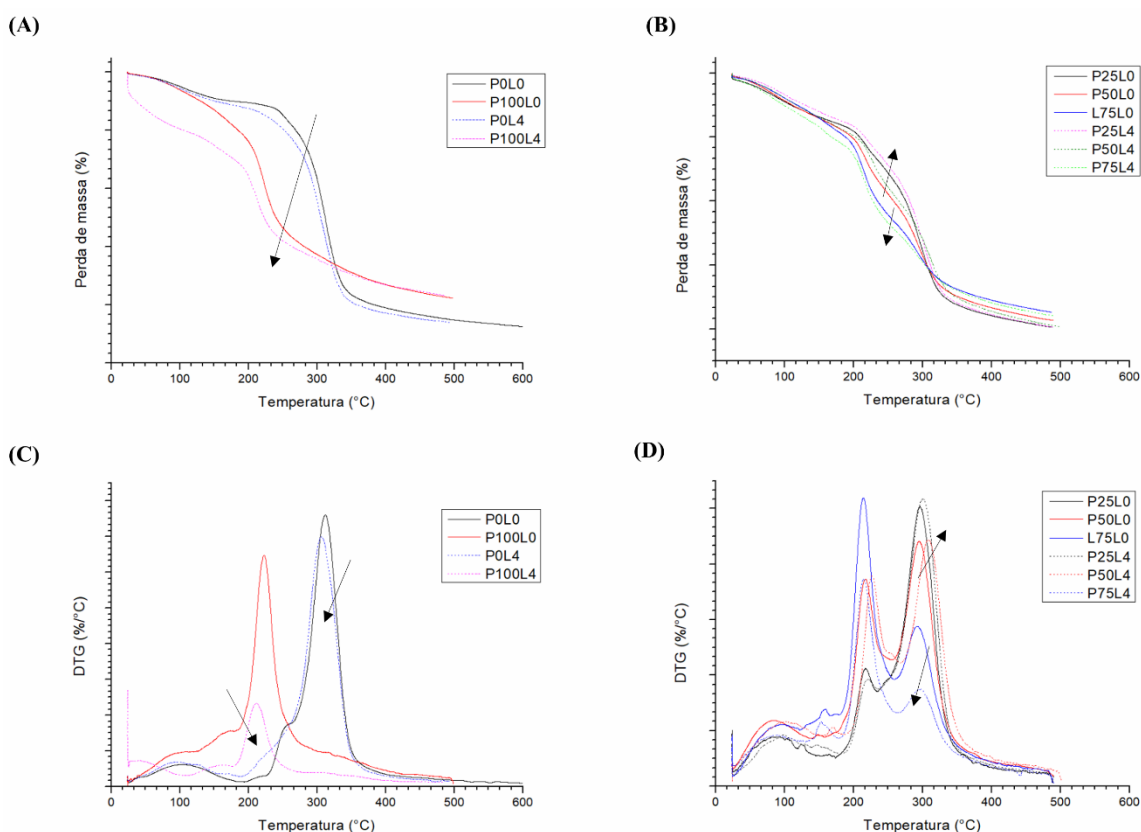
A temperatura máxima de degradação ( $T_{max}$ ) foi reduzida com a incorporação de TPP, indica que os polímeros possam ter uma leve interação entre eles, na qual, modifica a degradação da matriz polimérica TPS (Moreira et al., 2012). Porém, ao se adicionar as micropartículas de lignina, as mesmas promovem um aumento da temperatura máxima de degradação das blendas P25L4 e P50L4, em consequência da presença de compostos aromáticos da MPL, melhorando assim a estabilidade térmicas das mesmas (Tabela 2) (Aqlil et al., 2017; Çalgeris et al., 2012).

A incorporação de pectina termoplástica ao filme de amido termoplástico diminuiu a perda de massa gerada no final da análise gradualmente entre as blendas como demonstra na Tabela 2. Ao adicionar as micropartículas de lignina é observado que elas promoveram a diminuição da perda de massa dos filmes de TPS (P0L0) e TPP (P100L0). No entanto, para as blendas como maior teor de TPP (P50L0 e P75L0), houve uma redução da perda de massa gerada no final da degradação. Já na blenda P25L0 não alterou com a incorporação das micropartículas.

Zhang et al. (2020) relataram melhora na estabilidade térmica dos filmes de TPS com até 15% de lignina onde a temperatura máxima foi de 297°C para 316°C devido à presença de compostos fenólico e da hidrofobicidade da lignina. A melhora na estabilidade térmica é observada nas blendas com 25% e 50% de TPP devido a sua melhor compatibilidade com a MPL, onde a parte apolar da TPP interage com MPL que é apolar (Canteri et al., 2012; Yang et al., 2015; Zhou et al., 2016).

Aqlil et al. (2017) e Çalgeris et al. (2012) relataram que a melhora na estabilidade térmica dos filmes é consequência de a estrutura aromática da lignina ser estável a altas temperaturas e que sua molécula interagiu com pelo menos um dos polímeros promovendo a

formação de uma rede através de ligações cruzadas, principalmente com a TPP, como visto na microscopia eletrônica de varredura (Figura 1).



**Fig. 4.** Curvas termogravimétrica dos filmes obtidos por extrusão.

Tabela 2 - Análise Termogravimétrica dos filmes

| Amostras | T onset (°C)** | T max (°C)* | Perda de massa em 600 °C (%) |
|----------|----------------|-------------|------------------------------|
| P0L0     | 195            | 312         | 87,46                        |
| P25L0    | 249            | 308         | 79,42                        |
| P50L0    | 266            | 306         | 77,3                         |
| P75L0    | 192            | 228         | 74,72                        |
| P100L0   | 184            | 224         | 77,69                        |
| P0L4     | 197            | 312         | 86,09                        |
| P25L4    | 249            | 312         | 79,43                        |
| P50L4    | 267            | 309         | 79,3                         |
| P75L4    | 189            | 227         | 75,9                         |
| P100L4   | 191            | 226         | 76,84                        |

\*Temperatura máxima de degradação. \*\* Temperatura de início do pico máximo de degradação.

### 3.4. Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas permitem avaliar a aplicação/viabilidade dos filmes biodegradáveis e ativos. Através delas é possível verificar se os filmes são resistentes o



suficiente para conter e proteger uma determinada quantidade de alimento, afim de garantir a facilidade de transporte, manuseio e armazenamento.

Observar-se pela Tabela 3 que a incorporação da TPP ao filme de TPS aumentou a resistência máxima a tração (RT) e módulo elástico (ME) e reduziu o alongamento a ruptura (ALR) e deformação (D). Na resistência à perfuração (RP) houve uma redução dos valores quando comparados às blendas, sendo que o menor valor foi atribuído à blenda com maior concentração de TPP. O mesmo resultado foi obtido para as blendas com as MPL. Esses resultados indicam que a incorporação da TPP promoveu maior rigidez com menor deformação, tornando os filmes mais frágeis.

A incorporação das MPL alterou algumas propriedades de alguns filmes. A blenda P25L4 aumentou ALR e D, isto é, o filme consegue deformar mais, tornando-se menos frágil. Já na blenda P50L4 houve redução do ALR, ou seja, teve baixo grau de elasticidade. Em relação aos filmes de TPS (POL4) houve redução de RP, ficando menos resistente, devido à incompatibilidade entre os polímeros, amido e lignina, gerando imperfeições (Figura 1). Já para o filme de TPP (P100L4), houve redução de RT e RP, e um aumento do ME, ou seja, houve uma diminuição na ductilidade e aumento na rigidez. Essa melhora nos filmes de TPP se deve principalmente à maior interação deste polímero com as MPL. Para as outras propriedades e outras blendas não houve diferença significativa entre os filmes com e sem MPL.

Moreira et al., (2012) obtiveram resultados semelhantes quando avaliaram diferentes proporções de pectina de alta e baixa metoxilação e o glicerol, em similar processo, em que o aumento da concentração de TPS nas blendas promoveu menor rigidez do que em blendas com maior concentração de TPP. Isso é enfatizado com o menor valor de ME e RT, maior valor de ALR nas blendas de maior concentração de TPS. Isso ocorre devido à presença da amilopectina, uma estrutura ramificada e mais flexível que a amilose, promovendo assim um filme com maior ductilidade.

Tabela 3 - Propriedades Mecânicas dos filmes.

| Amostras | RT (MPa)                   | ME (MPa)                    | ALR (%)                    | RP(N/mm)                    | D(mm)                     |
|----------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| P0L0     | 0,53 ± 0,17 <sup>a</sup>   | 0,004 ± 0,001 <sup>a</sup>  | 83,54 ± 2,47 <sup>e</sup>  | 22,62 ± 2,62 <sup>bc</sup>  | 5,72 ± 0,47 <sup>de</sup> |
| P25L0    | 1,26 ± 0,16 <sup>bc</sup>  | 0,031 ± 0,004 <sup>ab</sup> | 24,97 ± 0,70 <sup>bc</sup> | 33,01 ± 1,67 <sup>d</sup>   | 3,65 ± 0,33 <sup>c</sup>  |
| P50L0    | 0,99 ± 0,25 <sup>abc</sup> | 0,027 ± 0,08 <sup>ab</sup>  | 30,72 ± 6,21 <sup>c</sup>  | 22,07 ± 0,58 <sup>bc</sup>  | 3,63 ± 0,29 <sup>c</sup>  |
| P75L0    | 1,42 ± 0,23 <sup>bcd</sup> | 0,139 ± 0,013 <sup>c</sup>  | 8,23 ± 2,83 <sup>a</sup>   | 18,15 ± 1,90 <sup>abc</sup> | 2,55 ± 0,13 <sup>ab</sup> |
| P100L0   | 3,57 ± 0,38 <sup>e</sup>   | 0,236 ± 0,027 <sup>d</sup>  | 10,77 ± 1,15 <sup>a</sup>  | 31,28 ± 4,26 <sup>d</sup>   | 2,48 ± 0,22 <sup>ab</sup> |
| P0L4     | 0,49 ± 0,13 <sup>a</sup>   | 0,004 ± 0,001 <sup>a</sup>  | 91,21 ± 4,87 <sup>e</sup>  | 13,48 ± 0,46 <sup>a</sup>   | 6,34 ± 0,04 <sup>e</sup>  |
| P25L4    | 1,47 ± 0,21 <sup>cd</sup>  | 0,021 ± 0,006 <sup>ab</sup> | 43,88 ± 9,48 <sup>d</sup>  | 32,71 ± 2,34 <sup>d</sup>   | 4,90 ± 0,05 <sup>d</sup>  |
| P50L4    | 0,80 ± 0,03 <sup>ab</sup>  | 0,054 ± 0,003 <sup>ab</sup> | 16,21 ± 2,45 <sup>ab</sup> | 22,09 ± 2,11 <sup>bc</sup>  | 3,56 ± 0,19 <sup>c</sup>  |
| P75L4    | 1,33 ± 0,21 <sup>bcd</sup> | 0,085 ± 0,019 <sup>bc</sup> | 13,72 ± 1,79 <sup>ab</sup> | 26,46 ± 2,09 <sup>cd</sup>  | 3,25 ± 0,10 <sup>bc</sup> |
| P100L4   | 2,02 ± 0,25 <sup>d</sup>   | 0,460 ± 0,058 <sup>e</sup>  | 4,83 ± 0,56 <sup>a</sup>   | 16,77 ± 2,53 <sup>ab</sup>  | 2,08 ± 0,18 <sup>a</sup>  |

\*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p < 0.05).

### 3.5. Espessura, solubilidade, PVA, PVO

A espessura, como interações e arranjos influenciam nas propriedades de solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio. Filmes com menor espessura tendem a ser aqueles que possuem mais ligações de hidrogênio e outras interações químicas entre eles (Pellá et al., 2020).

A espessura dos filmes no presente trabalho não teve muita alteração quando para as blendas poliméricas de diferentes concentrações de TPS/TPP. Porém, ao se adicionar as MPL, houve um leve aumento na espessura nas formulações P0L4, P25L4 e P50L4, podendo ser devido às fracas interações entre MPL e TPS. Já a formulação P100L4 teve uma diminuição na espessura, ou seja, a pectina termoplástica teve interações mais fortes com as MPL do que em relação ao TPS (Tabela 4). Estes resultados corroboram com o encontrado na microscopia eletrônica de varredura (Figura 1) e no FTIR (Figura 3).

A análise de solubilidade é uma medida que avalia o quão solúvel é o material em um meio aquoso por um determinado tempo. Os resultados indicam se o filme pode ser aplicado em alimentos com alta atividade de água e alto teor de umidade. Assim, quanto menor a solubilidade melhor é a aplicação em alimentos com essas características.

Verifica-se que os filmes de TPS/TPP sem e com as MPL não diferenciaram entre si na análise de solubilidade. Entretanto, entre todos os tratamentos o filme de TPP puro (P100L0) foi mais solúvel que os filmes P0L4, P25L4 e P50L4, no qual são as formulações que possuem o TPS. As blendas com maior teor de TPS (P25L4 e P50L4) obtiveram uma maior redução da solubilidade (27%) graças à adição de MPL. Já a blenda de maior concentração de TPP (P75L4), aumentou aproximadamente 9% sua solubilidade. Isso ocorreu porque a lignina Kraft é hidrofóbica, o que limita a absorção de água pelos filmes. Outra explicação é que a presença

das MPL dispersas na matriz polimérica resultou em uma forte interação interfacial com a TPP, suficiente para formar uma rede de ligações cruzadas impedindo que as moléculas de água se difundissem no interior dos filmes (Aqlil et al., 2017).

Tabela 4 - Análise de Solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, espessura dos filmes e a taxa e coeficiente de permeabilidade ao oxigênio a 23 °C /50 % UR e 1 atm de gradiente de pressão parcial de oxigênio.

| Amostras      | Solubilidade (%)          | PVA ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$ ) x $10^{-13}$ | Espessura (mm)            | PO <sub>2</sub> ( $\text{cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ dia}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ ) |
|---------------|---------------------------|--|---------------------------|---|
| <b>P0L0</b>   | 0,59 ± 0,16 <sup>ab</sup> | 5,58 ± 0,53 <sup>a</sup>   | 0,43 ± 0,04 <sup>bc</sup> | -   |
| <b>P25L0</b>  | 0,47 ± 0,05 <sup>ab</sup> | 7,07 ± 0,29 <sup>ab</sup>  | 0,35 ± 0,01 <sup>ab</sup> | 1,65 ± 0,04 <sup>a</sup>  |
| <b>P50L0</b>  | 0,46 ± 0,08 <sup>ab</sup> | 9,01 ± 1,39 <sup>bc</sup>  | 0,33 ± 0,02 <sup>a</sup>  | 1,95 ± 0,15 <sup>a</sup>  |
| <b>P75L0</b>  | 0,41 ± 0,04 <sup>ab</sup> | 8,65 ± 0,45 <sup>bc</sup>  | 0,42 ± 0,02 <sup>bc</sup> | -   |
| <b>P100L0</b> | 0,67 ± 0,10 <sup>b</sup>  | 13,73 ± 0,48 <sup>d</sup>  | 0,51 ± 0,02 <sup>c</sup>  | -   |
| <b>P0L4</b>   | 0,37 ± 0,11 <sup>a</sup>  | 10,42 ± 1,51 <sup>c</sup>  | 0,46 ± 0,01 <sup>cd</sup> | -   |
| <b>P25L4</b>  | 0,34 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 9,08 ± 0,52 <sup>bc</sup>  | 0,42 ± 0,02 <sup>bc</sup> | 0,85 ± 0,02 <sup>b</sup>  |
| <b>P50L4</b>  | 0,33 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 10,79 ± 0,49 <sup>c</sup>  | 0,35 ± 0,02 <sup>ab</sup> | 0,68 ± 0,21 <sup>b</sup>  |
| <b>P75L4</b>  | 0,45 ± 0,04 <sup>ab</sup> | 8,61 ± 0,67 <sup>bc</sup>  | 0,42 ± 0,02 <sup>bc</sup> | -   |
| <b>P100L4</b> | 0,43 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 8,67 ± 0,86 <sup>bc</sup>  | 0,45 ± 0,02 <sup>cd</sup> | -   |

\* Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

A PVA dos filmes é um parâmetro importante, pois determina a capacidade de um filme de facilitar ou impedir a absorção de umidade da atmosfera imediata para os alimentos. O aumento da absorção de umidade pode proporcionar a aceleração da deterioração e crescimento de microrganismos (Mehbood et al., 2020; Wang e Rhim, 2015).

Entre os filmes com MPL a PVA não teve uma alteração significativa entre as formulações. Já os filmes sem MPL obteve-se uma diferença considerável entre eles, em que, o tratamento P100L0 apresentou maior valor. Em sequência, os filmes P75L0, P50L0 e P25L0 obtiveram valores maiores do que P0L0 (Tabela 4), mostrando que a adição de TPP aos filmes de amido aumentou a permeabilidade dos filmes.

Este comportamento é explicado pela presença dos grupos OH e alta metoxilação da pectina que possuem afinidade com a água. A sua combinação com o amido pode ter levado a formação de complexos semelhantes a um hidrogel, que resulta em uma maior hidrofiliabilidade do filme (Róz et al., 2016).

Comparando-se todos os tratamentos verifica-se que o filme de 100% TPS (P0L0) aumentou a permeabilidade com a incorporação da MPL (P0L4). Por outro lado, pode ser observado que com o tratamento 100% TPP (P100L0) há uma diminuição da permeabilidade com a adição de MPL (P100L4) (Tabela 4). Suspeita-se que este comportamento seja por que

a pectina possui maior afinidade com a micropartícula de lignina, como mostrado pela microscopia eletrônica de varredura (Figura 1), proporcionando um preenchimento dos espaços vazios na TPP, pelas MPL, e dificultando a passagem do permeante (água) pelo filme. O contrário pode ser explicado para o filme de TPS 100% com as MPL em que o amido termoplástico (TPS) possui pouca interação devido às diferenças de polaridade, provocando imperfeições/espaços vazios entre as moléculas de amido e as micropartículas de lignina.

Observa-se que a incorporação das MPL nas blendas poliméricas selecionadas reduziu a taxa e o coeficiente de permeabilidade ao oxigênio, indicando sua eficiência como agentes antioxidante

A redução dos valores de permeabilidade ao oxigênio está diretamente relacionada com a presença de micropartículas de lignina nos filmes. Além disso, as MPL promoveram um aumento da tortuosidade associado ao efeito de reticulação, com formação de redes poliméricas tridimensionais feitas por ligações covalentes, impedindo o transporte de massa (Bonilla et al., 2013; Collazo-Bigliardi et al., 2019). Os grupos fenólicos das ligninas também atuam como agentes antioxidantes, observando maior atividade em alta concentração, como mostrados na Tabela 5.

### **3.6. Atividade Antioxidante**

A atividade antioxidante é fundamental para avaliar a qualidade do filme ativo que possui a intenção de ser aplicado em alimentos que sofrem a oxidação lipídica, a qual prejudica a qualidade dos alimentos alterando suas características sensoriais. Ao realizar a análise de atividade antioxidante por DDPH foi observado que os filmes de TPS e TPP obtiveram baixa atividade antioxidante (Tabela 5).

Os filmes com a MPL (4%) obtiveram maiores valores de atividade antioxidante em relação aos filmes TPS/TPP, notadamente aqueles com maior porcentagem de TPP (P75L4 e P100L4). Além disso, observa-se que o tempo de exposição ao radical DPPH influenciou nos valores obtidos, tendo um aumento principalmente dos filmes com a presença da micropartícula de lignina (Tabela 5 e Figura 5).

Esses resultados são consequência da presença de grupos fenólicos, hidroxilas e duplas ligações na estrutura da micropartícula de lignina, que agem como agente antioxidante nas blendas poliméricas. Esses grupos funcionais exercem a função de sequestradores de radicais livres. Eles doam hidrogênio, provocando assim o término da reação de propagação de

oxidação, por causa da estabilização do radical livre (Borisinkov et al., 2016 ; Collazo-Bigliardi et al., 2019 ; Yang et al., 2016a).

Tabela 5 - Análise Antioxidante dos filmes de TPS/TPP sem e com MPL obtidos por extrusão.

| Filmes        | RSA ( %)                  |                            |
|---------------|---------------------------|----------------------------|
|               | 30 min's                  | 60 min's                   |
| <b>P0L0</b>   | 2,61 ± 0,98 <sup>a</sup>  | 2,83 ± 1,77 <sup>a</sup>   |
| <b>P25L0</b>  | 2,8 ± 0,53 <sup>a</sup>   | 2,72 ± 0,49 <sup>a</sup>   |
| <b>P50L0</b>  | 4,12 ± 0,35 <sup>a</sup>  | 4,12 ± 0,28 <sup>a</sup>   |
| <b>P75L0</b>  | 4,61 ± 0,14 <sup>a</sup>  | 4,69 ± 0,19 <sup>a</sup>   |
| <b>P100L0</b> | 8,69 ± 0,38 <sup>b</sup>  | 8,96 ± 0,51 <sup>b</sup>   |
| <b>P0L4</b>   | 66,83 ± 1,32 <sup>c</sup> | 71,52 ± 1,33 <sup>c</sup>  |
| <b>P25L4</b>  | 66,51 ± 1,83 <sup>c</sup> | 71,08 ± 1,86 <sup>c</sup>  |
| <b>P50L4</b>  | 75,89 ± 1,57 <sup>d</sup> | 79,28 ± 0,83 <sup>d</sup>  |
| <b>P75L4</b>  | 80,03 ± 0,37 <sup>e</sup> | 82,42 ± 0,22 <sup>de</sup> |
| <b>P100L4</b> | 81,27 ± 0,61 <sup>e</sup> | 83,29 ± 0,64 <sup>e</sup>  |

\* Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p < 0.05).

### 3.7. Propriedades ópticas

A adição de TPP proporcionou um menor valor L (luminosidade), maiores valores de a (+ vermelho ou - verde), b (+ amarelo ou - azul) e C\* (saturação) e menor valor h° (tonalidade). A incorporação de 4% de MPL reduziu os valores dos parâmetros analisados de cor, em consequência da coloração marrom escuro das MPL.

As blendas de TPS/TPP (P25L0, P50L0 e P75L0) apresentaram valores positivos para a (vermelho), b (amarelo) e C\* (saturação) que aumentaram de acordo com o aumento da concentração de TPP, ao contrário, o valor h° que diminuiu.

Deste modo, ao analisar os filmes P0L0 ao P100L0 (Tabela 6) e na Figura 2 observa-se que a adição da TPP altera a cor dos filmes para tom mais escuro. Mudando da cor bege claro para vermelho amarelado e deste para marrom. O filme de TPS (P0L0) apresentou a tonalidade mais clara (h°), com tendência para a cor azul. Essa tendência já era esperada, pois o amido é naturalmente mais claro que a pectina, que apresentam a cor branca e bege claro, respectivamente.

O filme de TPP apresentou uma coloração mais escura que o esperado. Suspeita-se que a mudança da cor seja devido à ação do calor aplicado para produção do filme, que ocasionou o escurecimento não enzimático, conhecida como a caramelização. Este escurecimento ocorre através da presença do calor (temperatura >120°C), 9 < pH < 3 e tempo de exposição, sendo catalizado presença de ácidos. Para a produção dos filmes, foi utilizado o ácido cítrico (agente

antioxidante) e o ácido esteárico (melhora a fluidez e dispersão dos polímeros). Deste modo, suspeita-se que ambos compostos contribuíram juntamente com a alta temperatura (extrusão e prensa) para a caramelização da pectina durante a termoplastificação e obtenção dos filmes (Claude e Ubbink, 2006; Kroch, 1994; Nogueira et al., 2019).

Os filmes P0L4 ao P100L4 não apresentaram diferença de coloração, luminosidade e intensidade (Tabela 6), obtendo-se assim uma cor marrom escuro opaco. Pode-se perceber que a incorporação das MPL nos filmes uniformizou a cor, cobrindo assim a diferença de tonalidade expressa nos filmes P50L0 e P75L0 (Figura 2).

Tabela 6 - Análise de cor dos filmes obtidos por extrusão.

| Amostras | L                          | a                         | b                          | C*                         | h°                          |
|----------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| P0L0     | 85,55 ± 1,12 <sup>c</sup>  | - 0,7 ± 0,13 <sup>a</sup> | 3,18 ± 1,42 <sup>a</sup>   | 3,28 ± 1,38 <sup>a</sup>   | 104,96 ± 7,43 <sup>b</sup>  |
| P25L0    | 77,18 ± 2,02 <sup>c</sup>  | 1,85 ± 0,92 <sup>ab</sup> | 19,87 ± 2,12 <sup>b</sup>  | 19,97 ± 2,19 <sup>b</sup>  | 84,90 ± 2,11 <sup>ab</sup>  |
| P50L0    | 76,25 ± 1,94 <sup>c</sup>  | 2,61 ± 1,17 <sup>b</sup>  | 20,88 ± 0,92 <sup>b</sup>  | 21,07 ± 0,96 <sup>b</sup>  | 82,92 ± 3,08 <sup>ab</sup>  |
| P75L0    | 59,72 ± 1,72 <sup>b</sup>  | 10,48 ± 0,97 <sup>c</sup> | 27,20 ± 5,46 <sup>c</sup>  | 29,23 ± 5,10 <sup>c</sup>  | 68,33 ± 4,13 <sup>ab</sup>  |
| P100L0   | 52,16 ± 3,19 <sup>ab</sup> | 12,53 ± 2,11 <sup>c</sup> | 21,28 ± 6,17 <sup>bc</sup> | 24,74 ± 6,34 <sup>bc</sup> | 58,80 ± 3,54 <sup>a</sup>   |
| P0L4     | 42,50 ± 6,78 <sup>a</sup>  | 0,77 ± 0,31 <sup>ab</sup> | 1,45 ± 0,68 <sup>a</sup>   | 1,77 ± 0,36 <sup>a</sup>   | 57,41 ± 25,14 <sup>a</sup>  |
| P25L4    | 40,30 ± 7,46 <sup>a</sup>  | 0,76 ± 0,50 <sup>ab</sup> | 1,64 ± 0,55 <sup>a</sup>   | 1,94 ± 0,22 <sup>a</sup>   | 63,46 ± 22,42 <sup>a</sup>  |
| P50L4    | 40,10 ± 7,76 <sup>a</sup>  | 1,48 ± 0,88 <sup>ab</sup> | 2,36 ± 0,79 <sup>a</sup>   | 2,88 ± 0,93 <sup>a</sup>   | 60,01 ± 15,35 <sup>a</sup>  |
| P75L4    | 40,08 ± 7,65 <sup>a</sup>  | 1,84 ± 0,83 <sup>ab</sup> | 2,64 ± 0,37 <sup>a</sup>   | 3,31 ± 0,47 <sup>a</sup>   | 56,46 ± 13,11 <sup>a</sup>  |
| P100L4   | 40,91 ± 7,0 <sup>a</sup>   | 1,14 ± 0,69 <sup>ab</sup> | 2,73 ± 0,14 <sup>a</sup>   | 3,02 ± 0,31 <sup>a</sup>   | 68,30 ± 11,65 <sup>ab</sup> |

\* Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p < 0.05).

A opacidade (menor taxa de transparência) é um parâmetro desejável para diminuir a passagem da luz no material de embalagem utilizado para proteger alimentos fotossensíveis (Orsuwan e Sothornvit, 2018). Quanto menor o valor obtido, maior é a opacidade do filme/embalagem. Assim, avalia-se que a incorporação das MPL nos filmes, independentemente da quantidade de amido termoplástico e da pectina termoplástica, aumentou a opacidade, ou seja, diminuiu a transparência (Tabela 7). Este comportamento era esperado devido à coloração naturalmente escura das micropartículas de lignina.

De acordo com Wang e Rhim (2016) a opacidade está diretamente relacionada e influenciada pelas partes cristalinas do material e pelas estruturas compactas das cadeias poliméricas que dificultam a passagem da luz. Assim, sugere-se que as micropartículas preencheram os espaços vazios entre as cadeias poliméricas, deixando os filmes mais compactos, promovendo assim maior opacidade das blendas.

Observa-se a redução da transmissão da luz UV (280 nm, 320 nm, 400 nm) nas blendas com pectina termoplástica sem as MPL, em consequência de sua coloração ser naturalmente

mais escura que o amido termoplástico (Tabela 6). Como esperado, a elaboração das blendas com as micropartículas de lignina diminuiu e até mesmo bloqueou totalmente a transmissão da luz em todos os comprimentos de ondas avaliados, luz ultravioleta (280nm e 320 nm), luz visível (400nm e 600 nm) e infravermelho (800nm) (Tabela 7).

Tabela 7 - Análise de transmitância (%) e opacidade dos filmes obtidos por extrusão.

| Amostras      | Transmitância (%)        |                          |                           |                            |                            | T <sub>600</sub>          |
|---------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|               | 280 nm                   | 320nm                    | 400nm                     | 600nm                      | 800nm                      |                           |
| <b>P0L0</b>   | 0,74 ± 0,75 <sup>a</sup> | 2,89 ± 2,18 <sup>a</sup> | 11,14 ± 5,17 <sup>a</sup> | 19,37 ± 7,35 <sup>b</sup>  | 26,15 ± 8,63 <sup>b</sup>  | 3,24 ± 1,48 <sup>b</sup>  |
| <b>P25L0</b>  | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,35 ± 0,25 <sup>b</sup> | 11,62 ± 3,82 <sup>a</sup> | 31,25 ± 3,35 <sup>ab</sup> | 41,46 ± 2,61 <sup>ab</sup> | 3,61 ± 0,20 <sup>ab</sup> |
| <b>P50L0</b>  | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,25 ± 0,33 <sup>b</sup> | 9,03 ± 1,96 <sup>a</sup>  | 33,01 ± 1,36 <sup>a</sup>  | 45,39 ± 1,25 <sup>a</sup>  | 4,74 ± 0,19 <sup>a</sup>  |
| <b>P75L0</b>  | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>  | 2,23 ± 0,68 <sup>b</sup>  | 27,75 ± 4,12 <sup>ab</sup> | 44,49 ± 5,42 <sup>ab</sup> | 3,59 ± 0,55 <sup>ab</sup> |
| <b>P100L0</b> | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>  | 0,46 ± 0,23 <sup>b</sup>  | 29,75 ± 1,76 <sup>b</sup>  | 55,26 ± 1,66 <sup>b</sup>  | 2,82 ± 0,18 <sup>b</sup>  |
| <b>P0L4</b>   | 0,01 ± 0,01 <sup>a</sup> | 0,01 ± 0,03 <sup>b</sup> | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>   | 0,01 ± 0,01 <sup>c</sup>   | 0,14 ± 0,09 <sup>c</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>   |
| <b>P25L4</b>  | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>   | 0,01 ± 0,01 <sup>c</sup>   | 0,28 ± 0,21 <sup>c</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>   |
| <b>P50L4</b>  | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>   | 0,07 ± 0,09 <sup>c</sup>   | 1,93 ± 1,47 <sup>c</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>   |
| <b>P75L4</b>  | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>    | 0,49 ± 0,69 <sup>c</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>   |
| <b>P100L4</b> | 0,00 ± 0,0 <sup>a</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>  | 0,00 ± 0,0 <sup>b</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>    | 0,22 ± 0,23 <sup>c</sup>   | 0,00 ± 0,0 <sup>c</sup>   |

\* Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p < 0.05).

#### 4. CONCLUSÃO

O nosso trabalho ao nosso ver é pioneiro na aplicação de amido termoplástico com pectina termoplástica e a micropartícula de lignina, sendo feito filmes poliméricos pelo método de extrusão para aplicação no desenvolvimento de embalagens ativas. Diante das propriedades analisadas observou se que a pectina aumentou a resistência mecânica das blendas e proteção à luz UV. Já ao se incorporar as micropartículas de lignina observou-se que o filmes com 25% e 50 % de pectina termoplástica obtiveram maior estabilidade térmica, e a blenda alcançou melhores propriedades mecânicas que os materiais de referência. Todas as blendas com as micropartículas de lignina tiveram um aumento na proteção à luz UV, tornando se mais opacos com coloração marrom escuro. As blendas P25L4 e P50L4 tiveram uma menor permeabilidade ao oxigênio e boa propriedade antioxidante. Assim, portanto, a formulação de 25% de pectina termoplástica com micropartículas de lignina é uma boa alternativa para ser aplicada em alimentos que são sensíveis ao contato com oxigênio e à luz UV.

## REFERÊNCIAS

- ASTM. 2000a. Standard practice for conditioning plastics for testing, D618-00. American Society Standard Testing and Materials, Philadelphia 2000a. 4 p.
- ASTM. 2000b. Standard test method for water vapor transmission of materials E96-00. American Society Standard Testing and Materials, Philadelphia 2000b. 9 p.
- ASTM. 2001. Standard test method for slow rate penetration resistance of flexible barrier films and laminates, F1306-90. American Society Standard Testing and Materials, Philadelphia 2001. 4 p.
- ASTM. 2002. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting D882-02. American Society Standard Testing and Materials, Philadelphia 2002. 10 p.
- ASTM. 2003. Standard test method for transparency of plastic sheeting D1746-03. American Society Standard Testing and Materials, Philadelphia.
- Aqlil, M., Nzengué, A.M., Essamlali, Y., Snik, A., Larzek, M., Zahouily, M., 2017. Graphene Oxide Filled Lignin/Starch Polymer Bionanocomposite: Structural, Physical, and Mechanical Studies. *J. Agr. Food Chem.* 65, 10571–10581. <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04155>.
- Azevedo, V.M., Borges, S.V., Marconcini, J.M., Yoshida, M.I., Neto, A.R.S., Pereira, T.C., Pereira C.F.G., 2017. Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. *Carbohydr. Polym.* 157, 971–980. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.046>.
- Baumberger, S., Lapierre, C., Monties, B., Della Valle, G., 1997. Use of kraft lignin as filler for starch films. *Polym. Degrad. Stabil.* 59, 213-211. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00193-6](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00193-6).
- Bertolo, M.R.V., Palva, L.B.B. de, Nascimento, V.M., Gandin, C.A., Neto, M.O., Drlemeter, C.E., Rabelo, S.C., 2019. Lignins from sugarcane bagasse: Renewable source of nanoparticles as Pickering emulsions stabilizers for bioactive compounds encapsulation. *Ind. Crop. Prod.* 140, 111591. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111591>.
- Bonilla, J., Talón, E., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A., 2013. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. *J. Food Eng.* 118, 271–278. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.008>.
- Borisenkov, M.F., Karmanov, A.P., Kocheva, L.S., Markov, P. A., Istomina, E.I., Bakutova L.A., Litvintseva, S.G., Martinson, E.A., Durnev, E.A., Vityazev, F.V., Popov, S.V., 2016. Adsorption of  $\beta$ -glucuronidase and estrogens on pectin/lignin hydrogel particles. *Int. J. Polym. Mater.* 65(9), 433–441. <http://dx.doi.org/10.1080/00914037.2015.1129955>.
- Byun, H., Kim, Y.T., Whiteside, S., 2010. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with  $\alpha$ -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *J. Food Eng.* 100, 239-244. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.005>.



Canteri, M.H.G., Moreno L., Wosiacki G., Scheer A.P., 2012. Pectina: da matéria-prima ao produto final. *Polím.* 22 (2), 149-157. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282012005000024>.

Chen, J., Liu, C., Wu, S., Liang, J., Lei, M., 2016. Enhancing the quality of bio-oil from catalytic pyrolysis of kraft black liquor lignin. *RSC Adv.* 6, 107970. <https://doi.org/10.1039/c6ra18923g>.

Claude, J., Ubbink, J., 2006. Thermal degradation of carbohydrate polymers in amorphous states: A physical study including colorimetry. *Food Chem.* 96, 402–410. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.003>.

Collazo – Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., Chiralt, A., 2019. Improving properties of thermoplastic starch films by incorporating active extracts and cellulose fibres isolated from rice or coffee husk. *Food Packag. Shelf Life*, 22, 100383. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100383>.

Çalgeris, I, Çakmaklı, E., Ogan, A., Kahraman, M. V., Kayaman-Apohan, N., 2012. Preparation and drug release properties of lignin–starch biodegradable films. *Starch/Starke.* 64: 399–407. <https://doi.org/10.1002/star.201100158>.

Ezati, P., Rhim, J.H., 2020. pH-responsive pectin-based multifunctional films incorporated with curcumin and sulfur nanoparticles. *Carbohydr. Polym.*, 230, 115638. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115638>

Ferreira D. F., 2008. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Rev. Cient. Symposium*, 6 (2), 36-41. <http://www.dex.ufla.br/~danielff/meusarquivospdf/art63.pdf>. (accessed 20 January 2020).

Fishman, M. L., Coffin, D. R., Konstance, R. P., Onwulata, C. I., 2000. Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. *Carbohydr. Polym.* 41, 17–325. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00117-4).

Fishman, M. L., Coffin, D. R., Onwulata, C. I., Konstance, R. P., 2004. Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch. *Carbohydr. Polym.* 57, 401–413. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.05.014>.

Gomide, R.A.C., Oliveira, A.C.S. de, Rodrigues, D.A.C., Oliveira, C.R. de, Assis, O.B.G. de, Dias, M.V., Borges S.V., 2020. Development and Characterization of Lignin Microparticles for Physical and Antioxidant Enhancement of Biodegradable Polymers. *J. Polym. Environ.* 28, 1326–1334. <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01685-z>.

Gontard, N., Guilbert, S., 1994. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: Mathlouthi M. (Eds.), *Food Packag. Preserv.* (pp. 159-181). Boston, MA: Springer.

Khanoonkon, N., Yoksa, R., Ogale, A. A., 2016. Morphological characteristics of stearic acid-grafted starch compatibilized linear low-density polyethylene/thermoplastic starch blown film. *Eur. Polym.* 76, 266–277. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.02.001>.

Kroch, L. W., 1994. Caramelisation in food and beverages. *Food Chem.* 51, 373-379. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90188-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90188-0).

Mendes, J.F., Paschoalin R.T., Carmona V.B. Neto A.R.S., Marques A.C.P., Marconcini J.M., Mattoso L.H.C., Medeiros E.S., Oliveira L.E., 2016. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. *Carbohydr. Polym.* 137, 452 – 458. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.093>.

Meneguim, A.B., Cury, B.S.F., Santos A.M. dos, Franco D.F., Barud H.S., Silva Filho E.C. da, 2017. Resistant starch/pectin free-standing films reinforced with nanocellulose intended for colonic methotrexate release. *Carbohydr. Polym.*, 157, 1013–1023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.062>.

Mehbood, S., Ali, T.M., Sheikh, M., Hasnain, A., 2020. Effects of cross linking and/or acetylation on sorghum starch and film characteristics. *Int. J. Biol. Macromol.* 155, 786–794. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.144>.

Miranda, V.R., Carvalho, A.J.F., 2011. Blendas Compatíveis de Amido Termoplástico e Polietileno de Baixa Densidade Compatibilizadas com Ácido Cítrico. *Polím.*, 21 (5), 353-360. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282011005000067>.

Moreira, F.K.V., Marconcini, J.M., Mattoso, L.H.C., 2012. Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends. *Polym. Bull.* 69, 561–577. <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0750-x>.

Nogueira, G.F., Soares C.T., Cavasini R., Fakhouri F.M., Oliveira R.A., 2019. Bioactive films of arrowroot starch and blackberry pulp: Physical, mechanical and barrier properties and stability to pH and sterilization. *Food Chem.*, 275, 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.054>.

Orsuwan, A., Sothornvit, R., 2018. Active Banana Flour Nanocomposite Films Incorporated with Garlic Essential Oil as Multifunctional Packaging Material for Food Application. *Food Bioprocess Tech.* 11, 1199–1210. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2089-2>.

Pélla, M.C.G., Silva, O.A., Pellá, M.G., Beneton, A.G., Caetano, J., Simões, M.R., Dragunski, D.C., 2020. Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. *Food Chem.* 309, 125764. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125764>.

Róz, A.L.D., Veiga-Santos, P., Ferreira A.M., Antunes T.C.R., Leite F.L., Yamaji, F.M., Carvalho, A.J.F. de, 2016. Water Susceptibility and Mechanical Properties of Thermoplastic starch – pectin blends reactively extruded with edible citric acid. *Mater. Res.* 19 (1), 138 -142. <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2015-0215>.

Sarantópoulos C. I. G. L., Teixeira F. G., 2002. Embalagens plásticas flexíveis: Principais polímeros e avaliação das propriedades. (2th ed.). Campinas: CETEA/ITAL, p. 267.

Shankar, S., Tanomrod, N., Rawdkuen, S., Rhim, J.W., 2016. Preparation of pectin/silver nanoparticles composite films with UV-light barrier and properties. *Int. J. Biol. Macromol.*, 92, 842–849. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.107>.

Jaramillo, C.M., Gutiérrez T.J., Goyanes, S., Bernal, C., Famá, L., 2016. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydr. Polym.* 151, 150–159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>.

Wang, L.F., Rhim, J.W., 2016. Grapefruit seed extract incorporated antimicrobial LDPE and PLA films: Effect of type of polymer matrix. *LWT - Food Sci. Technol.* 74, 338-345. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.066>.

Wang, L.F., Rhim, J.W., 2015. Preparation and application of agar/alginate/collagen ternary blend functional food packaging films. *Int. J. Biol. Macromol.* 80, 460-468. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.007>.

Wen, J.L. Xue, B.L., Xu, F., Sun, R.C., Pinkert, A., 2013. Unmasking the structural features and property of lignin from bamboo. *Ind. Crop. Prod.* 42, 332-343. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.041>.

Yang, W., Fortunati, E., Dominici, F. Giovanale, G., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., Kenny, J. M., Puglia, D., 2016a. Effect of cellulose and lignin on disintegration, antimicrobial and antioxidant properties of PLA active films. *Int. J. Biol. Macromol.* 89, 360–368. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.068>.

Yang, W., Fortunati, E., Dominici, F. Giovanale, G., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., Kenny, J. M., Puglia, D., 2016b. Synergic effect of cellulose and lignin nanostructures in PLA based systems for food antibacterial packaging. *Eur. Polym. J.* 79, 1–12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.04.003>.

Yang, W., Kenny, J.M., Puglia, D., 2015. Structure and properties of biodegradable wheat gluten bionanocomposites containing lignin nanoparticles. *Ind. Crop. Prod.* 74, 348–356. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.032>.

Zhang, C.W., Nair, S.S., Chen, H., Yan, N., Farnood R., Li F., 2020. Thermally stable, enhanced water barrier, high strength starch biocomposite reinforced with lignin containing cellulose nanofibrils. *Carbohydr. Polym.* 230, 115626. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115626>.

Zhou, J., Tong, J., Su, X., Ren, L., 2016. Hydrophobic starch nanocrystals preparations through crosslinking modification using citric acid. *Int. J. Biol. Macromol.* 91, 1186–1193. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.082>.