



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TÚLIO ÍTALO DA SILVA OLIVEIRA

**BIOMASSA DE CASCAS DE BANANA COMO FONTE DE MATÉRIA-PRIMA NA
OBTENÇÃO DE FILMES BIONANOCOMPÓSITOS COM POTENCIAL
APLICAÇÃO EM EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS**

FORTALEZA

2018

TULIO ITALO DA SILVA OLIVEIRA

BIOMASSA DE CASCAS DE BANANA COMO FONTE DE MATÉRIA-PRIMA NA
OBTENÇÃO DE FILMES BIONANOCOMPÓSITOS COM POTENCIAL APLICAÇÃO
EM EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química como requisito
parcial para a obtenção do título de
Doutor. Área de Concentração: Química

Orientadora: Profa. Dra. Selma E. Mazzetto

Coorientadora: Dra. Henriette M. C. de
Azeredo

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O52b Oliveira, Túlio Ítalo da Silva.

Biomassa de cascas de banana como fonte de matéria-prima na obtenção de filmes bionanocompósitos com potencial aplicação em Embalagens biodegradáveis /

Túlio Ítalo da Silva Oliveira. – 2018.

173 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2018.

Orientação: Profa. Dra. Selma Elaine Mazzetto.

Coorientação: Profa. Dra. Henriette M. C. de Azeredo.

1. Biomassa. 2. Casca de Banana. 3. Pectina. 4. Bionanocompósitos. 5. Embalagens biodegradáveis. I. Título.

TÚLIO ÍTALO DA SILVA OLIVEIRA

BIOMASSA DE CASCAS DE BANANA COMO FONTE DE MATÉRIA-PRIMA NA
OBTENÇÃO DE FILMES BIONANOCOMPÓSITOS COM POTENCIAL APLICAÇÃO
EM EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química.

Aprovada em: 23/03/2018.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Selma Elaine Mazzetto (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho
Embrapa Agroindústria Tropical (EMBRAPA/CNPAT)

Profa. Dr. Francisco Audísio Dias Filho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pierre Basílio Almeida Fechine
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Maria Aleksandra de Sousa Rios
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao Senhor Deus, digno de toda honra e glória.
Aos meus pais, Sr. João José e Sra. Maria
Elizeth; minha irmã, Thaysmênia e minha
amada esposa, Carolina.

AGRADECIMENTOS

Encaro a escrita dessa parte da tese como um momento de reflexão. Eu me lembro do garoto de 18 anos chegando á UFC, na tão sonhada UFC (embora um sonho “quase” impossível para um jovem do interior de Aracati), na insegurança e no medo de não ser o suficiente para estar ali. Enfim graduação (com a comenda Magna cum Laude), mestrado e agora concluindo o doutorado... meu Senhor Deus de glória e honra, como cheguei aqui? A busca por um sonho e o apoio de toda a minha família tornou em um presente tão real e possível. Portanto, quero muito agradecer a Deus em sua infinita bondade, majestade, longanimidade, misericórdia e amor, sem este nada seríamos. Sou grato às pessoas que acreditaram em mim e estiveram ao meu lado ao longo desta caminhada.

Em especial agradeço ao presente completo que Deus colocou em minha vida: pai, mãe, irmã e esposa. Sou grato a minha família, aos meus pais João José Ribeiro de Oliveira e Maria Elizeth da Silva Oliveira, um agricultor por orgulho e uma fotocopista de xerox com mais de 30 anos de amor ao seu lindo trabalho realizado. Exemplos de vida com honestidade, garra, perseverança e muito amor. Serei eternamente grato por serem bênçãos em minha vida com muito amor. Obrigado por tudo. Á minha irmã (e filha de coração), Thaysmênia da Silva Oliveira. Você foi um presente de Deus e sempre estarei ao seu lado em todos os momentos em união servindo ao Senhor e aprendendo a cada dia o quão grande e forte é a sua presença em nosso meio. Gratidão define o meu sentimento ao escrever essas linhas.

Agradeço pela vida da minha amada esposa, Carolina Moura Paulino. Louvo ao Senhor pela bênção que ele colocou em minha vida em um momento mais que especial, o qual não imaginava quão grandiosa era a obra dele em minha vida em presentear ao meu coração com uma serva do Deus altíssimo com muito amor, carinho, cuidado, zelo, compreensão, comunhão, exemplo e amor. Grato por todos os momentos ao longo da nossa caminhada.

Estimo os meus agradecimentos à minha família, Silva e Oliveira, pela presença, apoio, incentivo, compreensão e momentos de muitas alegrias vivenciados e compartilhados com muitas lembranças dos meus avós, genitores de

uma geração de vitoriosos, Vó Ua, Vó Bira, Vô João Paes e meu vô materno, o qual não conheci mas sempre amei. Grato a Deus pela vida da minha prima irmã, Xeila, pela história de vida que temos ao longo de uma caminhada de lutas e vitórias.

À profa. Selma Elaine Mazzetto, minha eterna orientadora e amiga pela confiança em meu trabalho realizado durante esta parceria de 11 anos. Agradeço por ter acreditado no meu potencial e por todas as oportunidades que me concedeu. Sabe que é muito mais que uma orientadora, que além de sabedoria e competência, possui uma grande determinação, dinamismo e carisma, que a torna uma pessoa muito especial e faz com que todos tenham inspiração e base para uma carreira de grandes vitórias.

Gostaria muito de agradecer à pesquisadora, professora e orientadora, Profa. Morsyleide de Freitas Rosa, a Morsy, em nome de todos do Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB), da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT). Obrigado pela atenção ao meu trabalho e pela dedicação, paciência, amizade e pelos ensinamentos proporcionados. Sou grato pela rica oportunidade, através das portas abertas e pela confiança em meu trabalho. Tenha certeza que a sua participação foi muito importante para meu crescimento, sou eternamente grato por tudo.

A Professora e orientadora de grande competência, Dra. Henriette (Ette) pela oportunidade e confiança para a realização de um trabalho de grande relevância no exterior. Sou grato por tudo e sempre expresso a minha gratidão!

A todos os colegas que contribuíram para a realização deste projeto de pesquisa, de forma direta ou indireta, com o objetivo de expandir a ciência, compartilhar o conhecimento e realizar algo em benefício a nossa sociedade. Nágila, Edna, Eli, Avelino, Lindervan, Fábio, Lilian, Niedja e a todos que pertencem ao LTB.

Ao Dr. Keith Waldron, pesquisador líder do grupo de pesquisa do Biorefinery Centre, pela oportunidade de ter desenvolvido o projeto nas instalações do IFR. Sou grato a todos os pesquisadores, supervisores e estagiários, como o Graham (um amigo que o instituto me concedeu), Sam, Ian (pela receptividade e compreensão com o inglês), Joy, Adam, Xin, Susida, Luna, Rosário, Peter, Aurelie e, ao amigo e

companheiro de trabalho no exterior, Thanh. Grato pelas experiências diárias em um país fantástico e espetacular.

À CAPES (DS) pela bolsa concedida durante o período de permanência no Brasil e ao CNPq como órgão de fomento responsável pela bolsa no exterior, dentro do projeto de parceria EMBRAPA/IFR e BBRSC (órgão financiador da Inglaterra).

Aos amigos e irmãos da igreja em Norwich, Servant Church e King's Centre, que demonstraram a receptividade, acolhida, atenção, carinho e amor para um casal de brasileiros que ainda estavam assimilando a presente localização, diante de um conjunto de emoções e anseios. Somos gratos a DEUS por tudo e todos.

À Nádia Mara, uma pessoa especial que Deus colocou na minha vida e da minha esposa com o prazer de acolher e ajudar a todos. Somos gratos pelas aventuras e pelo cuidado, diante de um mundo fantástico em Londres. Obrigado por tudo.

À família da minha esposa, Moura Paulino, em nome dos meus sogros, Rosa e Jarbas, e a minha amada tia de coração, Nilzete. Deus os abençoe. Sou grato pela vida de cada um. À Maria das Graças Bessa, D. Graça, uma pessoa mais que especial em minha vida. Gratidão pela amizade e por tudo que representa para a minha família.

Aos amigos e irmãos da Igreja Pentecostal Fonte de Vida, em nome do Pr. José Carlos e Missionária Tereza Cristina, pelo cuidado, zelo e intercessão para que esse momento chegasse. Obrigado por tudo. Aos irmãos em Cristo, Jorge Mateus, Natália Rodrigues, Sandra Oliveira, Anderson Meneses, Sarah Ribeiro, Ângelo Ribeiro, Samuel Cavalcante e Samuel Jó e Nilma Rodrigues. Sou extremamente feliz pela presença de cada um neste momento de concretização de um sonho. Sou grato a Deus por tudo. À Pra. Irlândia Mary, pela importância da amizade firmada no Senhor. Muito obrigado por orar comigo por este sonho realizado.

Grato pela oportunidade de fazer parte da PEFOCE, em nome do Perito Geral, Ricardo Macedo, e a Manuela Cândido, Coordenadora da CALF. Torna-se prazeroso contribuir com a sociedade ajudando ao próximo, assim como diz a palavra do Senhor Jesus.

“Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que se não vêem. Porque por ela os antigos alcançaram testemunho. Pela fé entendemos que os mundos pela palavra de Deus foram criados; de maneira que aquilo que se vê não foi feito do que é aparente.”

Hebreus 11:1-3

“Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui, nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.”

Albert Einstein

RESUMO

Bananas (*Musa acuminata*, Grupo AAA), uma das culturas frutíferas mais importantes por causa de sua disponibilidade durante todo o ano e seu alto valor nutricional, são consumidas cruas, em sua maioria, e seus produtos processados incluem farinha de banana, batatas fritas e purê (que pode ser usado para produzir néctares e uma variedade de outros produtos). As cascas de banana constituem cerca de 30% da fruta e representam um problema ambiental por causa de seus grandes teores de nitrogênio e fósforo, bem como seu alto teor de água, tornando-os altamente suscetíveis à degradação microbiana. O uso destas cascas como fonte de compostos de alto valor, tais como pectina, nanofibras de celulose e compostos fenólicos, torna-se interessante não só do ponto de vista econômico, mas também da perspectiva ambiental. Este trabalho teve como objetivo principal o aproveitamento de resíduos agroindustriais provenientes de cascas de banana como forma de avaliar a influência do pH, temperatura e tempo na extração de pectina com ácido cítrico (CA). As cascas de banana foram adquiridas no mercado da cidade de Norwich, no Reino Unido, no estágio 6 de maturação do tipo Cavendish. A extração de pectina foi conduzida, inicialmente, pela preparação de um resíduo insolúvel em álcool, a fim de remover os compostos de baixa massa molar, incluindo vestígios de ácido galacturônico livre. A pectina foi extraída do AIR, de acordo com um delineamento de composto central com 3 (três) variáveis: pH da solução de CA; temperatura e tempo de extração para determinar os seguintes efeitos: pH (2,0-4,5), temperatura de extração (70-90°C) e tempo (120-240min) sobre o rendimento e teor de ácido galacturônico e grau de metoxilação. As mudanças na composição durante as etapas principais da extração de pectina foram acompanhadas pela técnica de Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier, a qual foi utilizada para determinar o grau de metoxilação e ácido galacturônico. As condições otimizadas de extração, definidas como aquelas que resultaram em um rendimento máximo, mantendo um grau de metoxilação, em um mínimo de 51%, foram: 87°C, 160 min e pH 2,0. Pectinas de outras fontes foram utilizadas para o desenvolvimento de filmes bionanocompósitos, como parte dos objetivos da pesquisa científica do presente trabalho. A incorporação de agentes de reforço, tais como nanocristais de celulose foi realizado para melhorar o desempenho dos filmes a partir de pectina, junto ao efeito do CA, como agente reticulante, sobre as propriedades do material. Os filmes foram plastificados com glicerol e preparados em diferentes teores de nanocristais de celulose (0-10% em peso), na presença ou ausência de CA. Os espectros de FT-IR confirmaram a ocorrência de reticulação. Além disso, a resistência à tração, a solubilidade em água e a permeabilidade ao vapor de água foram melhoradas pela presença do ácido. Os espectros de RMN ¹³C no estado sólido indicaram que tanto o agente reticulante quanto o agente de reforço promoveram a rigidez das cadeias poliméricas. Diante dos resultados adquiridos os filmes confeccionados apresentaram um perfil potencial para aplicação na área de embalagens para alimentos.

Palavras chave: Biomassa. Cascas de banana. Pectina. Bionanocompósitos. Embalagens biodegradáveis.

ABSTRACT

Bananas (*Musa acuminata*, AAA Group), one of the most important fruit crops because of their availability throughout the year and its high nutritional value, are mainly raw consumptions and their processed products banana flour, French fries and puree (which can be used to produce nectar and a variety of products). As banana peels constitute about 30% of the fruit and represent an environmental problem because of their high levels of nitrogen and phosphorus, as well as their high water content, making them highly susceptible to microbial degradation. The use of more shells as a source of high-value compounds, such as pectin, cellulose nanofibers and phenolic compounds, becomes interesting not only from the economic point of view but also from the environmental perspective. This work had as main objective the use of agroindustrial residues, in order to evaluate the influence of pH, temperature and time on the extraction of pectin with citric acid (CA). As banana peels were purchased on the market in Norwich, UK, in stage 6 Cavendish maturation. Pectin extraction was initially conducted by the preparation of an alcohol insoluble residue, a low mass feedstock remover, including traces of free galacturonic acid. A pectin was extracted from the AIR, according to a central compound design with 3 (three) variables: pH of the CA solution; temperature and extraction time to determine the following effects: pH (2.0-4.5), extraction temperature (70-90°C) and time (120-240min) on the yield and content of galacturonic acid and degree of methoxylation. The changes in composition during the main stages of pectin extraction were accompanied by the spectroscopy technique in the Fourier transform Infrared region, a reference for the determination of the degree of methoxylation and galacturonic acid. The extraction minimization conditions, defined as those that resulted in a maximum yield, maintaining a methoxylation degree, at a minimum of 51%, were: 87°C, 160 min and pH 2.0. Pectins from other sources for the development of bionanocomposite films, as part of the scientific research objectives of the present work. The incorporation of reforestation agents such as cellulose nanocrystals was developed to improve the performance of the films from pectin along with the effect of CA as a crosslinking agent on how the material resource. The films were plasticized with glycerol and prepared at different contents of cellulose nanocrystals (0-10% by weight) in the presence or absence of CA. FT-IR spectra confirm an occurrence of cross-linking. In addition, a tensile strength, a water solubility and a water vapor permeability improved by the presence of the acid. Solid ¹³C NMR spectra indicated both the crosslinking agent and the reformer of the polymer chain stiffness. In view of the results obtained in the films made presented a potential profile for application in the area of food packaging.

Keywords: Biomass. Banana peels. Pectin. Bionanocomposites. Food Packaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Potencial de valorização de resíduos agroindustriais.	29
Figura 2 -	Estrutura de uma fibra vegetal (MEV da fibra de Eucalipto).....	30
Figura 3 -	Estruturas químicas da (a) xilose e do (b) ácido glucurônico.	31
Figura 4 -	Estrutura proposta para as variedades de lignina.	32
Figura 5 -	Unidade de repetição da molécula de celulose.....	33
Figura 6 -	Estruturas cristalinas das celulosas nativas: (a) estrutura cristalina triclínica da celulose I α ; b) Celulose I β monoclínica; (c) representação esquemática das celas unitárias; (d) orientação relativa das celas unitárias das estruturas I α (linha seccionada) e I β (linha sólida).	34
Figura 7 -	Estruturas cristalinas das celulosas nativas.	35
Figura 8 -	Esquema com as regiões amorfas (mais suscetíveis à hidrólise) e cristalinas de celulose.....	39
Figura 9 -	Mecanismo da reação de hidrólise da celulose catalisada por ácido; (a) protonação do oxigênio glicosídico; (b) geração do carbocátion; (c) ataque da água sobre C1; (d) e (e) finalização da etapa de despolimerização ou produção de glicose.....	40
Figura 10 -	Modelos propostos para a macroestrutura das pectinas. a) Modelo contínuo linear, com regiões de HG interceptadas com RG-I e RG-II. b) Estrutura alternativa, na qual a HG é considerada uma cadeia lateral da RG-I.	44
Figura 11 -	Cadeia central do ácido poligalacturônico com os grupamentos livres de metoxilação e metoxilados classificados em (a) HM e (b) LM.....	45
Figura 12 -	Escala de Maturação de Von Loesecke.	52
Figura 13 -	Dados da exportação mundial de banana de 2011 – 2015 (verde - América Latina e Caribe; amarelo – Ásia e Azul – África).	54
Figura 14 -	Cascas de bananas.	56
Figura 15 -	Rota esquemática e ilustrativa da obtenção de bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis.....	58
Figura 16 -	Evolução da fração volumétrica limite de percolação com a razão de aspecto de fibras aleatoriamente distribuídas.	62
Figura 17 -	Processo de formação de filmes poliméricos evaporação de solvente (casting).....	63
Figura 18 -	Estrutura do glicerol.	64
Figura 19 -	Formação do anidrido reativo após aquecimento do CA.	66
Figura 20 -	Reticulação da GX pelo CA.	67

Figura 21 - Embalagens biodegradáveis (a) produzidas de polpa de manga; (b) acompanhamento da degradação de frutas não revestidas e revestidas com filmes biodegradáveis.	71
Figura 22 - Obtenção das cascas de banana moídas.	78
Figura 23 - Esquema dos compostos majoritários de BPP.	79
Figura 24 - Rota esquemática de obtenção do AIR; (I): 600 mL de 70% de etanol em ebulição; (II): 600 mL de etanol absoluto em ebulição; 600 mL de etanol absoluto à temperatura ambiente; (III): 600 mL de etanol absoluto à temperatura ambiente; (IV): 200 mL de acetona.	84
Figura 25 - Etapas para a extração de pectina; (a) AIR: razão de solução de CA; (b) precipitado do processo de extração (rico em celulose); (c) sobrenadante com pH ajustado; (d) precipitação da pectina em etanol absoluto; (e) pectina após centrifugação e (f) após a moagem.	85
Figura 26 - Estruturas dos resíduos correspondentes ácidos urônicos esterificados e livres.	88
Figura 27 - Áreas das bandas dos grupos carboxílicos esterificados e ausência.	89
Figura 28 - Etapa de polpação acetossolve de AIR (a) suspenso em uma mistura de ácido acético a 93% e 0,3% de HCl, em água destilada; (b) licor negro rico em lignina; (c) polpa acetossolve.	92
Figura 29 - Etapas de branqueamento das fibras das cascas de banana, através do branqueamento (d) contendo NaOH 4% e H ₂ O ₂ a 6% com a polpa; (e) filtrado após lavagem da polpa; (f) após secagem da fibra branqueada; (g) Branqueamento em solução de KOH 6% da fibra branqueada anteriormente; (h) filtrado após lavagem da polpa; (i) após secagem da fibra branqueada.	93
Figura 30 - Esquema ilustrativo do isolamento dos nanocristais de celulose.	94
Figura 31 - Panorama geral da obtenção de Nanocelulose, do AIR de cascas de banana.	95
Figura 32 - Esquema ilustrativo da preparação dos filmes pelo método Casting.	97
Figura 33 - Acompanhamento do ensaio de tração de filmes (a) antes e (b) depois da aplicação da tensão.	99
Figura 34 - Dessecador com as células de permeação, (b) célula com o filme aderido a superfície, e (c) Estrutura de formação de uma célula de permeação (constituído de quatro parafusos rosqueáveis com duas estruturas intermediárias de fixação do filme).	100
Figura 35 - Acompanhamento do teste de solubilidade dos filmes: (a) Durante a agitação por 6h e (b) após secagem (peso final).	101
Figura 36 - Gráfico de VCT exemplificando os Tempos de contato (T _{CH}) e de relaxação (T _{1pH}) em um experimento de CP/MAS.	104
Figura 37 - Espectros de FT-IR referentes ao BPP; ao AIR e a pectina, obtida a 86°C, 216 min e pH 2,51.	107

Figura 38	- Curva de distribuição de massa molar da pectina obtida do AIR.	111
Figura 39	- Rendimento da extração de pectina da casca de banana.	115
Figura 40	- Grau de esterificação de pectinas da casca de banana.....	116
Figura 41	- Teor de ácido galacturônico em pectinas.	118
Figura 42	- Rendimento do ácido galacturônico da extração de pectina casca de banana	119
Figura 43	- Fotomicrografia Eletrônica de Transmissão (MET) dos nanocristais de celulose de cascas de banana.	123
Figura 44	- Gráfico da distribuição do potencial zeta.	126
Figura 45	- Propriedades de tração dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).....	127
Figura 46	- Propriedades de alongação dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).....	129
Figura 47	- Propriedades de elasticidade dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).....	130
Figura 48	- Propriedades de opacidade dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).....	131
Figura 49	- Aparência dos filmes controle (CNC-0-CA-0), contendo a CNC (CNC-7,5-CA-0), o CA (CNC-0-CA-20) e ambos CNC e CA (CNC-7,5-CA-20 e CNC-10-CA-20), de acordo com a sequência CNC-teor-CA-teor.	133
Figura 50	- Propriedades material insolúvel dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).....	134
Figura 51	- Propriedades de PVA dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).....	135
Figura 52	- Esquema da permeação do vapor de água em uma blenda controle (a) e nos nanocompósitos com nanocristais (b), hipotetizando o aumento da tortuosidade do caminho de difusão pela presença dos domínios de nanocristais de celulose.	137
Figura 53	- Os espectros de FT-IR dos filmes em concentrações de CNC e o teor de CA, bem como a pectina pura e a suspensão de CNC. Filmes identificados como CNC-X-CA-Y, X e Y indicam os CNC e de CA (%) com base em pectina seca, respectivamente.	139
Figura 54	- Fotomicrografias do MEV de (a) Filme controle da pectina; (b) filme de pectina com 7,5% de CNC; (c) Filme de pectina com CA a 20%; (d) filme de pectina com CA a 20% e 7,5% de CNC, em peso.	141
Figura 55	- Espectros de RMN ¹³ C - CP/MAS de filmes (identificado como CNC-X-CA-Y; X e Y indicando os teores em percentis de CNC e CA, respectivamente, com base em pectina seca).....	143

- Figura 56 - Espectros de RMN ^{13}C - CP/MAS dos filmes: (a) CNC-0-CA-0 e CNC-7,5-CA-20; (b) Sobreposição para comparação dos dados..... 145
- Figura 57 - Gráficos: a) T_{CH} e b) $^1\text{H-T}_{1\rho}$ a partir da dinâmica de transferência de polarização. Legenda: 100: sinal a 100 ppm; 70: sinal a 70 ppm. **1**- Controle; **5**: 7,5% CNC; **9**: 7,5% CNC e 20% de CA e **10**: 20% de CA; *:Amostra com os melhores resultados.....146
- Figura 58 - Os espectros de DRX dos filmes (identificado como CNC-X-CA-Y, X e Y indica o teor por cento de CNC e CA, respectivamente, com base em pectina seca) com os referidos ângulos de difração..... 149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Aplicações das pectinas em diferentes segmentos industriais.	48
Tabela 2	- Principais cultivares encontradas no Brasil e seus respectivos grupos e constituição Genômica.	50
Tabela 3	- Níveis de produção de produtos agroindustriais no Brasil.	55
Tabela 4	- Condições experimentais de extração de pectina das cascas com CA apresentando os valores codificados de acordo com o delineamento e os valores reais correspondentes (experimental).	86
Tabela 5	- Composição do pó da casca de banana em base de matéria seca. .	105
Tabela 6	- Principais frequências vibracionais para as fibras obtidas.	109
Tabela 7	- Valores das massas molares ponderada (M_w), numérica (M_n) médias, e polidispersividade de amostras de pectinas; PC: pectina; PC-a: em condições ácidas; PC-b: em condições básicas.	112
Tabela 8	- Respostas para os 17 tratamentos de extração de pectina da casca de banana (termos em negrito são os valores mínimos e máximos).	114
Tabela 9	- Valores de respostas e previstas nas condições adequadas (87°C, 160 min, pH 2,0).	120
Tabela 10	- Equações de regressão (para variáveis codificadas) e parâmetros estatísticos dos modelos.	121
Tabela 11	- L/d de outras fontes biodegradáveis.	124
Tabela 12	- Valores das respostas dos filmes, com e sem CA, de acordo com a análise de significância (testes t e p).	138
Tabela 13	- Valores das larguras da linha espectral (Hz) dos filmes em estudo identificado como CNC-X-CA-Y, X e Y indicando os teores em percentis de CNC e CA, respectivamente, com base em pectina seca).	144
Tabela 14	- Tempo de Contato (T_{CH}) e tempos de relaxação spin-rede de prótons na janela de variação ($1H-T_{1\rho}$) de alguns filmes.	147
Tabela 15	- Valores de I_c para as amostras de filmes analisadas.	150
Tabela 16	- Elaboração de artigos científicos durante o Doutorado.	165

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A	Absorbância
A _{EU}	Área da banda da carbonila esterificada
ASTM	American Society for Testing and Materials
AIR	Resíduo Insolúvel em Álcool
ATR	Reflectância total atenuada
BCC	British Chambers of Commerce
BPP	Cascas de banana moídas
CA	Ácido cítrico
CE	Ceará
CEE	Comunidade Econômica Europeia
CNC	Nanocristais de celulose
CNPAT	Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento
CMC	Celulose microcristalina
CP	Polarização Cruzada
CP/MAS	Polarização Cruzada com rotação da amostra em torno do ângulo mágico
DCC	Delineamento de Composto Central
d	Diâmetro dos nanocristais
ΔP	Diferença entre a pressão parcial da atmosfera sobre a sílica gel e sobre a água pura (3,168 kPa, a 25 °C)
DM	Grau de Metoxilação de pectinas
DE	Grau de Esterificação de pectinas
EUA	Ácidos urônicos esterificados
EU	União Europeia
EFSA	Autoridade Europeia de Segurança Alimentar
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FUA	Ácidos urônicos não esterificados (livres)
FA	Fibra Acetossolve
FT-IR	Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier
FAO	Organização Americana de Alimentos
GA	Ácido Galacturônico
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
GX	Goma Xantana
HOO-	Íon peróxido
HG	Homogalacturonana
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
HM	Alta Metoxilação
IFR	Institute of Food Research
I	Intensidade de difração
I _c	Índice de Cristalinidade
L	Comprimento dos nanocristais

LTB	Laboratório de Tecnologia da Biomassa
LM	Baixa Metoxilação
LPT	Laboratório de Produtos e Tecnologia de Processos
L/d	Razão de aspecto dos nanocristais
MA	Massa da amostra
MAH	Massa da amostra de holocelulose
M _{AIR}	Massa de fibra de AIR
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
M _{FA}	Massa de fibra acetossolve
MF	Massa do funil seco vazio
MFH	Massa do funil somada à massa de holocelulose
MI	Material Insolúvel
MMT	Montmorilonita
MRE	Massa do conjunto recipiente/extrativos
MRRS	Massa do conjunto recipiente/resíduo de solvente
MSR	Método de Superfície de Resposta
NMF	Nações mais favorecidas
PA	Poliamidas
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
P-9311	Padrão de pectina com valor de DM de 31%
P-9436	Padrão de pectina com valor de DM de 67%
P-9561	Padrão de pectina com valor de DM de 89%
PCB	Polpa celulósica proveniente das fibras brutas
PE	Polietileno
PP	Polipropileno
PVC	Poli(vinilcloro)
PET	Poli(etileno tereftalato)
PLA	Poli (ácido láctico)
PBAT	Poli-butileno adipato co-tereftalato
PL	Projeto de Lei
PS	Poliestireno
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RA	Razão das Áreas dos ácidos urônicos
RN	Rio Grande do Norte
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Rha	Resíduos de ramnose
R _{BR}	Rendimento de branqueamento
RG-I	Ramnogalacturonana tipo I
RG-II	Ramnogalacturonana tipo I
SisNano	Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologias
SECEX	Secretaria Executiva
TAPPI	Technical Association of the Pulp and Paper Industry
TH	Teor de holocelulose
The	Teor de hemicelulose

TA	Teor de alfacelulose
T1 _{pH}	Tempo de relaxação de spin-rede de prótons na estrutura rotativa
T _{CH}	Tempo de contato
T _{CORRIGIDO}	Valor real de alfacelulose
UE	União Europeia
VCT	Tempo de contato variável
Y _{GA}	Rendimento de ácido galacturônico
XGA	Xilogalacturonana
ζ	Potencial Zeta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1	Resíduos agroindustriais	27
2.2	Organização Hierárquica das fibras vegetais	29
2.3	Celulose	32
2.4	Nanocristais de Celulose	35
2.4.1	<i>Extração dos nanocristais de celulose</i>	37
2.5	Pectinas.....	42
2.5.1	<i>Pectina: constituição química e estrutura</i>	43
2.5.2	<i>Pectina e suas aplicações</i>	47
2.6	Banana e suas cascas como fonte de pectinas	49
2.6.1	<i>A Fisiologia do amadurecimento da Banana</i>	51
2.6.2	<i>Análise do contexto econômico da produção de Banana</i>	52
2.6.3	<i>As cascas de Banana e suas funcionalizações</i>	55
2.7	Nanocompósitos	56
2.8	Filmes Bionanocompósitos.....	57
2.8.1	<i>Percolação</i>	60
2.8.2	<i>Técnica de casting</i>	62
2.8.3	<i>Plastificantes</i>	63
2.8.4	<i>Agentes reticulantes</i>	65
2.8.5	<i>Aplicação dos filmes bionanocompósitos em embalagens</i>	68
2.8.6	<i>Aspectos regulatórios para a aplicação da Nanotecnologia</i>	71

3	OBJETIVOS	76
3.1	Geral	76
3.2	Específicos	76
4	METODOLOGIA	77
4.1	Extração e caracterização dos componentes de cascas de banana ..	77
4.1.1	<i>Teor de Umidade</i>	79
4.1.2	<i>Teor de Cinzas</i>	80
4.1.3	<i>Determinação de extrativos</i>	80
4.1.4	<i>Teor de Lignina Klason Insolúvel</i>	81
4.1.5	<i>Determinação de Holocelulose</i>	81
4.1.6	<i>Determinação de alfacelulose e hemicelulose</i>	82
4.1.7	<i>Preparação do resíduo insolúvel em álcool (AIR)</i>	83
4.1.8	<i>Planejamento Experimental para a extração das pectinas</i>	84
4.1.9	<i>Caracterização de BPP, AIR e pectina nas condições adequadas</i>	86
4.2	Caracterização das pectinas e análises estatísticas	87
4.2.1	<i>Determinação do grau de metoxilação (DM)</i>	87
4.2.2	<i>Teor (GA) e rendimento de Ácido galacturônico (Y_{GA})</i>	81
4.2.3	<i>Análise Estatística</i>	81
4.2.4	<i>Estimativa da distribuição de massa molar por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)</i>	83
4.3	Pré-tratamentos das fibras	84
4.3.1	<i>Polpação Organossolve</i>	85
4.3.2	<i>Branqueamento das fibras</i>	85
4.4	Processo de obtenção dos Nanocristais de celulose (CNC)	94
4.5	Preparação dos filmes	96
4.6	Caracterização de CNC e dos filmes	97
4.6.1	<i>Análise do potencial Zeta (ζ)</i>	97
4.6.2	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão</i>	97

4.6.3	Ensaio Mecânico	98
4.6.4	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)	99
4.6.5	Teste de solubilidade dos filmes	100
4.6.6	Opacidade	101
4.6.7	Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	102
4.6.8	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	102
4.6.9	Difração de Raios-X (DRX)	102
4.6.10	Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C com polarização cruzada e rotação no ângulo mágico (RMN ¹³C - CP/MAS)	103
4.7	Gerenciamento dos resíduos provenientes das reações	104
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
5.1	Composição química da casca de banana	105
5.2	Análise dos espectros de FT- IR	106
5.3	Caracterização das pectinas	110
5.3.1	GPC	110
5.3.2	Respostas Experimentais - MSR	113
5.3.3	EY	115
5.3.4	DM	116
5.3.5	GA	117
5.3.6	Y_{GA}	118
5.3.7	Análise Estatística	120
5.4	Extração e Caracterização dos Nanocristais de celulose (CNC)	122
5.4.1	Rendimento de CNC	122
5.4.2	MET	122
5.4.3	Percolação	124
5.4.4	Cargas superficiais dos CNC: potencial zeta	125
5.5	Caracterização dos filmes	126
5.5.1	Resistência à tração	126
5.5.2	Elongação e Módulo de Elasticidade	128

5.5.3	Opacidade	131
5.5.4	Solubilidade dos filmes	133
5.5.5	PVA	135
5.5.6	FT-IR	138
5.5.7	MEV	141
5.5.8	RMN ¹³C – CP/MAS	142
5.5.9	DRX	148
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	152
	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	154
	REFERÊNCIAS	155
	APÊNDICE	165
	ANEXOS	166

1 INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, tem havido um crescente interesse por parte de institutos de pesquisa e indústrias em prospectar biopolímeros a partir de fontes renováveis (UEHARA, 2017; TIBOLLA, 2018). Isso tem sido motivado pela preocupação do uso contínuo de fontes esgotáveis (petróleo), assim como pela necessidade de substituição de produtos derivados de petróleo por materiais ambientalmente corretos, preferencialmente, que sejam renováveis e/ou biodegradáveis, de acordo com a evolução do mercado global de polímeros biodegradáveis (BCC RESEARCH, 2013).

Uma atenção especial tem sido dada à minimização ao reuso de resíduos e ao estabelecimento de novos produtos e subprodutos agropecuários, como cascas de arroz, de algodão, de café, de frutas etc, as palhas, o bagaço de cana-de-açúcar etc, em substituição aos não renováveis (ROSA et al., 2011; ROCHA et al., 2017). Esses resíduos, que resultam daquilo que é retirado da natureza e que, depois de transformados, não conseguem mais retornar ao ciclo, acumulam-se e tornam-se uma fonte perigosa de doenças e de contaminação para o meio ambiente (FAO, 2016). Em razão disso, a química verde, química limpa, química ambientalmente benigna, ou química autossustentável já é uma realidade, especialmente em países com indústria química bastante desenvolvida e que apresentam controle rigoroso na emissão de seus poluentes (ROSA, et al., 2011; CYPRIANO, 2015).

A agência de pesquisa britânica BCC Research previu (em 2012) o aumento do uso de bioplásticos para cerca de 3,7 milhões de toneladas em 2016 (BCC, 2012). Segundo estudos de consultorias especializadas (Helmut Kaiser Consultancy, 2012) espera-se que os bioplásticos sejam responsáveis por cerca de 25-30% do mercado até 2020. A Europa é um dos mais importantes mercados mundiais, função da crescente preocupação com questões ambientais e também ocasionada pela quantidade limitada de reservas de petróleo.

Neste contexto, observa-se um crucial interesse, em nível mundial, em relação aos polímeros biodegradáveis, principalmente quando se considera o desenvolvimento de produtos que provoquem menor impacto ambiental. Entretanto, devido ao seu alto custo quando comparado aos dos polímeros convencionais, para

a maioria das empresas a utilização de tais polímeros ainda é inviável economicamente (AZEREDO et al., 2015). Mesmo assim, as pesquisas apontam para a substituição por plásticos biodegradáveis, uma vez que alguns segmentos do mercado, que apresentam conscientização pela preservação do meio ambiente, se dispõem a pagar mais por um produto com menor impacto ambiental, resultando em ganhos ambientais, econômicos e sociais (MORELLI et al., 2016).

Os biopolímeros, que são polímeros naturais, vêm ganhando campo e sendo utilizados em diversos segmentos da indústria. Estes materiais oriundos de fontes renováveis derivados de plantios de larga escala vem conquistando espaço, entre os quais estão os polissacarídeos e as proteínas (SZAKAL et al., 2014). Os polissacarídeos mais utilizados na fabricação de filmes incluem derivados de amido e celulose, alginatos, pectinas, quitosanas e algumas gomas (SILVA et al., 2015). O interesse por filmes à base de pectinas cresceu nos últimos anos, vários estudos com foco em sua biodegradabilidade e nas propriedades mecânicas estão sendo desenvolvidos utilizando fibras naturais como material de partida para a produção dos novos compostos (BAN et al., 2006; SILVA, 2011; EGHBAL et al., 2016).

Fibras naturais de diversas fontes têm se mostrado como alternativas tecnicamente viáveis para melhorar as propriedades mecânicas de biopolímeros, devido à compatibilidade dos dois materiais (GÓMEZ et al., 2016). Isso reduz as principais deficiências dos filmes à base de polissacarídeos e proteínas: a baixa resistência mecânica e a incompatibilidade com ambientes de alta umidade relativa do ar. A celulose, componente principal das paredes celulares das fibras vegetais, tem sido explorada por apresentar características comparáveis aos polímeros sintéticos e ter potencial para substituí-los, além de ser um recurso biodegradável. Isto a torna ideal para a produção de nanopartículas atuando como agente de reforço em compósitos, pois apresenta boa resistência mecânica, térmica, rigidez e alto grau de cristalinidade (SIQUEIRA et al., 2010; TOLEDO E SILVA, 2017).

Desse modo, pesquisas relacionadas às fibras oriundas de fontes vegetais vêm crescendo abruptamente nos últimos anos e isso se justifica, pois além do fato de serem biodegradáveis e provenientes de fontes renováveis, podem ser aplicadas em diversos segmentos da indústria. A produção de fibras vegetais ocorre

praticamente em todos os países, como cultivos agrícolas, produzida espontaneamente na natureza ou como resíduos gerados na agroindústria, estando o Brasil em destaque devido à sua biomassa abundante e por possuir uma das maiores extensões territoriais cultiváveis (SANTOS et al., 2011; DUNGANI, 2016; CARVALHO, 2017).

O número de pesquisas relacionadas ao uso de resíduos agrícolas para obtenção de produtos de maior valor agregado tem apresentado um crescimento em virtude da disponibilidade de fontes vegetais, tornando-se visível a motivação pelo estudo para a obtenção de fibras de celulose em tamanho nanométrico. Por sua vez, o cultivo e a industrialização da banana gera uma considerável quantidade de resíduos em base lignocelulósica (ELANTHIKKAL et al., 2010). Uma fonte pouco pesquisada é a casca da banana, que além de ser uma fonte rica em celulose apresenta características funcionais ideais que agregam valores a este subproduto. Desta forma, torna-se indispensável a caracterização e o estudo desta matéria-prima, visto a importância do conhecimento da estrutura para realizar os tratamentos necessários na obtenção de nanocristais de celulose (CNC).

O principal interesse nesta pesquisa é a aplicação de CNC em filmes a base de pectina com potencial aplicação para embalagens biodegradáveis. Estes novos materiais caracterizados como nanocompósitos têm aplicação em diversas áreas de estudo e, quando empregados como materiais de embalagem, podem impedir a migração de umidade, proteger os produtos alimentícios durante seu transporte, evitando danos mecânicos e conservando sua integridade física.

A demanda por embalagens plásticas abrange grandes setores industriais, tais como o automotivo, o de alimentos e bebidas, o de eletrônicos, de higiene, perfumaria, entre outros requerendo uma grande variedade de características específicas para as mesmas. Para a produção dessas embalagens, atualmente, 90% da matéria prima utilizada é originada de fontes não renováveis (petróleo), as quais, apesar de darem origem a embalagens resistentes ao ataque microbiológico, não representam uma alternativa ecologicamente favorável, tais embalagens devido à força entre suas ligações e ao fato de não servirem de fonte de energia à grande

maioria dos organismos biológicos, requerem demasiado tempo e/ou catalizadores para serem completamente degradados. E assim, se acumulam no meio ambiente.

Nesta perspectiva, em um cenário atual de constante mudanças, visando a busca em atender às necessidades de um mercado consumidor cada vez mais exigente e especificamente preocupado com a qualidade e inocuidade dos produtos alimentícios, surgem as embalagens inteligentes, que além de proteger indicam uma característica específica do alimento embalado, para o consumidor e/ou fabricante, trazendo vantagens em relação às embalagens convencionais (DAINELLI et al., 2018; TADINI, 2011).

O reconhecimento dos benefícios das tecnologias de embalagens ativas e inteligentes pela indústria de alimentos, o desenvolvimento de sistemas de embalagens economicamente viáveis e a aceitação do consumidor, conduz ao incentivo das pesquisas para a sua implantação comercial. Por isso, pesquisadores de todo o mundo estão bastante interessados em reduzir o risco de intoxicação das pessoas por ingestão de alimentos inapropriados para o consumo, ao mesmo tempo ajudar na prevenção do desperdício (PACQUIT et al., 2016; CORREIA e LINHARES, 2016; UEHARA, 2017; TIBOLLA, 2018).

Diante do exposto, considerando a crescente geração de resíduos pelo processamento de alimentos e o potencial destes na síntese de novos produtos, aliado ao impacto ambiental causado por embalagens plásticas largamente utilizadas na indústria alimentícia, a proposta deste trabalho foi o estudo e a valorização do resíduo agrícola da casca de banana como matéria-prima na obtenção de subprodutos, nanocristais de celulose, que serão aplicados como agentes de reforço na elaboração de filmes bionanocompósitos.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos agroindustriais

A agroindústria pode ser conceituada como o conjunto de atividades relacionadas à transformação de matérias-primas provenientes da agricultura, pecuária, aquicultura ou silvicultura em produtos. A agroindústria ainda pode ser entendida como todo segmento industrial de produtos alimentícios, e as indústrias que transformam matéria-prima agropecuária em produtos intermediários para fins alimentares e não alimentares como fibras, couros, calçados e óleos vegetais não comestíveis (pinhão manso e tungue) (ARAÚJO, 2005; OLIVEIRA, 2017).

Os resíduos resultantes das atividades agroindustriais são gerados no processamento de couro, fibras, alimentos, madeira, produção de açúcar e álcool etc (CAETANO et al., 2017). Sua produção é geralmente sazonal e está associada a maturidade da cultura ou a oferta da matéria-prima. O tipo e a quantidade de resíduos agroindustriais produzidos são variáveis com o tempo (ALAMAR, 2012; MATOS, 2014).

Um dos principais entraves para a ascensão das atividades agroindustriais no Brasil, além da falta de incentivo aos pequenos produtores e a escassez de políticas públicas mais eficientes voltadas para o dinamismo das ações desse setor, é a falta de uma logística e infraestrutura adequada para o escoamento dos produtos, que a cada dia ganha maior importância dentro das empresas.

Concomitante a isso, outra problemática está vinculada a grande quantidade de resíduos gerados durante o processamento/beneficiamentos de suas matérias primas. Na maioria dos casos, os resíduos oriundos das agroindústrias, não são tratados e apresentam uma disposição ambientalmente inadequada, com potenciais ricos de contaminação dos solos e águas.

Resíduos podem representar perda de biomassa e de nutrientes, além de aumentar o potencial poluidor associado à disposição inadequada que, além da poluição de solos e de corpos hídricos quando da lixiviação de compostos, acarreta em problemas de saúde pública. Por outro lado, o elevado custo associado ao

tratamento, ao transporte e à disposição final dos resíduos gerados tem efeito direto sobre o preço do produto final.

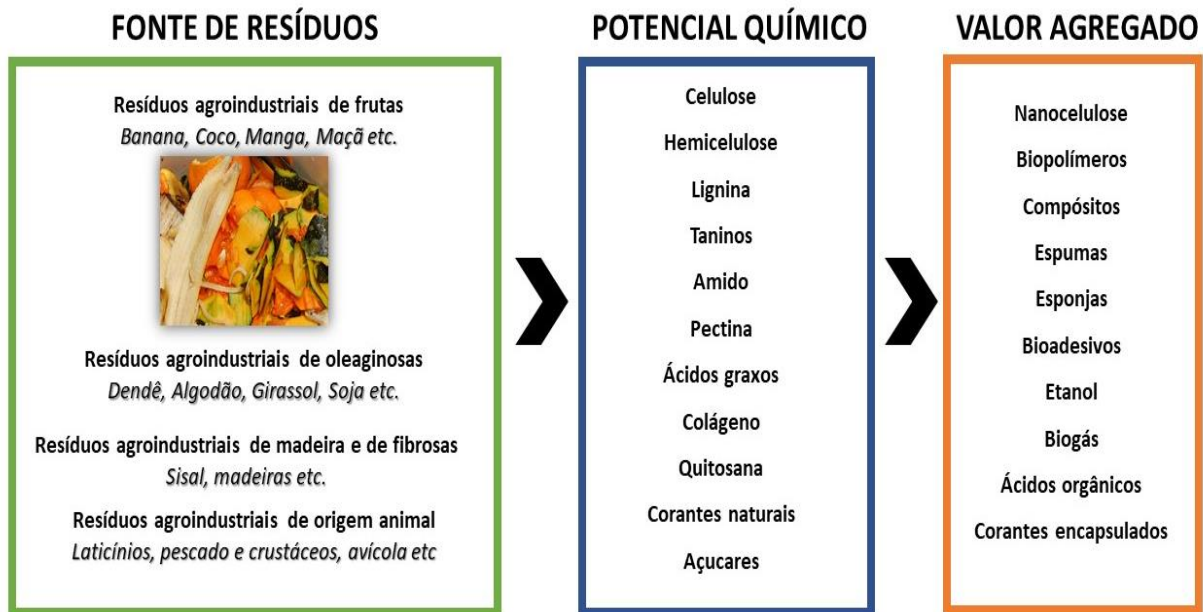
De forma geral, os resíduos da agroindústria de processamento de produtos de origem vegetal (frutas, oleaginosas, fibrosas, madeiras etc) e animal (laticínios, avicultura de corte, aquicultura, etc.) apresentam em suas composições diferentes constituintes, estimulando oportunidades de agregação de valor pela aplicação do conceito de Biorrefinaria e da química verde enfocando o aproveitamento da biomassa de modo que se tenham cadeias de valor similares às das derivadas do petróleo, mas com menor impacto no meio ambiente (.).

A otimização do uso da biomassa busca a utilização de sistemas integrados (matérias-primas, processos, tecnologias, produtos e resíduos) sustentáveis, de acordo com parâmetros técnicos que levam em conta, entre outros aspectos, os balanços de massa e de energia, o ciclo de vida, o desenvolvimento socioeconômico regional, a geração e o consumo dos produtos e serviços de forma distribuída e a mitigação da emissão de gases do efeito estufa.

A Figura 1 apresenta de forma simplificada a visão conceitual, o potencial de químico e os valores agregados dos resíduos agroindustriais oriundos das agroindústrias de processamento de produtos de origem animal e vegetal, dentre os quais insere-se a casca de banana que apresenta teores consideráveis de celulose e pectina que agregam valores na produção de nanocelulose e compósitos, por exemplo, visando melhorias nas propriedades destes novos materiais (TIBOLLA, 2018).

Os produtos desenvolvidos a partir de resíduos, como as cascas de banana, possuem maior potencial de agregação de valor às cadeias produtivas da biomassa, em função da participação estratégica da indústria química no fornecimento de insumos e produtos finais a diversos setores da economia, como o petroquímico, farmacêutico, automotivo, construção, agronegócio, cosméticos etc (VAZ JUNIOR, 2013).

Figura 1 - Potencial de valorização de resíduos agroindustriais.

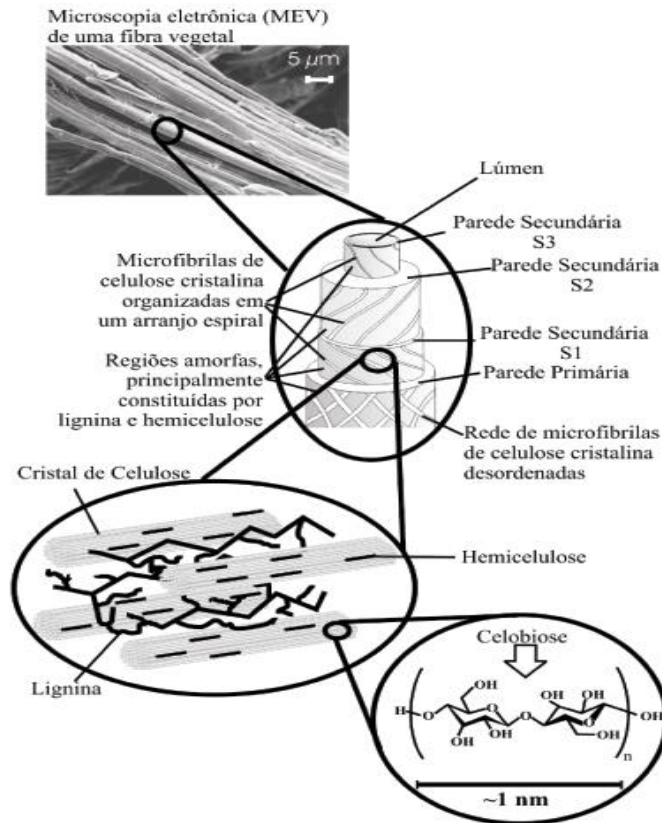


Fonte: Adaptada de ROSA et al. (2011).

2.2 Organização Hierárquica das fibras vegetais

Segundo Silva et al. (2011), cada fibra lignocelulósica tem uma estrutura de camadas complexas, constituída por uma parede primária fina, inicialmente depositada durante o crescimento das células, que circunda uma parede secundária, constituída por três camadas (S1, S2 e S3). As propriedades mecânicas da fibra são determinadas pela camada intermediária S2, que consiste em uma série de microfibrilas, helicoidalmente formadas por longas cadeias de celulose e organizadas no sentido da fibra, como mostrado na Figura 2. Tais microfibrilas têm o diâmetro de 10 a 30 nm e são resultantes do empacotamento de 30 a 100 cadeias de celulose estendidas.

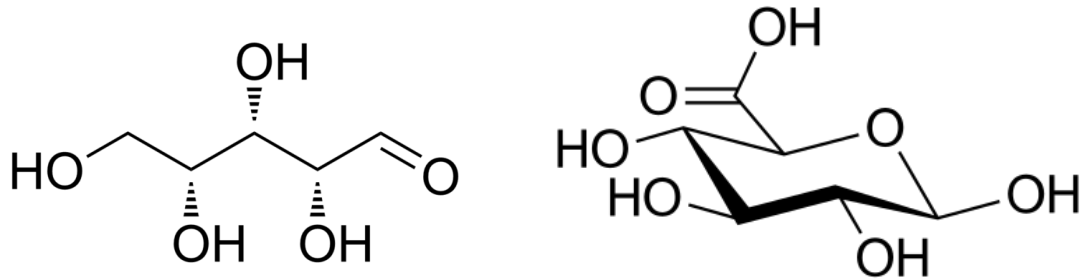
Figura 2 - Estrutura de uma fibra vegetal (a imagem de MEV refere-se à fibra de Eucalipto).



Fonte: SILVA et al. (2010).

Além das microfibrilas cristalinas de celulose, a fibra é constituída de fases amorfas, predominantemente hemicelulose e lignina, embora haja também celulose amorfa. A hemicelulose é constituída por polissacarídeos que diferem da celulose pela composição de várias unidades de açúcares, por cadeias moleculares muito mais curtas e por ramificações das cadeias. As unidades de açúcares que formam as hemiceluloses podem ser subdivididas em grupos como pentoses (xilose, arabinopiranoose, arabinofuranose), hexoses (glicose, manose, galactose), ácidos urônicos e deoxi-hexoses (SIQUEIRA et al., 2010). A Figura 3 mostra alguns desses açúcares. As hemiceluloses estão associadas à celulose nas paredes das células das plantas.

Figura 3 - Estruturas químicas da (a) xilose e do (b) ácido glucurônico.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

A lignina, por sua vez, é constituída de moléculas diferentes das dos polissacarídeos, sendo formada por um sistema aromático composto por unidades fenilpropano, embora a estrutura química da lignina não tenha sido totalmente elucidada ainda. Durante o desenvolvimento das células das plantas, ela é incorporada como o último componente nas paredes, interpenetrando as fibrilas e assim enrijecendo as paredes das células (MOUTTA, 2013).

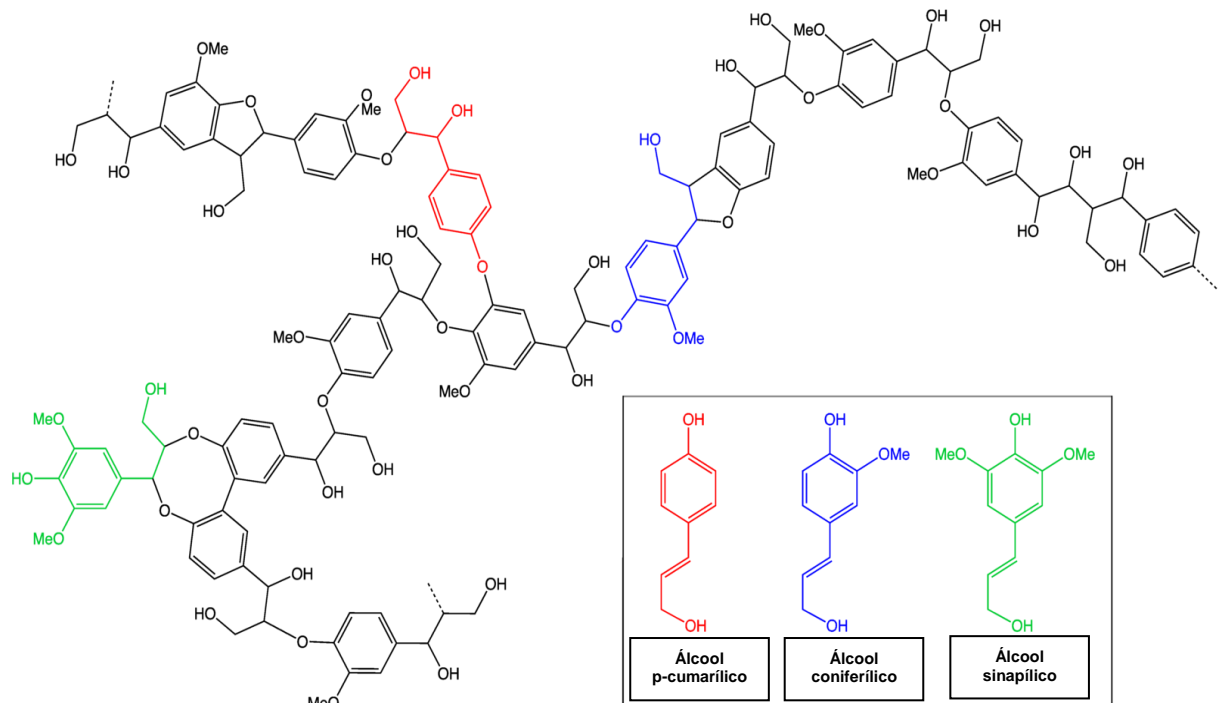
Dessa forma, a fibra vegetal pode ser entendida, por si só, como um material compósito que contém regiões cristalinas (microfibrilas de celulose) embebidas em regiões amorfas (“matriz” de lignina e hemicelulose, principalmente). As fibras vegetais também possuem outros constituintes em menor quantidade, como ceras, resinas, amido, pectinas e substâncias inorgânicas (cálcio, silício, potássio, magnésio) (OLIVEIRA e SOUZA, 2017).

A biossíntese da lignina nas plantas é realizada pela rota do ácido chiquímico, sendo este convertido em ácido prefênico e, posteriormente, transformado nos aminoácidos tirosina e fenilalanina. Esses dois aminoácidos são os pontos de partida para a produção dos álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico (Figura 4 em cores). Esses três precursores são a base do polímero da lignina, lignina p-hidroxifenila (H) derivada do álcool p-cumarílico, Guaiacila (G) derivada do álcool coniferílico e a Siringila (S) do álcool sinapílico (BOERJAN et al., 2003; FENGEL e WEGNER, 1984; SARKANEN e LUDWIG, 1971; LINO, 2015).

O comportamento químico da lignina é governado, principalmente, pela presença de diferentes grupos funcionais encontrados na macromolécula. A Figura 4

revela a presença de éteres (alifáticos e aromáticos), álcoois alifáticos e benzílicos, fenóis e em menor proporção grupos carbonila (aldeídos, cetonas e ésteres). Ainda, as diferentes ligações como ligações do tipo éter ou tipo carbono carbono determinam a escolha das condições experimentais a serem utilizadas quando se deseja o isolamento, a caracterização e o estudo das propriedades químicas das ligninas (CURVELO, 1992; FENGEL e WEGENER, 1984).

Figura 4 - Estrutura proposta para as variedades de lignina.



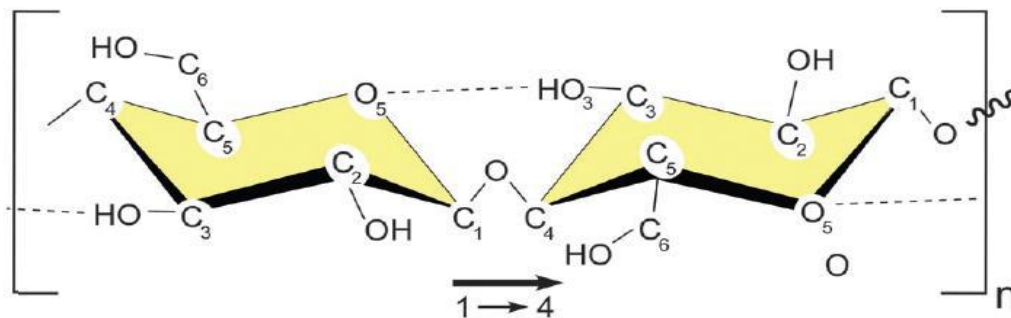
Fonte: CLIFFORD (2011).

2.3 Celulose

A celulose é um polímero natural linear cuja unidade repetitiva é formada a partir de duas moléculas de glicose eterificadas por ligações β -1,4-glicosídicas (Figura 05). Esta unidade repetitiva, conhecida como celobiose, contém seis grupos hidroxila que estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio intra e intermolecularmente (Figura 05). Devido a essas ligações de hidrogênio há uma

forte tendência da celulose formar cristais que a tornam completamente insolúveis em água e na maioria dos solventes orgânicos. Tal característica desempenha um papel importante na orientação da estrutura cristalina e nas propriedades físicas da celulose.

Figura 5 - Unidade de repetição da molécula de celulose.



Fonte: PEREIRA et al. (2017).

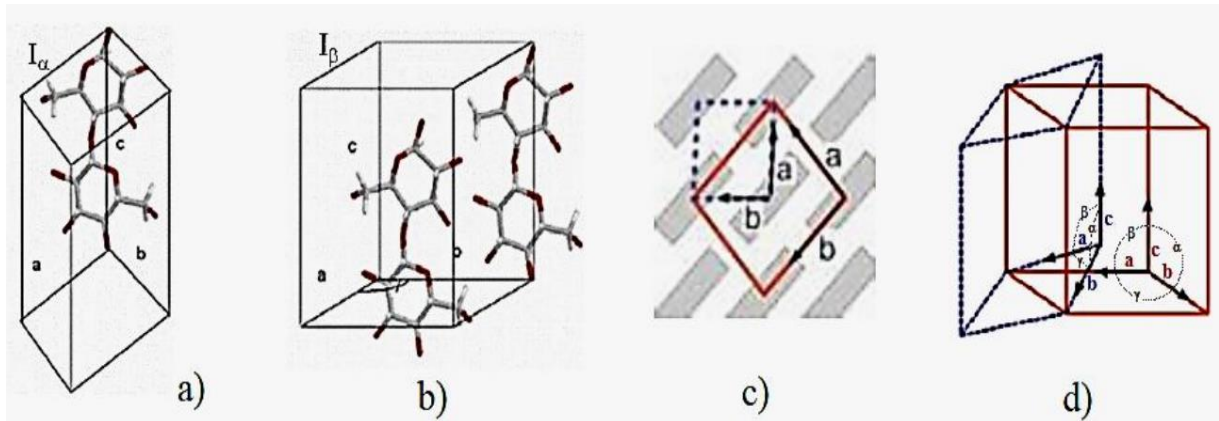
A celulose é constituída de regiões cristalinas, altamente ordenadas, e de regiões amorfas desordenadas. O grau de cristalinidade da celulose e sua massa molar variam de acordo com sua origem e processamento. A celulose é mais resistente quimicamente a bases fortes, mas em meio ácido torna-se facilmente hidrolisada em açúcares solúveis em água (LU et al., 2011).

Nas regiões cristalinas existe um arranjo geométrico que se repete nos eixos principais da estrutura cristalina (eixos cristalográficos) para formar o volume total do cristal. Em cristalografia, a esse arranjo geométrico dá-se o nome de cela unitária, a qual possui dimensões bem definidas. No caso da celulose, existe mais de uma forma polimórfica, ou seja, não há uma dimensão única para a cela unitária, seis polimorfos de celulose foram identificados: I (celulose nativa), II, III_I, III_{II}, IV_I, e IV_{II}.

Estudos de RMN ¹³C no estaso sólido, mostraram que as celuloses nativas apresentam duas formas cristalinas distintas, I α e I β . O alomorfo I α possui uma estrutura cristalina triclinica (parâmetros de cela: $a = 6,717 \text{ \AA}$, $b = 5,962 \text{ \AA}$, $c = 10,400 \text{ \AA}$, $\alpha = 118.08^\circ$, $\beta = 114.80^\circ$ e $\gamma = 80.37^\circ$) contendo somente uma cadeia por cela unitária (Figura 06), sendo a estrutura dominante em celulose proveniente de algas e bactérias. Já a forma I β , possui estrutura cristalina monoclinica (parâmetros

de cela: $a = 7,784 \text{ \AA}$, $b = 8,201 \text{ \AA}$, $c = 10,38 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 96.5^\circ$) com duas cadeias de celulose por cela unitária (Figura 6b). Esta estrutura é dominante em plantas superiores (alomorfo $I\beta$ é o termodinamicamente mais estável). As duas estruturas coexistem em proporções que variam com a fonte (SILVA e D'ALMEIDA, 2009; MESQUITA, 2012; MOON et al., 2011).

Figura 6 - Estruturas cristalinas das celulosas nativas: (a) estrutura cristalina triclínica da celulose $I\alpha$; b) Celulose $I\beta$ monoclínica; (c) representação esquemática das celas unitárias; (d) orientação relativa das celas unitárias das estruturas $I\alpha$ (linha seccionada) e $I\beta$ (linha sólida).

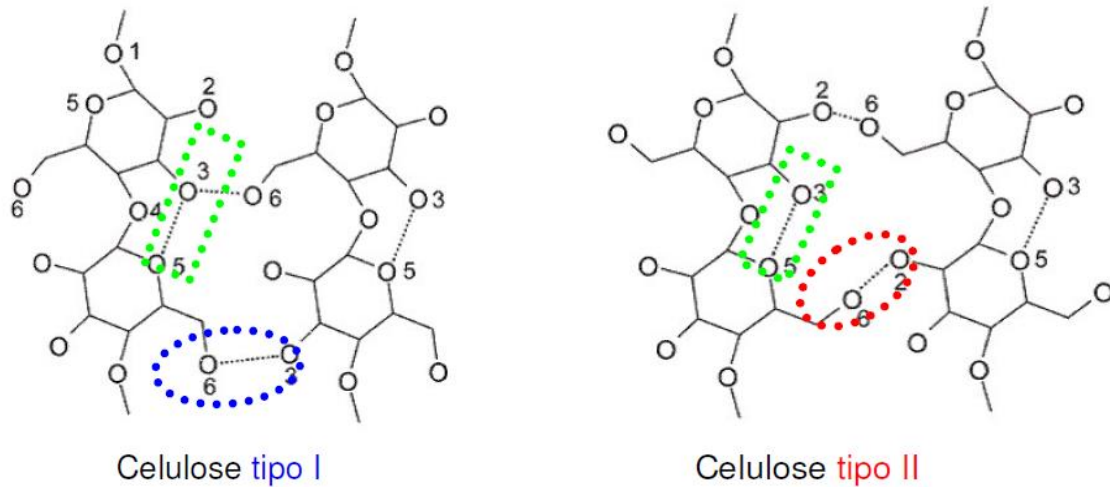


Fonte: Adaptada de SANTOS (2013).

A celulose II é que a possui a estrutura mais estável (Figura 07) e a de maior relevância técnica, pois é utilizada para preparar materiais como celofane, rayon e tencel (MESQUITA, 2012). Ela pode ser obtida a partir da celulose I, por tratamento com hidróxido de sódio aquoso (mercerização), ou por dissolução da celulose e posterior precipitação/regeneração (SANTOS, 2013).

As estruturas observadas na Figura 07 apresentam ligações de hidrogênio intra-cadeias dominantes na posição $O3-H \dots O5$, as quais dão à celulose a rigidez e linearidade da cadeia caracterizando-se como a grande diferença entre a celulose I e II. Na Figura 07 observa-se que a celulose I apresenta predominantemente as ligações de hidrogênio em relação à posição $O6-H \dots O3$ e na celulose II o conjunto dominante se refere a posição $O6-H \dots O2$ apresentando uma influência direta na estrutura do retículo cristalino das estruturas.

Figura 7 - Estruturas cristalinas das celulosas nativas.



Fonte: MOON, et al. (2011).

2.4 Nanocristais de Celulose

A descoberta dos nanocristais de celulose (CNC) tem sido atribuída a Rånby et al. (1951) que publicaram o primeiro trabalho descrevendo a obtenção de suspensões coloidais de celulose por meio da hidrólise controlada com H_2SO_4 . Nickerson e Habrle (2015) tinham observado que a degradação de celulose com solução ácida em ebulição atingia um limite após um determinado tempo de reação. Mukherjee e seus autores (1960) utilizando microscopia eletrônica de transmissão (MET), observaram pela primeira vez que as partículas obtidas da suspensão hidrolisada, após secagem, eram compostas por agregados de estruturas em forma de agulha e que estas possuíam a mesma estrutura cristalina das fibras da celulose original.

Os CNC são partículas de celulose aciculares (aspecto físico de agulha) de alta cristalinidade (monocristais quase sem defeitos) com pelo menos uma dimensão menor ou igual a 100 nm (FLAUZINO NETO et al., 2013). Os nanocristais constituem-se de domínios cristalinos de celulose que apresentam diferentes e interessantes propriedades mecânicas, óticas e térmicas quando comparados com as estruturas celulósicas de maior dimensão.

As nanopartículas de celulose podem existir sob duas formas distintas como: microfibrilas e os whiskers, que são partes cristalinas também conhecidas como

nanocristais. Os nanocompósitos podem melhorar as propriedades de barreira à umidade dos polímeros. As fibras cristalinas aumentam a tortuosidade do material em que estão inseridas e conduzem a processos de difusão mais lentos e, desta forma, a permeabilidade é mais lenta (MORELLI, 2016).

As principais características que estimulam a utilização dos CNC enquanto agentes de reforço em matrizes poliméricas são a grande área superficial específica (estimada em várias centenas de $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$), o grande módulo de elasticidade (cerca de 150 GPa), a alta razão de aspecto (comprimento/diâmetro) e a eminente capacidade de reforço à baixos níveis de carga (DUFRESNE, 2003; ŠTURCOVÁ et al., 2005). Outras vantagens atraentes dos CNC são a sua baixa densidade (cerca de $1,566 \text{ g/cm}^3$), natureza não abrasiva (menor desgaste dos equipamentos envolvidos em seu processamento), caráter não-tóxico, biocompatibilidade e biodegradabilidade.

Os nanocristais provém de fontes naturais renováveis, que são muito abundantes e de baixo custo, não sendo necessário sintetizá-los; suas dimensões nanométricas permitem a produção de filmes compósitos com excelente transmitância de luz visível e são facilmente modificados quimicamente (a sua estrutura molecular tem uma superfície reativa de grupos hidroxila laterais, que facilitam a enxertia de espécies químicas para atingir propriedades de superfície diferentes) (FLAUZINO NETO et al., 2013; LAHIJI et al., 2010; LI et al., 2009; LIU et al., 2010; MOON et al., 2011; PENG et al., 2011; SAMIR et al., 2005).

Um grande desafio na utilização de NCCs em aplicações comerciais é a sua disponibilidade limitada e baixo rendimento quando isolados, sendo estes produzidos em grande parte em escala laboratorial a partir de fontes naturais como: algodão¹⁹, bagaço de cana-de-açúcar^{37,50}, bagaço de mandioca¹³, fibras de sisal⁴⁸, capim²², casca de coco⁵¹, entre outras. As propriedades desses materiais dependem muito das condições usadas na hidrólise ácida, como o tempo e a temperatura. Além disso, as fontes lignocelulósicas também influem drasticamente em propriedades como, por exemplo, a cristalinidade e a morfologia (formatos e tamanhos) dos NCCs obtidos.

2.4.1 Extração dos nanocristais de celulose

A celulose cristalina está presente naturalmente nas fibras vegetais e para sua extração é necessário digerir os demais componentes presentes, majoritariamente lignina e hemicelulose, através da utilização de bases e ácidos fortes. Como esses componentes constituem a fase amorfa da fibra, eles estão mais susceptíveis à penetração e ao ataque dos reagentes empregados, os quais ocasionam hidrólise e, conseqüente, dissolução das cadeias de baixa massa molar no meio reacional.

O processo de digestão da lignina e da hemicelulose feito em escala laboratorial em etapas, onde inicialmente é feito um processo conhecido como polpação (BENNAR et al., 1992). Nessa etapa a maior parte da lignina e da hemicelulose são removidas. A polpação é um processo químico que expõe a biomassa vegetal com a finalidade de recuperar a celulose, além de outros constituintes lignocelulósicos menos abundantes, como a lignina e a hemicelulose. O processo de polpação surgiu nas indústrias de papel e celulose, utilizando como fonte de celulose cavacos de madeira (SOPRANI, 2016).

Os principais tipos de polpação são: *kraft* (utiliza uma mistura de hidróxido de sódio e sulfeto de sódio); *sulfito* (polpação com sais de ácido sulfuroso) e *organossolve*, sendo este escolhido como processo de polpação das fibras em estudo. A utilização de solventes orgânicos recuperáveis, como acetona, etanol, ácido acético dentre outros, é uma particularidade da polpação organossolve, uma vez que não há formação de produtos sulfatados. Nesse método a celulose e a lignina são de boa qualidade e, diferentemente de outros métodos (*kraft* e *sulfito*), a lignina obtida através do processo organossolve, do tipo acetossolve, é insolúvel em água, sendo de fácil separação.

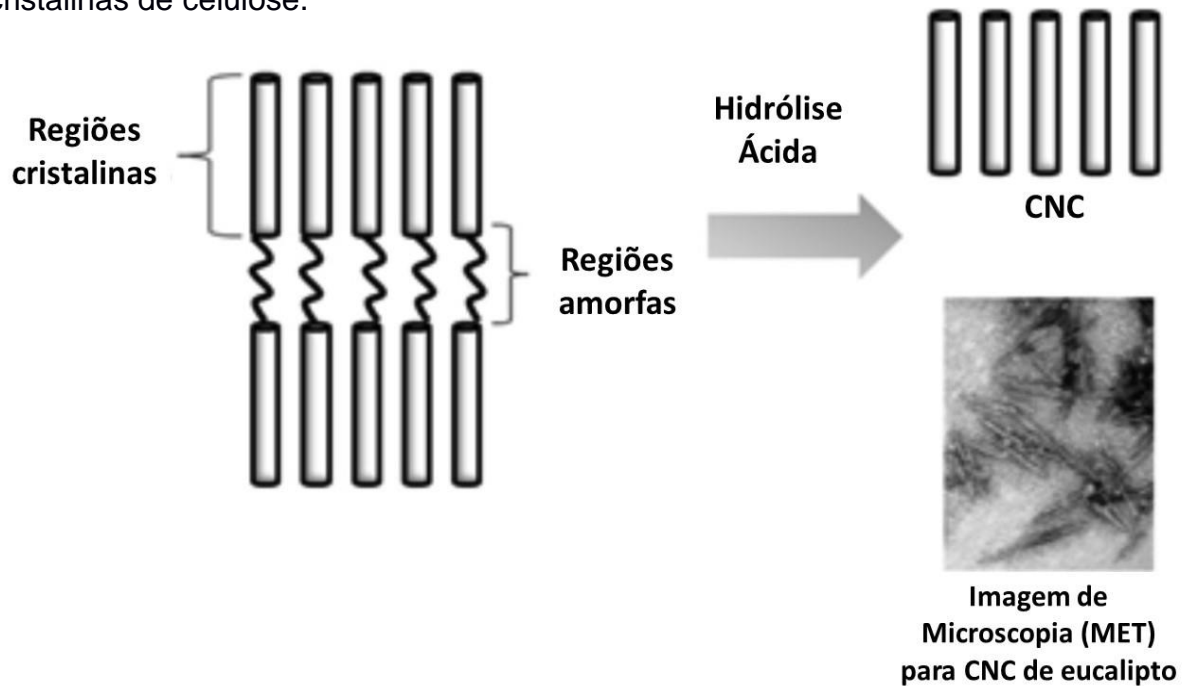
Na sequência é realizado o branqueamento para remoção, principalmente da lignina residual ainda impregnada nas fibras de celulose e deixar o material com brancura elevada. O branqueamento de fibras vegetais é realizado com o uso de fortes agentes oxidantes para remoção de lignina residual e hemiceluloses. Os processos convencionais que envolvem a utilização de reagentes químicos à base

de cloro apresentam o grande inconveniente da liberação de compostos organoclorados, especialmente dioxinas e furanos, de toxidez elevada.

Segundo Loureiro (2009) o peróxido de hidrogênio atua como uma opção ambientalmente correta de alvejante final durante a etapa do branqueamento, em comparação a formação dos compostos organoclorados, onde a dissociação alcalina ($pK_a = 11,6, 25^\circ\text{C}$) libera o ânion (HOO^-) que compõe essa molécula. Intermediários, as hidroxilas e o ânion superóxido ($\text{HOO}\cdot$). O ânion HOO^- é o agente ativo de alvejamento da matéria-prima, sendo considerado um poderoso nucleófilo que reage preferencialmente com grupos de carbonila simples e conjugadas. Portanto, o peróxido de hidrogênio atua como uma boa opção de alvejante final. Além da digestão da lignina e da hemicelulose, a celulose amorfa também deve ser atacada de modo a permitir a liberação da celulose cristalina em dimensões nanométricas, o que é feito através da reação com um ácido forte.

A busca por novas formas de disposição da celulose, como os nanocristais e a celulose nanofibrilada, possibilitaram a otimização e a inovação de processos de obtenção dessas nanoestruturas, como a microfluidização e a hidrólise ácida (STROM et al., 2013). Este processo consegue separar os domínios cristalinos da celulose da parte amorfa, permitindo a obtenção de cristais singulares e bem definidos. Este procedimento está baseado na cinética de hidrólise mais rápida apresentada pelas regiões amorfas da celulose em comparação com os domínios cristalinos (Figura 08) (LU et al., 2013).

Figura 8 - Esquema com as regiões amorfas (mais suscetíveis à hidrólise) e cristalinas de celulose.



Fonte: PEREIRA et al. (2017).

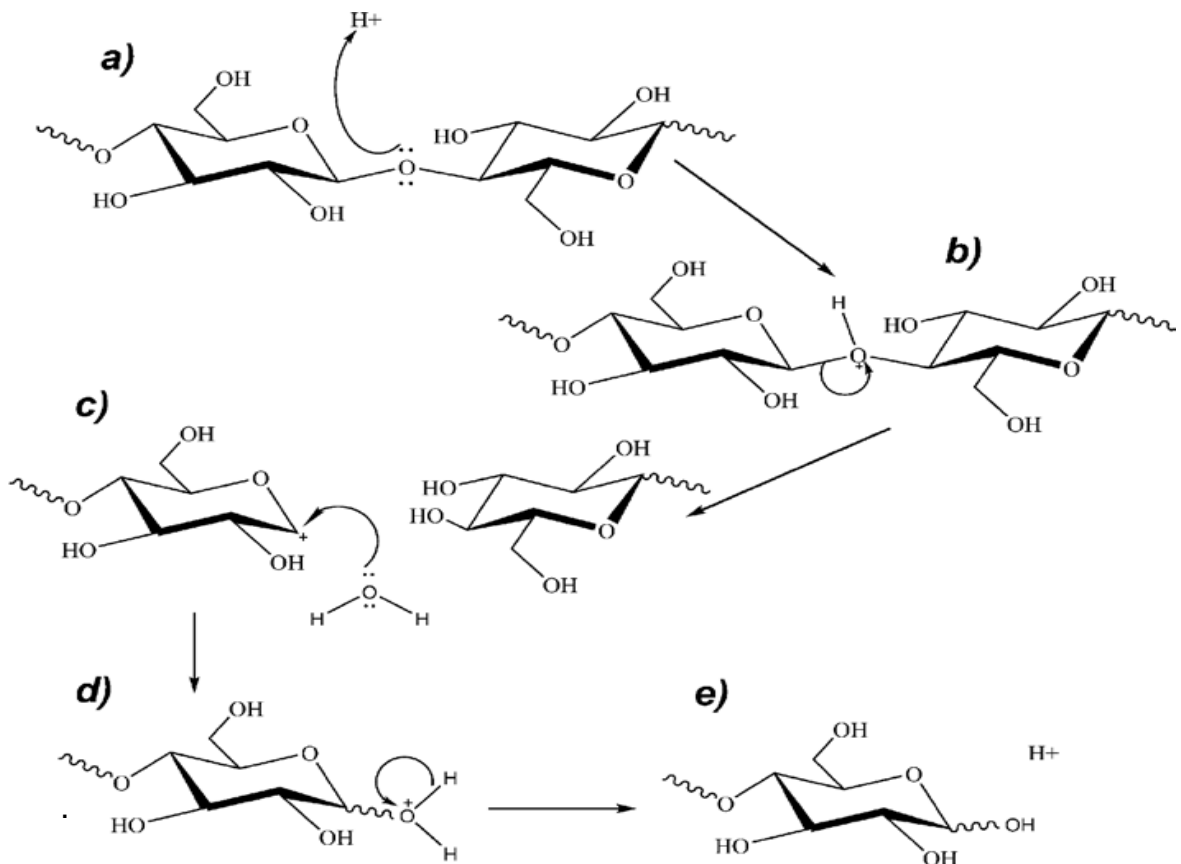
A reação de hidrólise da celulose com H_2SO_4 para extração de CNC ocorre devido à diferença de reatividade das reações amorfas e cristalinas uma vez que a primeira apresenta maior acessibilidade, pois o ataque ácido acontece preferencialmente nas regiões amorfas menos impedidas, em detrimento das regiões cristalinas, levando a obtenção dos CNC na forma de suspensão aquosa (SAMIR, ALLOIN e DUFRESNE, 2005). Esse tipo de processo de obtenção de nanocelulose requer um pré-tratamento nas fibras para deslignificação e branqueamento, visando a remoção principalmente de hemicelulose e lignina (BRASILEIRO et al., 2001; GIRI; ADHIKARI, 2013). Esses pré- tratamentos podem ser físicos, químicos, mecânicos ou uma combinação destes. Tipicamente, os NCC são cristais com um diâmetro entre 3 e 20 nm e comprimento no intervalo entre 100 e 600 nm. As dimensões e a cristalinidade dependem da fonte de celulose utilizada, bem como do processo de obtenção (REBOUILLAT, 2013).

A Figura 09 exibe o mecanismo de reação para a hidrólise ácida da celulose. Essa é uma reação de esterificação que ocorre entre os grupos hidroxila livres da

celulose com o H_2SO_4 , levando a produção de um éster de celulose com a liberação de moléculas de água (DUFRESNE, 2012).

A hidrólise ácida inicia com a protonação do oxigênio glicosídico (Figura 9a) com posterior quebra da ligação C1–O (MENDGEN, 1993; DANIEL, 1994). O carbocation gerado na etapa b é estabilizado pela deslocalização do par de elétrons existente sobre o oxigênio do anel glicosídico, adjacente a C1 (Figura 9b). O ataque nucleofílico da água sobre C1 (Figura 9c) com regeneração do ácido (Figura 9d e 9e) encerra a etapa de despolimerização (se esta ocorrer no interior da cadeia da celulose, gerando novos terminais) ou de produção de glicose (quando ocorre hidrólise diretamente nos terminais).

Figura 9 - Mecanismo da reação de hidrólise da celulose catalisada por ácido; (a) protonação do oxigênio glicosídico; (b) geração do carbocátion; (c) ataque da água sobre C1; (d) e (e) finalização da etapa de despolimerização ou produção de glicose.



Fonte: Adaptada de OGEDA e PETRI (2010)

Quando utilizado H_2SO_4 na reação de hidrólise, grupos sulfato ancoram na superfície dos cristais produzidos a partir da esterificação dos grupos hidroxila (MERLINI, 2016). Estes grupos promovem a oxidação da superfície, deixando-as carregadas negativamente e com um pH ácido, criando certa repulsão entre os nanocristais prevenindo aglomerações hidrofílicas, portanto fácil dispersão em água e interessantes propriedades ópticas (DUFRESNE, 2012; CAMARGO, 2015).

O tempo de hidrólise afeta diretamente à cristalinidade dos CNC e deve ser suficiente para solubilizar as regiões amorfas da celulose, obtendo um material de elevada cristalinidade (SILVERIO et al., 2013). Segundo estudos de Beck-Candanedo, Roman e Gray (2005), tempos de reação muito longos podem digerir completamente a celulose e produzir moléculas de açúcar. Tempos de reação muito baixos podem levar à produção de partículas grandes e agregadas. Segundo Xu e autores (2013), condições mais severas de hidrólise ácida (tempo de hidrólise e temperatura) poderiam destruir também as zonas cristalinas das fibrilas, resultando assim, em CNC com menor diâmetro e maior carga superficial.

Após o término das reações, os CNC são obtidos em suspensões aquosas estáveis e devem ser submetidos à diálise em água dentro de membranas semi-permeáveis até pH neutro, seguido de tratamento em ultrassom para completa desagregação dos mesmos, e filtração para a retenção de eventuais partículas não hidrolisadas, e armazenamento em geladeira, como suspensão aquosa.

A estabilidade dessas suspensões depende da dimensão das partículas suspensas e da sua polidispersividade, assim como da carga superficial presente nas mesmas. Segundo Dufresne et al. (2012), CNC extraídos através de hidrólise ácida (H_2SO_4) formam suspensões aquosas mais estáveis do que aqueles obtidos a partir de HCl, devido à presença de cargas negativas na superfície dos CNC (grupos sulfato), que ocasionam um equilíbrio eletrostático decorrente das forças de repulsão entre elas.

A individualização dos CNC torna-se muito difícil de ser mantida após a secagem uma vez que as fortes pontes de hidrogênio existentes favorecem a aglomeração (SAMIR et al., 2011). A introdução de grupos sulfato tende a comprometer a estabilidade térmica dos CNC pois, sob aquecimento, esses grupos

podem se desprender (dessulfatação) e catalisar a degradação dos CNC (PELISSARI et al., 2014).

Portanto, o isolamento de celulose a partir da hidrólise ácida via H_2SO_4 é uma rota promissora na produção dos nanocristais de celulose a partir de materiais lignocelulósicos como as cascas de banana, que é a fonte de celulose utilizada no presente estudo.

2.5 Pectinas

Fibras alimentares solúveis, sendo hidrocolóides constituídos de unidades de ácidos galacturarônicos com graus diferentes de metoxilação. É de grande incidência entre os vegetais, pode ser extraída do albedo de frutas cítricas (DUXBURY, 1991).

As pectinas são polissacarídeos integrantes da parede celular de plantas dicotiledôneas, promovem a adesão entre as células e resistência mecânica da parede celular. A união de pectina entre celulose e hemicelulose formam a protopectina nos tecidos vegetais. A protopectina, é insolúvel, e de fácil hidrólise por aquecimento em meio ácido, originando a pectina (ORDOÑEZ-PEREDA, 2005; THAKUR et al., 1997).

As pectinas são constituídas especialmente por cadeias de ácido galacturônico associadas com unidades de ramnose e são ramificadas com cadeias de unidades de pentose e hexose. São encontradas nas paredes celulares e nos tecidos intracelulares das frutas e vegetais, sendo usadas como agentes geleificantes e espessantes em diversos alimentos (JOLIE et al., 2012; ARAUJO, 2017).

As pectinas podem ser envolvidas em processos fisiológicos complexos da célula, tais como crescimento e diferenciação celular, além de influenciar na porosidade, carga superficial, pH e balanço iônico da parede celular (BOBBIO e BOBBIO, 2003; CAFFALL e MOHNEN, 2009; JARVIS, 2011).

2.5.1 Pectinas: constituição química e estrutura

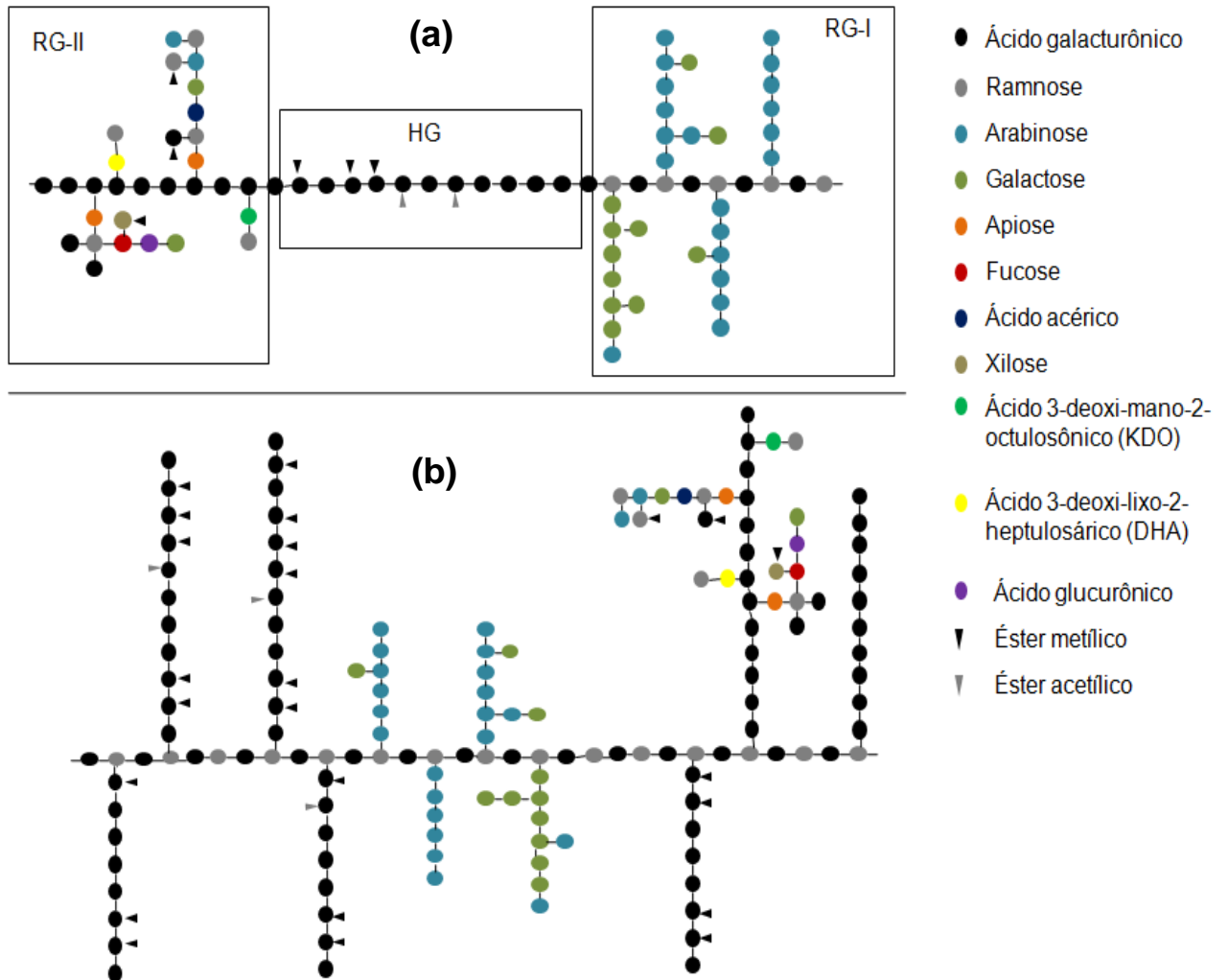
São uma família de oligossacarídeos e polissacarídeos de constituição complexa. Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de elucidar sua exata estrutura macromolecular (YAPO, 2009; SILA et al., 2008; RALET et al., 2009; YANG et al., 2009; ROUND et al., 2010; CHRISTIAENS et al., 2011). Não se trata de uma única molécula de estrutura simples, mas de uma família de biomacromoléculas muito diversas em sua composição, podendo conter até 17 monossacarídeos diferentes, alguns deles esterificados com grupos metil e acetil (WILLATS et al., 2006; RALET et al., 2009; FRAEYE et al., 2010). Para o melhor entendimento da relação estrutura-propriedade técnico-funcional das pectinas é essencial uma compreensão precisa de sua estrutura macromolecular.

As pectinas são biopolímeros multiblocos, que apresentam em sua estrutura diferentes unidades de polissacarídeos: a Homogalacturonana (HG), a Ramnogalacturonana tipo I (RG-I) e a Ramnogalacturonana tipo II (RG-II) (FRAEYE et al., 2010; JOLIE et al., 2012) (Figura 10). Além destes, galacturonanas substituídas também têm sido descritas, como a xilogalacturonana (XGA) e apiogalacturonana (API) (FRAEYE et al., 2010; WESTERENG et al., 2008; FISSORE et al., 2009; BASANTA et al., 2012).

A HG é o polissacarídeo péctico mais abundante, compreendendo em torno de 50 a 90% do total da pectina (YAPO, 2009; SANTOS et al., 2013), que consiste de uma cadeia linear de resíduos de ácido α -D-galacturônico (GalA) (até aprox. 200 unidades), unidos por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4), parte dos quais podem estar metil-esterificados no grupo carboxílico (C-6). Em menor grau, os resíduos de GalA também podem apresentar grupos acetil nas posições O-2 e O-3 (PINHEIRO et al., 2008; WESTERENG et al., 2008; FISSORE et al., 2009; VRIESMANN et al., 2011; FISSORE et al., 2013).

As pectinas também podem apresentar grupos amida ((R-CO)NH₂) ligados em C-6, quando desmetoxiladas em presença de amônia, e em meio alcoólico (Figura 10). Neste último caso, as pectinas são ditas amidadas (FRAEYE et al., 2010; EINHORN-STOLL et al., 2012). As proporções de grupos metílicos, acetílicos e amídicos influenciam as propriedades funcionais das pectinas.

Figura 10 - Modelos propostos para a macroestrutura das pectinas. a) Modelo contínuo linear, com regiões de HG interceptadas com RG-I e RG-II. b) Estrutura alternativa, na qual a HG é considerada uma cadeia lateral da RG-I.

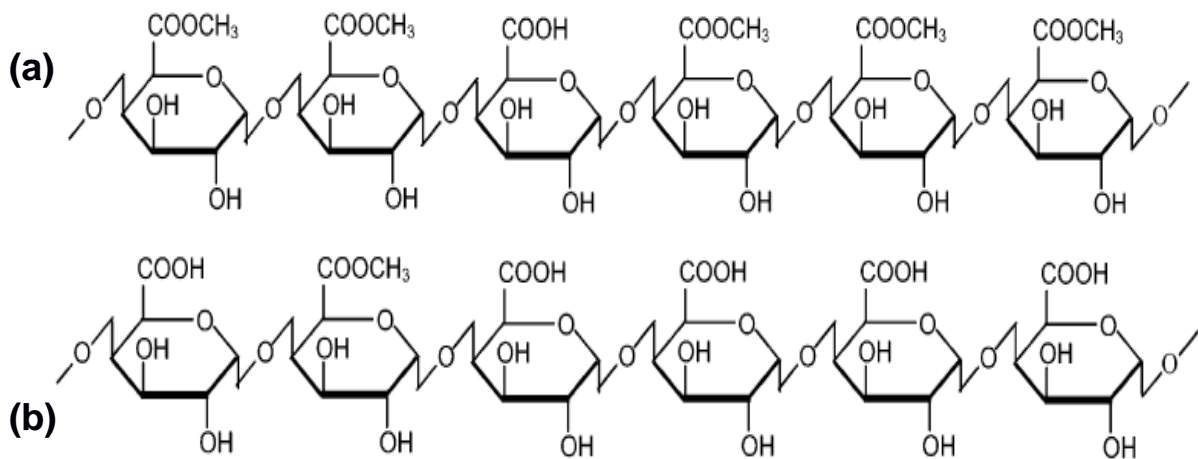


Fonte: OLIVEIRA et al. (2013).

O grau de metoxilação (DM) é considerado um fator determinante para a funcionalidade tecnológica das pectinas. As de alto grau (HM) são aquelas que apresentam mais de 50 % dos resíduos de GalA metoxilados e só gelificam em meio ácido e na presença de altas concentrações de açúcar (maior que 55 %, m/m). Quando o DM é menor que 50 %, as pectinas classificam-se de baixo grau de metoxilação (LM), gelificando na presença de cátions divalentes, geralmente Ca^{2+} , e a adição de açúcar não é obrigatória (Figura 11) (YAPO, 2009; FRAEYE et al., 2010; LIANG et al., 2012; VRIESMANN et al., 2012; NAGHSHINEH et al., 2013). É

importante ressaltar a diferença entre DM e DE. O primeiro consiste no percentual de resíduos de GalA metoxilados, enquanto o DE é o percentual total de GalA esterificados, incluindo as esterificações com grupos acetílicos. Assim, pectinas que apresentam grande percentual de grupos acetílicos na cadeia podem apresentar DE maior que 50%, mas ser de baixo metoxil (DM < 50%).

Figura 11 - Cadeia central do ácido poligalacturônico apresentando os grupamentos livres de metoxilação e metoxilados classificados em (a) HM e (b) LM.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

Ao contrário da HG, a RG-I é um polissacarídeo altamente ramificado, sendo freqüentemente referido como região de “cabeleira”, e o domínio HG como região “lisa”. A cadeia da RG-I consiste de repetições do dissacarídeo $[\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rha-(1}\rightarrow]$, cujos resíduos de ramnose (Rha) podem estar ligadas em O-4 a cadeias laterais de açúcares neutros, principalmente galactose a arabinose, onde o comprimento das cadeias pode variar consideravelmente e a composição de açúcares de RG-I pode ser altamente heterogênea (YAPO, 2009; WESTERENG et al., 2008; FISSORE et al., 2013; SANTOS et al., 2013).

A RG-I representa 20-35% da pectina, com alto grau de especialização celular e expressão dependente do desenvolvimento, no tipo e número de açúcares simples

e oligossacarídeos ligados a essa cadeia. A razão para esse nível de variação em RG-I não é conhecida, mas sugere diversidade funcional (CANTERI et al., 2012).

A RG-II é uma molécula altamente complexa de baixa massa molar (5-10 kg mol⁻¹), composta por aproximadamente nove unidades de ácido α -D-galacturônico (1→4), tornando-se um segmento estruturalmente mais complexo em uma composição de 10% da pectina (WILLATS et al., 2006). Essa estrutura, altamente conservada na maior parte das espécies vegetais, consiste de um esqueleto de homogalacturonana de no mínimo oito (provavelmente mais) unidades monoméricas, contendo cadeias laterais de até 12 diferentes tipos de açúcares, alguns muito peculiares como apiose, ácido acérico, ácido 3-deoxi-lixo-2-heptulosárico (DHA) e ácido 3 deoxi-mano-2-octulosônico (KDO). Apesar desta complexidade, a estrutura da RG-II é conservada, independentemente do vegetal de origem (CONTRERAS-ESQUIVEL, 2006; YAPO, 2009).

O comprimento da cadeia de homogalacturonana e as proporções de HG, RG-I e RG-II, assim como a distribuição das cadeias de HG na molécula podem influenciar as propriedades funcionais da pectina (BASANTA et al., 2012). Pectinas cítricas possuem maiores proporções de HG, seguidas por RG-I e RG-II, sendo, portanto, ricas em ácido galacturônico (PINHEIRO et al., 2008; CANTERI et al., 2012). Yapo (2009) estimou as proporções destes polissacarídeos em pectinas cítricas em 88/11/1, respectivamente.

De modo geral, quanto maior o teor de ácido galacturônico na pectina, melhor são suas propriedades gelificantes e espessantes, favorecendo as interações entre as diferentes cadeias pécticas e a formação de zonas de junção nos processos de gelificação. Por isso, a FAO considera que a pectina deve apresentar um teor mínimo de ácido galacturônico de 65 %, em massa (WILLATS et al., 2006).

A forma com que os diferentes domínios da pectina estão arrançados na estrutura macromolecular ainda não está claramente compreendida. Até o momento, duas macroestruturas têm sido propostas (WILLATS et al., 2006; ROUND et al., 2010; CANTERI et al., 2012). A primeira e mais aceita é a de que a HG, a RG-I e a RG-II formam uma cadeia contínua. No entanto, uma estrutura alternativa considera a HG como uma cadeia lateral da RG-I, similarmente ao que ocorre com as

arabinanas e galactanas (WILLATS et al., 2006; FRAEYE et al., 2010). Independentemente da estrutura, é amplamente aceito que os diversos polissacarídeos que compõe a molécula encontram-se ligados covalentemente.

Com exceção da RG-II, as características estruturais das pectinas, incluindo grau de metoxilação, grau de acetilação, massa molar, composição de açúcares neutros do polissacarídeo RG-I, bem como o padrão de distribuição das cadeias laterais, são altamente variáveis de acordo com a matéria-prima, grau de amadurecimento, método de extração utilizado e até mesmo regiões distintas de um mesmo tecido vegetal (KOUBALA et al., 2008; FISSORE et al., 2009; ROUND et al., 2010).

Para extrair a pectina a partir do tecido vegetal é necessário o emprego de agentes químicos, tais como ácidos, bases, compostos quelantes (p. ex.: oxalato de amônio e EDTA), ou por meio da utilização de enzimas (KOUBALA et al., 2008; FISSORE et al., 2010; LIANG et al., 2012). No entanto, em escala industrial, realiza-se a chamada extração ácida convencional, na qual são utilizadas soluções de ácidos fortes, como o ácido nítrico, clorídrico, sulfúrico e fosfórico, sob aquecimento. Alguns países proíbem a utilização destes ácidos, substituindo-os por ácidos orgânicos como o cítrico, láctico ou tartárico (PINHEIRO et al., 2008; CANTERI et al., 2012; VRIESMANN et al., 2012).

Independente do método de extração, degradações na estrutura da pectina sempre irão ocorrer, em maior ou menor grau. No entanto, as extrações em meio ácido, principalmente quando se utilizam ácidos fortes, são as que mais afetam a estrutura original. Por isso, métodos alternativos de extração, denominados de “ecológicos”, ou que promova maiores rendimentos e menores tempos e custos de produção têm sido investigados. Estes métodos incluem a utilização de ácidos orgânicos.

2.5.2 Pectinas e suas aplicações

A importância da pectina na tecnologia e no processamento de alimentos, bebidas e fármacos está relacionada a sua função de conferir firmeza, retenção de sabor e aroma, assim como hidrocolóide na dispersão e estabilização de diversas

emulsões. A formação de gel é a principal característica funcional da pectina, e depende essencialmente das características do meio: pH, teores de sólidos solúveis e cátions divalentes, concentração da pectina e grau de metoxilação (PAIVA et al., 2009), de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 - Aplicações das pectinas em diferentes segmentos industriais.

Indústria	Aplicação
Sucos e vinhos	Melhoria na extração de sucos, clarificação, pigmentos, liberação de aroma e outros compostos.
Alimentos	Produção de purês, polpas de frutas, liberação de aroma, compostos prebióticos e raça animal. Redução dos níveis de colesterol e tratamento de distúrbios intestinais.
Farmacêutica	Possível efeito para tratamento do câncer de cólon intestinal
Óleos	Melhoria na extração de óleos e recuperação de óleos essenciais de cítricos, extração de agentes antioxidantes.
Bioetanol	Degradação da matéria orgânica e liberação de açúcares para degradação microbiana e produção de bioetanol
Chá e café	Melhora na fermentação
Têxtil	Tratamento das fibras naturais
Papel	Branqueamento da polpa kraft

Fonte: HUR, et al. (2013).

A estrutura molecular de um gel aquoso apresenta três elementos: (a) zonas de junção, onde as moléculas poliméricas estão juntas; (b) segmentos de interjunção dos polímeros que são relativamente móveis; e (c) água presa na rede polimérica. Uma zona de junção pode envolver ligações covalentes, eletrostáticas, de hidrogênio ou interações hidrofóbicas (NAZZARO et al., 2012).

Existem vários estudos sobre a formação e a aplicação de coberturas ou cápsulas de géis de pectina em alimentos ou fármacos, e que, por serem em forma de película, são também denominados de filmes (KANG et al., 2005; MAFTOONAZAD et al., 2007; TRIPATHI et al., 2010). Entretanto, apenas alguns

desses trabalhos produziram filmes independentes para poder determinar as características físicas desses produtos (SOUTO-MAIOR et al., 2008).

Alves et al. (2010) verificaram as propriedades de barreira de filmes a base de blendas de pectina e kappa carragena com incorporação de flocos de mica e observaram uma diminuição da permeabilidade ao vapor de água, e também dos gases CO₂ e O₂ em relação aos filmes sem a incorporação dos flocos de mica. SILVA et al. (2009) avaliaram o efeito da concentração do plastificante em filmes de pectina e alginato reticulados com íons de cálcio e concluíram que o aumento da concentração do plastificante (glicerol) diminuiu a resistência à tração dos filmes compostos e aumentou a solubilidade em água, a umidade e o alongamento desses filmes.

Batista e autores (2005) estudaram o efeito da adição de ácidos graxos sobre as propriedades dos filmes de pectina e observaram que a utilização da mistura desses componentes na preparação dos filmes aumentou os valores de tensão da ruptura e da alongação. No entanto, não diminuiu a permeabilidade ao vapor de água em relação aos filmes produzidos com a adição dos ácidos graxos individualmente. Também nesse estudo foi observada a alta solubilidade dos filmes produzidos e os autores sugerem que filmes com essa característica podem ser utilizados para cobertura de sementes agrícolas que necessitem de rápida germinação no campo ou como carreadores de aditivos necessários ao crescimento das mesmas.

2.6 Banana e suas cascas como fonte de pectinas

Atualmente a bananeira é classificada na botânica dentro da classe das monocotiledôneas, ordem Zingiberales, família Musaceae. Nesta família, temos a inserção de dois gêneros, Ensete e Musa. O gênero Musa conta com quatro seções: Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys e Eumusa, sendo a última onde se encontram as bananeiras cultivadas e onde há um maior número de espécies de relevância (LIMA et al., 2014; FRIZO, 2015).

As espécies de banana são taxonomicamente agrupadas de acordo com sua "ploidia", ou seja, de acordo com o número de cromossomos conjuntos que contêm

e com a proporção relativa em seu genoma (SULAIMAN et al., 2011; PEREIRA, 2012). A evolução do gênero *Musa*, onde ao longo de sua história natural cruzamentos ocorreram e acarretaram nos três níveis cromossômicos diferentes observados hoje, ocasionou um fenômeno conhecido como poliploidia. Algumas cultivares de banana atuais são diploides, ou seja, possuem dois conjuntos do número básico de cromossomos que é 11, e, portanto, contam com 22 cromossomos. Contudo, existe também muitas cultivares triploides e tetraploides, com conjunto de 33 e 44 cromossomos respectivamente. Na verdade, as cultivares de banana mais importantes são triploides (PERRIER et al., 2011).

As bananas de exportação são geralmente triploides AAA, e algumas de cozer são triploides de mesma constituição genética. Quase todos os cultivares de bananas são poliploides, derivados da hibridização de *Musa acuminata* e *Musa balbisiana*. Boa parte destas últimas são bananas de cozer, chamadas plátanos, apesar de algumas serem utilizadas como frutas de sobremesa, como é o caso da banana prata, de genoma AAB (SILVA et al., 2007).

A atual forma de classificação da banana em vigor está de acordo com o proposto por Simmonds (1962) na qual os clones são nomeados em função de sua constituição genômica, nome do grupo e nome da cultivar. Por exemplo: Cultivar “William” (AAA, Grupo ‘Cavendish’) (SULAIMAN et al., 2011) conforme a descrição elencada na Tabela 2.

Tabela 2 - Principais cultivares encontradas no Brasil e seus respectivos grupos e constituição Genômica.

Constituição Genômica	Grupo	Cultivar
AA	-	Ouro
AAA	Cavendish	Nanica, Nanicão, Grand Naine, William
AAA	Gros Michel	Gros Michel, Highgate
AAB	-	Maçã
AAB	Prata	Prata, Prata Anã, Catarina, Pacovan, Enxerto
AAB	Terra	Terra, Terrinha, Pacova, D'Angola
AAB	Figo	Figo Vermelho, Figo Cinza

Fonte: SILVA et al. (2007).

2.6.1 A Fisiologia do amadurecimento da Banana

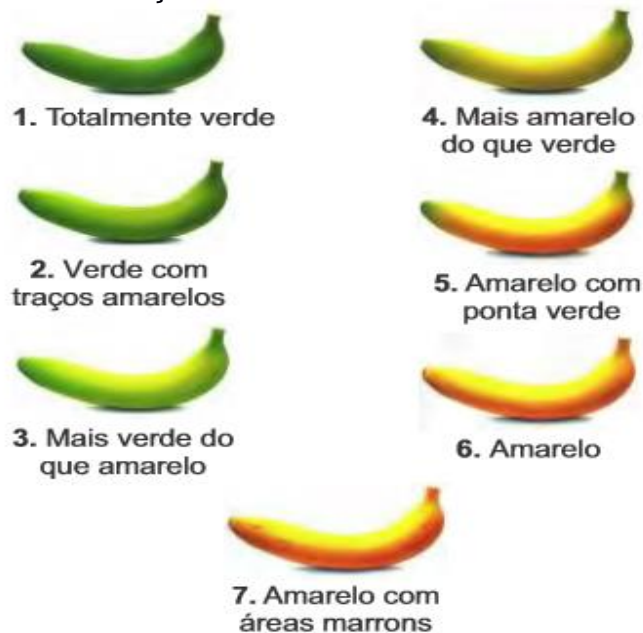
O amadurecimento é o resultado de mudanças complexas que ocorrem no fruto. As principais mudanças que podem ser observadas são: aumento de taxa respiratória, aumento na produção de etileno, aumento na concentração de açúcares, solubilização das substâncias pécnicas, degradação de pigmentos, aumento na concentração de fenólicos e ácidos, produção de voláteis, variações nos teores de enzimas, vitaminas, minerais e mudanças na permeabilidade dos tecidos (CHITARRA e CHITARRA, 1994).

A casca da banana apresenta coloração que vai do verde ao amarelo na fase de maturação devido à presença de clorofila, xantofila e caroteno. Dois outros pigmentos são encontrados no protoplasma da célula: os flavonoides e as antocianinas. A quantidade de clorofila encontrada na fruta verde é de 52 a 103 mg/kg de casca. O teor de xantofila tem demonstrado ser maior que o de caroteno, estando entre 5 a 7 mg/kg de casca, enquanto que o caroteno é encontrado na proporção de 1,5 a 3,5 mg/kg. No decorrer da maturação, a clorofila é gradualmente destruída pela ação enzimática e o caroteno e a xantofila tornam-se cada vez mais evidentes. A cor da casca é um bom indicativo do grau de amadurecimento da banana (MEDINA e PEREIRA, 2004).

Von Loesecke (1950) classificou o amadurecimento da banana em sete pontos de escala de maturação de acordo com a cor da casca (Figura 12). Já Lii, Chang e Young (1982) estudaram as transformações que ocorrem durante o amadurecimento das bananas e relacionaram o conteúdo de amido e açúcares totais conforme a cor das cascas.

Francisco e autores (2014) estudaram frutos em estágio de maturação do tipo 6 onde as cascas apresentaram uma coloração completamente amarelada em potencial aplicação como fonte de materiais biodegradáveis. Silva et al. (2007) concluíram que as amostras de banana com aceitação por maior número de consumidores foram aquelas constituídas por frutos que se encontravam nos estádios de amadurecimento 5 e 6. A partir deste estudo Castricini e autores (2012) optaram como via de caracterização os frutos que atingiram o estágio 6 de maturação para futuras aplicações na área de Biotecnologia.

Figura 12 - Escala de Maturação de Von Loesecke.



Fonte: PBMH e PIF (2016).

2.6.2 Análise do contexto econômico da produção de Banana

A banana representa uma das mais importantes culturas de frutas em regiões tropicais e subtropicais tornando-se importante na forma de promoção da segurança alimentar em muitos bolsões de pobreza. Enquanto o consumo per capita nos principais países importadores do mundo (EUA e União Europeia) é de 13 kg/habitante/ano, em regiões pobres do globo, tais como Uganda, Ruanda e Burundi na África, essa quantidade aumenta para mais de 200 kg/habitante/ano, de maneira que a banana chega a representar quase 30% do aporte diário de calorias dessas populações. No Brasil, por sua vez, o consumo da fruta é de 7,7 kg/habitante/ano. (FAO, 2013).

A produção global anual de bananas ultrapassou os 100 milhões de toneladas em 2011 (The World Banana Forum, 2015) e o Brasil tornou-se um dos cinco principais produtores mundiais (Evans e Ballen, 2012). O total gasto anualmente pela União Europeia (UE) com a importação da banana ultrapassou os 2,7 bilhões de euros nos últimos triênios (2003-2005; 2006-2008 e 2009-2011) (Hortifruti Brasil, 2012). O Brasil aproveitou-se desse mercado com uma participação considerada

representativa, onde o montante gasto pela UE com as compras da fruta brasileira apresentou uma variação positiva de 28,3% de 2003-2011.

Em 2014, as exportações para a UE caíram expressivos 39% (no período de janeiro a novembro), em comparação com ao ano de 2013, de acordo com dados da Secex. A elevada concorrência com outras empresas e países e as altas tarifas impostas ao produto brasileiro na UE contribuíram para tal decisão. Porém, as exportações ao bloco europeu continuam, mesmo que em volume mais reduzido, tendo em vista que outros grandes produtores do RN e CE têm enviado os lotes ao exterior.

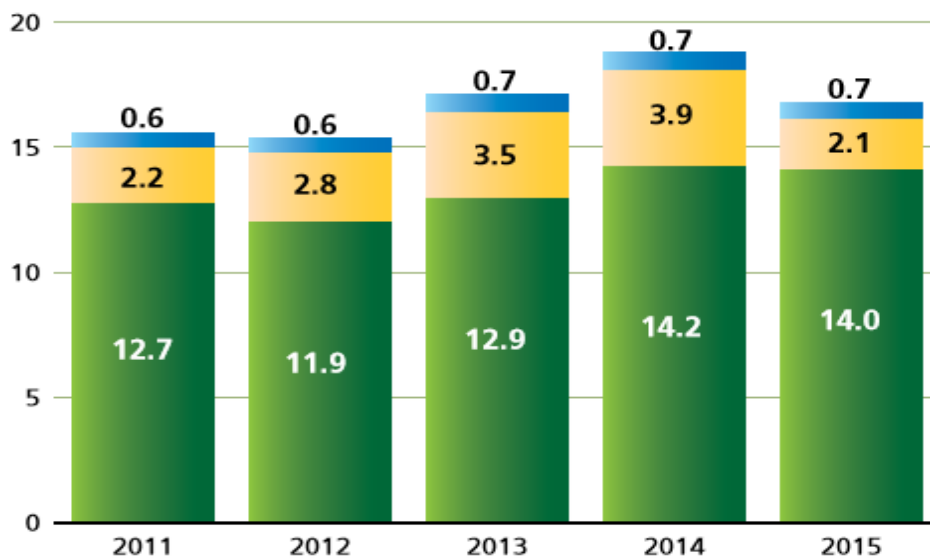
Por outro lado, o envio da fruta aos membros do Mercosul foi 5,2% maior no mesmo comparativo em 2014, atingindo a casa dos 47 milhões de toneladas. Previsões apontam aumento dos embarques de banana, com a região norte de Minas Gerais podendo iniciar a exportação de banana prata à Europa (HORTIFRUTI BRASIL, 2014).

Em 2015, as exportações globais de banana registraram o primeiro declínio desde 2010, depois de ter atingido um pico sem precedentes de 18,6 milhões de toneladas em 2014. Embora a demanda de importação permaneça forte em todas as regiões, os efeitos adversos do fenômeno climático de El Niño, bem como a propagação da doença de Fusarium Wilt afetou negativamente os rendimentos e resultou em escassez de produção em várias das principais regiões produtoras e exportadoras (FAO, 2016).

As exportações da América Latina e do Caribe apresentaram queda de 1% devido a menores embarques da Costa Rica e da Colômbia, dois dos maiores exportadores da região (Figura 13). A Costa Rica sofreu escassez de produção devido a fortes chuvas e, portanto, lutou para competir com a feroz pressão de preços no mercado mundial. A Colômbia foi afetada por extrema seca, baixos níveis de produtividade, queda na área colhida e condições de estrada precárias, os investimentos estratégicos foram prejudicados pela fraca moeda colombiana. O crescimento das exportações na América Latina resultou, principalmente, de um maior crescimento dos dois maiores exportadores do Equador, que se recuperaram de condições climáticas adversas, e a Guatemala, que se beneficiou do acordo de

livre comércio com os Estados Unidos e acesso preferencial à União Europeia. (FAO, 2016)

Figura 13 - Dados da exportação mundial de banana por região no período de 2011 – 2015 (verde - América Latina e Caribe; amarelo – Ásia e Azul – África).



Fonte: FAO, 2016.

O acesso ao mercado de bananas na União Europeia é regulado pelos termos e condições do Acordo de Genebra sobre o Comércio de Bananas, que foi negociado entre a União Europeia e os produtores latino-americanos de banana em dezembro de 2009 e entrou em vigor em 1 de maio de 2012. O acordo multilateral substituiu o sistema anterior de tarifa única e, desse modo, terminou a longa disputa comercial entre a União Europeia e os países produtores de banana da América Latina, bem como entre a União Europeia e os Estados Unidos. Por este acordo, a União Europeia comprometeu-se a redução progressiva da tarifa das Nações mais favorecidas (NMF) em oito etapas, com projeção futura de 176 € / tonelada para € 114 / tonelada em 2019. Em 2015, a tarifa NMF foi de € 132 / t, e em 2016 em € 127 / t.

Atualmente, a produção no Brasil deve continuar aumentando como resultado dos ganhos de produtividade. Apesar das exportações terem sido baixas na década

passada devido à importância do mercado interno, um aumento nas vendas para mercados estrangeiros pode ocorrer como resultado da reorganização da indústria e a abertura de novos canais de comércio projetados para 2023-2024, conforme a Tabela 3, com ênfase para a evolução da produção e as expectativas para a banana (OCDE-FAO, 2015).

Tabela 3 - Níveis de produção de produtos agroindustriais no Brasil.

	Unidade	2005/6	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/2015	2023/24
Grãos	T	3,5	3,7	2,9	2,8	3,4	3,2	3,2
Café	Milhões de sacas	32,9	48,1	43,5	50,8	49,2	45,3	61,0
Papaia	T	1,6	1,9	1,9	1,5	1,6	1,6	1,8
Manga	T	1,0	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,4
Banana*	T	7,0	7,3	6,9	6,9	7,1	7,2	7,8

* Indicativo da fonte de estudo da presente pesquisa.

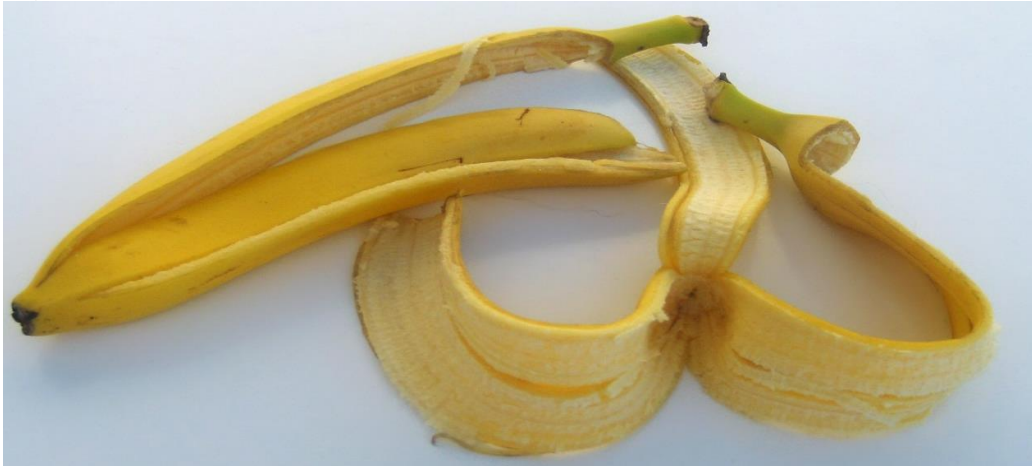
Fonte: FAO, 2016.

2.6.3 As cascas de Banana e suas funcionalizações

As cascas de banana (30% do peso do fruto) são normalmente descartadas, causando problemas ambientais devido à sua susceptibilidade à degradação microbiana (GONZÁLEZ-MONTELONGO, LOBO e GONZÁLEZ, 2010) (Figura 14). Esses materiais foram apresentados como fontes de pectina e celulose (OLIVEIRA et al.,2016), o que os tornam interessantes para a exploração, dentro de

perspectivas econômicas e ambientais, e no aproveitamento desses resíduos com possível destino no mercado com alto valor agregado.

Figura 14 - Cascas de bananas.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

A literatura reporta poucas informações a respeito da composição das cascas de banana e as propriedades dos seus componentes, como as hemiceluloses e as pectinas. Segundo alguns pesquisadores, na variedade Nanica, por exemplo, suas cascas possuem um alto teor de pectina (10-21%, em base seca) e baixos teores de celulose e hemicelulose (cerca de 6-9% e 1-8%) (EMAGA et al., 2008). Zhang e autores (2005) mencionaram o teor de hemiceluloses em torno de 20% e Oberoi et al. (2012) reportaram teores de hemicelulose e pectina em cerca de 10% e 16%, respectivamente.

Pectinas, provenientes de resíduos agroindustriais, como as cascas de banana, têm sido utilizadas para o desenvolvimento de novos materiais, com destaque aos nanocompósitos como forma de melhoramento de propriedades mecânicas para aplicação como embalagens de alimentos (PASINI CABELLO et al., 2015; PENHASI e MEIDAN, 2014).

2.7 Nanocompósitos

No ano de 1960, os materiais poliméricos eram considerados caros e com o objetivo de baixar os custos de manufatura, os fabricantes passaram a utilizar cargas minerais fibrosas ou particuladas, de baixo custo, no seu desenvolvimento. O

método se propagou de tal maneira que o uso de cargas, termo técnico como ficou conhecido esse tipo de recurso na produção de polímeros, tornou-se frequente, pois estas fornecem corpo e conferem novas propriedades aos materiais (FLAUZINO NETO, et al., 2015; MELO e AOUADA, 2017).

A adição de cargas (fase dispersa/descontínua) à matriz polimérica (fase contínua) origina um novo material com características diferentes, denominado compósito. A matriz polimérica tem a função de manter a integridade estrutural do compósito em virtude das suas propriedades de coesão, uma vez que a fase dispersa desempenha o papel de transferir tensões que, por sua vez, atuam como um reforço ou enchimento do material, conferindo um melhor desempenho mecânico da matriz e, portanto, modificando suas propriedades. Entretanto, essa adição de cargas à matriz polimérica também promove impactos negativos como: diminuição da resistência ao impacto, menor resistência à tração, maior densidade e maior rigidez (PELLISSARI et al., 2014).

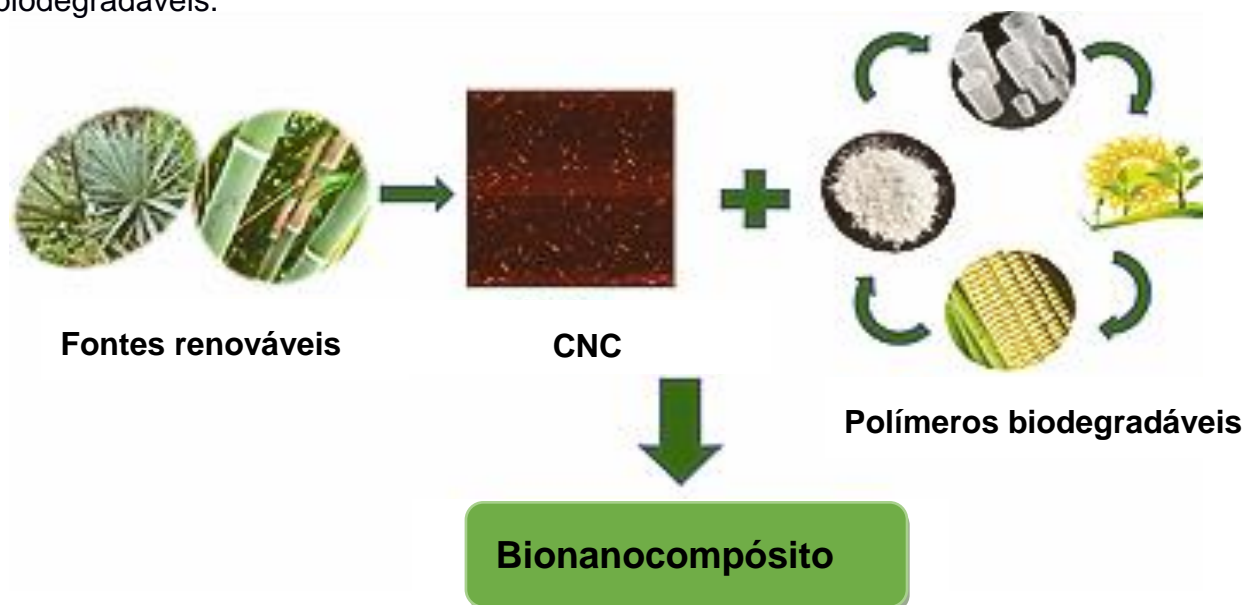
Para que a carga forneça resistência ao polímero é necessário que haja o controle das propriedades físico-químicas na interação da carga com a matriz e, caso esta interação não seja adequada, o produto final será frágil. É necessário uma boa dispersão das partículas na matriz, de forma que as cargas não fiquem agregadas, dificultando a interação com a matriz polimérica, o que afeta as propriedades mecânicas, através da concentração de tensão. Portanto, a resistência final é dependente do tamanho da partícula, pois o tamanho da carga determina a área de contato e a resistência aumenta com a diminuição do tamanho da partícula (MELO e AOUADA, 2017). Desta forma, Alexandre e Duboi (2016) justificaram a utilização das nanopartículas no desenvolvimento de nanocompósitos; compostos híbridos incorporados à matriz polimérica, com pelo menos uma de suas fases em escala manométrica, de 10^{-9} metros, onde a manipulação dos materiais é realizada na escala atômica (SILVA et al., 2015; MORELLI, 2016).

2.8 Filmes Bionanocompósitos

Segundo Siqueira, Bras e Dufresne (2012), a definição de biocompósitos pode envolver tanto reforços quanto matrizes poliméricas provenientes de fontes

naturais. Bionanocompósitos seriam, portanto, compostos que caberiam nas duas definições descritas acima. Sendo assim, o termo bionanocompósito poderia ser empregado tanto para matrizes poliméricas provenientes do petróleo, como o PBAT, porém reforçadas com nanocargas naturais como os nanocristais de celulose, quanto para matrizes poliméricas provenientes de fontes naturais (biopolímeros), como o PLA, porém reforçadas com cargas inorgânicas como as nanoargilas (MORELLI, 2016) (Figura 15).

Figura 15 - Rota esquemática e ilustrativa da obtenção de bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis.



Fonte: Adaptada de Pereira et al. (2014).

Polímeros provenientes de fontes renováveis surgem como uma alternativa de menor impacto ambiental em comparação àqueles dependentes da exploração do petróleo. No entanto, para outros autores, o termo biopolímero pode designar polímeros biodegradáveis e, portanto, biocompósitos seriam compósitos biodegradáveis. Segundo a ASTM 6400-04, plásticos biodegradáveis podem ser definidos como aqueles que são degradados a partir da ação de microorganismos naturais, como bactérias, fungos e algas (VIEIRA, 2012).

Estes materiais permeiam em campos de aplicação na área da saúde, pois são sensíveis à bioabsorção pelo corpo humano, em aplicações como implantes (MORELLI, 2016). Isso faz com que não seja necessária cirurgia posterior para remoção do implante após regeneração do organismo. Um exemplo disso, é o uso de suturas ou de parafusos ortopédicos completamente reabsorvíveis pelo corpo. Outro exemplo é o uso desses polímeros como suporte para crescimento celular (*scaffolds*) ou para liberação controlada de medicamentos.

O desenvolvimento de filmes bionanocompósitos para uso em embalagem de alimentos tem sido motivado pela preocupação com o grande volume de lixo não biodegradável gerado pelo descarte de embalagens convencionais. Dentre os biopolímeros utilizados para a fabricação destes materiais encontram-se os polissacarídeos, tais como a pectina, alginato, amido, quitosana e celulose (Figura 04). O material a ser utilizado é escolhido de acordo com suas características e aplicação requerida (BALDWIN, 2012). Para serem utilizados como embalagens, os filmes devem atender a um número de requisitos funcionais específicos: barreira ao vapor de água e a gases, solubilidade em água ou lipídio, características mecânicas e reológicas, não-toxicidade etc (BARDET, 2013).

As nanoestruturas de celulose têm sido associadas a melhorias nas propriedades de barreira de filmes poliméricos. Além disso, melhores propriedades mecânicas de polímeros foram observadas como consequência da adição de nanocelulose, apresentando um desempenho em estreita relação com o teor, dimensões das nanoestruturas (e conseqüente razão de aspecto), assim como ao grau de interação matriz-celulose e efeitos de percolação (HUBBE et al., 2008; AZEREDO et al., 2012; ABDOLLAHI et al., 2013).

Como em todo material compósito, as propriedades dos bionanocompósitos dependem das propriedades individuais de cada componente (matriz e reforço), da composição (fração volumétrica dos constituintes), da morfologia de cada fase (arranjo espacial, dimensões, cristalinidade) e das propriedades da interface.

Samir e autores (2011) destacaram a importância de três parâmetros na definição das propriedades mecânicas de compósitos com CNC. O primeiro é a razão de aspecto (L/d) dos nanocristais, que está relacionada com o material de

origem e ao método de extração dos CNC. Quanto maior essa razão maior será o efeito de reforço esperado. O segundo é o método de preparação dos nanocompósitos, que pode ser por evaporação de solvente (água ou solventes orgânicos, dependendo da solubilidade do polímero) ou no estado fundido, em processos baseados em extrusão e injeção. O terceiro parâmetro é o resultado das interações entre matriz polimérica/nanopartículas e entre as nanopartículas.

Em compósitos convencionais a priorização do primeiro tipo de interação é importante na busca de melhores propriedades mecânicas. No entanto, no caso dos CNC, a perspectiva da formação de uma rede percolada está relacionada à capacidade de interação entre as nanopartículas por meio de interações por ligação de hidrogênio (MONTAÑO-LEYVA, 2013; SILVA et al., 2015).

2.8.1 Percolação

Idealmente, a formação de uma rede percolada entre reforços de uma matriz, ocorre quando as conexões existentes entre esses reforços deixam de ser locais, passando para um estado de conexão infinita (SAMIR, ALLOIN e DUFRESNE, 2005). Em outra conceituação, as cargas deixam de atuar simplesmente como partículas individuais e passam a fazer parte de uma estrutura rígida de sustentação, conectada em forma de rede.

Favier e autores (1997) buscaram aplicar a teoria de percolação para justificar as surpreendentes propriedades mecânicas encontradas a altas temperaturas, através de estudos de compósitos de látex reforçados com nanocristais de celulose extraídos de tunicados obtidos por *casting*. A proposta do trabalho foi entender como a rigidez elástica do compósito evoluía com o aumento da fração volumétrica dos CNC e sugerir um modelo para essa evolução. Nesse estudo, a percolação foi investigada através de simulações numéricas visando quantificar a fração volumétrica limite de percolação (mínima necessária para formação da rede percolada) e as propriedades mecânicas foram analisadas através da Teoria de Percolação e de um Modelo simples de Voigt (MORELLI, 2016). Todos os parâmetros elásticos associados com essa descrição foram determinados através de simulações utilizando o método de elementos finitos.

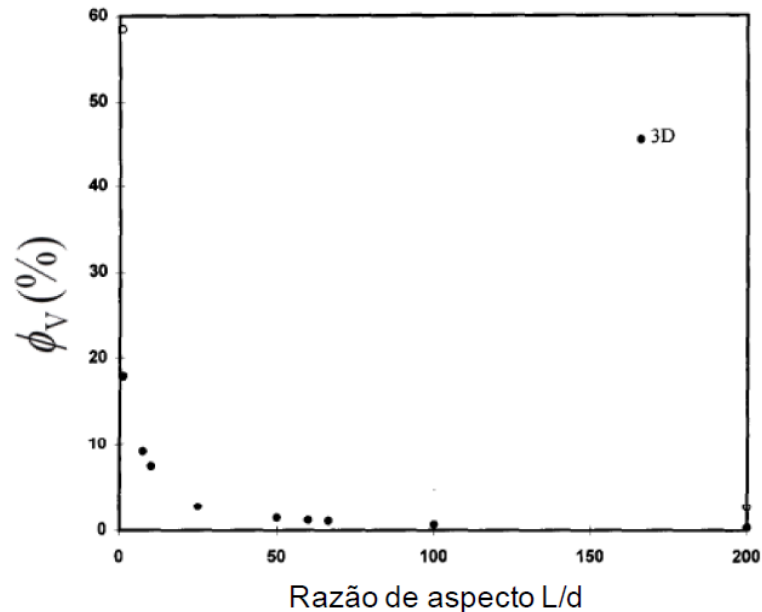
Um estudo inicial foi feito para determinação da fração volumétrica de CNC necessária para formar uma geometria de rede percolada (fração volumétrica limite de percolação, ϕ_V). Para isso, foi gerado um conjunto tridimensional contendo 5.000 CNC aleatoriamente distribuídos e orientados, de formato cilíndrico, e determinada razão de aspecto L/d entre o comprimento (L) e o diâmetro (d) dos mesmos. A possibilidade de interação entre esses CNC na constituição de uma rede percolada foi então estudada. Foi percebido que a ϕ_V dos CNC diminuía drasticamente com o aumento da razão de aspecto dos mesmos, segundo a seguinte Equação 1 (sendo L/d significativamente diferente da unidade) (TAIPINA, 2012):

$$\phi_V = \frac{0,7}{L/d} \quad (1)$$

No entanto, diferentemente do caso da percolação elétrica, na qual a existência de um caminho contínuo entre os elementos condutores distribuídos na matriz isolante é suficiente para fazer todo o sistema conduzir, na percolação mecânica a existência desse caminho contínuo de ligação entre os elementos rígidos não garante a rigidez de todo o sistema, uma vez que ela depende fortemente da natureza das ligações existentes entre os elementos. Na prática, além da razão de aspecto, a orientação e o tipo de interação existentes entre as partículas rígidas e entre essas e a matriz também influenciam a fração volumétrica limite de percolação (SAMIR, ALLOIN e DUFRESNE, 2005; BRETAS et al., 2010).

No caso dos nanocristais de celulose, as pontes de hidrogênio tendem a favorecer a formação dessa rede percolada rígida. Vale ressaltar também que, na extração dos nanocristais de celulose, um intervalo de comprimentos e diâmetros das nanopartículas é obtido, resultando, portanto, em um intervalo de razões de aspecto. Sendo assim, o valor encontrado através desse cálculo de fração volumétrica de percolação deve ser utilizado apenas como um valor orientativo na busca de uma estrutura percolada.

Figura 16 - Evolução da fração volumétrica limite de percolação com a razão de aspecto de fibras aleatoriamente distribuídas.



Fonte: MORELLI (2016).

2.8.2 Técnica de casting

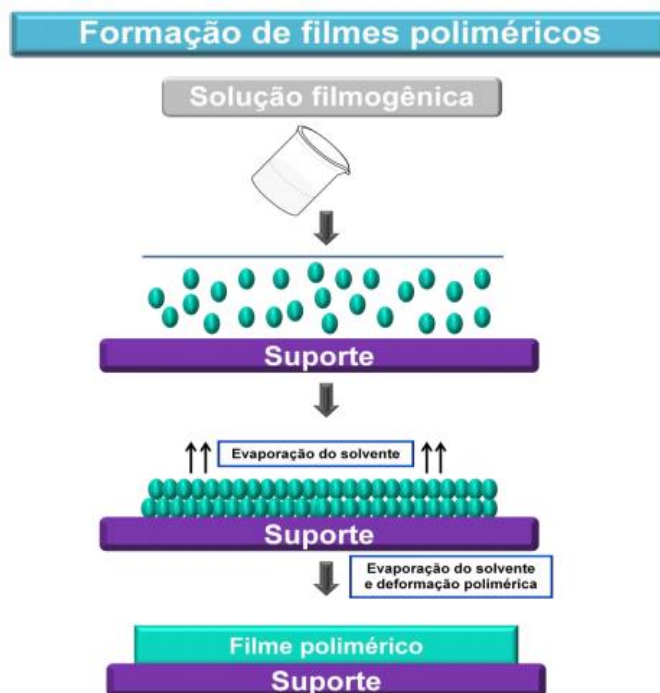
Na preparação de bionanocompósitos com CNC o método que tem sido mais utilizado e descrito na literatura é a obtenção de filmes por evaporação de solvente (solvent casting ou simplesmente casting, em inglês) (RIBEIRO NETO e MARCONCINI, 2017), por se tratar de estudos que visam basicamente investigar os efeitos físico-químicos que os CNC podem incorporar às matrizes poliméricas em escala laboratorial. Por isso a maior parte dos estudos citados na literatura utiliza casting como método de processamento, assim como eletrofiação e preparação de filmes auto-montados (layer-by-layer).

A técnica de produção dos filmes via o método casting, a partir de uma suspensão, envolve inicialmente uma etapa de solubilização do polímero em um solvente (água, etanol, solução de ácido acético etc.) ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes, agentes reticulantes, agentes antimicrobianos etc.). Posteriormente, a solução formadora do filme é vertida sobre um suporte e submetida a um processo de desidratação até uma condição que

permita um fácil desprendimento do molde, ou aplicada no recobrimento de um produto (MORELLI et al., 2016).

O processo de evaporação de solvente envolve a dispersão dos polímeros em um solvente adequado formando uma solução filmogênica. Depois da evaporação do solvente, o filme é destacado do suporte, Figura 17 (JONES; MEDLICOTT, 1995). Durante a evaporação do solvente, há um aumento na concentração da dispersão. Com isso, as forças intermoleculares, entre os segmentos das cadeias poliméricas, tornam-se cada vez mais eficazes e os filmes resultantes apresentam estrutura densa e forte devido ao entrelaçamento das cadeias (SIEPMANN et al., 2008).

Figura 17 - Processo de formação de filmes poliméricos pelo método de evaporação de solvente (ou casting).



Fonte: Adaptada de SILVA, 2016.

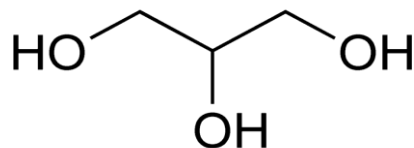
Existem várias estratégias para melhorar as propriedades dos filmes. A maioria dessas são modificações feitas na solução filmogênica. Os métodos mais comuns são adição de plastificantes, reticulantes e o uso de blends (SILVA, 2016).

2.8.3 Plastificantes

São geralmente líquidos utilizados para aumentar a flexibilidade e a distensibilidade do filme na sua temperatura de utilização (CANEVAROLO, 2006). Além de alterar as propriedades mecânicas, as substâncias que atuam como plastificante também tem forte influência nas propriedades térmicas dos materiais, como moléculas pequenas que se alojam entre as cadeias poliméricas, afastando-as umas das outras. Esse afastamento provoca a redução das forças de atração intermolecular secundária, aumentando a mobilidade das cadeias, reduzindo assim, o nível energético necessário para dar mobilidade à cadeia toda, ou seja, diminui-se a temperatura de transição vítrea. Os plastificantes podem ser divididos em solúveis e insolúveis em água (BODMEIER e PAERATAKUL, 1997).

Os solúveis são completamente dissolvidos na fase aquosa da dispersão polimérica coloidal, e em altas concentrações podem levar a um aumento da difusão de água no polímero. Já os insolúveis, tem que ser emulsionado na dispersão de polímero, podendo ocupar os micros espaços vazios do filme, ocasionando uma redução na absorção de água. Contudo, plastificantes insolúveis podem provocar separação de fases ou zonas descontínuas durante a secagem do filme, e como consequência tem-se a redução a flexibilidade e o aumento da permeabilidade a vapor de água (SIEPMANN, PAERATAKUL e BODMEIER, 1998). Vieira e autores (2011) relatam que os plastificantes mais utilizados na produção de filmes biopoliméricos são os polióis, mono, di e oligossacarídeos. Os principais consistem no sorbitol, etileno glicol, polietileno glicol, propileno glicol, manitol, xilitol e glicerol ou glicerina (Figura 18).

Figura 18 - Estrutura do glicerol.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

2.8.4 Agentes reticulantes

Basicamente, são utilizados com o propósito de melhorar as propriedades dos filmes poliméricos, como a resistência à água, coesão, rigidez, resistência mecânica e permeabilidade. Estes materiais são substâncias de baixa massa molar e apresentam grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter e intracadeias (GONSALVES et al., 2011). Recentemente, o processo de reticulação vem sendo necessário para prover maior compatibilidade e integridade entre as fases poliméricas e produzir blendas poliméricas mais homogêneas com diferentes propriedades.

A rede reticulada é formada por meio da reação entre os sítios reativos específicos presentes nas unidades estruturais dos polímeros e alguns agentes reticulantes, melhorando a resistência desses materiais à água. Com o aumento da densidade de reticulação, a capacidade de absorção do solvente diminui (LUCAS et al., 2001; SHI et al., 2007).

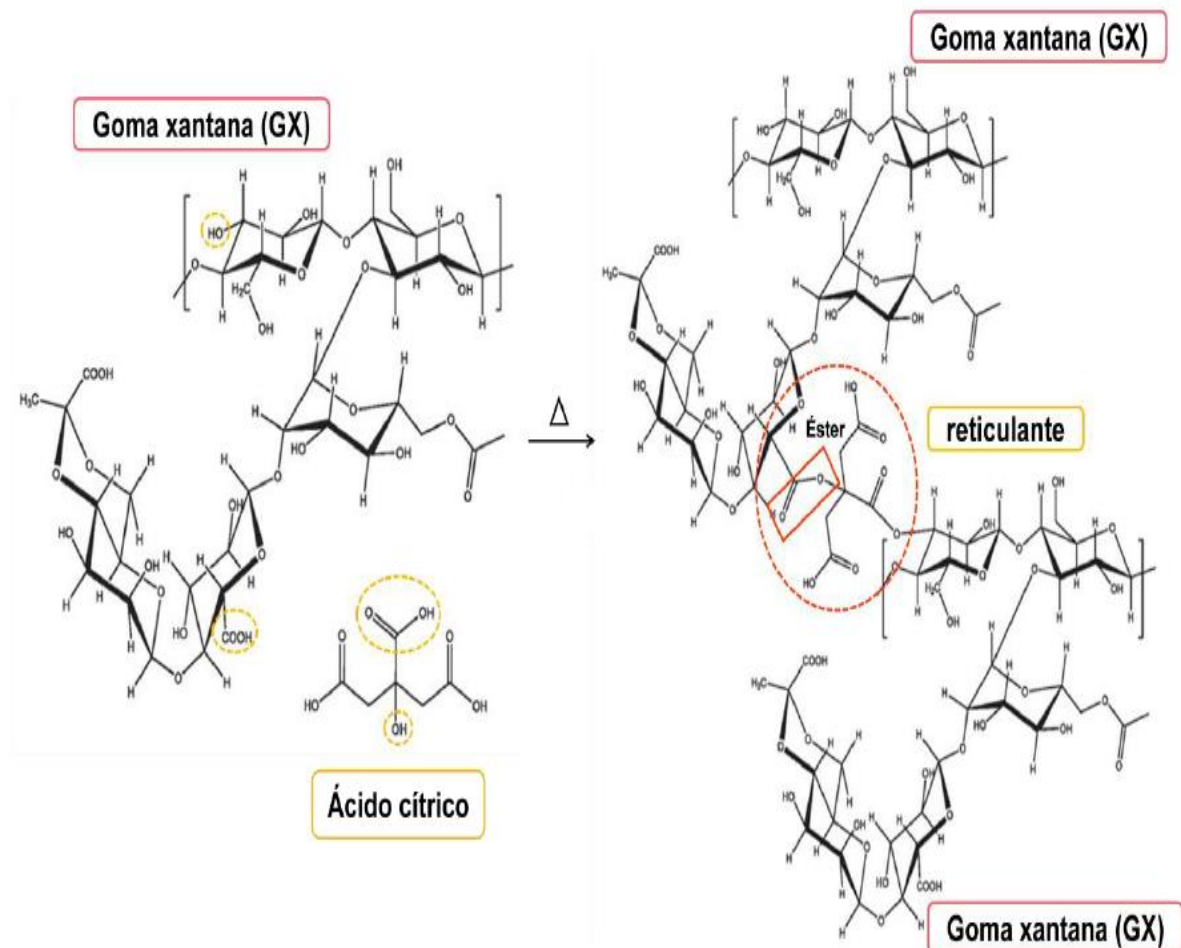
A reticulação visa, principalmente, modificar as propriedades de estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade e cor dos materiais (GUPTA; GOPAL, 2011). Os polímeros reticulados exibem diferenças consideráveis em suas propriedades, dependendo do grau de reticulação e do método de preparação. Um polímero semicristalino reticulado forma cristalitos que ancoram as cadeias da parte amorfa e se tornam os pontos de reticulação, deixando o material insolúvel em água, podendo este ser aplicado na liberação controlada de fármacos (HASSAN, 2000).

Vários reticulantes são utilizados, como o glutaraldeído, formaldeído, glioxal, ácido cítrico e outros (REDDY; YANG, 2010) e diversos estudos têm usado os ácidos orgânicos como agentes reticulantes, como o ácido cítrico anidrido, maleico e o tartárico (CANEVAROLO, 2006; ORÉFICE et al., 2006). Entre os reticulantes usados, o ácido cítrico (CA) vem sendo bastante empregado (REDDY; YANG, 2010).

O CA vem sendo estudado e aplicado como agente reticulante por apresentar estrutura multicarboxílica, o que faz com que a esterificação possa ocorrer entre os grupos carboxilas deste agente reticulante e os grupos hidroxilas existente nos polímeros (YANG et al., 2004). Atua como um agente de ligação cruzada, devido à sua estrutura, reforçando a ligação intermolecular através da introdução de ligações

Bueno e autores (2013) estudaram o mecanismo de reticulação do CA com blendas poliméricas de Goma Xantana (GX), polissacarídeo extracelular, ramificado, aniônico, sintetizado por diferentes tipos de cepas da bactéria *Xanthomonas*, e poli (álcool vinílico) (PVA), polímero sintético, semicristalino e hidrofílico com excelente combinação flexibilidade, compatibilidade com tecidos vivos. No caso da GX, a esterificação pode acontecer entre os grupos carboxilas do CA e hidroxilas da GX, e entre os grupos carboxilas da goma xantana e hidroxila do CA, como representado na Figura 20.

Figura 20 - Reticulação da GX pelo CA.



Fonte: Adaptada de BUENO et al. (2013).

2.8.5 Aplicação dos filmes bionanocompósitos em embalagens de alimentos

A embalagem desempenha um papel fundamental na indústria alimentícia graças às suas múltiplas funções. Além de conter o produto, ela é muito importante na sua conservação, mantendo a qualidade e a segurança, atuando como uma barreira contra fatores responsáveis pela deterioração química, física e microbiológica (ALMEIDA et al., 2015). Apesar das inúmeras inovações registradas em nível da produção, aplicação dos materiais, tecnologia de conservação dos produtos e sistemas de distribuição, as formas tradicionais de embalagem coexistem graças as características específicas e funcionais e a capacidade de adaptação como resposta às necessidades e exigências dos mercados.

São várias as definições que podem ser apresentadas para a embalagem: sistema coordenado de preparação de produtos para transporte, distribuição, armazenamento e uso final; meio de assegurar o envio de produtos ao consumidor final, em condições adequadas e a baixo custo; função técnico-econômica de diminuir o custo de distribuição e aumentar as vendas; arte, ciência e tecnologia de preparar produtos para transporte e venda (CUNHA, et al., 2007).

Quanto à função ou nível das embalagens pode-se classificar em primárias, secundárias e terciárias. A primária (lata, garrafa, saco) está em contato direto com o produto e é normalmente responsável pela conservação e contenção do produto. Elas são agrupadas em cargas unitárias, em paletes de madeira ou plásticas, e estabilizadas com filme estirável, termorretrátil ou com cintas. A embalagem secundária (caixas de cartão ou cartolina), que contém uma ou várias embalagens primárias, é normalmente responsável pela proteção físico-mecânica durante a distribuição. Ela também é responsável pela comunicação, sendo o suporte da informação, principalmente nos casos em que contém apenas uma embalagem primária.

A embalagem terciária agrupa diversas embalagens primárias ou secundárias para o transporte (caixas de papelão ou grades plásticas para garrafas de bebidas). A escolha por embalagens deste tipo depende da natureza da embalagem individual (rígida, semi-rígida ou flexível); do esquema de paletização (dimensionamento da

embalagem coletiva com vista a maximizar o aproveitamento da palete) e dos custos.

As principais embalagens utilizadas são as metálicas (latas), frascos de vidro, papel, papelão e plásticos, na forma de garrafas, caixas, potes ou filmes para formação de sacos. Os papéis são flexíveis, leves e podem ser facilmente reciclados. Vidros e metais têm sido utilizados para produtos de alto valor agregado, sendo resistentes à corrosão e à tração, respectivamente (MAHALIK e NAMBIAR, 2010). Os polímeros apresentam muitas características desejáveis para uma embalagem, como transparência, maciez e boa resistência (BOHLMANN, 2006). Sua extensa aplicação na indústria de embalagens deve-se ao baixo peso e, conseqüente, menor custo, boas propriedades mecânicas como resistência ao rasgo e à tração, assim como boa barreira ao oxigênio e capacidade de vedação térmica.

Os plásticos mais comumente utilizados na indústria de embalagens são derivados de produtos petroquímicos, entre eles o poli(etileno tereftalato) (PET), poli(vinilcloreto) (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS) e poliamidas (PA) que têm sido amplamente utilizadas para diversos tipos de alimentos, nas formas de filmes, chapas, garrafas, copos e bandejas. Entretanto, estes materiais, por não serem totalmente recicláveis nem biodegradáveis, causam efeitos adversos ao meio ambiente, trazendo riscos à saúde humana e aos ecossistemas. Para se ter ideia, cerca de 40% dos plásticos são utilizados para embalagens diversas e especificadamente quase a metade deles (aproximadamente 20%) são usados para embalagens alimentícias (RHIM, PARK e HA, 2013).

Nos últimos anos, diante da grande quantidade destes materiais plásticos que é descartada diariamente, devido ao longo tempo de degradação destes materiais no meio ambiente, têm causado preocupação. Assim, os órgãos governamentais de proteção ao meio ambiente e as organizações não governamentais de proteção ao meio ambiente, têm buscado formas de se discutir e conscientizar a população do consumo consciente destes materiais (MMA, 2015).

Além disso, o consumo de combustíveis fósseis (mais de 99% dos plásticos originam-se de combustíveis fósseis), a poluição ambiental, o esgotamento de aterros, o elevado consumo de energia nos processos de produção e a difusão de polímeros e alguns aditivos tóxicos em produtos alimentícios são alguns dos sérios problemas enfrentados pela indústria de embalagens. Portanto, uma forte tendência para o aumento do uso de materiais renováveis tem sido observada nos últimos dez anos (MAHALIK e NAMBIAR, 2010).

Embalagens com aplicações nanotecnológicas adquirem melhores propriedades físico-químicas, redução da hidrofobicidade, além de proporcionar uma melhor biodegradabilidade, o que gera valor agregado aos produtos (ZHOU et al., 2011). Tais embalagens podem ser classificadas, genericamente, como: embalagens aprimoradas, cujos nanocompostos podem alterar suas propriedades e aumentar a validade comercial do alimento; embalagens ativas pela adição de nanocompostos, como por exemplo, nanopartículas de óxido metálicos ou de metais com propriedades antimicrobianas (filmes antimicrobianos, filmes antioxidantes, filmes incorporados de enzimas, sachês antimicrobianos, sachês absorvedores de etileno, de oxigênio, de umidade, indicadores de temperatura, indicadores microbiológicos, modificadores sensoriais etc); embalagens bioativas, incorporando compostos bioativos capazes de prevenir ou reduzir riscos de doenças e embalagens inteligentes, incorporadas com nanosensores para monitorar e relatar as condições dos alimentos acondicionados ou do ambiente ao redor (SILVA, 2015).

A Figura 21 apresenta resultados de pesquisas realizadas pela Embrapa CNPAT no desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir da polpa de manga para a utilização como embalagens e o acompanhamento de degradação de frutas não revestidas e revestidas com filmes nanoestruturados a fim de melhorar o tempo de comercialização do produto.

Figura 21 - Embalagens biodegradáveis (a) produzidas a partir de polpa de manga; (b) acompanhamento da degradação de frutas não revestidas e revestidas com filmes biodegradáveis.



Fonte: SNA, 2014.

2.8.6 Aspectos regulatórios para a aplicação da Nanotecnologia

Com o avanço da utilização da nanotecnologia, pode haver um aumento potencial de fontes diretas e/ou indiretas de contaminação de alimentos, através do contato com as nanopartículas. A migração de nanopartículas da embalagem para o alimento ainda não pode ser considerada significativa devido a poucos estudos desenvolvidos neste setor. Desta forma, não há diretrizes específicas para a nanotecnologia aplicada a embalagens, onde, na maioria dos casos, utilizam-se legislações já vigentes de migração, de maneira geral, de compostos presentes em embalagens plásticas (CHAUDHRY et al., 2008; ALMEIDA et al., 2015).

No Brasil, a RDC nº 51 (26/11/2010) estabelece os critérios de migração para materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados ao contato com alimentos para caracterização do tipo de embalagem destinada a cada produto, considerando-se suas características físico-químicas e de processamento (BRASIL, 2010). O Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, criou a Portaria nº 245 (05/04/2012), que institui Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologias -

SisNano como um dos elementos do Programa Nacional de Nanotecnologia, no âmbito da Estratégia Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação. Esses laboratórios têm como objetivos principais a estruturação da governabilidade para as nanotecnologias, promover uma maior disponibilidade do conhecimento, bem como desenvolver cada vez mais pesquisas neste setor, de forma a promover o avanço científico e tecnológico do país (BRASIL, 2012).

Existem os Projetos de Lei (PL) como o nº 5133/13 e nº 6741/2013 (BRASIL, 2012), ambos de autoria do Deputado Sarney Filho, que visam regulamentar a rotulagem de produtos desenvolvidos por processos nanotecnológicos e de produtos que fazem uso da nanotecnologia, criando exigências para que o consumidor seja informado se determinada embalagem de alimentos contém nanocompostos em sua formulação, embora a Associação Brasileira de Ciências e a Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência tenham publicado manifesto em resposta aos teores descritos nos projetos referidos (BRASIL, 2016).

De acordo com o texto inserido nos PL, as embalagens devem conter um símbolo que identifique a presença de produto ou processo deste tipo, em destaque, para uma das seguintes expressões: (nome do produto) obtido pelo referido processo; ou (nome do ingrediente ou ingredientes) nanotecnológico (s). A proposta encontra-se sujeita à apreciação do plenário e em análise das comissões de Desenvolvimento Econômico, Indústria e Comércio; de Defesa do Consumidor; de Constituição e Justiça e de Cidadania, de acordo com os teores extraídos do site da Câmara dos Deputados (BRASIL, 2018).

05/04/2017 - Mesa Diretora da Câmara dos Deputados (MESA)

- Defiro o Requerimento n. 3.478/2015. Apense-se o Projeto de Lei n. 6.741/2013 ao Projeto de Lei n. 5.133/2013, nos termos dos arts. 142, caput, e 143, II, b, do Regimento Interno da Câmara dos Deputados. Revejo o despacho proferido em 30 de junho de 2015 de criação da Comissão Especial destinada a proferir parecer ao Projeto de Lei n. 6.741/2013, para que esta se destine a apreciar o Projeto de Lei n. 5.133/2013. Publique-se. Oficie-se.[ATUALIZAÇÃO DO DESPACHO DO PL 5.133/2013: à CDEICS, à CDC, à CMADS, à CSSF, à CCTCI, à CFT (mérito e art. 54 do RICD) e à CCJC (mérito a art. 54 do RICD). Proposição sujeita à apreciação do Plenário. Regime de tramitação: ordinário.]

06/04/2017 - PLENÁRIO (PLEN)

- Ato da Presidência: Cria Comissão Especial, nos termos do inciso II do art. 34 do Regimento Interno. DCD de 07/04/2017 PÁG 25 COL 01.

06/04/2017- COORDENAÇÃO DE COMISSÕES PERMANENTES (CCP)

- À CDECIS o Mem. nº 38/17 - COPER, solicitando a devolução deste.

12/04/2017 - Comissão de Desenvolvimento Econômico, Indústria, Comércio e Serviço (CDEICS)

- Devolução à CCP, conforme solicitação contida no Mem. nº 38/17 - COPER.

Para a União Européia, por exemplo, o quesito segurança está diretamente vinculado com produtos químicos que podem migrar da matriz da embalagem para os alimentos. Essas embalagens devem ser fabricadas de acordo com os seus regulamentos, incluindo as boas práticas de fabricação, de forma que qualquer transferência não levante preocupações de segurança, não altere a composição dos alimentos de uma forma inaceitável ou tenha efeitos adversos de sabor/odor (EFSA, 2011; BRASIL, 2012). A Diretiva nº 82/711/CEE estabelece as regras de base necessárias à verificação da migração dos constituintes de embalagens para alimentos e a Diretiva 85/572/CEE lista os simulantes para avaliar a migração dos componentes dos materiais plásticos (EFSA, 2011).

Na Europa, o uso de nanopartículas em alimentos ou em contato com alimentos, deve ser precedido da avaliação pela *European Food Safety Agency* e ser submetido à Diretiva nº 1333/2008 como novo aditivo, ainda que a mesma partícula na escala convencional já tenha sido aprovada (EU, 2011). Para embalagens de alimentos, atualmente, apenas três nanomateriais foram autorizados: o negro de carbono, o nitreto de titânio e dióxido de silício. Porém, o nitreto de titânio não pode ser detectável em alimentos, o negro de fumo não pode ser utilizado em níveis superiores a 2,5% m/m de embalagens e para o dióxido de silício o limite de migração específica ainda não foi definido (EFSA, 2015).

Diante desta perspectiva, o presente trabalho inseriu a nanotecnologia aplicada em alimentos nos processos de obtenção dos novos materiais, os bionanocompósitos, a partir de resíduos agroindustriais, cascas de banana, onde foi possível a extração de um polissacarídeo, a pectina, para ser utilizado como matriz dos filmes obtidos. Nanoestruturas de celulose, de mesma origem da matriz, obtidas a partir de hidrólise ácida, foram incorporadas nos filmes com o intuito de melhorar as propriedades fisio-químicas e óticas dos novos materiais com potencial aplicação em embalagens biodegradáveis.

A pesquisa investigou a atuação de agentes externos (reticulante e de reforço), a qual abordou a atividade do CA que tem sido relatado para reticular os filmes em estudo devido a formação de ligações covalentes diéster entre dois dos seus grupos carboxila e hidroxila de diferentes cadeias de polissacarídeos e sua propriedade de atoxicidade (BONILLA et al., 2013; OLSSON, HEDENQVIST, JOHANSSON, 2013), bem como os agentes de reforço, CNC, para melhorar as propriedades dos filmes por diferentes mecanismos.

Este trabalho foi realizado para avaliar os efeitos combinados de um reforço com estrutura nano (CNC) e um agente de reticulação (CA) nas propriedades de tração, de barreira e resistência à água de filmes, a partir de pectina de casca de banana, a fim de avaliar se essa combinação de aditivos resulta em filmes bionanocompósitos com propriedades melhoradas quando comparados com a utilização individual de cada material (CUNHA, 2010).

A tese foi desenvolvida através de uma parceria sólida e de grandes resultados com os grupos do Laboratório da Tecnologia de Biomassa (LTB) da Embrapa Agroindústria Tropical (EMBRAPA-CNPAT), do Laboratório de Produtos e Tecnologia de processos (LPT) da Universidade Federal do Ceará e o Biorefinery Centre do Institute of Food Research (IFR), na Inglaterra. A produção científica da pesquisa culminou na publicação de 4 artigos, em sua totalidade, onde 2 artigos científicos em revistas com fatores de impacto relevantes obtidos do trabalho desenvolvido com as cascas de banana (presente estudo) e 2 artigos complementares foram publicados a partir do planejamento experimental para a extração de pectina de cascas de romã, bem como a obtenção de filmes a base de pectina incorporados com CNC, da mesma fonte de investigação (Apêndice A).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar o potencial de utilização dos resíduos do processamento de fibras de cascas de banana na obtenção de um polissacarídeo (pectina) e nanocristais de celulose (CNC) para a elaboração e avaliação de filmes bionanocompósitos com potencial aplicação para embalagens biodegradáveis.

3.2 Específicos

- Estudar a composição química de cascas de banana, com ênfase em pectinas e CNC;
- Otimizar a extração de pectina, a partir de cascas da banana, utilizando o método de superfície de resposta (MSR), como base de uma análise estatística;
- Estabelecer as condições adequadas para a extração de CNC a partir de fibras de cascas de banana;
- Desenvolver filmes bionanocompósitos a base de pectinas extraídas de cascas de banana;
- Caracterizar os bionanocompósitos e os filmes pelas técnicas de Microscopia Eletrônica de Transmissão e de Varredura (MET e MEV), Difração de Raio-X (DRX), Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR), Potencial Zeta, RMN ¹³C no estado sólido etc;
- Analisar as propriedades mecânicas, de barreira e ópticas dos filmes avaliando os efeitos de CNC e do agente de reticulação (CA) com potencial aplicação para embalagens.

4 METODOLOGIA

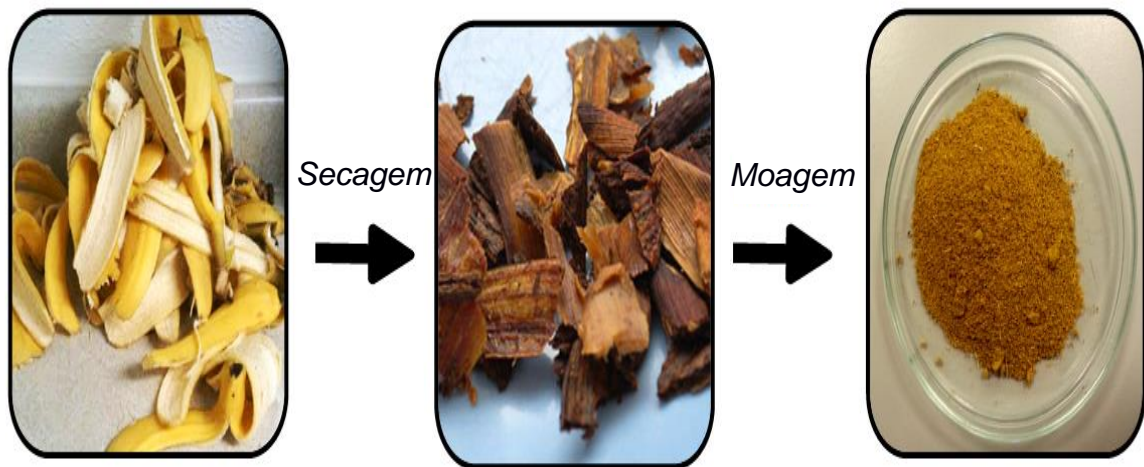
A parte experimental da presente tese foi realizada nos laboratórios da Embrapa Agroindustrial Tropical (EMBRAPA/CNPAT), no Brasil, e do Biorefinery Centre do Institute of Food Research (IFR), na Inglaterra, executando as tarefas, os estudos, as reações, os ensaios e a caracterização dos processos de extração de pectina, a partir de cascas de banana, e do desenvolvimento dos filmes bionanocompósitos incorporados com CNC e CA.

4.1 Extração e caracterização dos componentes majoritários de cascas de banana

As cascas de banana no estágio de maturação 6 (bananas totalmente maduras e prontas para o consumo, de acordo com a escala de Von Loesecke) (Figura 12, pág. 52) foram adquiridas no Mercado da cidade de Norwich (Reino Unido – Inglaterra). As bananas foram as do tipo Cavendish, Grupo Musa AAA e subgrupo Cavendish.

A fim de retardar a oxidação das cascas foi realizado o intumescimento em solução de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (1% m/v) durante 24 h. Neste processo reacional o metabissulfito de sódio atua como agente oxidante e quando lançado no ambiente, reage com oxigênio dissolvido da água, formando sulfato ácido de sódio, dissociando em sódio e íons bissulfito, diminuindo a concentração de oxigênio na água. Cada miligrama de bissulfito de sódio consome $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido (CRUZ, 2014). Após o intumescimento as bananas foram secas em estufa a 60°C pelo período de tempo de 24h e moídas em um moinho centrífugo Brinkmann Retsch ZM-1 de 0,5 mm (Retsch GmbH, Haan , Alemanha) (Figura 22).

Figura 22 - Obtenção das cascas de banana moídas.

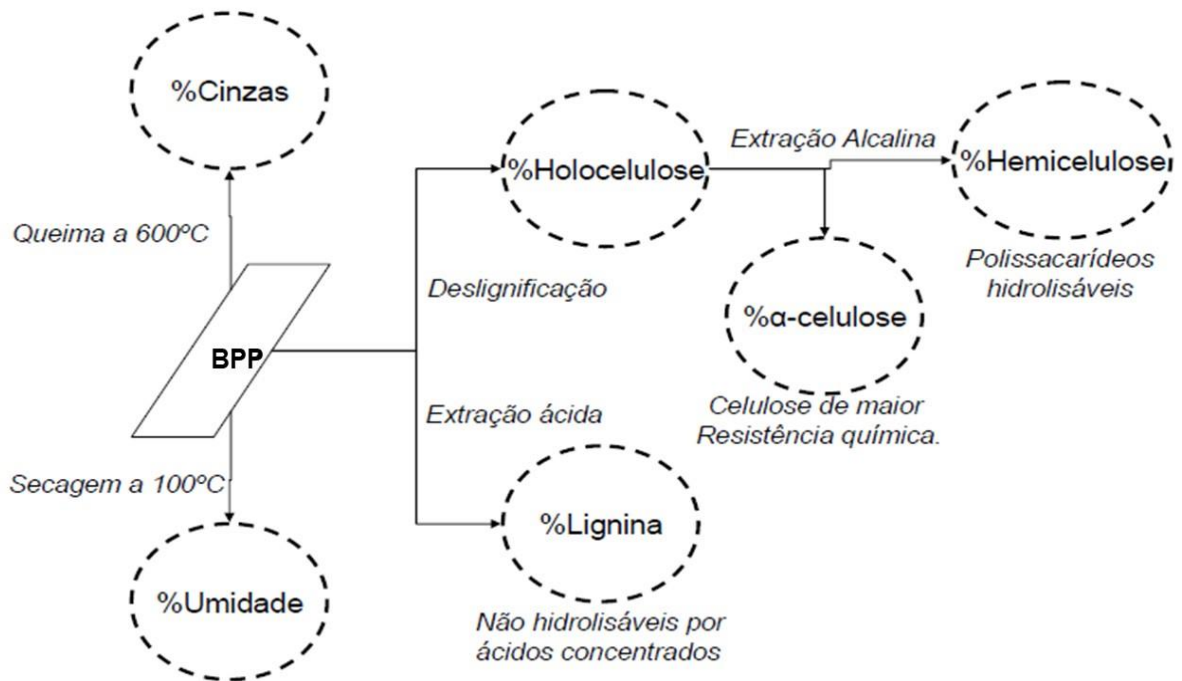


Fonte: PRÓPRIO AUTOR

As cinzas, os extrativos e os teores de lignina Klason de cascas de banana moídas (BPP) foram determinados de acordo com os métodos TAPPI T413 om-93 (TAPPI, 1993), TAPPI T204 cm-97 (TAPPI, 1997) e TAPPI T222 om-22 (TAPPI, 2000), respectivamente. Os teores de hemicelulose e de alfacelulose foram analisados como descrito por TAPPI T203 cm-99 (TAPPI, 2009), e de holocelulose, de acordo com a literatura (YOKOYAMA, KADLA E CHANG, 2011). As caracterizações foram realizadas no Laboratório de Tecnologia da Biomassa, da Embrapa CNPAT.

Um esquema de como estes componentes podem ser extraídos e quantificados foi ilustrado na Figura 23, considerando que todas as determinações nesta etapa foram realizadas, no mínimo, em três repetições (triplicatas).

Figura 23 - Esquema dos compostos majoritários de BPP.



Fonte: Adaptada de MOREIRA, 2010.

4.1.1 Teor de Umidade

Uma massa de 1,0000 g de BPP (m_i) foi colocada em cadinhos previamente tarado e o conjunto foi condicionado em estufa a 105 °C por 24 h. Em seguida, a amostra foi transferida em dessecador e quando resfriada foi pesada em balança com precisão de 0,0001g. O procedimento foi repetido até se atingir massa constante (m_f). Após os experimentos os dados foram aplicados em um software de planilha eletrônica, o Microsoft® Excel®. O teor de umidade foi calculado pela Equação 2:

$$\text{Umidade (\%)} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad (2)$$

4.1.2 Teor de Cinzas

Em um cadinho previamente tarado foi colocada uma massa de 1,0 g de BPP (m_f) e o conjunto foi aquecido em bico de Bunsen para combustão lenta da amostra, até desaparecimento da chama no seu interior. Em seguida, o cadinho foi acondicionado a uma temperatura de 600°C, em mufla, por 4 h. As amostras calcinadas foram colocadas em dessecador para resfriamento e, a seguir pesadas (m_{cz}). O teor de cinzas foi obtido pela Equação 3:

$$\text{Cinzas (\%)} = \left(\frac{m_{cz}}{m_f} \right) \times 100 \quad (3)$$

4.1.3 Determinação de extrativos

Pesou-se aproximadamente 4,0g de amostra seca de BPP em um cartucho de papel. Em um balão de vidro foram adicionados aproximadamente 350 mL de etanol junto ao cartucho com a amostra. Em seguida, o sistema de extração tipo Soxlet foi montado. Ajustou-se o sistema para completar 24 ciclos de refluxos de solvente. Após esta etapa, o cartucho contendo a amostra sem extrativos foi retirado do sistema e o solvente recuperado. O cartucho foi levado a estufa por 24h a 105°C, retirado e colocado em dessecador até atingir temperatura ambiente. Então, foi realizada a pesagem do mesmo. O teor de extrativos (TE) presente na amostra seca foi calculado com base na Equação 4.

$$\text{TE} = \frac{\text{MRE} - \text{MRRS}}{\text{MA}} * 100 \quad (4)$$

onde: MRE = massa do conjunto recipiente/extrativos; MRRS = massa do conjunto recipiente/resíduo de solvente; MA = massa da amostra.

4.1.4 Teor de Lignina Klason Insolúvel

O teor de lignina Klason insolúvel foi determinado de acordo com a norma TAPPI T222 OM-22. Uma massa de 1,0 g de BPP seca (m_f) foi colocada em almofariz com 17 mL de solução de H_2SO_4 72% (m/m), macerada exaustivamente, e deixada em repouso por 24 h a temperatura de 25°C. Em seguida, a mistura foi transferida para um balão redondo de 1 L, diluída com água destilada para a concentração de H_2SO_4 de 3% e aquecida sob refluxo por 4 h. Ao final do tempo a lignina insolúvel foi filtrada em filtro de vidro sinterizado tipo M (previamente tarado) lavando-se com água destilada (três repetições de 50 mL). A lignina insolúvel foi então secada em estufa a temperatura de 105°C, transferida e resfriada em dessecador e pesada em balança com precisão de 0,0001g. O procedimento foi repetido até se atingir massa constante (m_i) O teor de lignina foi calculado de acordo com a Equação 5:

$$\text{Lignina Klason insolúvel (\%)} = \left(\frac{m_i}{m_f} \right) \times 100 \quad (5)$$

4.1.5 Determinação de Holocelulose

Holocelulose é um termo empírico para se referir à mistura de celulose e hemicelulose. Esta determinação foi realizada de acordo com a norma TAPPI T19-om-54 (TAPPI, 1991). Uma massa de 3 g de BPP seca (m_f) foi colocada em erlenmeyer de 500 mL (triplicata). Foi adicionado a cada erlenmeyer 120 mL de água destilada e aquecido até temperatura de 70°C, em banho-maria e com o auxílio de uma chapa aquecedora. Ao atingir a temperatura desejada foram adicionados 2,5 g de $NaClO_2$ e 1 mL de CH_3COOH . A mistura foi mantida sob agitação durante todo o tempo de reação. Após uma hora a cada erlenmeyer foram adicionados novamente 2,5g de $NaClO_2$ e 1 mL de CH_3COOH . Este processo foi repetido mais uma vez, totalizando três vezes no total, e a reação continuou por mais 3h. Ao término de 5h de reação, cada erlenmeyer foi colocado em banho de gelo até atingir temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada uma filtração em funil de vidro sinterizado ASTM n° 2 previamente lavado e seco a 105° por 2h. Foram realizadas

sucessivas lavagens com água destilada (50 mL em três operações) até que o precipitado atingisse a neutralidade. O funil com o precipitado então foi seco em estufa a 105°C até atingir peso constante e, em seguida pesado. O teor de holocelulose (TH) foi calculado com base a Equação 6.

$$TH = \frac{MFH - MF}{MA} * 100 \quad (6)$$

onde: MFH = massa do funil somada à massa de holocelulose; MF = massa do funil vazio e seco; MA = massa da amostra.

4.1.6 Determinação de alfacelulose e hemicelulose

A partir da determinação da holocelulose pôde-se obter os teores de alfacelulose e hemicelulose. Cerca de 1g de holocelulose foi pesada e adicionada a um almofariz. Em seguida, 15 mL de hidróxido de sódio 17,5% (m/v) foram adicionados ao almofariz. O sistema permaneceu em repouso por 2min e a seguir a mistura foi macerada com o auxílio de um pistilo por 8 a 10 min. Então, foram adicionados a mistura 40mL de água destilada e, em seguida, filtrado em funil de vidro sinterizado ASTM n° 2 previamente lavado e seco a 105°C por 2h. O precipitado foi lavado com água destilada (50 mL em três operações) até atingir a neutralidade. O funil foi colocado em estufa a 105°C até atingir peso constante. Após a secagem, o funil foi colocado em dessecador até atingir temperatura ambiente e, em seguida foi pesado, obtendo-se a alfacelulose. O teor de holocelulose é a soma dos teores de alfacelulose e hemicelulose. O teor de alfacelulose (TA) foi calculado com base na Equação 7.

$$TA = \frac{MFA - MF}{MAH} * 100 \quad (7)$$

onde: TA = teor de alfacelulose presente na amostra; MFA = massa do funil somada à massa de alfacelulose pós-estufa; MAH = massa da amostra de holocelulose; MF = massa do funil seco vazio.

O valor real de alfacelulose ($TA_{\text{Corrigido}}$), ou seja, o conteúdo de alfacelulose contido na amostra bruta, foi calculado com base na Equação 8. O teor de hemicelulose foi calculado pela diferença entre os teores de holocelulose e alfacelulose (Equação 9).

$$TA_{\text{Corrigido}} = \frac{TH * TA}{100} \quad (8)$$

$$THe = TH - TA_{\text{Corrigido}} \quad (9)$$

onde: THe = teor de hemicelulose presente na amostra.

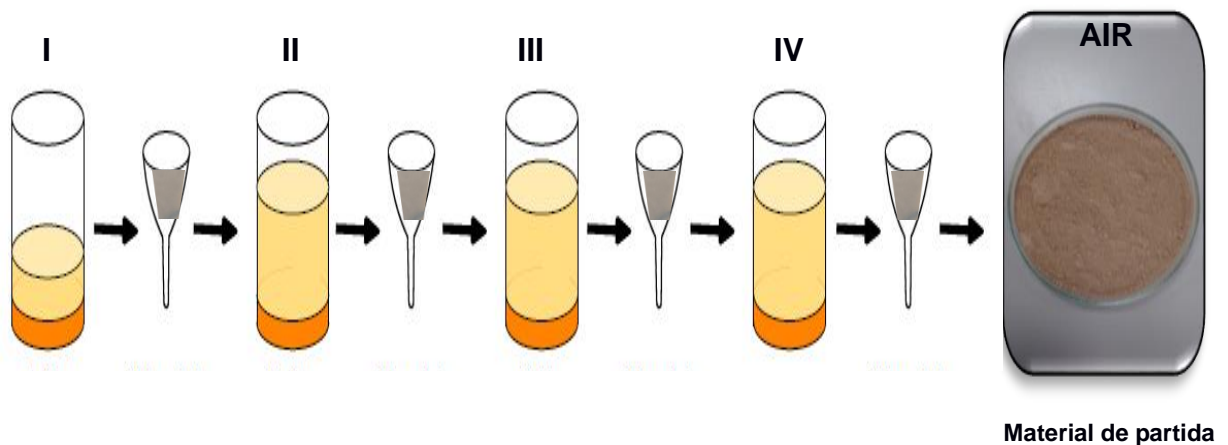
4.1.7 Preparação do resíduo insolúvel em álcool (AIR)

A extração de pectina foi realizada a partir da preparação de um resíduo insolúvel em álcool (AIR) a fim de remover os compostos de baixa massa molar, incluindo vestígios de ácido galacturônico livre (EMAGA et al., 2008). O AIR foi preparado com base no método criado por Waldron e Selvendran (1990) com modificações: 100 g de cascas de banana moídas (BPP) foram lavadas com porção total de 2000 mL de solvente (etanol e acetona), para a remoção de quaisquer compostos fenólicos solúveis em álcool, na sequência a seguir (Figura 23):

- 600 mL de 70% v/v de etanol em ebulição durante 5 min – **(I)**
- 600 mL de etanol absoluto em ebulição durante 5 min – **(II)**
- 600 mL de etanol absoluto à temperatura ambiente durante 5 min)– **(III)**
- 200 mL de acetona – **(IV)**

Entre os processos de lavagens, o material de partida (AIR) foi filtrado com auxílio de uma malha de nylon de 10 μm (Figura 24), seco ao ar à temperatura ambiente e usado posteriormente para as extrações de pectina e nanocristais de celulose.

Figura 24 - Rota esquemática de obtenção do AIR; (I): 600 mL de 70% v/v de etanol em ebulição; (II): 600 mL de etanol absoluto em ebulição; 600 mL de etanol absoluto à temperatura ambiente; (III): 600 mL de etanol absoluto à temperatura ambiente; (IV): 200 mL de acetona.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.1.8 Planejamento Experimental para a extração das pectinas

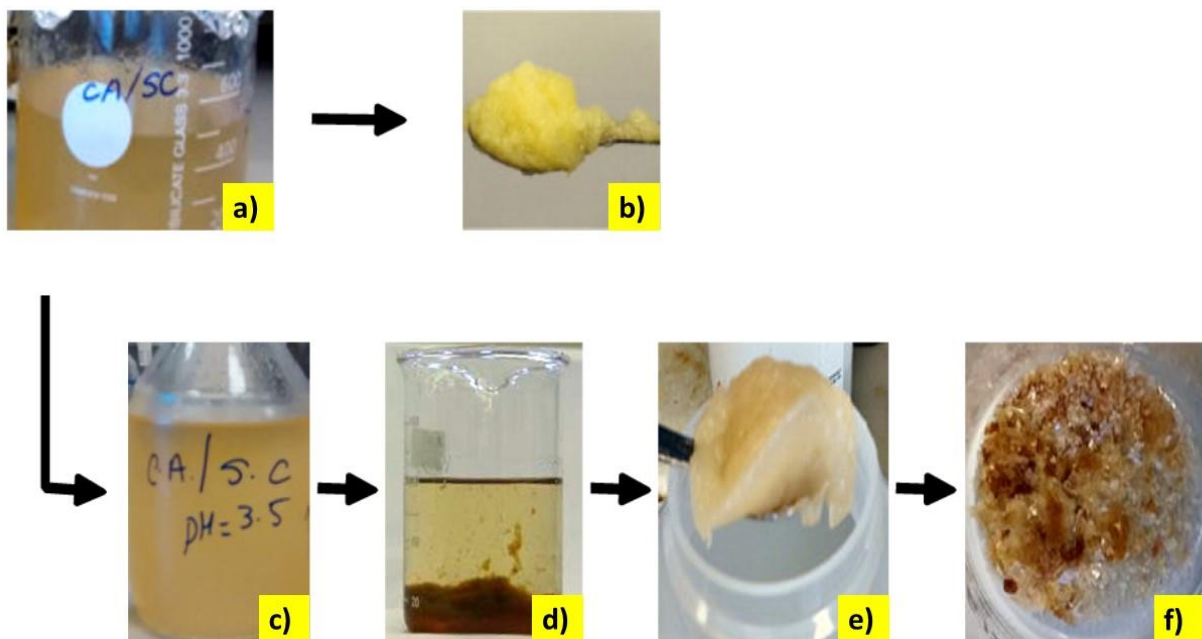
Para o estudo da otimização das condições de extração de pectina a partir de BPP utilizou-se uma metodologia de superfície de respostas como o planejamento experimental do presente estudo, através do Delineamento Composto Central (DCC) com três variáveis independentes (BARROS NETO, 1995). Este delineamento possibilitou reduzir o número de pontos experimentais a serem testados e permitir o ajuste e testes de modelos de regressão (FONSECA et al., 2012), onde consistiu de oito experimentos fatoriais (níveis +1 e -1), seis axiais (níveis $+\alpha$ e $-\alpha$) e três repetições no ponto central (nível 0) totalizando 17 experimentos. O DCC foi realizado conforme descrito por Teófilo e Ferreira (2006), onde as variáveis independentes foram descritos na Tabela 4:

- pH da solução;
- Temperatura e
- Tempo de extração.

A pectina foi extraída, a partir do AIR, com soluções de CA (AIR: razão de solução, 1:20 m/v) (Figura 25). A proporção foi colocada em um banho de água, sob agitação (150 rpm), e centrifugado a 2555,7 g por 30 min a 10°C em uma centrífuga Beckman Coulter JS-4,2. O sobrenadante formado foi filtrado sob vácuo e teve pH ajustado a 3,5 (pH de solubilidade mínima de pectina) com KOH seguido da adição de etanol absoluto (na proporção 1:1,v/v). A suspensão foi agitada durante 30 min, deixou-se precipitar a 4°C durante 2 h e centrifugada (15 minutos, 4°C, 3475,5 g).

O precipitado foi coletado, lavado com 100mL de etanol a 70% (v/v), centrifugado novamente (20 minutos, 4°C, 3475,5 g) e seco à temperatura ambiente. Em seguida, o material foi dissolvido, agitado em água (250 mL em três repetições) por 20 minutos em um homogeneizador Ystral e seu pH foi ajustado para 7 (com 6% KOH), seco e moído até um pó fino através de um moinho de base (A10, IKA GmbH, Alemanha).

Figura 25 - Etapas para a extração de pectina; (a) AIR: razão de solução de CA; (b) precipitado do processo de extração (rico em celulose); (c) sobrenadante com pH ajustado; (d) precipitação da pectina em etanol absoluto; (e) pectina após centrifugação e (f) após a moagem.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Tabela 4 - Condições experimentais de extração de pectina de cascas de banana com CA apresentando os valores codificados de acordo com o delineamento e os valores reais correspondentes (experimental).

Tratamento	Variáveis independentes					
	Temperatura		Tempo de extração		pH	
	Codificada	Real (°C)	Codificada	Real (min)	Codificada	Real
1	-1	74,05	-1	144	-1	2,51
2	1	85,95	-1	144	-1	2,51
3	-1	74,05	1	216	-1	2,51
4	1	85,95	1	216	-1	2,51
5	-1	74,05	-1	144	1	3,99
6	1	85,95	-1	144	1	3,99
7	-1	74,05	1	216	1	3,99
8	1	85,95	1	216	1	3,99
9	-1,68	70	0	180	0	3,25
10	1,68	90	0	180	0	3,25
11	0	80	-1,68	120	0	3,25
12	0	80	1,68	240	0	3,25
13	0	80	0	180	-1,68	2,00
14	0	80	0	180	1,68	4,50
15	0	80	0	180	0	3,25
16	0	80	0	180	0	3,25
17	0	80	0	180	0	3,25

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.1.9. Caracterização de BPP, AIR e pectina nas condições adequadas

Os Espectros de FT-IR foram obtidos a partir de BPP, do AIR e de pectina, na faixa de frequência 4000-800 cm^{-1} (128 ciclos e resolução de 2 cm^{-1}) em um espectrômetro Nicolet Magna-IR 860 FTIR (Thermo Nicolet, Madison, WI, EUA). As amostras foram colocadas sobre um acessório de ATR de diamante GoldenGate (Specac, Orpington, Kent). O cristal vazio foi utilizado como referência. Os espectros foram comparados a fim de compreender as modificações no processo de extração

de pectina. A análise foi realizada na Central Analítica do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão do pesquisador Dr. Nikolaus Wellner.

4.2 Caracterização das pectinas e análises estatísticas

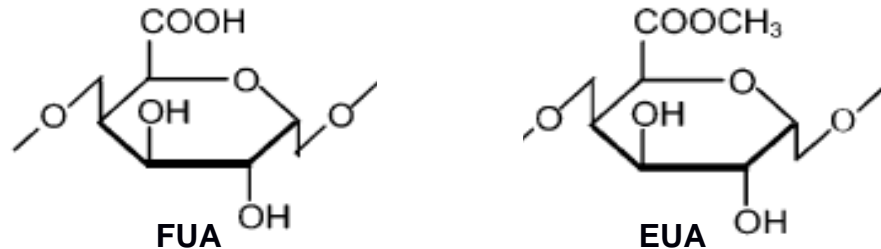
4.2.1 Determinação do grau de metoxilação (DM)

Existem várias técnicas descritas na literatura que são utilizados para a determinação de DM. Entre elas encontram-se a FT-IR (MANRIQUE e LAJOLO, 2002), a RMN (SKOOG, HOLLER E NIEMAN, 2002) e a técnica de Titulação Potenciométrica (BOCHEK, ZABIVALOVA E PETROPAVLOVSKII, 2001). A técnica de FT-IR com tais modificações foi escolhida neste trabalho e conduzida para a análise estrutural e quantitativa da pectina, além de ser rápida e precisa na região do infravermelho médio ($200 - 4000 \text{ cm}^{-1}$) (GNANASAMBANDAM E PROCTOR, 2000).

Os espectros de FT-IR foram obtidos a partir de padrões de pectina com valores de DM conhecidos de 31% (P-9311), 67% (P-9436) e 89% (P-9561) adquiridos da Sigma (Steinheim, Alemanha) e quatro padrões obtidos a partir da misturas dos padrões de pectina (com valores de DM de 40, 49, 60 e 78), a fim de construir uma curva analítica para a determinação do grau de metoxilação. Os perfis dos espectros foram registrados em triplicatas.

A determinação do DM foi baseada nas áreas da banda em $1700-1750 \text{ cm}^{-1}$ e $1600-1630 \text{ cm}^{-1}$, características de ácidos urônicos metil esterificados (EUA) e ácidos urônicos livres (FUA), respectivamente, (Figura 25) calculadas, através do uso do Origin Pro 9 (Equação 10), a função de ajuste da banda múltipla e a montagem Gaussiana (OriginLab, Northampton, EUA).

Figura 26 - Estruturas dos resíduos correspondentes aos ácidos urônicos esterificados e livres.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

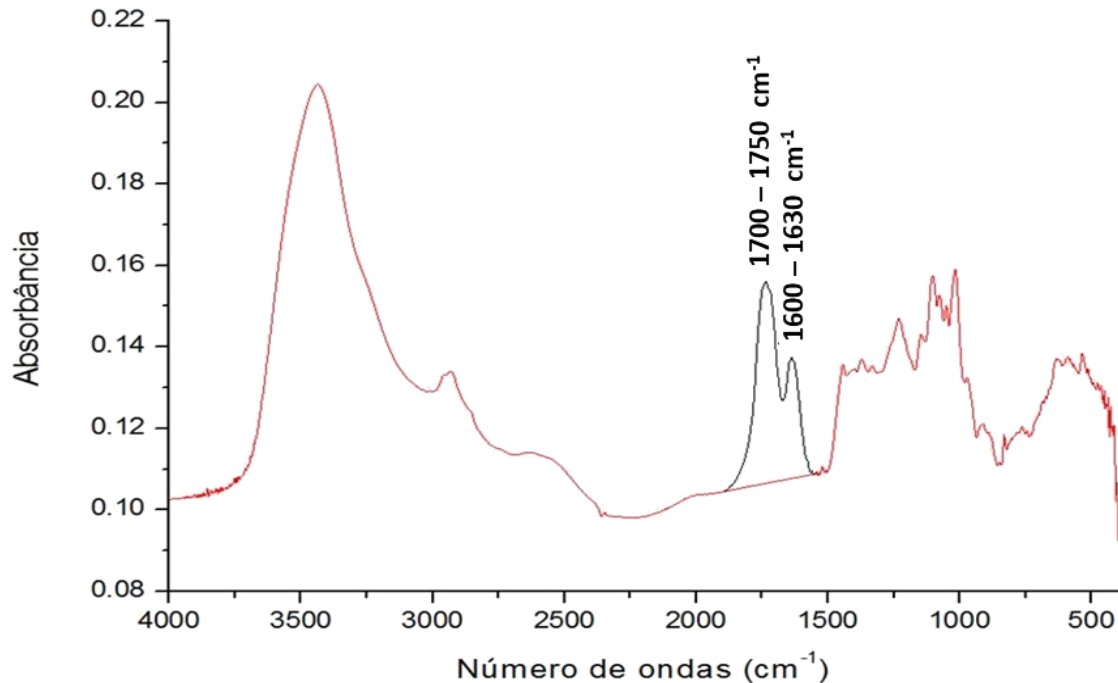
Uma curva de calibração foi construída plotando o DM *versus* a razão entre a área da banda do EUA (A_{EUA}), e da soma das áreas das bandas dos padrões EUA e FUA ($A_{EUA} + A_{FUA}$) (Figura 27) foi utilizada para determinar o DM da pectina de cascas de banana, de todos os tratamentos (Equações 10 e 11), onde:

$$DM = 126,3x R_A - 2,493 (R^2 = 0,974) \quad (10)$$

$$R_A = \frac{A_{EUA}}{A_{EUA} + A_{FUA}} \quad (11)$$

onde: DM: grau de metoxilação; A_{EUA} : área correspondente a banda em 1700-1750 cm^{-1} (ácidos urônicos metil esterificados) e A_{FUA} : área correspondente a banda em 1600-1630 cm^{-1} (ácidos urônicos livres).

Figura 27 - Áreas das bandas dos grupos carboxílicos esterificados e não esterificados.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.2.2 Teor (GA) e rendimento de Ácido galacturônico (Y_{GA})

A determinação do teor de ácido galacturônico (GA) foi obtida pelo método de Monsoor, Kalapathy e Proctor (2001) com modificações: um conjunto de 10 padrões de ácido galacturônico foram preparados através de uma mistura de ácido poligalacturônico (95%, 81325, Fluka) com celulose (Sigmacell tipo 20, Sigma), para obtenção dos padrões com teores de ácido galacturônico de 0% (celulose pura) até 90% (m/m). As áreas das bandas foram medidas como a área acima da linha de base entre 1840 cm^{-1} e 1550 cm^{-1} , usada para calcular a área total da banda da carbonila ($A_{1550-1840}$). Uma curva de calibração foi construída, plotando o teor de GA de pectina de cascas de banana *versus* a área total da banda da carbonila (Equação 12).

$$\text{GA (\%)} = 0,7934 \times A_{1550-1840} - 0,1985 \quad (R^2 = 0,951) \quad (12)$$

onde: GA: teor de ácido galacturônico; $A_{1550-1840}$: área acima da linha de base entre 1840 cm^{-1} and 1550 cm^{-1} , correspondendo a área da banda da carbonila total.

O rendimento de ácido galacturônico (Y_{GA}), definido pela Equação 13, foi considerado como uma medida adequada para o rendimento do processo de extração, uma vez que foram incluídos no cálculo tanto o rendimento da extração (EY), quanto a pureza do material extraído (teor de ácido galacturônico, GA), onde

$$Y_{GA} (\%) = \frac{EY (\%) \times GA (\%)}{100} \quad (13)$$

onde: Y_{GA} : rendimento do ácido galacturônico; EY: rendimento da extração; GA: teor de ácido galacturônico.

4.2.3 Análise Estatística

Os resultados de rendimento de extração, grau de metoxilação, teor e rendimento de ácido galacturônico foram analisados utilizando o software Minitab® 16 (Minitab Inc., State College, PA, EUA). As regressões lineares foram obtidas e avaliadas em termos da determinação de coeficientes de determinação (valores de R^2) e dos teores significativos de seus valores F e p (relacionado diretamente com a amostra, evidenciando a força de um resultado para o teste em contraste a uma simples rejeição ou não rejeição de uma hipótese).

4.2.4 Estimativa da distribuição de massa molar por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A análise de GPC da amostra de pectina, obtida pelo delineamento experimental, foi realizada em um cromatógrafo SHIMADZU LC-10AD com detector de índice de refração RID-10A a $40\text{ }^\circ\text{C}$. A coluna utilizada possui como características: Ultrahydrogel linear (7,8 x 300 mm), fase móvel de nitrato de sódio, NaNO_3 , $0,1\text{ mol L}^{-1}$ a temperatura ambiente, fluxo de $1\text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ e o volume de amostra injetada foi de $20\text{ }\mu\text{L}$.

Na determinação das massas molares utilizou-se como padrão externo as pululanas (ShodexDenko®) (MM de 5.9×10^3 a $7,88 \times 10^5$ g.mol⁻¹), homopolissacarídeos lineares isolados do fungo *Aureobasidium pullulans* (LEATHERS,2003) de diferentes massas molares. Todas as amostras foram preparadas na concentração de 1 mg.mL⁻¹ (0,1 % m/v) e filtradas em membrana Millipore® 0,45 µm. Para a determinação da massa molar da banda da amostra de pectina (M_{bd}), uma curva padrão foi construída utilizando-se pululanas de massas molares conhecidas e monodispersas, relacionando com a resposta do volume de eluição com a massa molar destas. O gráfico da curva padrão originou a equação da reta que relaciona a massa molar da banda em logaritmo com o volume de eluição, sendo esta Equação 14.

$$\log M_{bd} = 12,08 - 0,81xVe \quad (14)$$

A análise foi realizada no Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LabPIM) , sob a supervisão da Profa. Dra. Nágila Ricardo, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, da Universidade Federal do Ceará.

4.3 Pré-tratamentos das fibras

4.3.1 Polpação Organossolve

A polpação utilizada foi do tipo Acetossolve com o pré-tratamento obtido através do procedimento experimental Bennar et al. (1992) com modificações: o AIR foi suspenso em uma mistura de ácido acético a 93% e 0,3% de HCl, ambos em peso, em água destilada, para uma relação de 1:10 (AIR: solução, m/v) sob refluxo em 115 °C e agitação constante (150 rpm), durante 3 h. A mistura foi filtrada através de um papel de filtro de 28 µm, resultando em um licor negro rico em lignina e de celulose Acetossolve (fibra parcialmente deslignificada).

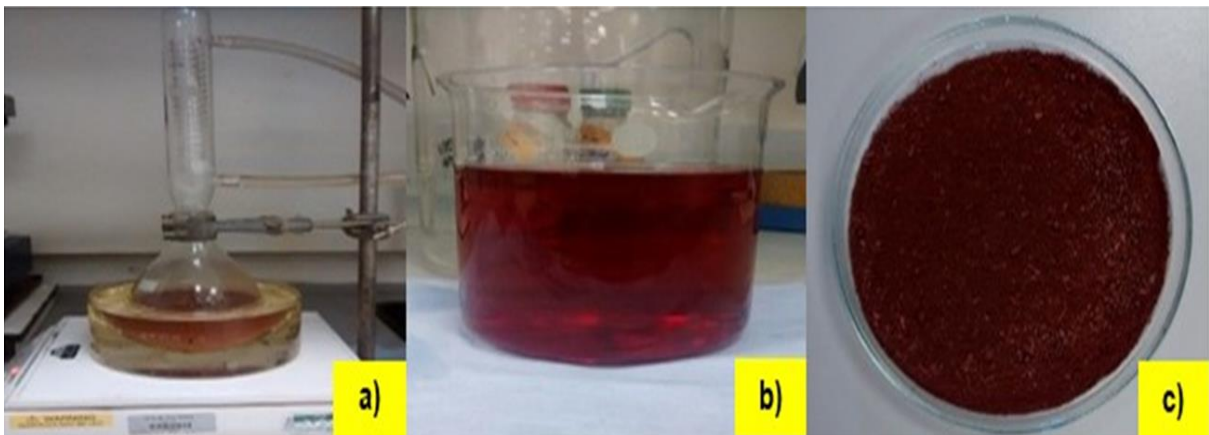
A polpa Acetossolve foi lavada com 250 mL de ácido acético quente (80°C, 99,7%), até que o líquido ficasse incolor e, em seguida, lavado com 1L de água destilada até o pH 6,5, e seco em estufa a 45°C até peso constante. A polpa Acetossolve foi branqueada em dois passos (Figura 28). O rendimento de polpação

acetossolve (RA), ou seja, o percentual de FPMD (base seca) que foi convertido em FA (base seca), foi calculado utilizando a Equação 15.

$$R_A = \frac{m_{FA}}{M_{AIR}} \times 100 \quad (15)$$

onde: R_A = rendimento de polpação acetossolve; m_{FA} = massa de fibra acetossolve obtida no processo; e M_{AIR} = massa de fibra de AIR utilizada no processo.

Figura 28 - Etapa de polpação acetossolve de AIR (a) suspenso em uma mistura de ácido acético a 93% e 0,3% de HCl, em água destilada; (b) licor negro rico em lignina; (c) polpa acetossolve.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

4.3.2 Branqueamento das fibras

Foram empregados dois processos, de acordo com Bennar et al. (1992). No primeiro, uma solução aquosa contendo H_2O_2 a 6% (v/v) e NaOH a 4% (m / v) foram adicionados em um recipiente a 70°C, em uma proporção de 1:90 (polpa: solução, m / v) sob agitação constante (150 rpm) durante 3 h. Em seguida, após ter sido lavada com de 1L de água destilada até pH 7 ela foi seca em estufa a 60°C durante 24 horas. A seguir, a fibra foi imersa em KOH 6% (m/v) em uma razão de 1:20 (m/v, fibra: solução), a 80°C sob agitação constante (150 rpm) durante 90 min e lavada

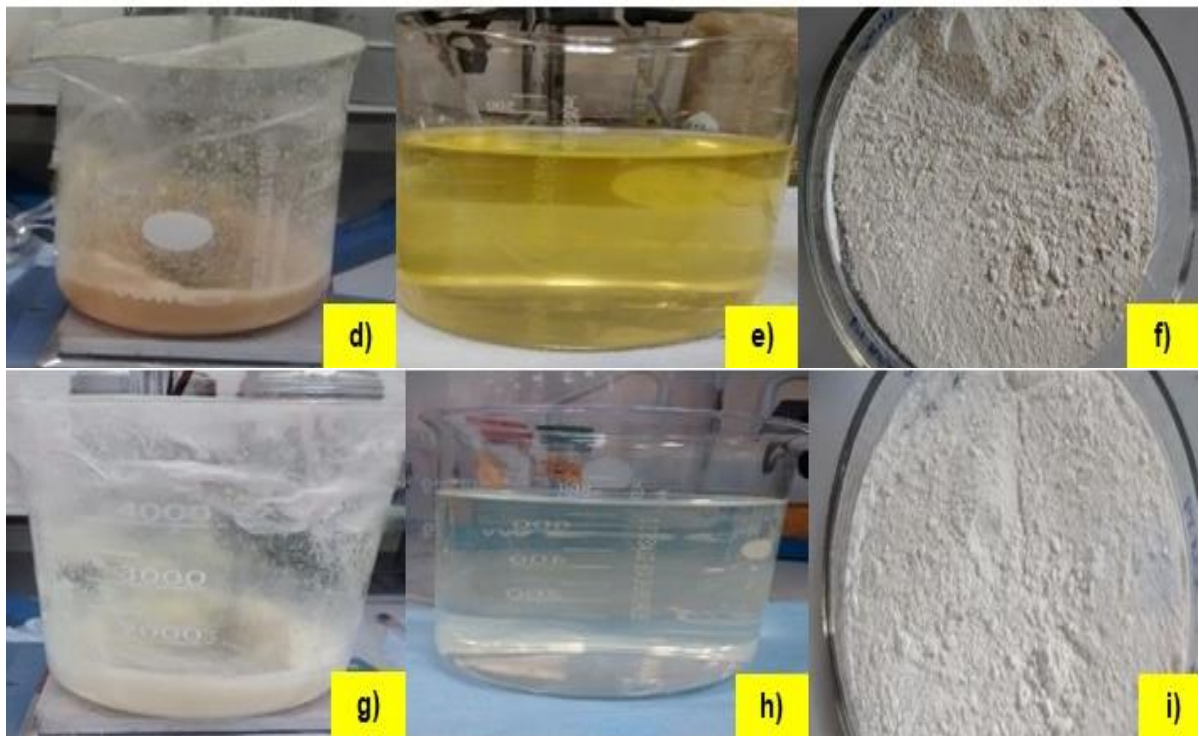
com o mesmo volume de água destilada até pH 7, e seca em estufa a 60°C durante 24 horas (Figura 29).

O rendimento de branqueamento (R_{BR}), ou seja, o percentual de FA (base seca) que foi convertido em PCB (base seca), foi calculado utilizando a Equação 16.

$$R_{BR} = \frac{m_{PCB}}{M_{FA}} \times 100 \quad (16)$$

onde: R_A = rendimento de polpação acetossolve; m_{PCB} = massa de polpa celulósica proveniente das fibras brutas obtida no processo; m_{FA} = massa de fibra acetossolve utilizada no processo.

Figura 29 - Etapas de branqueamento das fibras das cascas de banana, através do branqueamento (d) contendo NaOH 4% e H₂O₂ a 6% com a polpa; (e) filtrado após lavagem da polpa; (f) após secagem da fibra branqueada; (g) Branqueamento em solução de KOH 6% da fibra branqueada anteriormente; (h) filtrado após lavagem da polpa; (i) após secagem da fibra branqueada.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.4. Processo de obtenção dos Nanocristais de celulose (CNC)

A hidrólise ácida foi conduzida de acordo com o método descrito na literatura (CRANSTON e GRAY, 2006) com modificações, (Figura 30), a polpa branqueada Acetossolve foi agitada (200 rpm) em uma solução de H₂SO₄ 60% (m/m) a 45°C, em uma proporção de 1:20 (m/v, polpa:solução) durante 150 min. A reação foi encerrada através da adição de 100mL de água gelada e, imediatamente, o material obtido (uma suspensão) foi diluído 10 vezes com 250mL de água deionizada para remoção do excesso de ácido. Em seguida, a solução foi submetida a três ciclos incluindo a centrifugação durante 15 min a 20 °C (3475,5 g, Avanti J-25, Beckman Coulter, Brea, EUA), diluição de 10 vezes com água deionizada e ultrassonicação durante 2 min em um sonicador de sonda Branson (digital Sonifier 250, Branson Ultrasonics, Danbury, EUA) a 20 kHz.

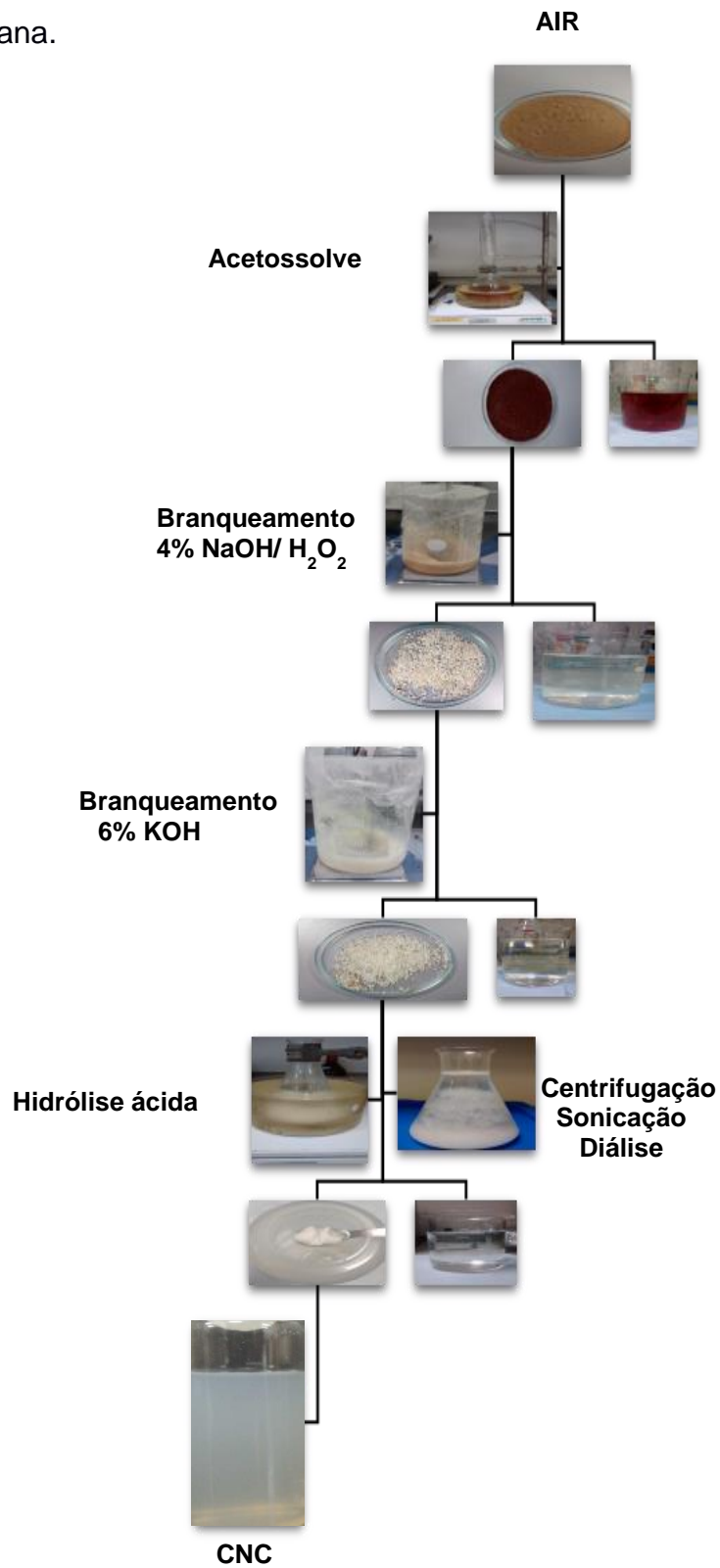
Depois desses ciclos de centrifugação, diluição e sonicação (pós-hidrólise), a suspensão de CNC foi dialisada durante 48 horas até atingir pH neutro, para remoção dos grupos sulfatos que não reagiram, sais e açúcares solúveis. Esse procedimento pós-hidrólise foi realizado quatro vezes e o teor de sólidos da suspensão de CNC dialisado foi determinado gravimetricamente após secagem a 105 °C até peso constante, em um forno de secagem, de acordo com o panorama geral apresentado pela Figura 31.

Figura 30 - Esquema ilustrativo do isolamento dos nanocristais de celulose.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

Figura 31 - Panorama geral da obtenção de Nanocelulose, a partir do AIR de cascas de banana.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

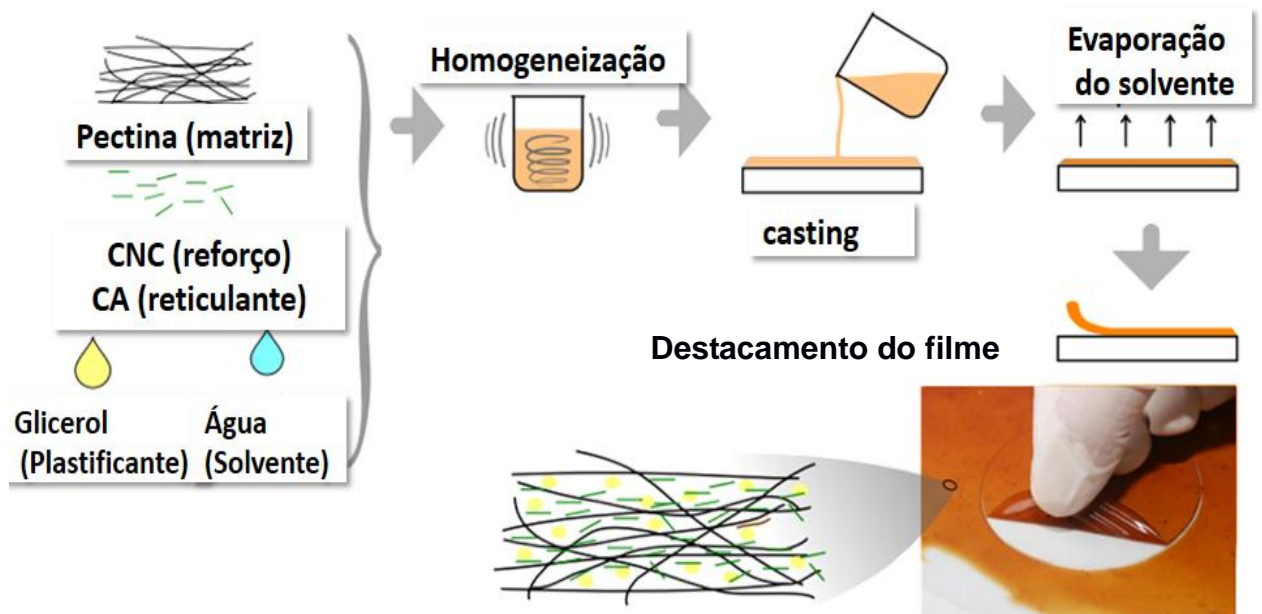
4.5 Preparação dos filmes

Os filmes foram preparados com diferentes teores de CNC (0; 2,5; 5,0; 7,5, e 10% em peso de pectina), com e sem CA (20% em peso em pectina), em um total de 10 filmes, denominados genericamente como CNC-**X**-CA-**Y**, onde **X** e **Y** indicam as percentagens de CNC e o teor de CA, respectivamente. Para cada filme, o volume previamente determinado da suspensão de CNC foi coletado, e adicionou-se 4,50 g de pectina, e 1,35 g de glicerol (plastificante), CA e água destilada, cujo volume foi calculado para fornecer uma relação de pectina : solução de 2,5g/100 mL, respectivamente. A dispersão na formação do filme foi homogeneizada em um homogeneizador X10/25 (Ystral, Ballrechar-Dottingen, Alemanha) durante 30 min.

As suspensões foram submetidas a vácuo para remoção de bolhas, levadas para a sonicação durante 2 minutos (variável de amplitude de 40%) e adicionado duas gotas de 1-octanol, como agente de remoção, a fim de evitar a presença de bolhas remanescentes na solução. Os filmes foram depositados sobre placas de petri, para uma espessura final aproximada de 0,1mm e, em seguida, colocados para a secar a 40°C, em estufa com ventilação (Memmert, Schwabach, Alemanha), durante 16 h. Para os filmes com CA, foi realizado um procedimento de *cura* que consistiu em aquecer as placas de petri na estufa a 150°C durante 10 minutos, utilizando a mesma estufa com ventilação.

Os filmes secos foram destacados das placas e acondicionados (50% de umidade relativa a 24°C) em uma estufa de condicionamento (Weiss Gallenkamp, Loughborough, Reino Unido), durante 40 horas antes das análises (Figura 32). A espessura dos filmes foi verificada com um micrômetro em 6 posições aleatórias das amostras destinadas aos testes.

Figura 32 - Esquema ilustrativo da preparação dos filmes pelo método Casting.



Fonte: Adaptada de AZEREDO (2014).

4.6 Caracterização de CNC e dos filmes

4.6.1 Análise do potencial Zeta (ζ)

O potencial zeta (ζ) dos CNC foi medido em triplicatas com um Zetasizer Nano ZS 3000 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, RU) para suspensões diluídas de CNC a 0,1% em peso com água deionizada. A análise foi realizada no Biorefinery Centre, do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão do Dr. Michael Ridout.

4.6.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As suspensões de CNC, anteriormente sonicadas, foram colocadas em garras revestidas de carbono Formvar e coradas negativamente com 2% de acetato de uranila. As amostras foram fotografadas utilizando um Microscópio Eletrônico de Transmissão Tecnai 20 (FEI, Hillsboro, EUA), com uma voltagem de aceleração de 200kV e uma ampliação de 57500x. As dimensões de CNC foram tomadas como as médias de 30 medições. As imagens foram analisadas com o software Gimp 2.6 para cálculo de comprimento (L), largura (D) e razão de aspecto (L/D) com base na medida de pelo menos 100 cristais, calculando-se as médias e os desvios padrões.

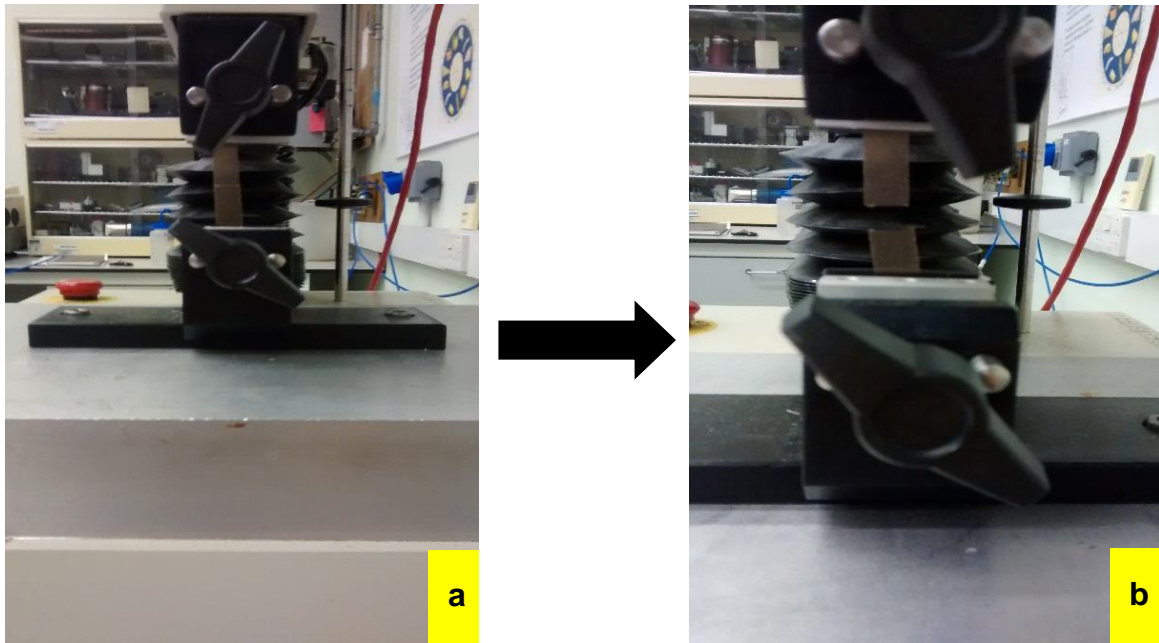
As dimensões de CNC (comprimento e diâmetro) foram tomadas como médias de 30 medidas, usando a barra de escala incorporada na imagem. A análise foi realizada no Biorefinery Centre, do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão da Dra. Kathryn Cross.

4.6.3 Ensaio Mecânicos

Ensaio de tração foram realizados (com cinco repetições), em amostras com 8 mm x 50 mm, de acordo com o D882-09 (ASTM, 2009), em um texturômetro TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Godalming, UK) equipado com garras de tração A/TG e uma célula de carga de 5 kg (Figura 33). As espessuras das amostras foram determinadas, através de um micrômetro com uma aproximação de 0,01 mm em 6 locais aleatórios. A distância inicial e a velocidade foram definidos como 40 mm e 1 mm/s, respectivamente.

A significância das diferenças entre filmes sem e com CA para as propriedades de tração, material insolúvel e PVA foi estabelecida por testes t pareados para cada resposta, considerando-se todas as replicatas para todos os níveis de CNC. A análise foi realizada no Biorefinery Centre, do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão do Dr. Nikolaus Wellner.

Figura 33 - Acompanhamento do ensaio de tração dos filmes (a) antes e (b) depois da aplicação da tensão.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.6.4 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

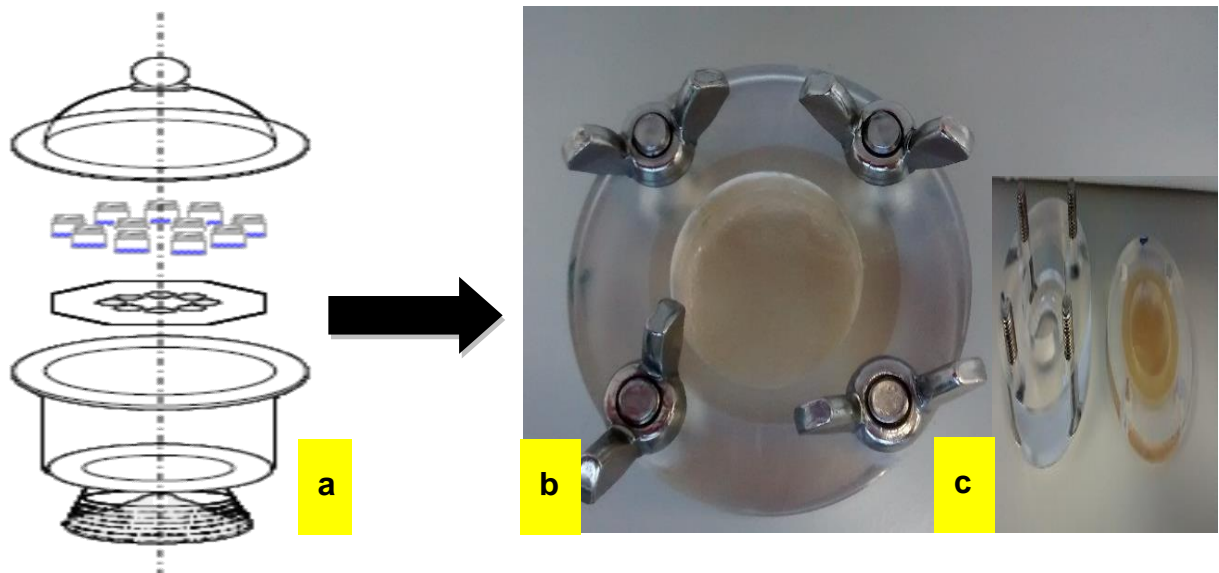
A determinação da permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi obtida a partir do método de E96-05 (ASTM, 2005) para cinco amostras com modificações: os filmes teste tinham as espessuras medidas (parafuso micrométrico, Moore & Wright, Sheffield, UK) com uma aproximação de 0,01 mm, em seis localizações aleatórias, selados com vaselina entre a tampa e o fundo de células de permeação em acrílico (2,4 cm de diâmetro e 1 cm de altura), contendo 2 mL de água destilada.

As células foram colocadas em um dessecador ligado a tubos de fornecimento de fluxo contínuo de ar seco (menos de 1% de umidade relativa) a partir de um secador de ar Balston 75-60 a 24 °C, e pesadas oito vezes ao longo de um período de 24 h (Figura 34). As medições foram realizadas em quatro repetições para cada amostra. O coeficiente de PVA de cada amostra foi obtido através da Equação 17.

$$PVA = \frac{\omega \cdot X}{t \cdot A \cdot \Delta P} \quad (17)$$

onde: x : espessura média dos filmes (m); A : área de permeação ($0,00196 \text{ m}^2$); ΔP : diferença entre a pressão parcial da atmosfera sobre a sílica gel e sobre a água pura ($3,168 \text{ kPa}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$); ω / t : calculado por regressão linear usando dados de ganho de massa, em função do tempo (g/s).

Figura 34 - Dessecador com as células de permeação, (b) célula com o filme aderido a superfície, e (c) Estrutura de formação de uma célula de permeação (constituído de quatro parafusos rosqueáveis com duas estruturas intermediárias de fixação do filme).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.6.5 Teste de solubilidade dos filmes

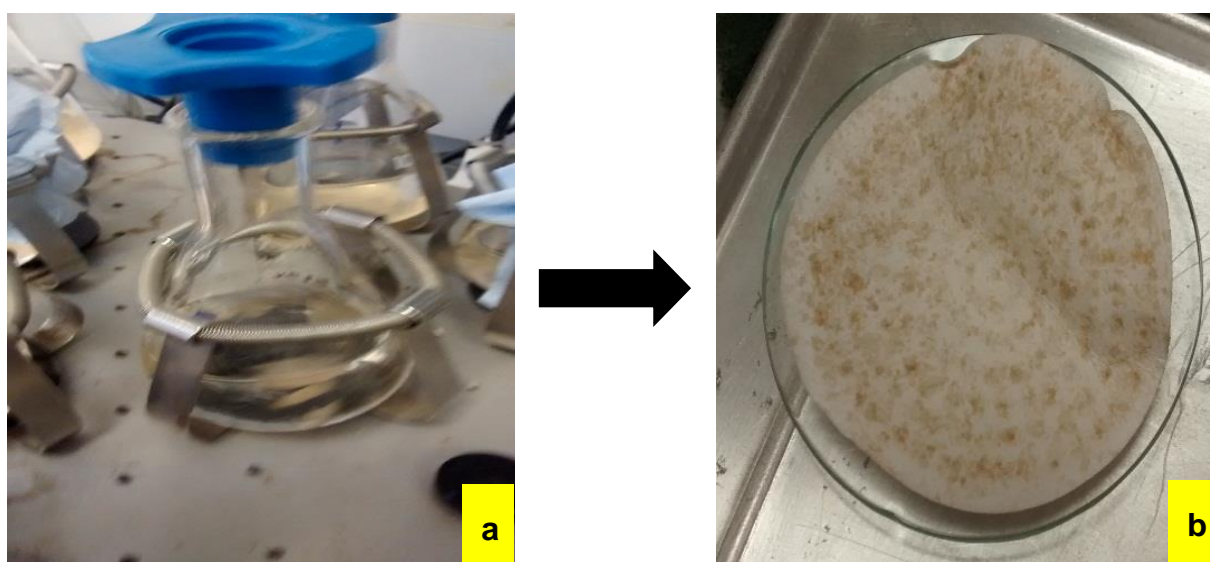
O material insolúvel foi determinado através de pedaços de filme de $2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$, em quadruplicata, de acordo com o método proposto na literatura modificações por OJAGH et al. (2010) com modificações: as amostras, previamente secas e taradas, foram imersas em 50 mL de água destilada durante 6 h , a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, sob agitação (150 rpm). O peso seco das partes restantes do filme foi determinado após filtração em papel de filtro, previamente seco e tarado, usado para calcular o material insolúvel como percentagem do peso seco inicial. Os pesos secos foram determinados após secagem, a 103°C , durante 24 h , utilizando uma estufa com

circulação de ar (Memmert, Schwabach, Alemanha) (Figura 35). O Material Insolúvel (M.I.) foi determinado utilizando-se o método de filtração segundo a técnica nº 971.09 da AOAC (1995), conforme a Equação 18.

$$\text{M.I. (\%)} = (m_f/m_i) \times 100 \quad (18)$$

onde: m_i : massa inicial dos filmes (g); m_f : massa final os filmes (g).

Figura 35 - Acompanhamento do teste de solubilidade dos filmes: (a) Durante a agitação por 6h e (b) após secagem (peso final).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

4.6.6 Opacidade

Foi determinada (em quadruplicata), conforme descrito por Irissin-Mangata, Bauduin, Boutevin e Gontard (2001) com modificações: tiras de filme 1 cm x 5 cm foram colocadas no lado interno de uma célula espectrofotométrica de UV-Vís Varian Cary 50 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), perpendicularmente ao feixe de luz. O espectro de absorção (400-800 nm) das amostras de filme foi registrado e a opacidade foi definida como a área sob a curva gravada (estimada pela regra trapezoidal linear) e expressa como unidades de absorbância versus nanômetros (comprimento de onda) por milímetro (espessura do filme) ($A \cdot \text{nm} \cdot \text{mm}^{-1}$).

A análise foi realizada no Biorefinery Centre, do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão do Dr. Michael Ridout.

4.6.7 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Foi utilizada para a investigação molecular de CNC e dos filmes, através de um espectrômetro Nicolet Magna-IR 860 FTIR (Thermo Nicolet, Madison, WI, EUA), equipado com um sistema de ATR de reflexão única (Golden Gate Specac, Orpington, Kent). Os espectros foram registrados com 128 ciclos a 2cm^{-1} de resolução, para uma gama espectral de $4000\text{-}800\text{ cm}^{-1}$. O cristal vazio foi utilizado como referência.

A análise foi realizada no Biorefinery Centre, do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão do Dr. Nikolaus Wellner.

4.6.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV das superfícies dos filmes revestidas de ouro foram realizadas usando um Zeiss Supra 55 VP SEM (Zeiss, Oberkochen, Alemanha) com uma tensão de aceleração de 5 kV e uma ampliação de 2000 x. A análise foi realizada no Biorefinery Centre, do Institute of Food Research (IFR), sob a supervisão do Dr. Michael Ridout.

4.6.9 Difração de Raios-X (DRX)

O padrão de cristalinidade de alguns filmes foi analisado usando um difratômetro de Raios-X (Xpert Pro MPD, PANalytical, Almelo, Holanda) equipado com um tubo de Co a 40 kV e 30 mA em uma faixa de 5° a 50° , em 2θ . As análises foram realizadas no Laboratório de Raios-X da Universidade Federal do Ceará. O índice de cristalinidade (IC) foi calculado pela Equação 19 (SEGAL et al., 1959).

$$I_c = 1 - (I_1 / I_2) \quad (19)$$

onde: I_1 = intensidade do mínimo de difração, relacionada à parte amorfa; I_2 = intensidade do máximo de difração, relacionada à parte cristalina.

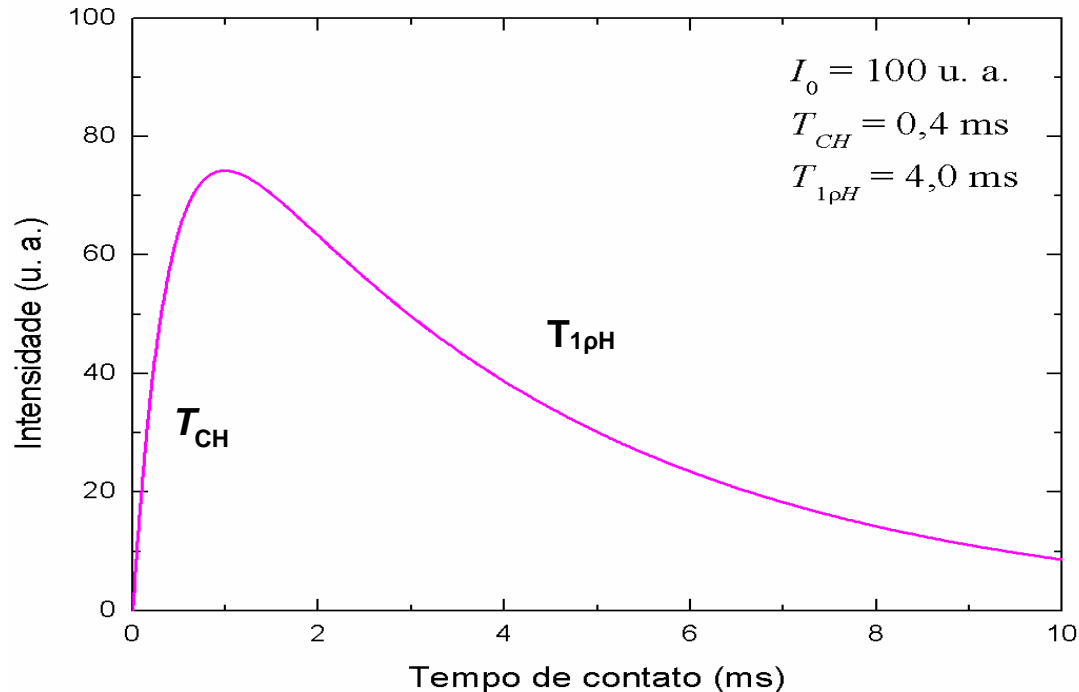
4.6.10 Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C com polarização cruzada e rotação no ângulo mágico (RMN ^{13}C - CP/MAS)

Os filmes foram cortados em tiras de 3 cm x 1 cm, enrolados e inseridos em um rotor Kel-F de 4mm para análise de RMN ^{13}C no estado sólido. Os espectros foram obtidos em um equipamento Agilent 600-MHz, equipado com uma sonda ^{-15}N ^1H - ^{13}C 4 mm a 14 kHz, e realizados no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais – LMPN- da EMBRAPA/ CNPAT. A técnica de RMN ^{13}C - CP/MAS foi empregada com uma rampa de 80-100%, com tempo de contato de 500 μS , pulso de alta energia de dissociação com pontos de dados 2K (espinhal 64), atraso de 4 s entre cada aquisição, e 2000 varreduras.

Para o Tempo de Contato Variável (VCT) nos experimentos de CP-MAS (Metz, 1994) utilizou-se uma faixa de 80-100%, em um intervalo de 0,1 a 10 ms, com 256 varreduras, pontos de dados 2k e 3 s de atraso entre cada aquisição. O software VNMRJ™ 4.0 (Varian RMN Systems, Palo Alto, CA, EUA) foi utilizado para aquisição e processamento de dados e as curvas de CP foram elaboradas com o Origin Pro 9, a partir da expressão de Intensidade, $I(t)$, em função de T_{CH} e $T_{1\rho,\text{H}}$ (Equação 20) resultando em um perfil exemplificado na Figura 36.

$$I(t) = I_0 \left(1 - \frac{T_{\text{CH}}}{T_{1\rho,\text{H}}} \right)^{-1} \left[\exp\left(-\frac{t}{T_{1\rho,\text{H}}} \right)^\beta - \exp\left(-\frac{t}{T_{\text{CH}}} \right)^\beta \right] \quad (20)$$

Figura 36 - Gráfico de VCT exemplificando os Tempos de contato (T_{CH}) e de relaxação ($T_{1\rho H}$) em um experimento de CP/MAS.



Fonte: OLIVEIRA, 2014.

4.7 Gerenciamento dos resíduos provenientes das reações

Os materiais provenientes de processos realizados em laboratório com a finalidade de eliminação (potenciais agressores ao meio ambiente), foram encaminhados ao Setor de Gerenciamento de Resíduos, localizado na estrutura física do Biorefinery Centre (Norwich), para as etapas posteriores de viabilização de um destino adequado aos materiais descartados. Previamente, os pesquisadores devem descrever quali e quantitativamente os resíduos gerados no laboratório, junto com a identificação dos materiais descartados.

Os resíduos foram dispostos em 2 tambores metálicos de 200 litros, de tampa fixa na chapa, de acordo com a mistura dos materiais utilizados. Os descartes foram realizados após a finalização de cada procedimento, mediante planejamento em laboratório, para o agendamento no departamento supracitado, de acordo com as normas regulamentadoras da Instituição (NRC, 1995) a respeito do gerenciamento de resíduos em laboratórios de pesquisa na Inglaterra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição química da casca de banana

Foi realizada para a caracterização da fibra de interesse, BPP, e para o início de investigação do meio de extração de pectina e da obtenção de nanocelulose, a partir da celulose presente do material de estudo. A BPP mostrou uma composição de 39,02% de holocelulose (alfacelulose + hemicelulose + pectina), dos quais 48% (18,74% do total) correspondem a alfacelulose, e os restantes 52% (20,28% do total) refere-se a hemicelulose e pectina. Mesmo com a predominância dos outros macrocomponentes, a presença de pectina e celulose foi relevante para a realização dos testes posteriores.

Quando comparado aos valores relatados por Oberoi e autores (2011), para o mesmo material de origem (cascas de banana), os teores de carboidratos foram menores, enquanto que os extrativos foi semelhante, e os teores de cinzas e lignina foram superiores (Tabela 5). Todavia, os autores mencionaram, apenas, a espécie *Musa acuminata*, mas não identificaram o cultivar de banana usado.

Tabela 5 - Composição do pó da casca de banana em base de matéria seca.

Componentes	Teor (g/100 g)*	
	Presente Trabalho	OBEROI et al.(2011)
<i>Cinzas</i>	11,5 ± 0,2	9,8 ± 0,4
<i>Extrativos</i>	30,6 ± 3,8	29,8 ± 0,3
<i>Lignina Klason</i>	16,7 ± 4,6	2,9 ± 0,1 **
<i>Holocelulose</i>	39,0 ± 6,6	38,8 ± 0,2
<i>α -celulose</i>	18,7 ± 3,2	12,7 ± 0,2
<i>Hemicelulose + pectina</i>	20,2 ± 7,3	26,1 ± 0,2

*Valores apresentados são média ± erro padrão para n = 3. ** Teor de lignina detergente ácida.

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

5.2 Análise dos espectros de FT- IR

As pectinas extraídas foram analisadas quanto ao grau de esterificação, o que permite identificar os grupos funcionais em diferentes regiões do espectro. Para a análise discursiva foram extraídos os dados da pectina obtida no tratamento 4 (Tabela 04, pág. 87), conjunto de dados escolhido para referenciar a caracterização.

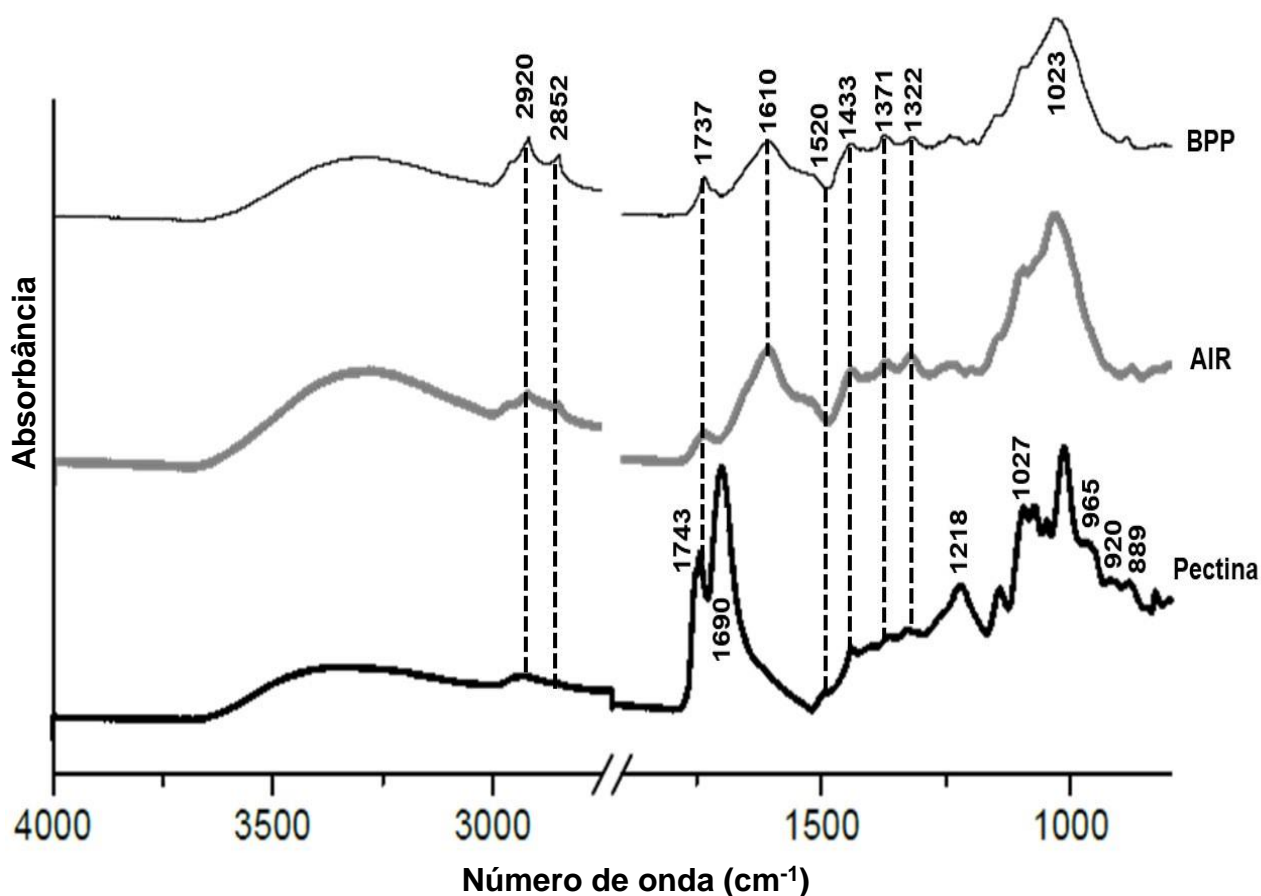
A faixa entre 1000 e 2000 cm^{-1} é a região importante na identificação de grupos funcionais do ácido galacturônico, uma vez que os grupos carboxila livres absorvem em aproximadamente 1620 cm^{-1} , e as esterificadas em 1750 cm^{-1} . A faixa de absorção entre 2400 e 3600 cm^{-1} corresponde aos estiramentos dos grupos hidroxila relativos à umidade das amostras de pectina. As bandas na faixa entre 3000 e 2800 cm^{-1} estão relacionadas as ligações C-H e CH_3 dos grupamentos metil éster (FELLAH et al., 2009; SOUSA et al., 2017). A região mais importante para a determinação do grau de esterificação das pectinas é aquela relacionada diretamente aos grupos carboxílicos apesar da influência das demais.

Para efeitos de comparação com a intensidade de outras bandas e espectros, a intensidade da banda a 3400 cm^{-1} (estiramento OH) foi considerada como um padrão. O espectro de FTIR de BPP mostrou algumas bandas relacionadas com a presença de celulose evidenciando a diminuição de intensidade, em comparação ao isolamento da pectina (bandas de deformação CH_2 em 1433, 1371 e 1322 cm^{-1}) (Figura 37). Memon e autores (2008) apresentaram espectros bastante similares na região mencionada para análise de resíduos lignocelulósicos em diferentes condições de extração.

O AIR apresentou algumas bandas com redução na intensidade quando comparado ao BPP, tais como as bandas em intensidades de absorção em 2920 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} , observadas no espectro da Figura 37, são características dos grupos CH, CH_2 e CH_3 correspondendo às porções alifáticas dos constituintes das fibras (LOPES et al., 2013). Santos et al. (2010), Silva et al. (2013) e Li et al. (2015) concluíram que as bandas com absorvência em 2920 cm^{-1} representam estiramento assimétrico CH de grupos metil e metilênicos e 2854 cm^{-1} associada ao estiramento simétrico de CH de carbono com hibridização sp^3 , como o da celulose, oriundos da fibra do cajú. As banda em 2852 e 2920 cm^{-1} foram novamente reduzidas

drasticamente no isolamento de pectinas, o que podem ser atribuído à remoção de outros polissacarídeos (celulose e hemicelulose) e lignina, bem como o ombro para 1520 cm^{-1} , referente à vibração do esqueleto do anel aromático (C=C). Portanto, a pectina isolada apresentou um método eficaz de extração a partir de BPP.

Figura 37 - Espectros de FT-IR referentes ao BPP; ao AIR e a pectina, obtida a 86°C , 216 min e pH 2,51.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

A banda aproximada em 1610 cm^{-1} aparece tanto em BPP, quanto no AIR como uma superposição da vibração de estiramento C=O de grupos carboxila não esterificados (pectina) com o estiramento C=C do esqueleto aromático (frações de lignina) e provoca o deslocamento para comprimentos de onda maiores a pectina isolada (1690 cm^{-1}), ocasionado pela remoção de lignina. Nesta região, também, associa-se à deformação angular da ligação O-H, causada pela absorção de água

pelas fibras. CHERIAN et al. (2008) observou que, em caso de fibras submetidas a pré-tratamentos, ocorre uma contribuição da água nessa região.

A banda em 1737 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C=O de grupos carboxila metoxilados, apresentou-se mais intensa com deslocamento para um número de onda maior na pectina isolada. Isto foi atribuído à absorção diferente entre os polissacarídeos esterificados e livres, segundo Gnanasambandam e Proctor (2002) e Andrade (2010).

Algumas bandas são mais intensas no espectro da pectina, tal como a 1218 cm^{-1} (estiramento C-O), 1097 cm^{-1} e 1023 cm^{-1} (estiramento C-O em COH e estiramento simétrico C-O-C), 965 cm^{-1} (deformação C-O), 920 cm^{-1} (deformação assimétrica tipo balanço -CH₃) e 889 cm^{-1} (deformação -CCH e -COH na posição C-6 do anel glicosídico). Os carboidratos tem absorção forte entre 1200 e 950 cm, está região é associada ao “*fingerprint*” característico para cada polissacarídeo. Segundo Andrade (2010) estas bandas são frequentemente difíceis de serem interpretadas, entretanto foi observado que esta região independe da origem da pectina e pode ser usada para identificar o GA.

Guimarães et al. (2009), Wang et al. (2009), Rosa et al. (2010), e Souza et al. (2015) descreveram os valores de comprimento de onda, bem como as atribuições aos efeitos ocasionados pelas vibrações dos possíveis compostos moleculares associados para fibras vegetais. A Tabela 6 sumariza as principais bandas obtidas nos espectros de FTIR e suas respectivas atribuições.

Tabela 6 - Principais frequências vibracionais para as fibras obtidas.

Comprimento de onda (cm⁻¹)	Atribuição
3400 (F)	O-H (estiramento)
2920 (f)	C-H (estiramento)
2852 (f)	C-H (estiramento simétrico) em em OCH ₃
1737 (p)	C=O (estiramento)
1639 (F)	O-H (deformação angular da H ₂ O)/ C=O(estiramento) e ArC=O (estiramento)
1610	Vibração C=C do esqueleto aromático
1513 (mf)	Vibração C=C no esqueleto do anel aromático
1430 (mF)	Deformação angular C-H
1374 (mf)	CH ₃ (deformação) /OH (deformação)
1322 (mf)	Vibração em balanço (tipo wag) CH ₂ O-H (deformação no plano)
1218 (mF)	Estiramento C-O
1097(p)	Estiramento C-O em COH e C-O-C (estiramento simétrico)
1023 (F)	Estiramento C-O em COH e C-O-C (estiramento simétrico)
965	Deformação C-O
920	Deformação assimétrica tipo balanço – CH ₃
889	Vibração do anel glicosídico; deformação C-H

Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

5.3 Caracterização das pectinas

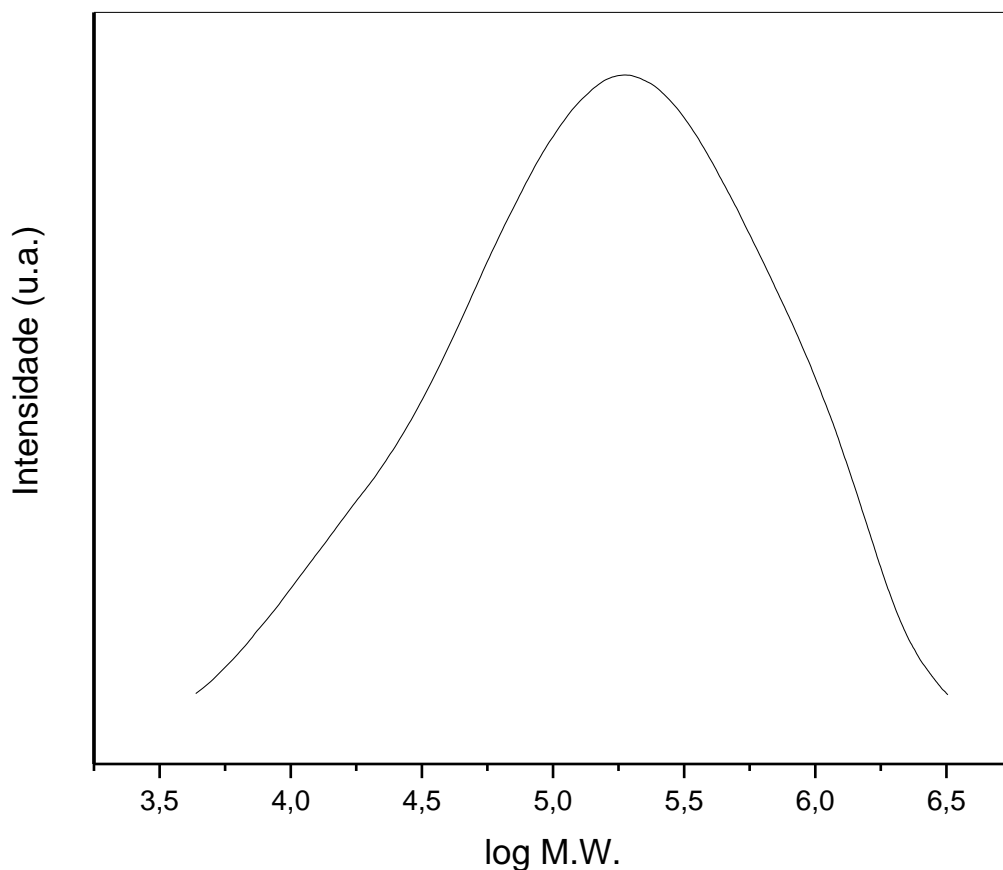
5.3.1 GPC

As pectinas são reconhecidas como cadeias lineares de ácido galacturônico, mas podem apresentar diversas ramificações de polissacarídeos formados por dezessete diferentes monossacarídeos. A homogalacturonana, formada por unidades de ácido galacturônico, é o principal polissacarídeo da parede celular sendo responsável por até 65% do total de pectina. Ligados a essa cadeia principal encontram-se diversos outros polissacarídeos com diferentes tamanhos de cadeia, como a ramnogalacturonana I e II que apresentam de 20-35% e 10% da constituição da pectina, respectivamente. Canteri e autores (2012) observaram que cada um desses polissacarídeos aparece como ramificações existentes em cadeias lineares de oito ou mais unidades de ácido galacturônico. Tais ramificações apresentam até 12 diferentes tipos de açúcares.

Polissacarídeos naturais são polímeros que não apresentam massas molares precisamente definidas, e sim, massas molares médias. Isso se deve ao fato destes compostos geralmente serem polidispersos, apresentando uma distribuição de espécies moleculares quase idênticas em estrutura, com variação apenas no tamanho da cadeia. Toda essa complexidade na constituição das pectinas influencia diretamente o valor de sua massa molar e a diversidade dos monômeros e seus respectivos polímeros que constituem a cadeia lateral dão a justificativa para seu caráter polidisperso.

A curva de distribuição de massa molar da pectina foi mostrada na Figura 38, a qual apresentou um perfil polidisperso, característico de polissacarídeos naturais. O cromatograma exibiu uma única banda, comportando-se como um sistema homogêneo, com volume de eluição de 8,62 mL no seu ápice. A massa molar da banda foi estimada em $4,19 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$ ou 419 kDa. O resultado obtido no presente trabalho foi próximo dos encontrados na literatura, onde o valor enquadrou-se na faixa de $7,00 \times 10^5$ a $3,05 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$ (ANDRADE E AZERO, 2000; TORRES, HALLMARK E WILSON, 2014), sendo a variação de massa dependente da espécie e do processo de extração e purificação do polímero natural.

Figura 38 - Curva de distribuição de massa molar da pectina obtida a partir do AIR.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

O elevado valor da massa molar da pectina analisada apresentado na Tabela 07, deveu-se, provavelmente, à polimerização dos açúcares neutros presentes nas moléculas da pectina, e a consecutiva reticulação (ligação cruzada) entre os açúcares neutros polimerizados e a molécula da pectina. Esta reticulação foi devida à utilização de CA no processo de extração, que atuou como um agente de reticulação entre as moléculas de pectina e os açúcares neutros polimerizados, produzindo polímeros tridimensionais com alta massa molar (KURITA, FUJIWARA E YAMAZAKI, 2008).

Tabela 7 - Valores das massas molares mássicas ponderada (\bar{M}_w), numérica (\bar{M}_n) médias, e polidispersividade de amostras de pectinas; PC: pectina; PC-a: em condições ácidas; PC-b: em condições básicas.

Amostra	\bar{M}_w (g.mol ⁻¹)	\bar{M}_n (g.mol ⁻¹)	Polidispersividade (\bar{M}_w/M_n)	REF
PC	$4,9 \times 10^5$	$9,0 \times 10^4$	5,5	
PC-a	$8,1 \times 10^4$	$4,5 \times 10^5$	5,6	SOUSA et al. (2017)
PC-b	$6,8 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$	4,1	
Pectina a partir do AIR	$4,19 \times 10^5$	$7,48 \times 10^4$	5,6	Presente Estudo

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Pelos resultados da Tabela 7 pode-se possível verificar que a pectina é polidispersa e polimolecular, ou seja, é heterogênea com relação à sua estrutura química (observado pelo IPD) e a massa molar, visto que possui aleatoriedade nos valores das massas molares obtidos para pectinas. O valor do IPD propicia avaliar a amplitude de distribuição da massa molar e, observando os valores obtidos, constatou-se que os comprimentos das cadeias formadas estão distantes entre si, pois o valor da polidispersividade está acima e distante da unidade (HARDING, 2005). Ao observar o caráter polidisperso da pectina a partir do AIR nas condições otimizadas (delineamento realizado) associa-se a característica de materiais poliméricos, os quais não apresentam um valor único de massa molar.

Souza e autores (2017) apresentaram resultados de distribuição de massa molar de pectina de melão (PC) em condições ácida (PC-a) e básica (PC-b) e pectina comercial (PC) que corroboraram com o presente estudo (condições ácidas). Um meio mais ácido e/ou com temperaturas mais elevadas pode ser responsável pela degradação da cadeia lateral da pectina comercial (PC), restando uma porção

estrutural mais homogênea pela redução da quantidade de estruturas com diferentes massas moleculares.

O estudo comparativo foi realizado através das condições de extração em pH ácido (4,6), bem como temperaturas de 75°C adotadas para a amostra PC-a pode ter permitido uma menor alteração das cadeias laterais desse polímero, justificando seu maior IPD de 5,6. A pectina do presente trabalho apresentou as condições de pH 2,0 e 87°C e um IPD semelhante ao de Souza et al. (2017). A maior polidispersividade das amostras, em condições ácidas pode ter relação com as condições de extração adotadas no DCC.

5.3.2 Respostas Experimentais - MSR

A Tabela 8 apresenta as respostas experimentais para todos os 17 ensaios realizados através do DCC. Os valores obtidos revelam os intervalos, bem como o mínimo e máximo para o rendimento de extração (5,21 e 12,21), grau de metoxilação (43,45 e 78,96), teor (53,08 e 85,99) e rendimento de ácido galacturônico (2,95 e 9,64). Os dados foram corroborados com os resultados obtidos por MSR através dos gráficos de contorno inseridos nas figuras posteriores.

Tabela 8 - Respostas experimentais para os 17 tratamentos de extração de pectina da casca de banana (termos em negrito são os valores mínimos e máximos).

Tratamentos	Rendimento de extração (%)	Grau de metoxilação (%)	Teor de ácido galacturônico (g/100 g)	Rendimento de ácido galacturônico (g/100 g AIR)
1	7,86	70,54	56,86	4,47
2	12,21	60,38	77,74	9,50
3	7,71	68,75	70,17	5,41
4	11,21	43,45	85,99	9,64
5	5,56	76,08	53,08	2,95
6	9,14	65,42	64,60	5,91
7	5,86	76,61	62,18	3,64
8	9,86	51,97	68,01	6,70
9	5,21	78,96	62,93	3,28
10	10,36	61,84	73,95	7,66
11	7,13	69,74	66,70	4,76
12	7,41	71,03	72,77	5,40
13	10,86	62,24	77,80	8,45
14	5,21	68,00	68,89	3,59
15	8,14	70,78	82,65	6,73
16	6,21	69,74	83,46	5,19
17	7,14	72,71	85,75	6,13

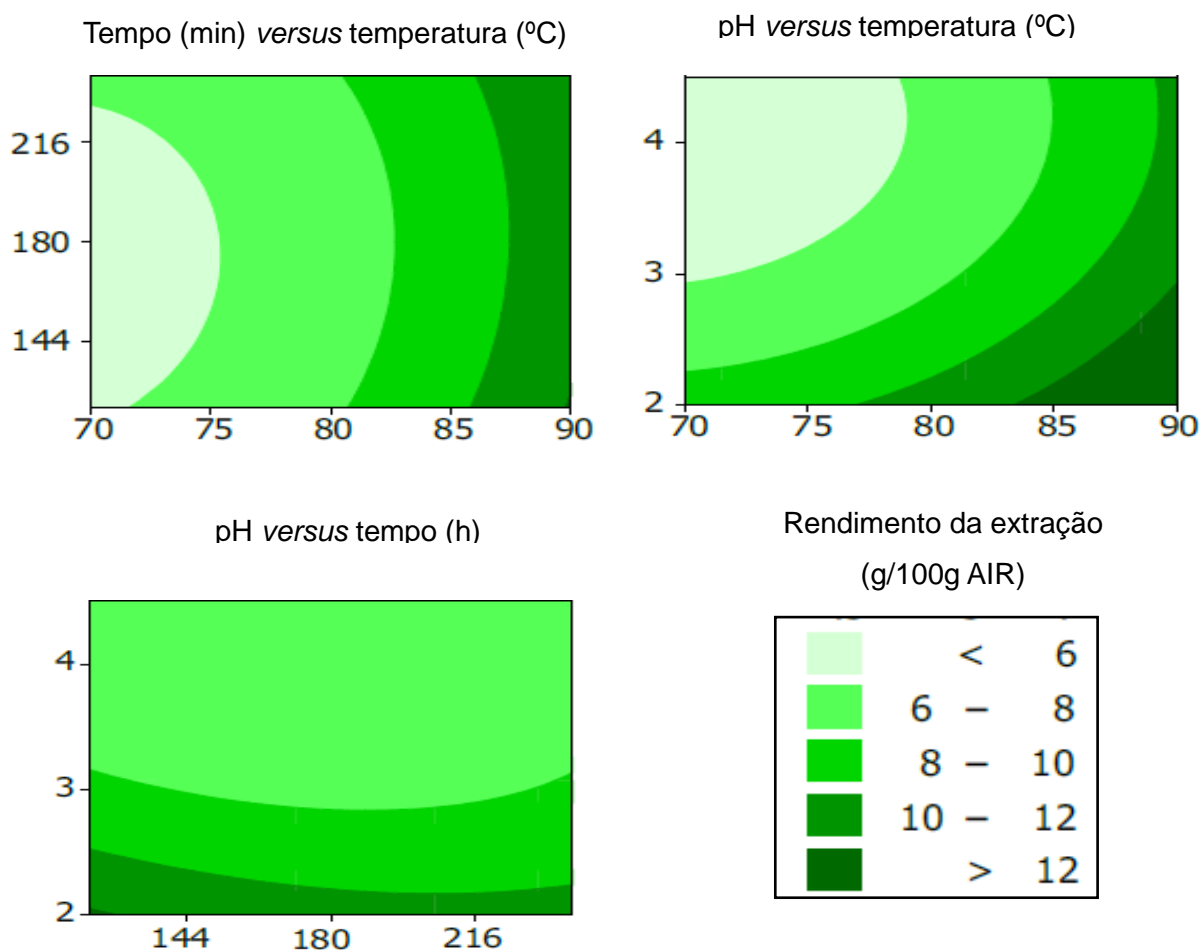
Fonte: O PRÓPRIO AUTOR

As Figuras 39-42 representam os gráficos de contorno para as respostas experimentais obtidos por MSR, através da realização do DCC. Na maioria dos estudos por superfície de resposta, a forma do relacionamento entre a variável resposta e os fatores é desconhecida. A qualidade das estimativas dos parâmetros depende, principalmente, do método de estimação utilizado (método dos mínimos quadrados ou método da máxima verossimilhança) e da utilização de planos adequados para a coleta de dados.

5.3.3 EY

Os valores de rendimento da extração (EY) variaram dentro do intervalo de 5,2-12,2% (m/m, baseado no peso seco de AIR) (Tabela 8). Happi Emaga e autores (2008) apresentaram resultados em um intervalo de 2,4 a 21,7, em % de massa, o qual os resultados obtidos confirmaram que os dados estão dentro de uma faixa aceitável.

Figura 39 - Rendimento da extração de pectina da casca de banana.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

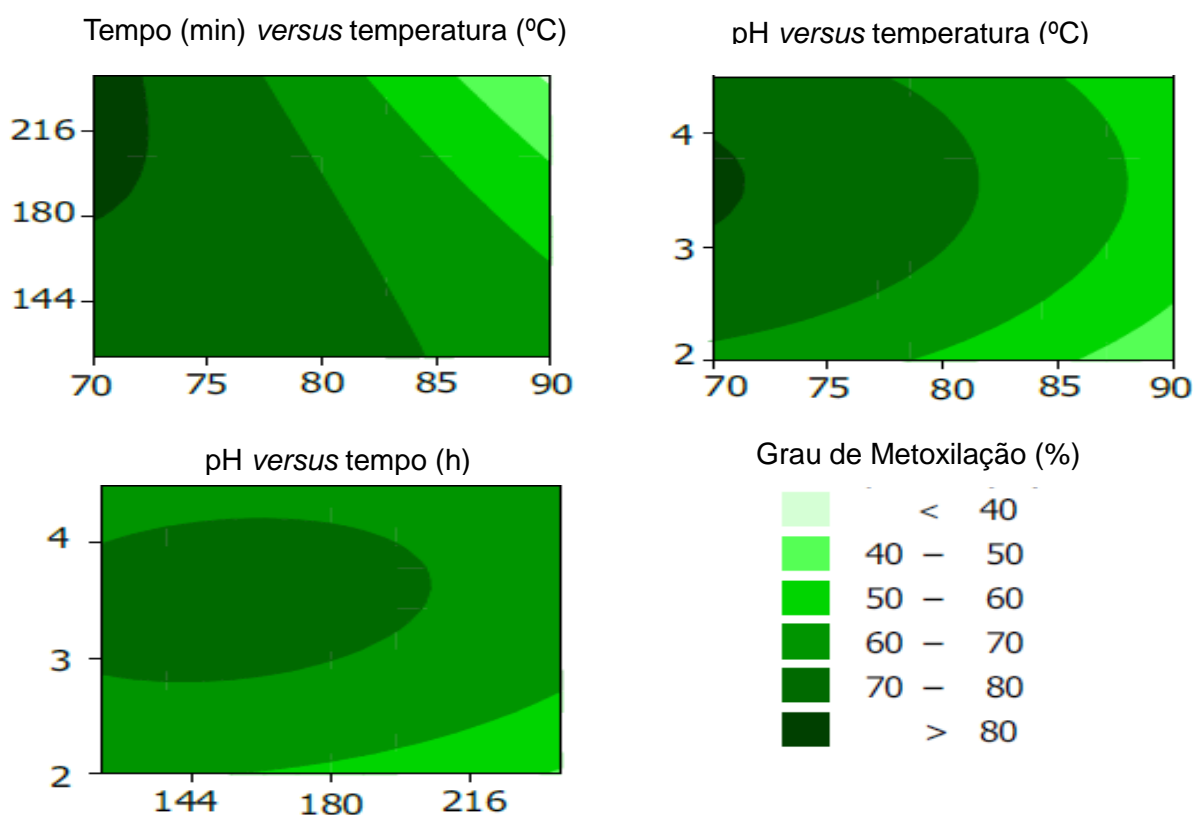
Houve um aumento no rendimento de extração aumentando a temperatura e diminuindo os valores de pH, como observado na região de coloração verde escura (tonalidade máxima) para os valores elevados de rendimento (Figura 39), enquanto que o tempo não apresentou um impacto significativo, observando os

comportamentos nos gráficos de contorno e as equações de regressão. Os efeitos do pH e a temperatura foram semelhantes aos descritos por Happi Emaga e autores (2008), embora tenham relatado que o tempo teve um efeito positivo (e altamente significativo) sobre os rendimentos. Wai, Alkharkhi e Easa, 2014 verificaram, também, que o rendimento de extração de pectina foi favorecido por condições severas a partir da polpa de maçã, do subproduto do limão e da casca de durian.

5.3.4 DM

Os valores de DM foram obtidos no intervalo de 43,5% a 79% (Grau de metoxilação, Tabela 8). Kermani e autores (2014) verificaram valores de DM na faixa semelhante à relatada ao extrair a pectina de casca de banana com H_2SO_4 , embora os valores mais elevados eram esperados neste estudo em função da menor capacidade de hidrólise de CA.

Figura 40 - Grau de esterificação de pectinas da casca de banana.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Valores elevados de pH e baixos de temperatura e tempo produziram pectinas com elevado grau de metoxilação (Figura 40) corroborando com os dados de Gärna e autores (2007) para cascas de banana. Isto pode ser atribuído ao nível elevado de esterificação da cadeia poligalacturônica, propriedade importante para o direcionamento de aplicação do polissacarídeo sob condições severas de temperatura e pH. Outra explicação possível relaciona-se aos tratamentos mais severos, os quais podem ter extraído pectinas mais fortemente ligadas, que apresentam um menor DM.

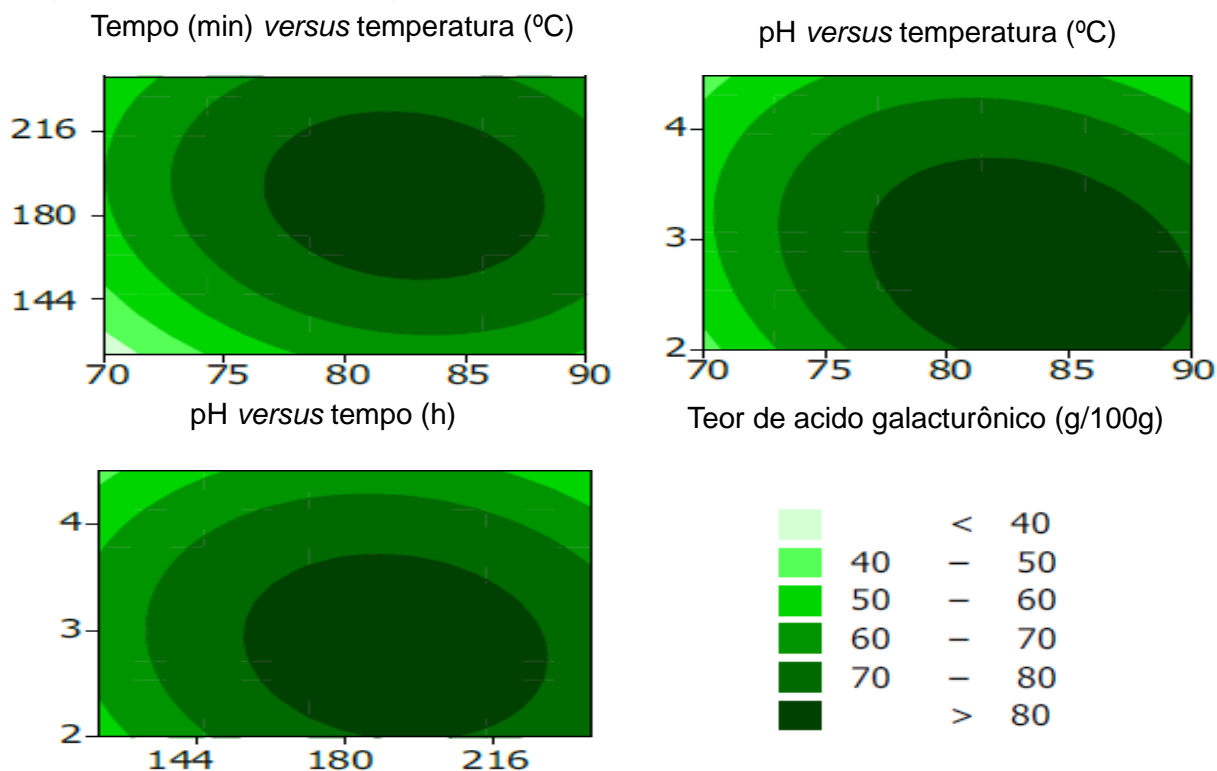
Koubala e autores (2014) relataram que a pectina solúvel em quelante (PSQ) de casca de mamão apresenta um teor de GA mais elevado e menor valor de DM em comparação com a pectina solúvel em água (PSA), sugerindo uma extração de pectina mais eficiente pelo decréscimo de DM, possivelmente, porque a pectina mais fortemente ligada possuía baixo grau de metoxilação.

5.3.5 GA

GA apresentou valores no intervalo de 53,1 a 86 g /100g (Tabela 8). Happi Emaga e autores (2008) relataram valores inferiores de GA para o material de origem corroborando com o estudo. Segundo a FAO (2014) e EU (2011) (SINGTHONG et al., 2005) a pectina deve ser constituída de, no mínimo, 65% de ácido galacturônico.

A Figura 41 indicou que o teor de GA aumentou com o aumento da temperatura, do tempo, e pelo decréscimo dos valores de Ph, até um ponto de inflexão máximo (cerca de 83°C, 190 min e pH 2,7, como determinado pela função de resposta do Minitab Optimizer descrito na seção 4, pág.90), para além do qual os valores de GA foram bastante reduzidos. A existência desse ponto de inflexão está relacionada com os termos quadráticos significativos do modelo de GA (Tabela 10). Este comportamento está associado à combinação de fenômenos que ocorrem, simultaneamente, durante a extração de pectina com ácido, a uma temperatura elevada: a liberação de açúcares como um produto de hidrólise da pectina (o que contribui para o GA) e a sua degradação por calor e ácido.

Figura 41 - Teor de ácido galacturônico em pectinas.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

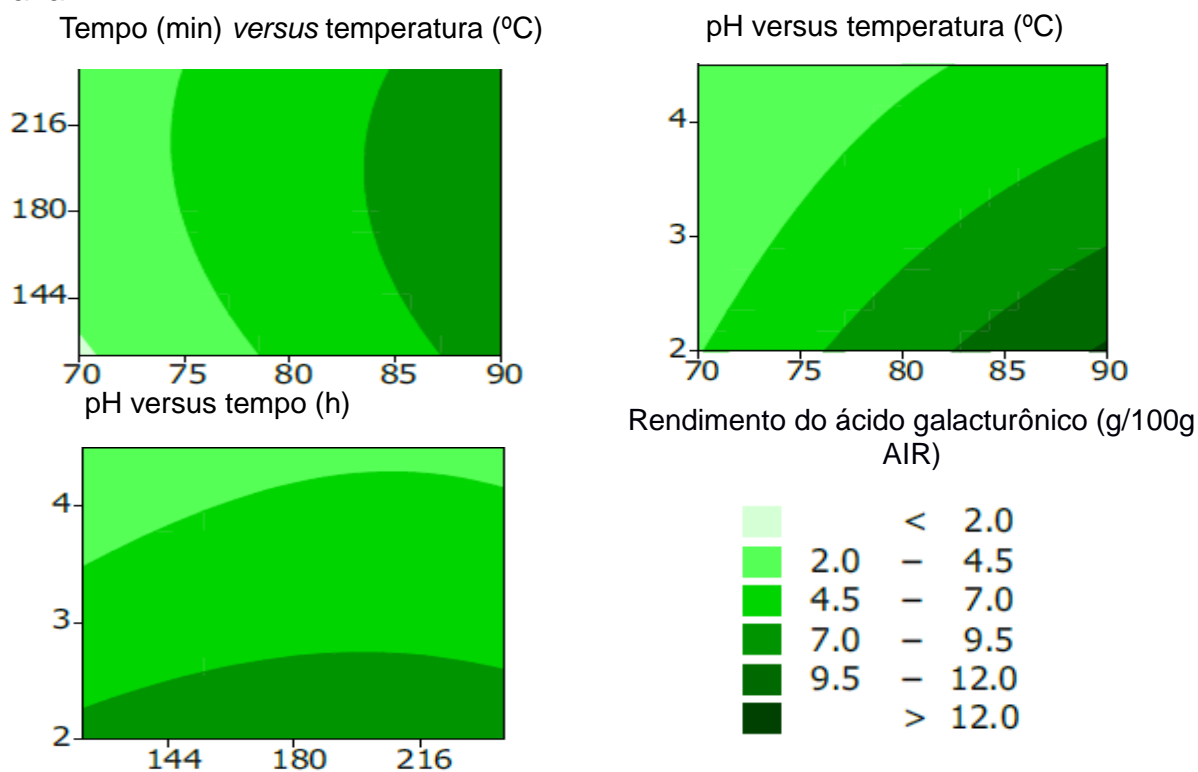
Estes resultados foram corroborados pelos estudos de Chan e Choo (2013) que verificaram um aumento de GA com o aumento do tempo e da temperatura de extração. Relataram, também, que para um valor de pH muito baixo (1,5) resultou em uma maior remoção de compostos de baixa massa molar (frações degradadas de pectinas ou substâncias não-pécticas), a partir de polpa de maçã, quando comparado com um pH de 2,0, ou seja, o grau de pureza de extratos foi prejudicado por condições muito ácidas.

5.3.6 Y_{GA}

O Y_{GA} foi aumentado pelo incremento de temperatura e os valores de pH mais baixos, em um intervalo de 2,95 a 9,64g/100g (Tabela 8; Figura 42), enquanto os termos restantes não foram significativos, de acordo com as análises estatísticas obtidas na Tabela 10 (pág. 121).

O rendimento da extração, de acordo com as condições adequadas, foi de 14,2% em peso, valor inferior ao rendimento de 21,7% em peso, obtido por Happi Emaga e autores (2012). No entanto, as condições utilizadas por estes, a fim de se obter um rendimento tão elevado, foram mais severas (90°C, 240 minutos, pH 1,5) do que as condições do presente estudo. Além disso, as características da pectina obtidas para um rendimento de 21,7% em peso (GA de 40% e um DM de 49%) foram inferiores aos obtidos neste estudo sob as condições obtidas (um GA de 76% e um DM de 54%), confirmando a eficiência do processo de extração.

Figura 42 - Rendimento do ácido galacturônico da extração de pectina da casca de banana.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

A fim de otimizar a extração, a função específica do Minitab foi usada para definir as condições que produziram um Y_{GA} máximo, mantendo o alto grau de metoxilação (DM mínimo de 51%). Estas condições foram definidas como (seção 4, Tabela 4, pág.86):

- T: 87°C,
- t: 160 min;
- pH: 2,0.

A adequação dos modelos para prever as respostas foi testada efetuando a extração de pectina nas condições adequadas e os valores experimentais foram encontrados para confirmar com os valores previstos contidos na Tabela 9. A diferença entre os valores enquadra-se na significância do método, de acordo com os parâmetros estatísticos (F e p-valor) encontrados.

Tabela 9 - Valores de respostas experimentais e previstas nas condições adequadas (87°C, 160 min, pH 2,0).

Resposta	Valor previsto	Valor experimental*
EY (g/100 g AIR)	13,89	14,23 ± 1,19
DM (%)	51,79	53,73 ± 2,89
GA (g/100 g)	78,12	75,91 ± 4,17
YGA (g/100 g AIR)	11,07	10,81 ± 1,16

EY: Rendimento de extração; DM: grau de metoxilação; GA: teor de ácido galacturônico; YGA: rendimento do ácido galacturônico. * Média ± desvio padrão para 3 repetições.

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

5.3.7 Análise Estatística

O efeito linear da temperatura (variável x no polinômio) foi o único que afetou significativamente todas as respostas. O tempo de extração (y) (efeito linear) não teve efeitos significativos sobre as respostas, exceto pelo GA. Os efeitos quadráticos

afetaram apenas os teores de ácido galacturônico (em negrito). Os efeitos de interação não foram significativos para as respostas obtidas. Todos os modelos foram significativos ($p < 0,05$) e os valores dos coeficientes de determinação (R^2) obtidos foram de 86-95%, indicando que um modelo quadrático representou satisfatoriamente a relação entre os efeitos (variáveis independentes) e a resposta (EY, DM, GA e R_{GA}).

Barros e autores (2013) sugeriram que para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mas também útil para fins preditivos, o valor calculado para a regressão deve ser no mínimo quatro vezes o valor de F tabelado. Essa condição foi amplamente satisfeita nesse estudo, de acordo com os dados extraídos do programa utilizado. Para um modelo de regressão, quanto maior o F, melhor e mais significativo será o valor de p (ou p-valor) para o software Minitab® 16. Analisando o parâmetro F para o rendimento do ácido galacturônico foi observado os seguintes valores: $F_{tab} = 3,0$ e $F_{calc} = 13,7$ ($F_{calc} > F_{tab}$). Portanto, o resultado tornou o p-valor significativo para as medidas.

Tabela 10 - Equações de regressão (para variáveis codificadas) e parâmetros estatísticos dos modelos.

Equações	F	R^2
$EY = 7,11 + 1,76 x + 0,03 y - 1,32 z + 0,43 x^2 + 0,25 y^2 + 0,52 z^2 - 0,06 xy - 0,03 xz + 0,27 yz$	8,25 ($p < 0,01$)	0,91
$DM = 71,35 - 7,29 x - 2,16 y + 2,68 z - 1,20 x^2 - 1,21 y^2 - 3,07 z^2 - 3,64 xy + 0,02 xz + 0,73 yz$	4,70 ($p = 0,027$)	0,86
$GA = 84,11 + 5,32 x + 3,24 y - 4,24 z - 6,01 x^2 - 5,55 y^2 - 4,28 z^2 - 1,34 xy - 2,42 xz - 1,13 yz$	10,59 ($p < 0,01$)	0,93
$Y_{GA} = 5,98 + 1,66 x + 0,27 y - 1,32 z - 0,07 x^2 - 0,21 y^2 + 0,12 z^2 - 0,09 xy - 0,41 xz + 0,05 yz$	13,70 ($p < 0,01$)	0,95

x: Temperatura; y: Tempo; z: pH. x, y e z: valores codificados variando de -1,68 a 1,68 (Tabela 4).

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

5.4 Extração e Caracterização dos nanocristais de celulose (CNC)

5.4.1 Rendimento de CNC

O rendimento é um fator chave na determinação da economia do processo de hidrólise (HAMAD e HU, 2010), e está diretamente relacionado as condições de reação utilizadas: tempo, temperatura e concentração de ácido (LU et al., 2013). O rendimento de CNC foi de 7,56%, em peso, com base em AIR seco. Considerando-se um teor de alfacelulose de 18,7%, em peso de cascas de banana (Seção 5, pág.106), foi obtido um rendimento aproximado de 40%, em peso com base em celulose (material de partida para a realização da hidrólise). Os resultados de Morelli (2016) corroboraram com este estudo, afirmando que durante o forte processo de hidrólise ácida para obtenção dos nanocristais, parte da celulose cristalina é hidrolisada em açúcares que se dissolvem no meio aquoso, o que leva ao rendimento de apenas cerca de 40% mesmo para o caso dos CNC extraídos da celulose.

Xu e autores (2013) obtiveram CNC de Aspen branqueada com um rendimento entre 25 e 30%, através de hidrólise ácida com H_2SO_4 a 64% m/m, sob diferentes condições de hidrólise. Nesse trabalho a condição adequada foi alcançada utilizando concentração de H_2SO_4 de 63,5% em massa e mantendo a hidrólise por 130 min, a 44°C, com relação CMC/solução ácida de 10g/100 mL. Nessa condição, o rendimento na obtenção de CNC foi de 30%, tendo sido obtidos nanocristais. Diante dos dados da literatura pode-se constatar que o teor obtido neste estudo foi superior aos demais e, o que comprova a eficácia da extração de celulose a partir do AIR, atribuindo a remoção significativa de lignina e hemicelulose.

5.4.2 MET

A Figura 43 mostrou as fotomicrografias de MET dos CNC extraídos. A imagem de MET apresentou nanopartículas com formato de agulhas confirmando que a extração foi bem-sucedida. Os nanocristais obtidos apresentaram diâmetro (d) de 3,6 nm ($\pm 0,8$ nm) e comprimento (L) de 205 nm (± 45 nm) resultando em uma média de razões de aspecto (L/d) por volta de 58, valor superior aos relatados para

os CNC para a fibra da casca de coco (AZEREDO, MIRANDA, ROSA, NASCIMENTO e DE MOURA, 2012; NASCIMENTO et al., 2014), fibra de algodão (AZEREDO et al., 2012), linter de algodão (MORAIS et al., 2013) e casca de soja (FLAUZINO NETO, 2013) (Tabela 11).

Figura 43 - Fotomicrografia Eletrônica de Transmissão (MET) dos nanocristais de celulose de cascas de banana.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

Eichhorn et al. (2010) verificaram que os nanocristais com elevada relação de aspecto (maiores do que 50), grande área superficial por unidade de volume e

grande resistência e rigidez, promovem melhores propriedades aos compósitos quando utilizadas como elementos de reforço.

Tabela 11 - L/d de outras fontes biodegradáveis.

Fonte	L/d	[REF]
Línter de algodão	19	MORAIS et al., 2013.
Fibra de algodão	22	AZEREDO et al., 2012
Fibra de casca de soja	27,9	FLAUZINO NETO, 2013.
Fibra da casca do coco	42	NASCIMENTO et al., 2014
Fibra da casca de banana	58	Presente estudo

Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

5.4.3 Percolação

A fração volumétrica mínima de CNC necessária para formação de uma rede percolada dentro da matriz polimérica é dada pelo limite teórico de percolação (ϕ_v). Aplicando os valores de razão de aspecto (L/d) dos CNC obtidos obtém-se um limite de percolação de 1,2 v%, de acordo com a Equação 1 (pág.61).

Considerando-se os valores de densidades de CNC, da pectina extraída de cascas de banana e do glicerol como $1,6 \text{ g.cm}^{-3}$ (MORELLI et al., 2016), $1,1 \text{ g cm}^{-3}$ (tal como medido por pesagem hidrostática), e $1,26 \text{ g.cm}^{-3}$, respectivamente, foram obtidas as frações mássicas mínimas teóricas para percolação de 1,7 m% para os CNC, para formar uma rede percolada em filmes de pectina plastificados com glicerol. Siqueira e autores (2010) demonstraram que, acima deste limiar de percolação, os nanocristais são esperados formar uma rede de ligação de hidrogênio resultando em uma melhoria efetiva das propriedades mecânicas dos filmes.

Bretas e D'Ávila (2010) definiram que uma rede percolada constitui-se por infinitas conexões entre os CNC, que enrijece e ancora a matriz polimérica na qual se insere.

5.4.4 Cargas superficiais dos CNC: potencial zeta (ζ)

ζ é uma medida das interações elétricas entre as partículas, ou seja, pode ser referido como a estabilidade de uma suspensão coloidal. Na produção de nanocristais de celulose busca-se maximizar as forças repulsivas entre elas, a fim de evitar agregados que comprometem sua capacidade como agente de reforço em matrizes poliméricas (TIBOLLA, 2014).

A suspensão de nanocristais de celulose apresentou um valor de potencial zeta elevado e negativo ($-28,3 \pm 0,7$) mV (Figura 44). As fibras de celulose, geralmente, possuem carga negativa quando em suspensão aquosa, devido à presença e à ionização de grupos ácidos característicos das hemiceluloses e da lignina, tais como carboxílicos, ácido sulfônico, fenólicos e grupos hidroxila (ISTIROKHATUN et al., 2015). No entanto, a carga das fibras também depende da sua origem, do tipo de branqueamento da polpa e do tratamento mecânico.

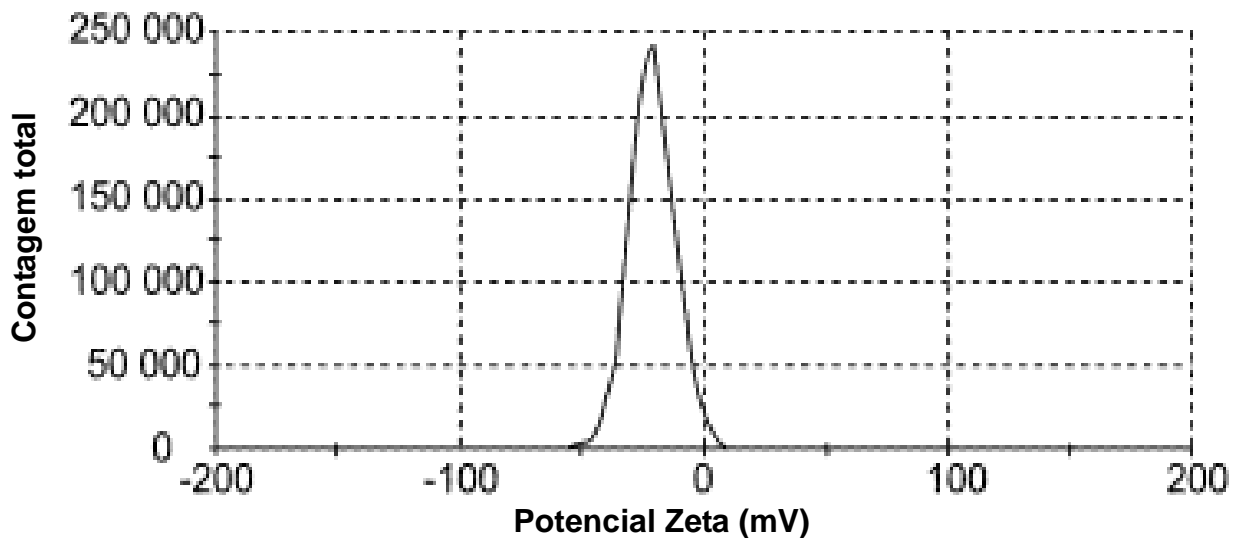
No processo de branqueamento pelo método alcalino, a carga superficial das fibras normalmente diminui devido à dissolução e remoção de polissacarídeos ácidos, particularmente xilanas (da hemicelulose) e lignina degradada. Os agentes alcalinos (NaOH e KOH) reagem com a lignina residual de diferentes formas, influenciando no número de grupos ácidos carregados negativamente (BHARDWAJ et al., 2004).

O tratamento pós-hidrólise, última etapa do processo, pode influenciar na estabilidade da suspensão coloidal. De acordo com Andrade-Mahecha (2012), o processo realizado (centrifugação, diluição e ultrassonicação) maximiza as forças repulsivas entre os nanocristais e, em consequência, a suspensão aquosa de nanocristais torna-se um sistema mais estável.

Lin e Dufresne (2014) relataram experimentos similares com CNC via hidrólise com H_2SO_4 e este valor está inserido na faixa aceitável, graças a presença dos grupos sulfatos carregados negativamente nas superfícies de CNC. Moom e seus

autores (2005) afirmaram que um valor absoluto superior a ~25 mV, as forças repulsivas podem ser fortes suficientemente para superar as atrações de Van der Waals entre as partículas, não apresentando a tendência de agregação. Portanto, o perfil de dispersão obtido confirmou a eficácia da estabilidade dos nanocristais obtidos em suspensão.

Figura 44 - Gráfico da distribuição do potencial zeta.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

5.5 Caracterização dos filmes

A extração de pectina para a obtenção dos filmes bionanocompósitos resultou em um rendimento, em peso com base em AIR seco, de 15,1%, com o valor de DM de 56% e um teor de GA de 73,4%. Happi Emaga e autores (2008) mostraram valores congruentes ao do presente estudo com o perfil de pectina de HM para a produção de filmes a base de polissacarídeos.

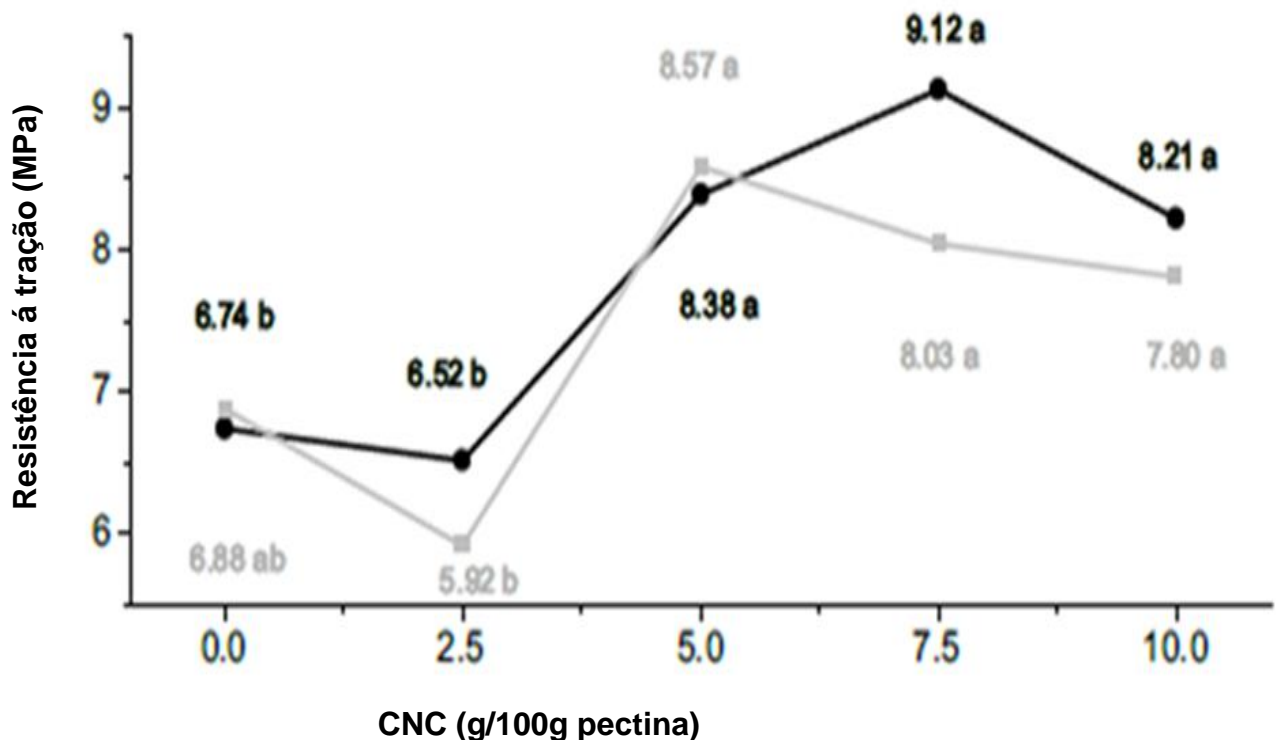
5.5.1 Resistência à tração

As figuras 45 – 51 apresentam as propriedades dos filmes como função do teor de CNC e da presença ou ausência de CA. A resistência à tração dos filmes

(com e sem CA) (Figura 45) aumentou com a adição de, pelo menos, 5% em peso de CNC. Teores elevados de CNC não melhoraram a resistência, atingindo um máximo de 7,5% em peso de CNC e um decréscimo em 10% em peso de CNC na presença de CA e na ausência o máximo obtido foi de menor valor). Este efeito pode está associado a polidispersividade na suspensão contendo o teor de 10% de CNC devido a aglomeração que ocasiona a diminuição desses valores, ou seja, um decréscimo da tendência como reforço.

Os valores na mesma linha (cor) seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes (Turkey, $p < 0,05$).

Figura 45 - Propriedades de tração dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

O aumento da resistência dos filmes contendo CNC pode estar relacionado as interações favoráveis pectina-CNC, bem como o efeito de reforço através da transferência de estresse nessa interface, confirmado por Khan e autores (2012). De

acordo com Moura et al. (2016), a incorporação de nanoestruturas nos filmes pode aumentar a resistência mecânica devido à substituição parcial do polímero por nanocristais na matriz do nanocompósito. Outro motivo pode ser a ocupação de parte dos espaços vazios entre as cadeias do polímero pelas nanoestruturas, o que causa um aumento na resistência, decorrente de uma maior compactação da matriz.

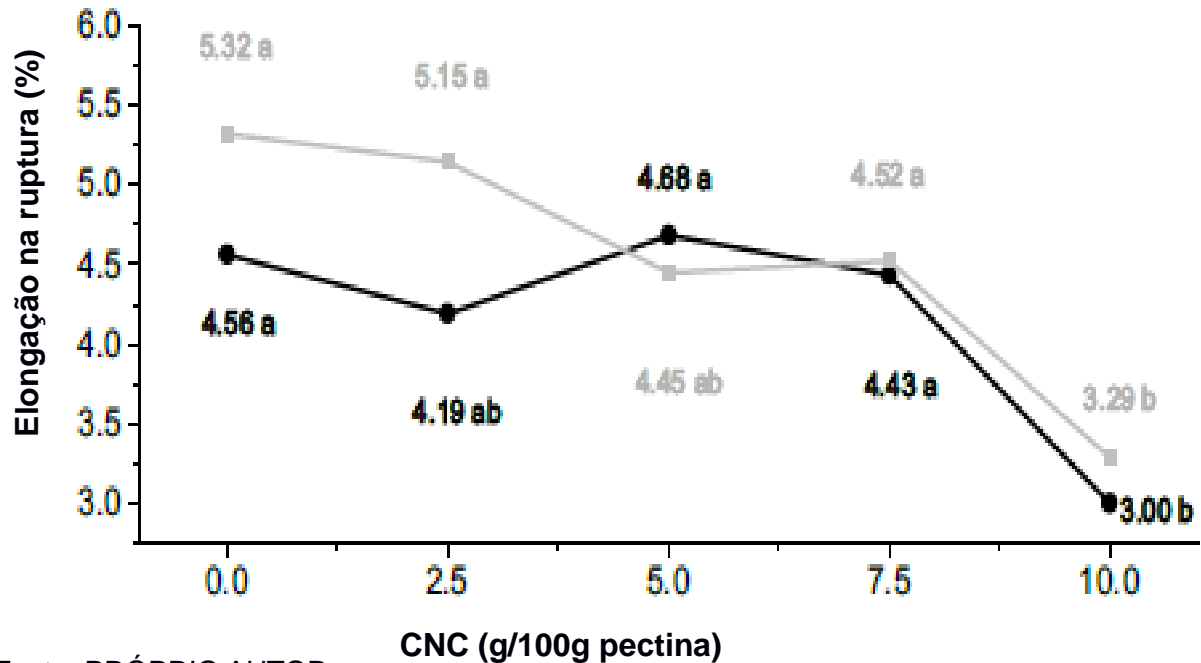
5.5.2 Elongação e Módulo de Elasticidade

A elongação foi diminuída, significativamente, apenas quando o maior teor de CNC (10%, em peso) foi adicionado (Figura 46). Uma diminuição na elongação também foi observada por Gómez-Estaca et al. (2011) em filmes de gelatina de peixe e quitosana. As nanoestruturas diminuem o volume livre entre as cadeias do polímero, aumentando as forças intermoleculares na matriz (HOSSEINI et al., 2015).

Para os filmes contendo CA, a falta de efeito de CNC (em teores menores que 10%, em peso) na elongação foi surpreendente, uma vez que ambos, CNC e CA, eram esperados contribuir um com o outro para diminuir essa propriedade; ao invés disso, o comportamento observado pode ser explicado pelos efeitos combinados de CNC com os do reticulante e do plastificante do CA. Azeredo e autores (2015) confirmaram esse fenômeno em seus resultados na avaliação do CA em filmes a base de hemicelulose a partir da palha de trigo.

Segundo Uranga et al. (2016) o CA aumenta, simultaneamente, a resistência à tração e a elongação de filmes de gelatina, que também parece contraditório quando se considera o CA apenas como um agente reticulante. No presente estudo que a presença simultânea de CNC e CA trouxe um efeito misto de reticulação e plastificação do CA, embora a presença de 10% em peso de CNC parece ter revertido isto em favor da predominância do efeito reticulante.

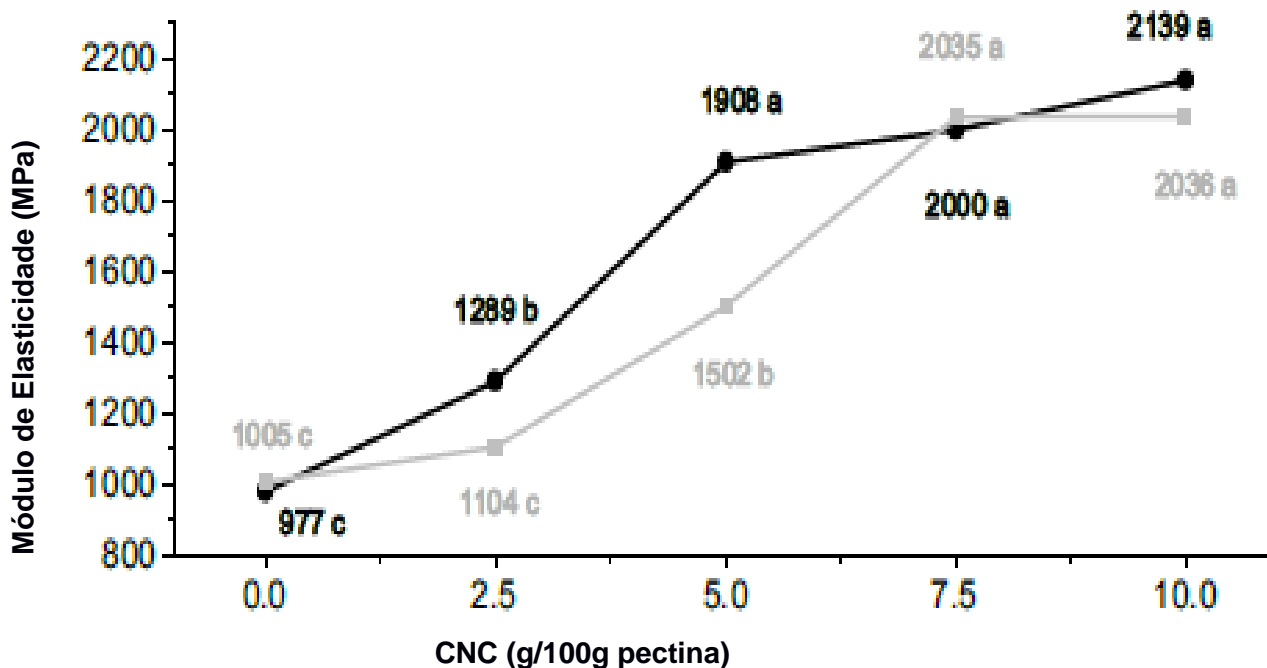
Figura 46 - Propriedades de alongação dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Similarmente, o módulo elástico aumentou para um máximo em 7,5%, em peso de CNC, para os filmes sem CA, e 5% para os filmes contendo CNC e CA (Figura 47). A estabilização da resistência a tração e do módulo elástico em teores acima de 5%, em peso de CNC, corroboraram com as observações de Khan et al. (2012) para filmes de quitosana com reforço de CNC. Exceto para a alongação, as propriedades de tração não foram reduzidas por teores elevados de CNC. Isto indicou que a agregação de CNC não ocorreu ou não foi eficiente para reduzir as estas propriedades dos filmes. Abdollahi e autores (2013) demonstraram resultados concernentes a este efeito na produção de filmes com a matriz a base de alginato na incorporação de CNC com o aumento do teor do agente de reforço de 10% (em peso de CNC).

Figura 47 - Propriedades de elasticidade dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Os valores de resistência à tração e de módulo elástico dos filmes obtidos deste estudo foram superiores aos produzidos a partir de pectina extraídas de cascas de romã utilizando uma argila como material de reforço, a montimorilonita (MMT), a qual tem sido incorporada nos filmes com potencial aplicação em embalagens para alimentos, segundo Oliveira et al. (2016).

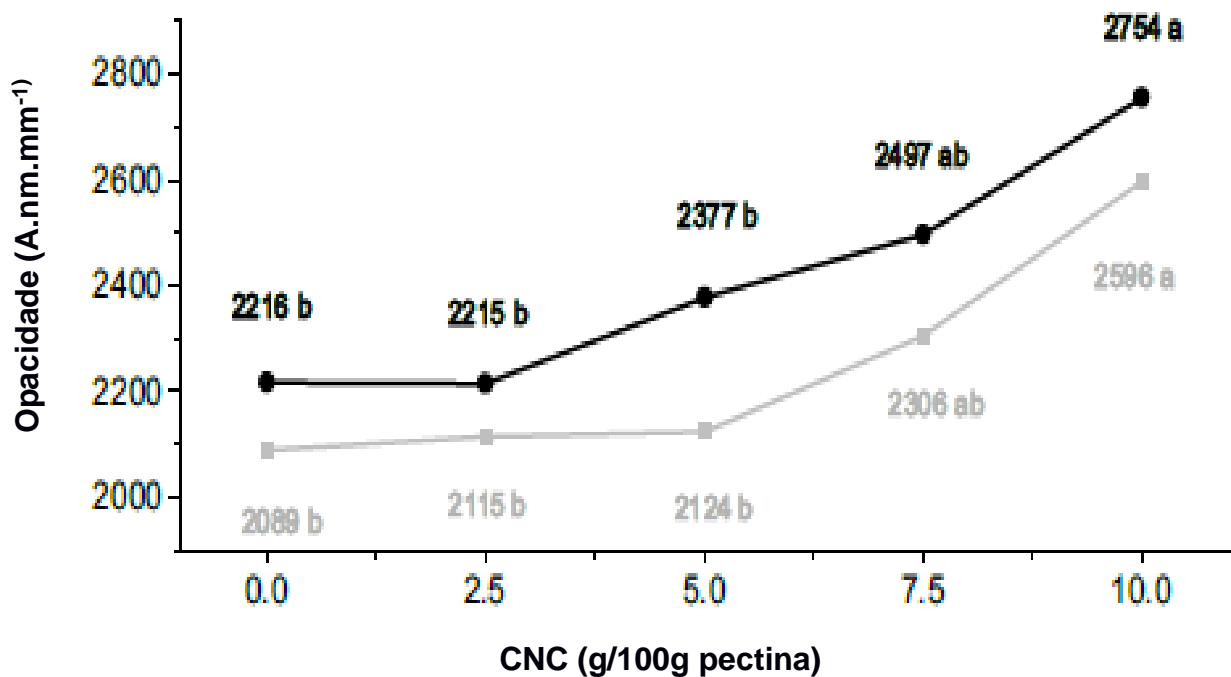
Lorevice e autores (2016) obtiveram valores inferiores para os ensaios mecânicos a partir de pectinas comerciais. Diante dos resultados alcançados, os valores de resistência para todos os filmes têm sido maior do que o limite inferior aceitável para filmes para embalagens (4 MPa) (Tabela 12, pág. 138) de acordo com Tajeddin, Rahman e Abdulah (2010). Uma vez que a fração mássica limite de percolação calculada de CNC adicionada à matriz de pectina foi estimada em 1,7%, para formar uma rede percolada, o teor de CNC acima de 2,5%, em peso, tem sido necessário para um reforço efetivo, possivelmente devido a uma dispersão de CNC

inferior ao ideal dentro da matriz, a qual foi relatada, também, por Morelli e autores (2016).

5.5.3. Opacidade

Os filmes formados foram quase incolores e bastante translúcidos, exceto aqueles com 10% ,em peso CNC, que parecia um pouco opaco. Com efeito, a opacidade dos filmes (Figura 48) foi aumentada significativamente, apenas quando 10% em peso de CNC foram adicionados aos filmes (ambos para aqueles com ou sem CA).

Figura 48 - Propriedades de opacidade dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

A opacidade depende da diferença do índice de refração associado ao espalhamento da luz, da distribuição do agente de reforço e da dispersão do polímero (DALPIAZ, 2006). O índice de refração está relacionado ao desvio que ocorre quando um raio de luz passa em um ângulo inclinado de um meio para outro;

é definido pela razão entre os senos dos ângulos de incidência e de refração. Este índice, que é adimensional, é medido segundo o método ASTM D 542. A maioria dos polímeros tem índice de refração na faixa entre 1,45 a 1,60. (CALLISTER JUNIOR, 2012; LIDE, 2002).

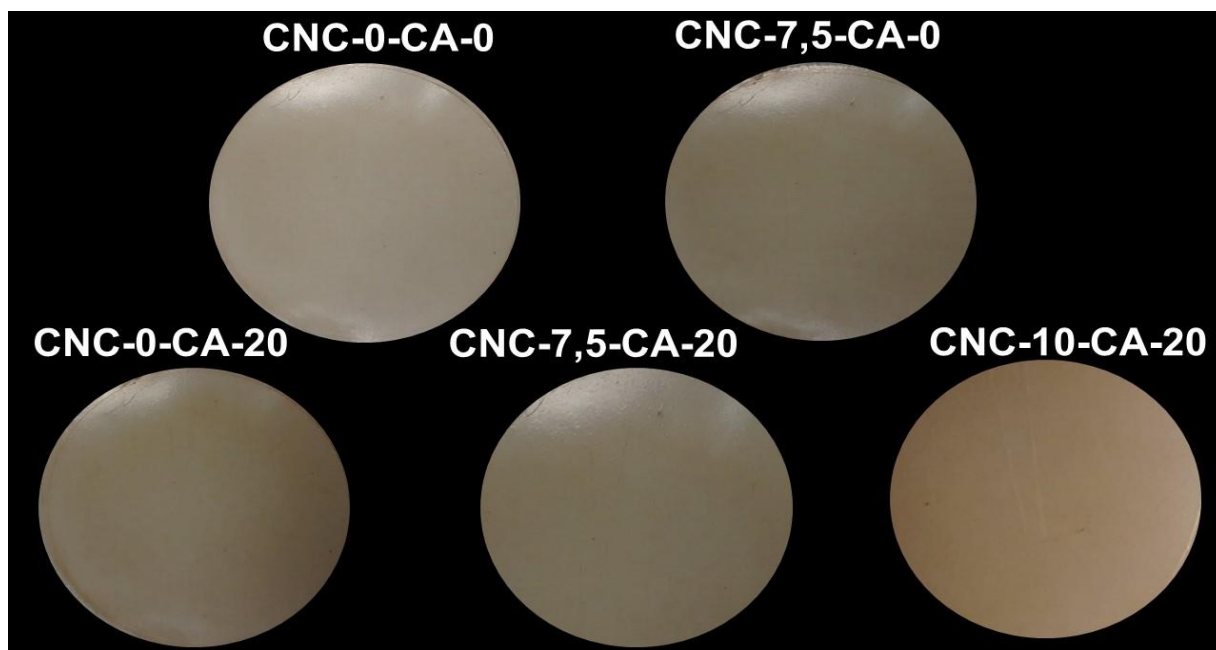
O poder opacificante de um agente de reforço (CNC) aumenta com a sua agregação no interior da matriz e na diferença entre o índice de refração de CNC e a pectina, em concordância com Pereda et al. (2014). O baixo efeito de CNC na opacidade dos filmes neste estudo, pode ser explicado pela dispersão efetiva de CNC na matriz de pectina (exceto para o teor mais elevado de CNC, 10%), bem como pela pequena diferença entre o índice de refração de celulose (1,53, de acordo a Bardet et al. 2013) e pectina (1,50, de acordo com Donaldson, 1991).

A Figura 49 mostrou a aparência dos filmes bionanocompósitos com a presença e ausência de nanocristais de celulose utilizados como reforço, isolados da casca de banana. Em uma análise comparativa, o filme controle (CNC-0-CA-0) apresentou maiores valores de brilho. Este fenômeno pode resultar de: (a) efeitos de tamanho nanômetro devido à presença de partículas sólidas; (b) interações fortes entre os nanocristais de celulose e a matriz de amido; (c) alta relação de aspecto das nanocristais de celulose e (d) a distribuição aleatória da nanopartículas na matriz.

A propriedade de brilho está estritamente relacionada a textura da superfície; isto é, ao grau de polimento da superfície analisada (MOLINA, 2013). A distribuição de tamanho de partícula empregada na formulação do filme influencia esta propriedade: uma distribuição de tamanho de partícula mais uniforme produz superfícies mais polidas e brilhantes justificando os resultados de brilho obtidos para os filmes biodegradáveis avaliados (CNC apresenta diferentes diâmetros e comprimento), de acordo com os estudos de Tibolla et al. (2018).

Portanto, a rugosidade acentuada das superfícies dos filmes contendo maior teor de CNC (CNC-10-CA-20) também explica os valores de brilho inferior e a maior opacidade desses filmes, de acordo com os resultados obtidos de MEV, onde as fotomicrografias exibiram uma superfície visivelmente rugosa para o filme contendo CNC e CA (Figura 53, pág. 143).

Figura 49 - Aparência dos filmes controle (CNC-0-CA-0), contendo a CNC (CNC-7,5-CA-0), o CA (CNC-0-CA-20) e ambos CNC e CA (CNC-7,5-CA-20 e CNC-10-CA-20), de acordo com a sequência CNC-teor-CA-teor.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

5.5.4 Solubilidade dos filmes

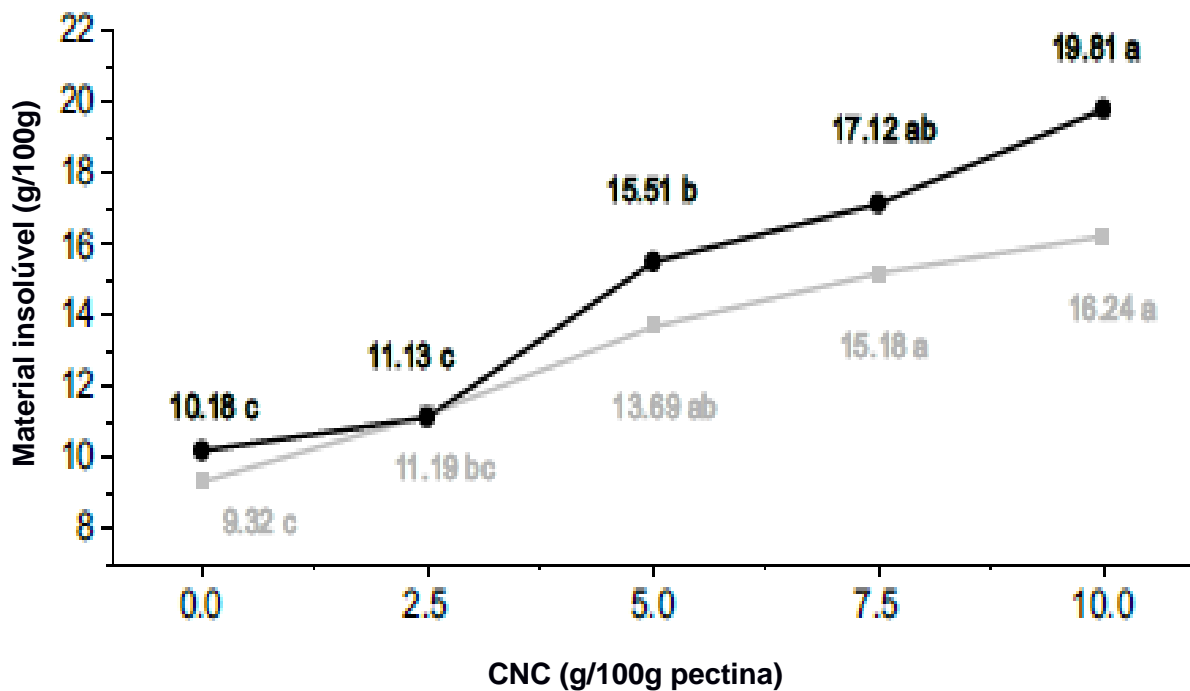
O teste de solubilidade foi analisado através do perfil de material insolúvel após cada processo. O teor de material insolúvel de filmes (com ou sem CA) foi aumentado pelo teor de CNC de 5% em peso, ou mais (Figura 50). George e Sabapathi (2015) relataram que a presença de CNC resulta na diminuição da solubilidade do filme, graças à insolubilidade em água dos nanocristais.

Filmes contendo CA tendem a apresentar um maior teor de material insolúvel aos filmes correspondentes sem CA, sugerindo a ocorrência de reticulação entre o CA e a matriz de pectina, associada a redução da quantidade de grupos hidrofílicos disponível para interação com água, aumentando a hidrofobicidade dos filmes em estudo.

Segundo Azeredo e autores (2015), uma vez que a reticulação química consiste em ligar cadeias de polímeros por ligações covalentes, formando redes

tridimensionais, um dos seus efeitos mais visíveis está na diminuição da solubilidade em água do material reticulado.

Figura 50 - Propriedades material insolúvel dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

Lu e autores (2015) desenvolveram um trabalho envolvendo a preparação de filmes bionanocompósitos com a inserção de CNC de algodão, e tendo como matriz polimérica o amido plastificado com glicerol. As análises revelaram que as fortes interações entre os nanocristais e a matriz de amido plastificado desempenham um papel chave no reforço dos compósitos.

Os compósitos apresentaram um aumento tanto na tensão de ruptura quanto no módulo de elasticidade, passando respectivamente de 2,5 MPa para 7,8 Mpa, e de 36 MPa para 301 MPa, ambos inferiores aos resultados obtidos pelo presente estudo. Além disso, a incorporação dos CNC conduziu a uma diminuição da

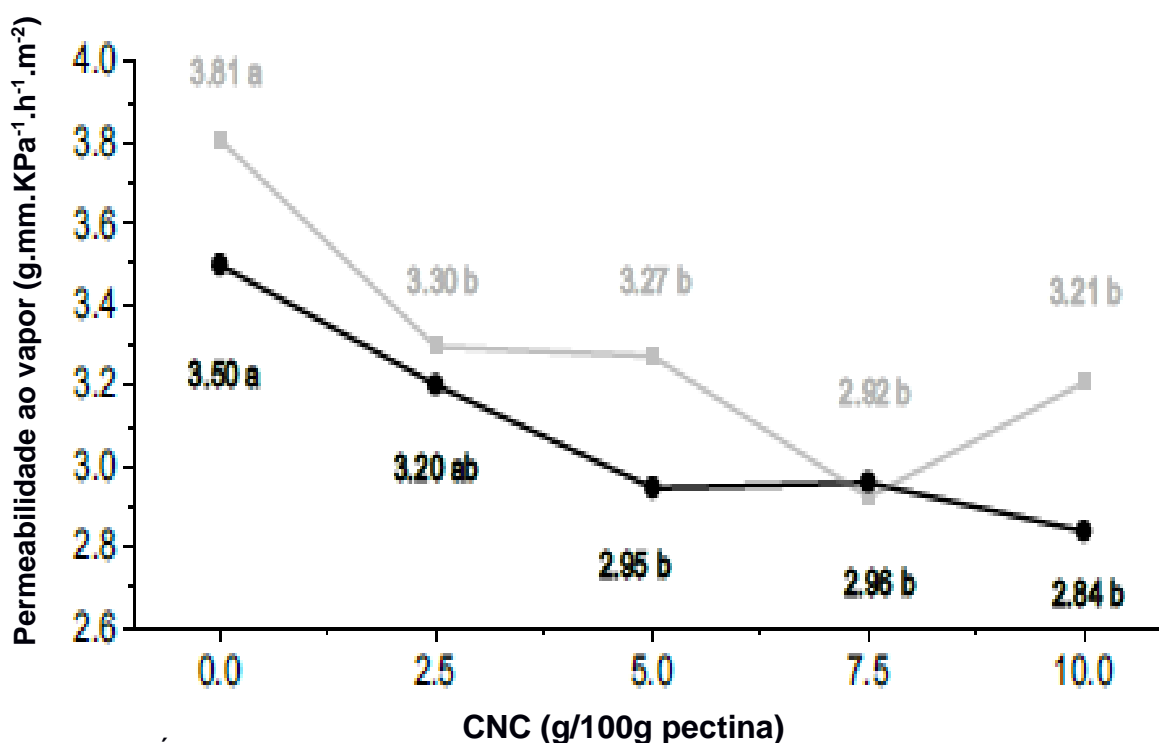
solubilidade dos filmes de amido em água, dado importante para as aplicações desse material na área de embalagens, que corrobora com os resultados obtidos.

Mesmo que a solubilidade em água dos filmes tenha diminuído por CNC e CA, os filmes obtidos apresentaram valores elevados e deverá serem usados para aplicações que não necessitam de uma alta resistência à água, como embalagem primária para produtos que serão protegidos da umidade por uma embalagem secundária.

5.5.5 PVA

Os filmes apresentaram diminuição nos valores de PVA com o aumento do teor de CNC. O decréscimo nos valores de PVA foi eficaz em 2,5% em peso para os filmes sem CA, e em 5% em peso para os filmes contendo CNC e CA, de acordo com a Figura 51.

Figura 51 - Propriedades de PVA dos filmes em função dos teores de CNC na presença (preta) / ausência de CA (cinza).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

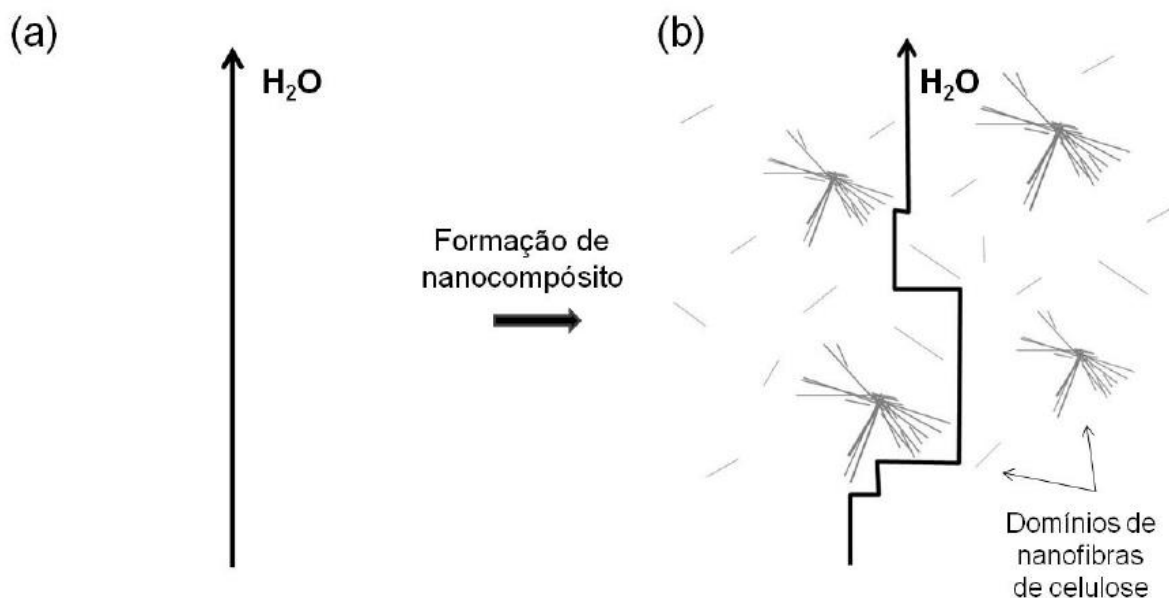
De acordo com Lorevice et al. (2016), existe uma diferença entre as quantidades de moléculas entre os filmes e que parte da água fica retida na matriz atuando como um plastificante, sendo atribuído este aumento de permeabilidade à diferença entre a quantidade de moléculas que se difundem no material e aquelas que se desprendem da mesma. Quando se adicionam os CNC ocorre uma diminuição da permeabilidade ao vapor de água dos filmes quando comparados àqueles contendo apenas pectina. Isto se deve ao fato de que as nanoestruturas preenchem os poros das matrizes, associando-se ao caminho tortuoso induzido pelos nanocristais para a transmissão de vapor de água (Figura 52).

Segundo Chang et al. (2010) a adição de nanopartículas de quitosana dificultou a passagem de moléculas de água pela matriz do filme, por preencher os espaços das cadeias poliméricas, bem como os resultados demonstrados por El Miri e autores (2015) quanto a diminuição da PVA do presente estudo. A intensidade deste efeito depende em geral da razão de aspecto da fase nanométrica na matriz, a qual precisa ser suficientemente alta para alterar o caminho de difusão da molécula penetrante.

No entanto, incrementos nas propriedades de barreira também podem ser observados nos casos onde as temperaturas de relaxação da matriz são aumentadas pela formação de nanocompósitos. Isto ocorre devido à restrição da mobilidade das cadeias poliméricas pela interação química com a fase adicionada.

Neste caso, é possível conjecturar que os domínios dos nanocristais de celulose, assim como evidenciados por MEV atuaram como barreiras impenetrantes, de tal forma que as moléculas de água tiveram que seguir um caminho aumentado ou tortuoso, para se difundirem através da matriz polimérica, como esquematizado na Figura 52.

Figura 52 - Esquema da permeação do vapor de água em uma blenda controle (a) e nos nanocompósitos com nanocristais (b), hipotetizando o aumento da tortuosidade do caminho de difusão pela presença dos domínios de nanocristais de celulose.



Fonte: Adaptada de MOREIRA (2010).

Maia e autores (2000) afirmaram que quanto mais hidrofílico for o polímero, mais fácil será a transmissão de umidade, logo, filmes obtidos a partir do polissacarídeo, a pectina, foram otimizados. Diversas alterações podem ser realizadas, como a inserção de ligações cruzadas (ou crosslinking) com CA (ou ácidos láctico e tânico). No presente estudo, o resultado na redução à permeabilidade de umidade do filme ocorre porque este tipo de ligação diminui os deslocamentos segmentais da estrutura do polímero, diminuindo a difusão ativada, a solubilidade do permeante e, por conseguinte, a permeabilidade.

Diante desta perspectiva de resultados, os filmes contendo CA apresentaram uma maior resistência e módulo elástico e valores menores de alongação, assim como teores elevados de material insolúvel e baixos valores de PVA. Segundo Seligra et al. (2016) o CA apresentou um comportamento de agente reticulante em filmes de polissacarídeos, o que corrobora com os resultados obtidos.

Esses filmes também apresentaram transparência reduzida, embora o CA tenha o índice de refração similar ao da pectina (1,50, LIDE, 2012), provavelmente

porque o CA apresentou algumas agregações nos filmes estudados. Os efeitos da presença de CA nas propriedades foram representados na Tabela 12, a partir de testes t para cada resposta considerando todas as repetições para todos os níveis de CNC.

Tabela 12 - Valores das respostas dos filmes, com e sem CA, de acordo com a análise de significância (testes t e p).

Resposta	Médias*		t	p
	Sem CA	Com CA		
Teste de tensão (MPa)	7,49	7,94	-2,55	0,018
Elongação na ruptura (%)	4,57	4,18	-2,44	0,024
Módulo de elasticidade (MPa)	1558,64	1691,11	2,33	0,029
Opacidade (A.nm.mm ⁻¹)	2246,30	2412,00	-3,56	< 0,01
Material insolúvel (%)	13,13	14,75	-3,24	< 0,01
PVA (g.mm.kPa ⁻¹ .h ⁻¹ .m ⁻²)	3,31	3,10	-3,13	< 0,01

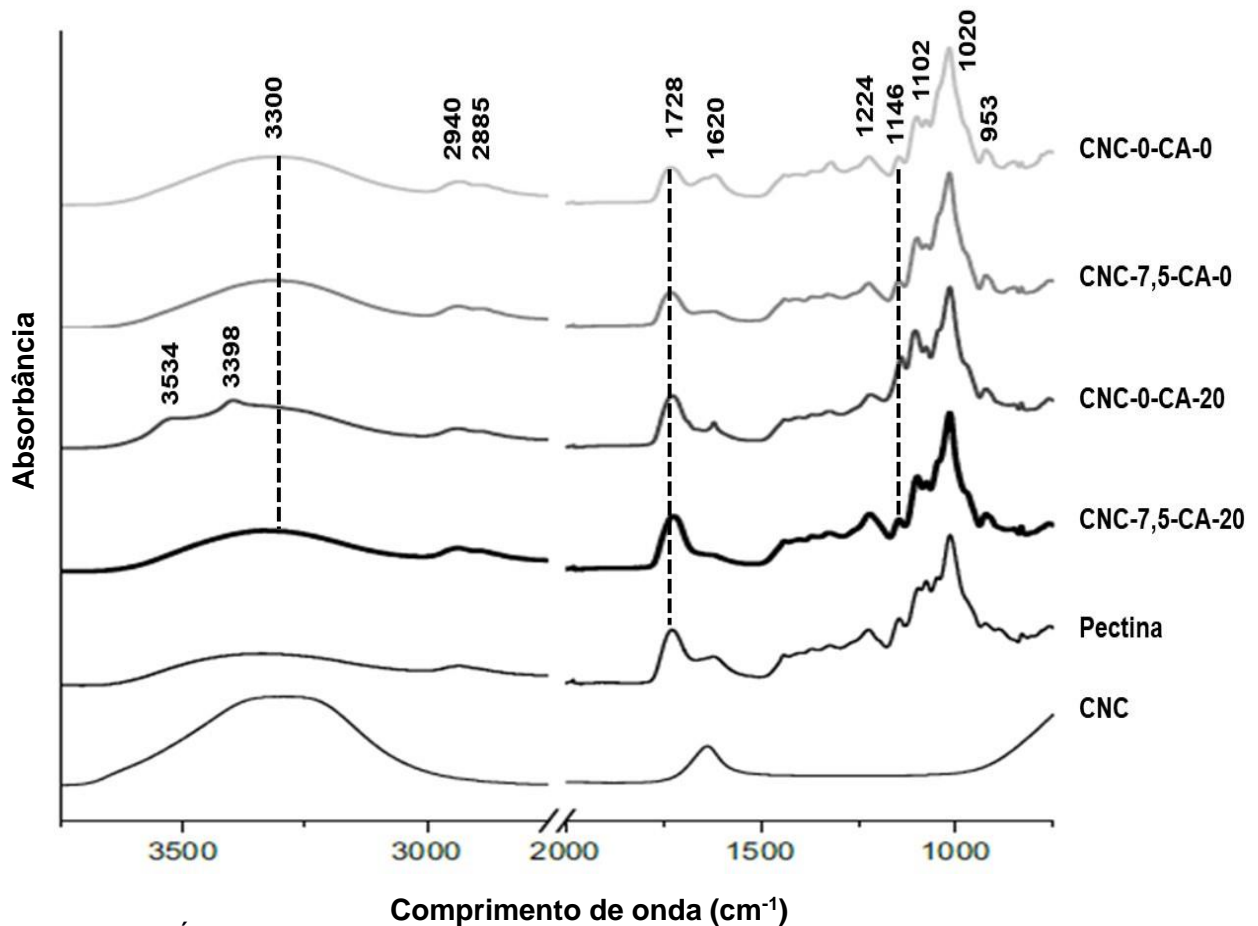
*Média de 25 medidas (5 replicatas para 5 teores de CNC).

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

5.5.6 FT-IR

Os espectros de FT-IR (Figura 53) apresentaram várias bandas associadas com a estrutura de pectina, como a 3300 cm⁻¹ para o estiramento OH, 1224 cm⁻¹ para a deformação OH em grupos carboxilas (SYNYTSYA et al., 2013), 1146 cm⁻¹ para o estiramento C-O nos grupos C-O-H (YU, WANG e MA, 2005), 1102 cm⁻¹ e 1020 cm⁻¹ para os estiramentos C-O e C-H, respectivamente, e 953 cm⁻¹ para as deformações CCH e COH (SYNYTSYA et al., 2013). As bandas, em cerca de 1620 e 1728 cm⁻¹ são atribuídos ao estiramento C=O dos grupos carboxilas urônicos esterificados e não esterificados, respectivamente (PENG et al., 2016).

Figura 53 - Os espectros de FTIR dos filmes de pectina com diferentes concentrações de CNC e o teor de CA, bem como a pectina pura e a suspensão de CNC. Filmes identificados como CNC-X-CA-Y, X e Y indicam os CNC e de CA (%) com base em pectina seca, respectivamente.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Não foram observadas bandas específicas de adição de CNC, de acordo com o espectro em questão. As bandas a 2940 cm^{-1} e 2885 cm^{-1} (estiramento assimétrico CH de grupos metoxi) (MARCOTT et al., 2014) sugere a presença de lignina e/ou lipídios remanescente da extração de pectina. Estas bandas estavam presentes nas cascas de banana moídas (BPP) (seção 5.2, Figura 37, pág.107) e sua intensidade diminuiu durante o processo de extração de pectina, que foram atribuídas a remoção parcial de lignina e/ou lipídios. A presença de lignina em filmes causa a incompatibilidade de regiões com a matriz polimérica acarretando em uma ausência de homogeneização da suspensão filmogênica.

A ocorrência de reticulação foi avaliada por duas comparações entre os filmes correspondentes com e sem CA: a intensidade relativa da banda por volta de 1728 cm^{-1} , uma vez que uma intensidade maior da banda em filmes contendo CA pode indicar a formação de éster (REDDY e YANG, 2010; SELIGRA et al., 2016; SHI et al., 2007) e a razão entre a intensidade da banda a 3300 cm^{-1} (I_{3300}) e a da banda a 1146 cm^{-1} (I_{1146}), a qual indica a existência de grupos hidroxila, sendo, esta, uma indicação indireta da reação de esterificação (SELIGRA et al., 2016). As intensidades das bandas foram calculadas como as alturas de pico, medidas a partir da linha de base.

As intensidades das bandas em 1728 cm^{-1} foram maiores em filmes contendo CA, quando comparadas aos filmes sem CA, o que pode ser atribuído à banda de carbonila do éster formado, sugerindo a reticulação, em concordância com o comportamento do FT-IR apresentado por Seligra et al. (2016). Além disso, a relação entre a intensidade das bandas em 3300 cm^{-1} (I_{3300}) e 1146 cm^{-1} (I_{1146}) dos filmes contendo CA (0,53 e 0,79, respectivamente, para os filmes CNC-0-CA-20 e CNC-7,5-CA-20) foram menores do que aqueles dos filmes correspondentes sem CA (1 para ambos, CNC-0-CA-0 e CNC-7,5-CA-0), indicando uma menor disponibilidade de grupamentos OH, provavelmente relacionada com a reação de esterificação envolvendo CA. Os testes de solubilidade corroboraram com estes resultados, na constatação do decaimento dos grupamentos disponíveis de OH.

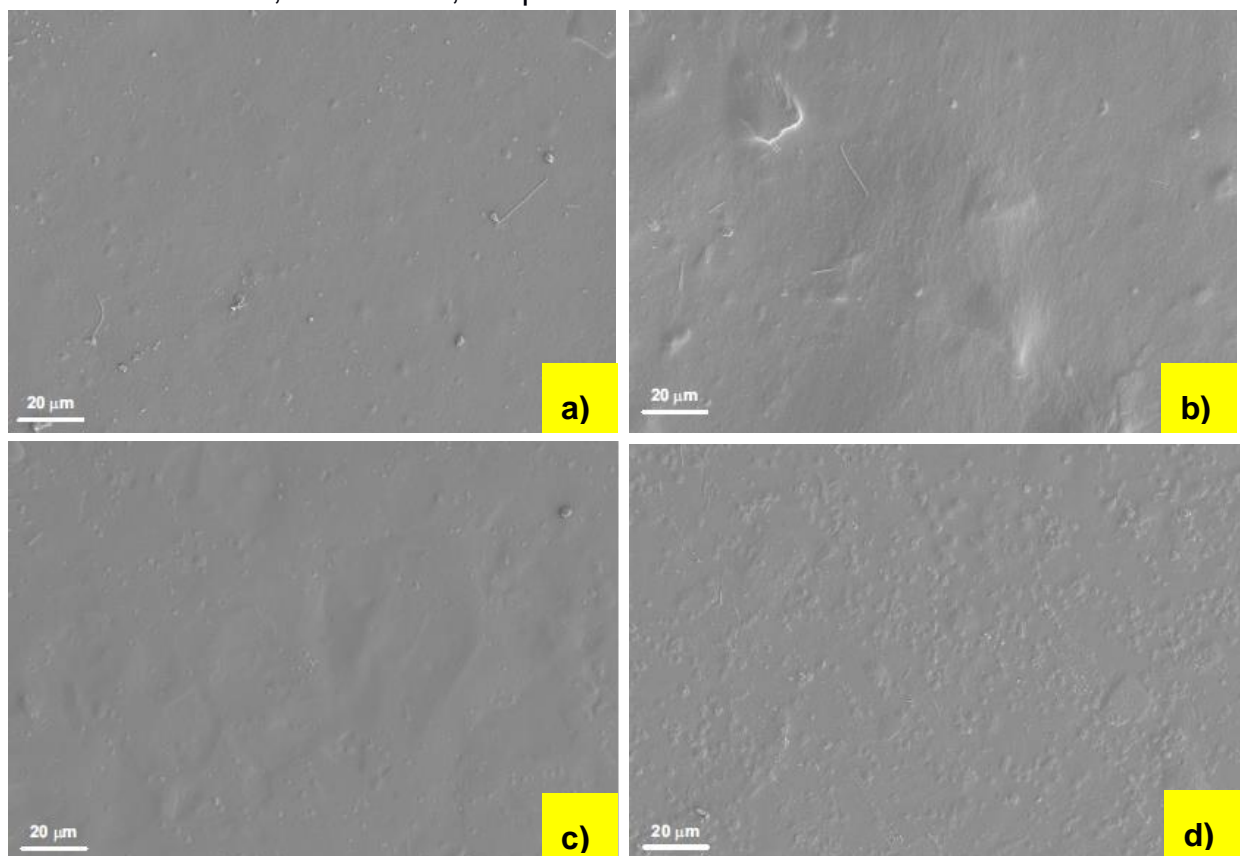
Segundo Kloprogge, Hickey e Frost (2004), os ácidos carboxílicos produzem uma absorção de deformação axial do grupo hidroxila de forma intensa e muito larga na região de $3300 - 2500\text{ cm}^{-1}$. A absorção, muitas vezes, aparece superposta com as vibrações de estiramentos CH que ocorrem na mesma região. Então, a presença de bandas de 3534 cm^{-1} e 3398 cm^{-1} reflete o comportamento característico de ácidos carboxílicos. Estas bandas foram identificadas no filme CNC-0-CA-20, derivadas da presença do CA. Quando os CNC e CA estavam presentes (filme CNC-7,5-CA-20), estas foram encobertas pela banda larga em 3300 cm^{-1} , provavelmente porque o CNC contribuiu para a formação dessa banda.

5.5.7 MEV

As imagens (Figura 54) mostraram, que a presença de CNC não parece alterar a rugosidade da superfície do filme, exceto quando CNC e CA foram adicionados, criando uma superfície visivelmente mais rugosa, possivelmente induzida pela formação de alguns complexos entre o CA e a celulose.

Como efeito, um aumento na área superficial das nanopartículas presentes no bionanocompósito reticulado pode ocorrer a modificação da estrutura da matriz polimérica, o que resulta em um aumento do módulo de elasticidade e na dureza da amostra e, possivelmente, na alteração no grau de cristalinidade. Nanopartículas menores podem agir como sítios de nucleação, de acordo com os resultados obtidos por Edwards e autores (2002).

Figura 54 - Fotomicrografias do MEV de (a) Filme controle da pectina; (b) filme de pectina com 7,5% de CNC; (c) Filme de pectina com CA a 20%; (d) filme de pectina com CA a 20% e 7,5% de CNC, em peso.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

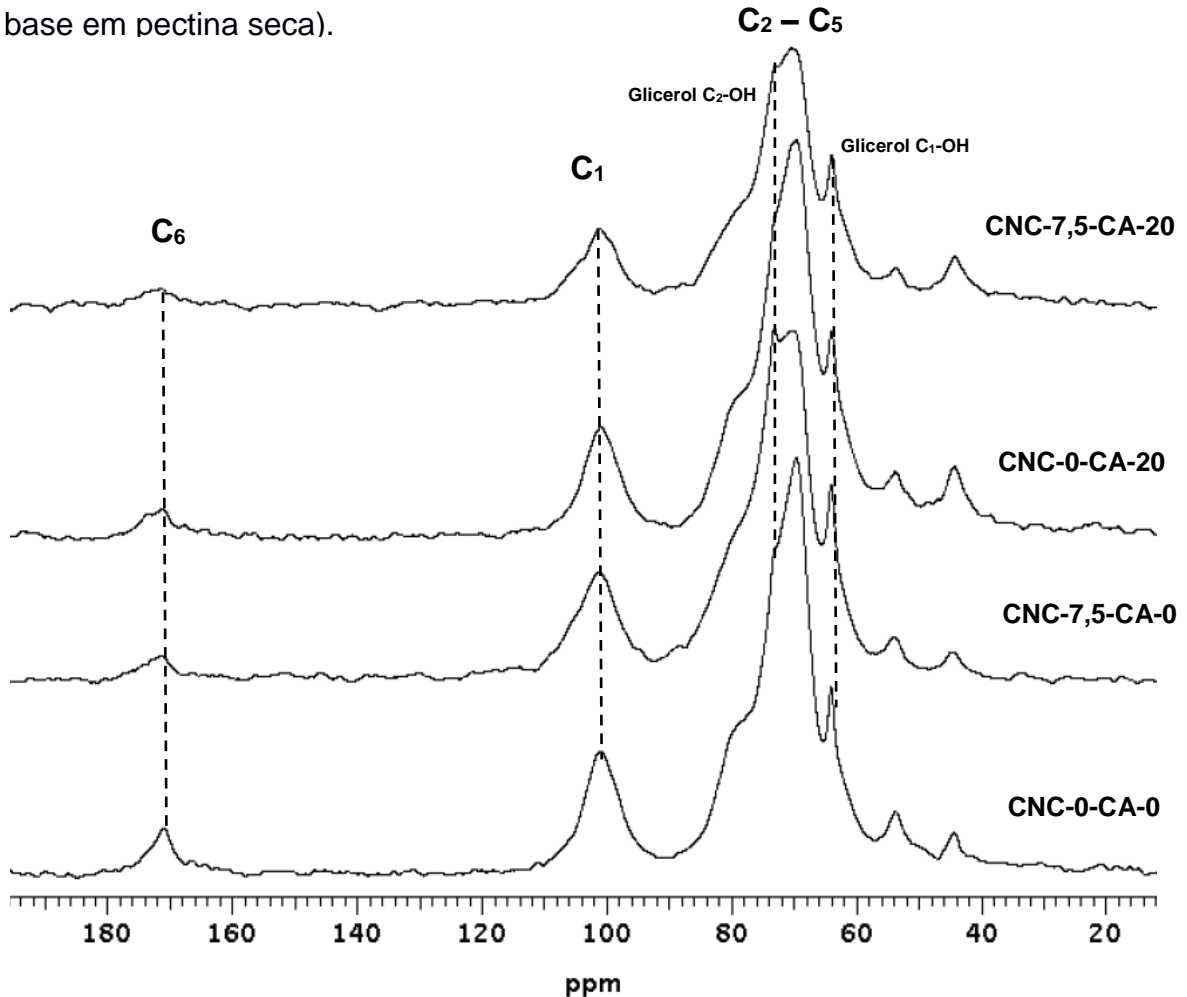
As nanopartículas passam a ocupar os poros dos filmes aumentando sua compactação, funcionando como um mecanismo de reforço. Lorevice et al. (2016) também relataram uma diminuição na quantidade de poros em filmes de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), um éter de celulose onde os hidrogênios e os grupos hidroxilas da celulose foram parcialmente substituídos por alquil ou por grupos alquil substituídos, para modificar as características da celulose nativa e polpa de mamão, quando a estes foram adicionadas as nanopartículas de quitosana. Resultados semelhantes foram reportados por Hosseini et al. (2015) e Huq et al. (2012) em matrizes de alginato e celulose microcristalina (CMC).

Portanto, ao observar as fotomicrografias da Figura 54 foi possível constatar as nanopartículas espalhadas na matriz do filme funcionando como agentes de reforço, além de diminuírem a interação da matriz com a água, tornaram o filme mais hidrofóbico. Esta característica é de primordial importância para a área de aplicação em embalagens.

5.5.8 RMN ¹³C - CP/MAS

O perfil espectral de filmes de RMN ¹³C - CP/MAS, no estado sólido, foi mostrado na Figura 55. Os espectros de RMN ¹³C são compostos, principalmente, de sinais de pectina com o C₆ das unidades de ácido galacturônico, que variaram no intervalo de 165,5-178,5 ppm; C₁ da porção anomérica em 93,3-112,0 e os átomos de carbono restantes do anel piranosídico em C₂, C₃, C₄, e C₅ em 65,8 a 87,1 ppm (ZHU, LIU, ZHENG, E GAO, 2014). Os espectros para o glicerol foram observados em 64,1 (Glicerol C₁-OH) e 73,2 ppm (Glicerol C₂-OH). O sinal do C₁, perfil específico de análise de celulose, foi utilizado para o estudo dos processos dinâmicos dos filmes em estudo.

Figura 55 - Espectros de RMN ^{13}C - CP/MAS de filmes (identificado como CNC-X-CA-Y; X e Y indicando os teores em percentis de CNC e CA, respectivamente, com base em pectina seca).



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

A técnica de RMN ^{13}C do estado sólido torna-se muito útil no estudo de polímeros associada aos deslocamentos químicos no espectro, muito sensíveis à estrutura e a conformação da molécula, às interações intermoleculares, à troca química, as mudanças de conformação e aos tempos de relaxação. Estes motivos são sensíveis à dinâmica molecular do filme, apresentando importantes efeitos nas propriedades mecânicas e físico-químicas de moléculas, tais como no comportamento de materiais amorfos, condução em polímeros, na contribuição da classificação de alimentos naturais, na classificação de resinas, na caracterização de polissacarídeos etc (COSTA et al., 2003; BHATISTA, 2003; AZEVEDO, 2003).

A dinâmica molecular pode ser caracterizada por experimentos de análise de largura de linha espectral das amostras do presente estudo. O filme da pectina e o glicerol sem os aditivos (CNC-0-CA-0) apresentou o valor da largura da linha espectral de 892,3 Hz. Com a adição de 20% de CA, a largura da linha foi de 822,5 Hz; com 7,5 % de CNC foi para 1088,1 Hz e com 20% de CA e 7,5% de nanocelulose foi para 1235,8 Hz. Observou-se que os nanocristais de celulose tem mais efeito sobre a dinâmica do sistema do que o CA, corroborando com a cinética do mecanismo de polarização cruzada, de acordo com o perfil dos valores plotados na Tabela 13.

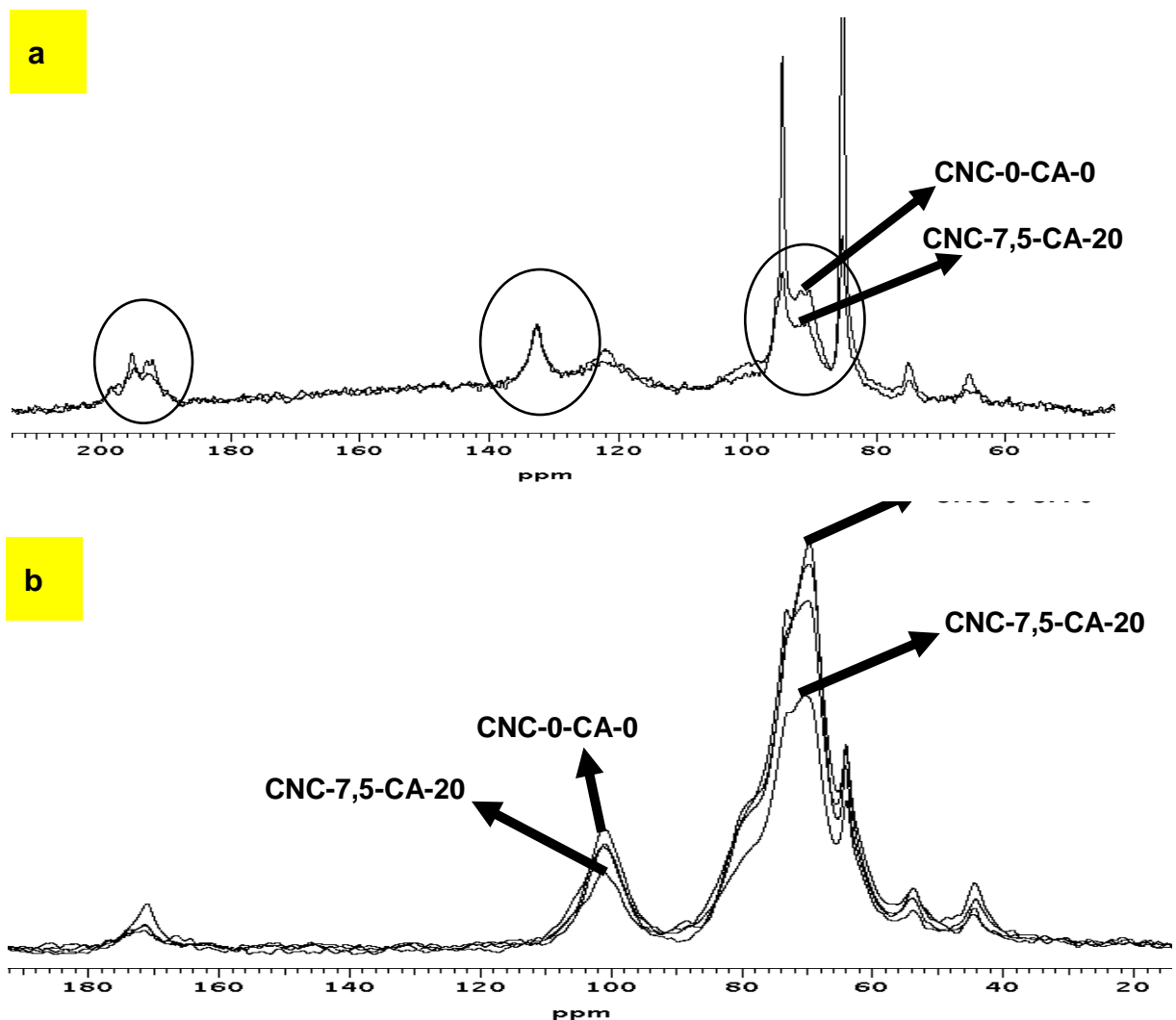
Tabela 13 - Valores das larguras da linha espectral (Hz) dos filmes em estudo identificado como CNC-X-CA-Y, X e Y indicando os teores em percentis de CNC e CA, respectivamente, com base em pectina seca).

Amostras	Largura da linha espectral (Hz)
CNC-0-CA-0	892,30
CNC-7,5-CA-0	1088,10
CNC-0-CA-20	822,50
CNC-7,5-CA-20	1235,80

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

Os espectros de CP/MAS (Figura 56) mostraram a redução dinâmica do sinal em 98 ppm, 70 ppm e em 170 ppm que ocorre, principalmente, com a adição simultânea de CNC e CA nos filmes. Estes dados comprovam o enrijecimento das cadeias poliméricas. Através da comparação sobreposta dos dados torna-se possível visualizar mais claramente a redução da intensidade de sinal para a adição simultânea de CNC na matriz de pectina.

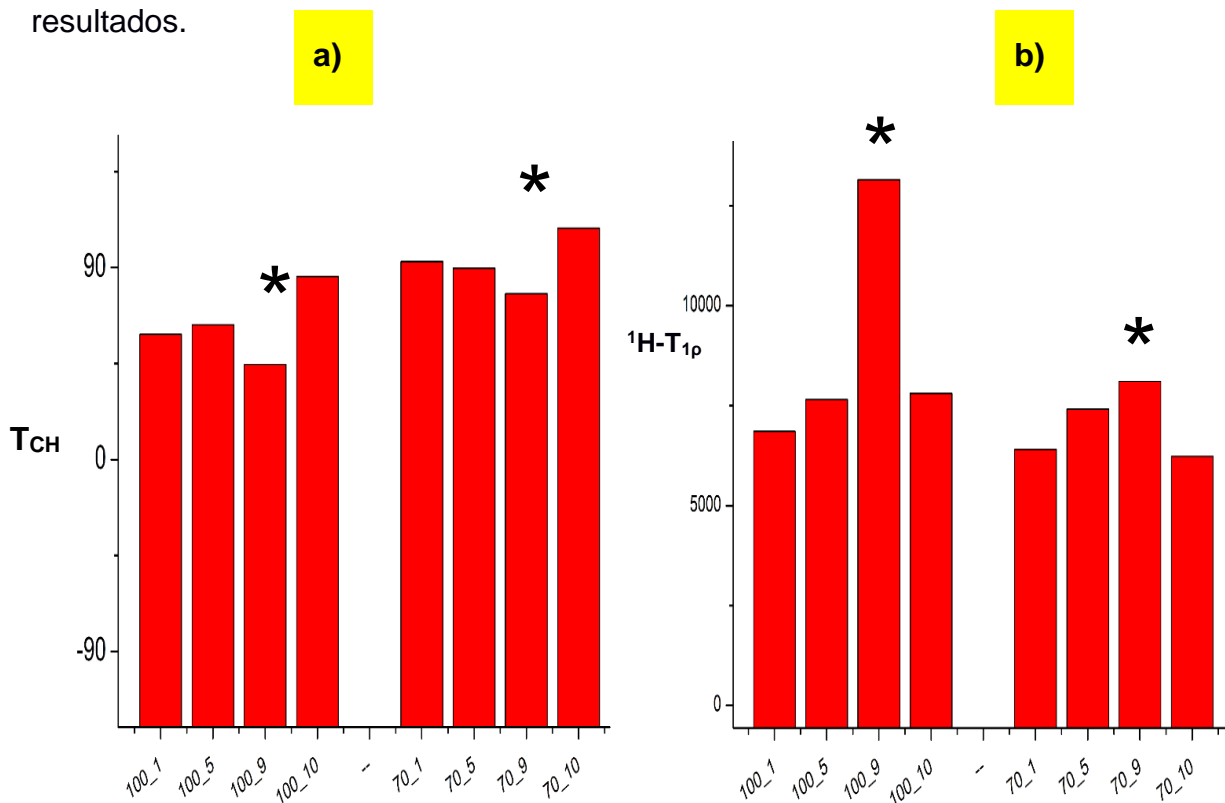
Figura 56 - Espectros de RMN ^{13}C - CP/MAS dos filmes: (a) CNC-0-CA-0 e CNC-7,5-CA-20; (b) Sobreposição para comparação dos dados.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

O mecanismo mais eficaz para a transferência de polarização associa-se ao efeito com menor tempo de contato necessário, T_{CH} , e foi observado para as filmes contendo CNC e CA (condição de nº 9 assinalado pelo asterisco, Figura 57) (44,7ms, Tabela 14), em relação as demais condições indicando o conjunto de componentes para uma estrutura complexa, onde foi confirmada a redução da dinâmica do sistema, caracterizando o enrijecimento das cadeias mostrados na Figura 56, o que explica os efeitos crescentes do módulo elástico e decrescente de alongação nos filmes com CNC e CA.

Figura 57 – Gráficos: a) T_{CH} e b) $^1H-T_{1\rho}$ a partir da dinâmica de transferência de polarização. Legenda: 100: sinal a 100 ppm; 70: sinal a 70 ppm. **1**-Controle; **5**: 7,5% CNC; **9**: 7,5% CNC e 20% de CA e **10**: 20% de CA; *: Amostra com os melhores resultados.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR

A Tabela 14 mostrou o perfil inversamente proporcional de T_{CH} e o $^1H-T_{1\rho}$, tempo de relaxação de spin-rede de prótons na estrutura rotativa ($^1H-T_{1\rho}$) obtido a partir do experimento de VCT, os quais foram obtidos por meio de um ajuste

exponencial dos dados. O $^1\text{H-T}_{1\rho}$ que investiga os movimentos mais lentos, na faixa média dinâmica de kHz, aumentou com CNC e CA (13,15s), em relação as outras condições, como o CNC-0-CA-0 (filme controle) com o valor obtido de 6,8s. Este efeito de incremento está associado, provavelmente, à difusão de spin eficiente dentro da celulose cristalina e ao aumento das interações intermoleculares do tipo dipolo-dipolo (MORGADO, 2009).

Tang e autores (2010) apresentaram dados referentes a esses efeitos mencionados, sugerindo que o CA e CNC têm um efeito sinérgico resultante da combinação desses dois aditivos, com a redução da dinâmica do polímero, e pode ser usado como agentes de reforço. Além disso, a técnica de RMN ^{13}C do estado sólido torna-se uma ferramenta valiosa para estudos dinâmicos de biopolímeros pécticos, de acordo com os estudos de Ferreira (2008) com polpa de cupuaçu e de Denari (2014) com complexos de quitosana/gelatina em L-ácido láctico.

Tabela 14 - Tempo de Contato (T_{CH}) e tempos de relaxação spin-rede de prótons na janela de variação ($^1\text{H-T}_{1\rho}$) de alguns filmes.

Filmes*	T_{CH} (ms)	$T_{1\rho}$ (s)
CNC-0-CA-0	58,6	6,8
CNC-7,5-CA-0	63,2	7,6
CNC-0-CA-20	85,78	7,8
CNC-7,5-CA-20	44,47	13,15

* Filmes identificados como **CNC-X-CA-Y**, **X e Y** indica os nanocristais de celulose e teores de CA (%) baseado na pectina seca.

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

5.5.9 DRX

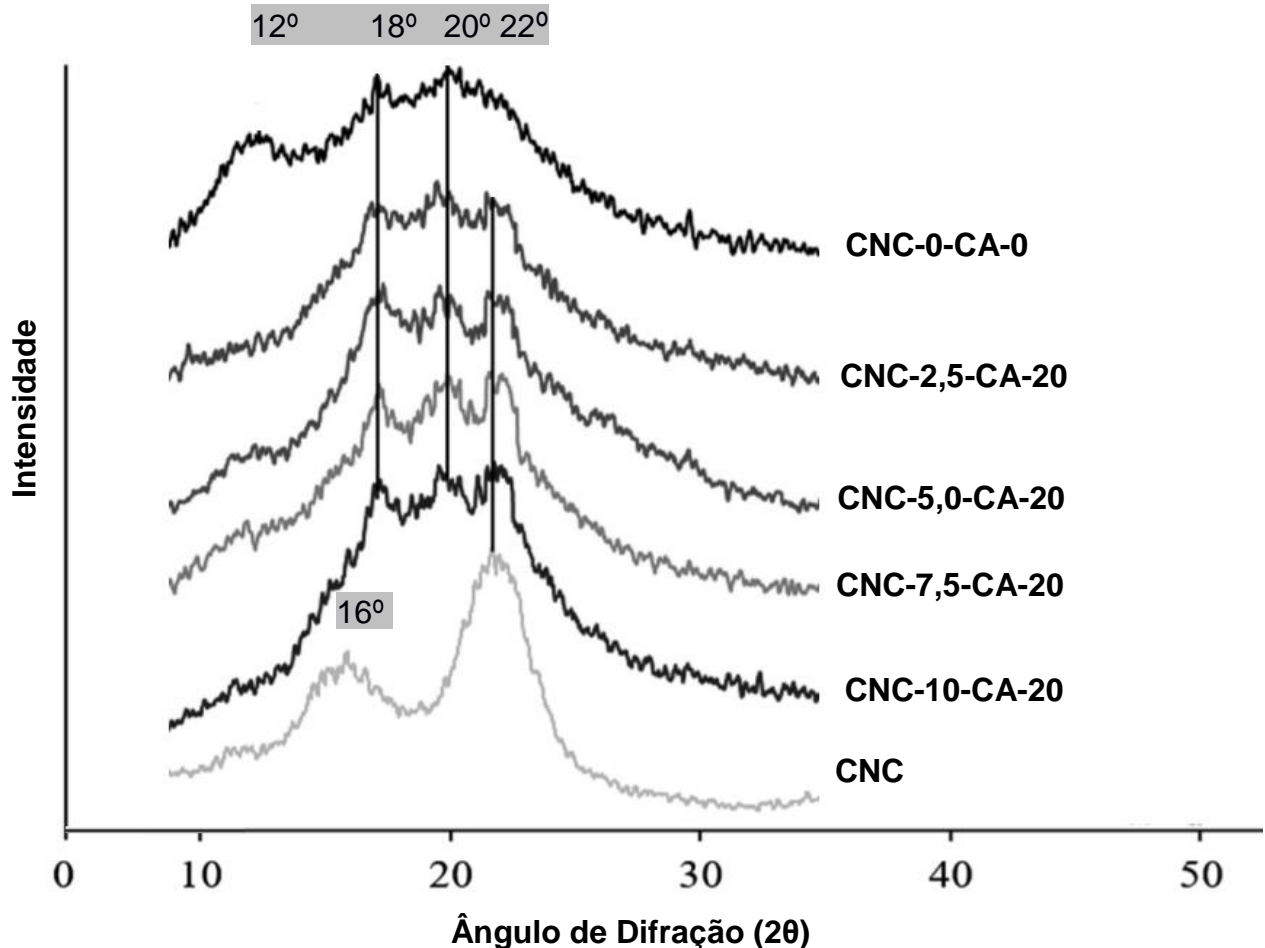
A Figura 58 exibiu os difratogramas de Raios-X dos filmes controle (CNC-0-CA-0), com a presença de CNC em diversas proporções, de acordo com a metodologia abordada, e o perfil cristalográfico de CNC.

Para determinar a cristalinidade dos CNC e as amostras os filmes em estudo da área sob os picos cristalinos, foi preciso conhecer a área referente à banda amorfa da celulose, o que poderia ser conseguido através da análise de uma amostra de celulose 100% amorfa, segundo Park et al. (2010). Isso não foi realizado no presente trabalho, e optou-se por avaliar mudanças na cristalinidade das amostras comparativamente, através de uma relação entre a intensidade de picos conforme o método de Segal (Equação 19, pág.102), como descrito na metodologia, e amplamente empregado para a análise da cristalinidade dos nanocristais de celulose. Sendo assim, os índices de cristalinidade (I_c) de CNC, a partir de cascas de banana foram calculados considerando a razão entre a altura do pico cristalino mais intenso da celulose nos planos cristalográficos (002), a 22° (I_1), e a altura do mínimo entre os picos nos planos (002) e (101), relacionada à banda amorfa, em torno de 16° (I_2).

O valor obtido de I_c foi de 70%. Logo, o principal objetivo da hidrólise ácida foi reduzir as partículas da escala micrométrica (CMC) para a escala nanométrica (CNC), o que foi comprovado pela análise de MET (Figura 54, pág.141). Pequenas variações na cristalinidade avaliadas por raios-X, para materiais de mesma origem, também podem ser causadas por efeitos de superfície, dependendo da forma geométrica das amostras. Li et al. (2009) e Tibolla et al. (2018) apresentaram resultados inferiores de I_c para os CNC de mesmo material de partida do presente estudo.

O filme sem CNC (apenas o substrato ou controle) apresentou um perfil de DRX com picos a 12° , 18° e 20° para os planos cristalográficos característicos da pectina (100, 101 e 020, respectivamente), polissacarídeo base para a formação da matriz do bionanocompósito (BERTOTI et al., 2009; SPYNACÉ et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2010).

Figura 58 - Os espectros de DRX dos filmes (identificado como CNC-X-CA-Y, X e Y indica o teor por cento de CNC e CA, respectivamente, com base em pectina seca) com os referidos ângulos de difração.



Fonte: PRÓPRIO AUTOR.

A adição de CNC à matriz a base de pectina, forneceu um pico a $2\theta=22^\circ$, em relação ao padrão DRX de celulose I. Por isso, os nanocristais de celulose mantiveram a sua cristalinidade dentro da matriz, ou seja, a estrutura cristalina original da celulose, de maior resistência mecânica, foi mantida nos nanocristais após a hidrólise ácida para a incorporação nos filmes, tornando o processo químico de extração eficaz. O pico amplo a $2\theta = 12^\circ$ estava ausente, o que foi sugerido a ocorrência de mudanças na estrutura dos nanocompósitos. Os resultados obtidos

foram confirmados por Llanos e Tadini (2018) na obtenção de filmes bionanocompósitos.

Os filmes contendo ambos aditivos, CNC e CA, exibiram ângulos de difração (2θ): 18°, 20 e 22°, com os planos cristalográficos (101), (002) e (040), respectivamente. Os índices de cristalinidade foram calculados para os materiais em diferentes proporções de nanocristais de celulose (Tabela 15). Os valores obtidos confirmaram a atuação sinérgica entre os CNC, CA e pectina nas propriedades dos filmes desenvolvidos, proporcionando um aumento de I_c , de acordo com os estudos de Morelli (2016).

Tabela 15 - Valores de I_c para as amostras de filmes analisadas.

Amostra	I_c (%)
CNC-0-CA-0	15
CNC-2,5-CA-20	22
CNC-5,0-CA-20	25
CNC-7,5-CA-20	29
CNC-10-CA-20	22
CNC	70

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

O I_c aumentou, em um máximo de 7,5% de CNC, e apresentou um decréscimo a partir de 10% de CNC. Este efeito pode ser confirmado pelos resultados das propriedades físico-químicas, como a resistência à tração e alongação, que apresentaram perfis opostos para os filmes com maior concentração de CNC. Isso pode ser associado à agregação e a autocondensação dos nanocristais em concentrações mais altas e, portanto, tornando espaços vazios no

filme bionanocompósito. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Reddy e Rhim (2014) e Mandal e Chakrabarty (2015).

Os perfis obtidos caracterizam-se pela influência da reticulação (formação das ligações cruzadas) do CA com o substrato, na presença do agente de reforço (CNC), confirmando através do aumento do grau de I_c , um dos fatores que comprova o enrijecimento do filme, conferindo maior resistência à tração e as propriedades mecânicas melhoradas dos filmes bionanocompósitos associados aos resultados obtidos dos ensaios mecânicos (TANOBE et al., 2005). Fatores como a umidade relativa do armazenamento, formulação do filme, composição química, tamanho e a cristalinidade das fibras utilizadas como reforço afetam o I_c desses materiais.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O potencial de utilização dos resíduos do processamento de fibras de cascas de banana foi investigado em sua composição química, onde foi possível observar que a presença de pectina e celulose foram relevantes para a realização dos processos metodológicos, a fim de se obter os filmes bionanocompósitos.

As pectinas foram extraídas a partir da casca de banana com CA, sob diferentes condições de pH, temperatura e tempo de extração. Condições severas de temperatura e de pH resultou em um rendimento mais elevado de extração em um perfil de diminuição do grau de metoxilação, no intervalo a partir de 79% (máximo) até 43% (mínimo). As condições adequadas da extração, definidas como aquelas que produziram um rendimento máximo de ácido galacturônico, mantendo um grau de metoxilação de, pelo menos, 51% foram de: 87°C, 160 min e pH 2,0.

Filmes bionanocompósitos a partir da pectina e dos nanocristais de celulose (CNC) de cascas de banana foram obtidos com sucesso, com ou sem a adição de CA. Os nanocristais apresentaram um valor médio de razão de aspecto (L/d) por volta de 58, superior aos relatados na literatura para outras fibras vegetais. Os teores de CNC em torno de 5% em peso nos filmes, apresentaram-se com as melhores propriedades de tração, resistência à água e barreira de vapor de água.

A ocorrência de reticulação entre o CA e a pectina foi confirmada por espectros de FTIR e de uma melhoria das propriedades dos filmes resultantes da presença de CA. Além disso, o CA, pode ter se ligado covalentemente à CNC, conforme observado pelo aumento do grau de cristalinidade, e no teor de CNC, em um máximo, de 7,5%. A adição simultânea de CA e CNC provocou um efeito sinérgico e promoveu um enrijecimento das cadeias de pectina, de acordo com os resultados de RMN ¹³C no estado sólido e Difração de Raios-X;

A solubilidade em água dos filmes apresentou uma redução com a adição de CNC e CA, através de um efeito sinérgico. Embora os resultados obtidos apresentaram valores elevados, os filmes bionanocompósitos devem ser usados para aplicações que não necessitam de uma alta resistência à água, como por

embalagem primária para produtos que serão protegidos da umidade por uma embalagem secundária, como em aplicação para sachês de chá, sopa, café etc.

O efeito da melhoria das propriedades mecânicas e de barreira dos filmes elaborados neste estudo pode ser atribuído ao fenômeno de percolação mecânica dos nanocristais de celulose e à formação de uma rede contínua da nanocelulose, ligada por interações de hidrogênio, devido a uma boa dispersão dos nanocristais na matriz, o que indica uma boa interação entre os componentes do filme.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O fim dessa tese de doutorado foi dado pelo tempo e não pelo esgotamento do assunto. Sendo assim, são muitas as possibilidades para trabalhos futuros, e aqui menciono as atividades que estão em andamento e as posteriores:

- Caracterizações complementares dos filmes obtidos a partir de cascas de banana, através da Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), DMA (Análise Dinâmico-Mecânica), dentre outras técnicas que possam extrair mais informações a cerca dos materiais obtidos.
- Avaliar o potencial de biodegradabilidade dos filmes obtidos, conforme a legislação pertinente para embalagens.

REFERÊNCIAS

- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96-05. In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2005.
- _____. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-09. In *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2009.
- AZEREDO, H.M.C. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International* 42, 1240-1253, 2009.
- AZEREDO, H.M.C., Miranda, K.W.E., Rosa, M.F., Nascimento, D.M., De Moura, M.R. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. *LWT – Food Science and Technology* 46, 294-297, 2012.
- AZEREDO, H.M.C., KONTOU-VRETTOU, C., MOATES, G.K., WELLNER, N., CROSS, K., PEREIRA, P.H.F.; WALDRON, K.W. Wheat straw hemicellulose films as affected by citric acid. *Food Hydrocolloids*, 50, 1–6, 2015.
- AZEVEDO, E.R., et al., Motional Heterogeneities in Siloxane/Poly(ethylene glycol) Ormolyte Nanocomposites Studied by ¹³C NMR Solid-State Exchange NMR. *Chem. Mater.* 15,10, p. 2070-2078, 2003.
- BALAGUER, M.P., GÓMEZ-ESTACA, J., GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Functional properties of bioplastics made from wheat gliadins modified with cinnamaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6689–6695, 2011.
- BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J. Edible coatings and films to improve food quality. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press. 448p., 2012.
- BAN, W.; SONG, J.; ARGYROPOULOS, D. S.; LUCIA, L. A. Influence of natural biomaterials on the elastic properties of starch-derived films: an optimization study. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, v. 45, p. 627-633, 2006.
- BARDET, R., BELGACEM, M.N. Bras, J. Different strategies for obtaining high opacity films of MFC with TiO₂ pigments. *Cellulose*, 20, 3025–3037, 2013.
- BATHISTA, A.L.B.S., et al. Estudo de Compostos Híbridos Orgânico/Inorgânicos Condutores Iônicos por RMN do Estado Sólido. In: VI Simpósio em Ciência e Engenharia de Materiais. São Carlos. 2003.
- BCC RESEARCH. Global markets and technologies for bioplastics. 2012. Disponível em: <<http://www.bccresearch.com/report/bioplastics-markets-technologies-pls050b.html>>. Acesso: 17.05.2016

BCC RESEARCH. BCC Research publishes a new report on global markets for biodegradable polymers. 2013. Disponível em: <<http://www.bccresearch.com/pressroom/pls/global-volume-biodegradable-polymers-market-reach-3-billion-2019>>. Acesso em: 17.05.2016.

BELLANI, C.F.; MORELLI, C.L.; FERRAND, A.; BENKIRANE-JESSEL, N.; BRETAS, R.E.S.; BRANCIFORTI, M.C. Osteoblast growth in PBAT and PCL films reinforced with cellulose nanocrystals. Submitted to International Journal of Biological Macromolecules, 2014.

BENNAR, P. Polpação Acetosolv de Bagaço de Cana e madeira de Eucáipto. Dissertação de mestrado em Química (Departamento de Química Inorgânica), 1992. Blog. Disponível em :<<http://detalhesdaciacao.wordpress.com/2010/09/27/de-onde-vem-oalgodao/>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

BJÖRKMAN, A. Studies on finely divided wood. Part I. Extraction of lignin with neutral solvents. *Svensk Papperstidning*, 13, 477-485, 1956.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO F.O. Química do Processamento de Alimentos. 3ª Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p 72-79.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2010,26 de novembro). *Resolução no 51 de 26 de novembro de 2010. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos a entrar em contato com alimentos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. (2012,04 de abril). *Portaria no 245 de 05 de abril de 2012. Instituição do Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologia*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília. Seção I, p. 5.

BRASIL. (2013, 13 de março). *Projeto de Lei 5133/2013. Regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

CAFFALL, K. H.; MOHNEN, D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydrate Research*, v. 344, n. 14, p. 879-1900, 2009.

CALLISTER JUNIOR, W. D.; RETHWISCH, D.G. Ciência e Engenharia dos. Materiais: Uma Introdução, 8a ed., Rio de Janeiro, LTC, 2012.

CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. *Polímeros*, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

CARVALHO, M.G.V.S. Comparação das cinéticas de branqueamento no estágio final de peróxido de hidrogênio das sequências de branqueamento DEoPDP e OQ(PO)DP. O PAPEL, 70, p. 56-58, 2009.

CHAN, S.-Y.; CHOO, W.-S. Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141, 3752-3758, 2013.

CHAUDHRY, Q.; SCOTTER, M.; BLACKBURN, J.; ROSS, B.; BOXALL, A.; CASTLE, L., AITKEN, R.; WATKINS, R. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25(3), 241 -258, 2008.

CHEMICALBOOK, CAS DataBase List. Citric acid. Disponível em:<
http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB9854361.htm>.
Acesso em:11.06.2016.

CHO, M.-J.; PARK, B.-D. Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 17, 36-40, 2011.

CLIFFORD, C.B. *Alternative Fuels from Biomass Sources*. 1ed. Pennsylvania: Energy Institute, 2011.

CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; VOGET, C. E.; VITA, C. E.; ESPINOZA-PEREZ, J. D.; RENARD, C. M. G. C. Enzymatic extraction of lemon pectin by endopolygalacturonase from *Aspergillus niger*. *Food Sci. Biotech.*, v. 15, p. 163–167, 2006.

COSTA, P.M., et al. Solution and Solid State NMR Characterization of Fruit Seed Starches. in IX Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear. Angra dos Reis: AUREMN, 2003.

CRUZ, R.R.M. O uso do metabissulfito de sódio na criação de camarão marinho em cativeiro e seu perigo para o trabalhador e o meio ambiente. Monografia de Especialização em Gestão Ambiental, Universidade de Fortaleza, 46 p., Fortaleza, 2014.

CURVELO, A. A. S. Processo de deslignificação organossolve. 1992. 94f. Tese (Livre Docência) – Instituto de Física e Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

DANIEL, G. Use of electron microscopy for aiding our understading of wood biodegradation. *FEMS Microbiol. Rev.* 1994, 13, 199.

DUFRESNE, A. (2012). *Nanocellulose: From nature to high performance tailored materials*. Walter de Gruyter, Berlin. 475p, 2012.

DUXBURY, D. Pectin on your label can take fat off your table. *Food Processing*, Chicago, vol 52, 1991.

EDWARDS, J.V., EGGLESTON, G., YAGER, D.R., COHEN, I.K., DIEGELMANN, R.F.; BOPP, A.F. Design, preparation and assessment of citrate-linked monosaccharide cellulose conjugates with elastase-lowering activity. *Carbohydrate Polymers*, 50, 305–314, 2002.

EU. Commission Regulation. 2011. *EU no 10/2011. On plastic materials and articles intended to come in contact with food*. Official Journal of the European Union. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2011R0010:2.0111230:EN:PDF>>. Acesso em: 06 mar. 2018.

European Food Safety Authority – EFSA. Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and, nanotechnologies in the food and feed chain. *The EFSA Journal*, 9(5), 1-36, 2011.

EMAGA, T.H., ROBERT, C., RONKART, S.N., WATHELET, B., PAQUOT, M. (2008). Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. *Bioresource Technology* 99, 4346-4354, 2008.

FAVIER, V.; DENDIEVEL, R.; CANOVA, G.; CAVAILLE, J.Y.; GILORMINI, P. Simulation and modeling of three-dimensional percolating structures: case of a latex matrix reinforced by a network of cellulose fibers. *Acta Materialia*, v. 45, n. 4, p. 1557-1565, 1997.

FENGEL, D.; WEGENER, G. *Wood: Chemistry. Ultrastructure. reactions*. Walter de Gruyter: Berlin, 1984.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. *FAO statistical year book 2015*. Roma: FAO, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107.PDF>>. Acesso: 13.06.2016.

FSAI. Food Safety Authority Of Ireland. 2015. *Nanotechnology and food*. Disponível em: <<https://www.fsai.ie/nanotechnologyandfood.html>>. Acesso em: 06 mar 2018.

GEORGE, J.; SABAPATHI, S.N. Cellulose nanocrystals: synthesis, functional properties, and applications. *Nanotechnology, Science and Applications*, 8, 45—54, 2015.

GUSTAVSSON J.; CEDERBERG, C.; SONESSON, U.; OTTERDIJK, R. A. M. V. Global food losses and food waste: Extent, causes and prevention. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, 2011.

HABIBI, Y.; LUCIA, L.A. ROJA, O.J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry. Self-Assembly and Applications. *Chem. Rev.*, v. 110, p. 3479–3500, 2010.

HOSSAIN, S.; DAVOUDPOUR, Y.; KHALIL, H.P.S.A. ; HAAFIZ, M.K.M. Z.A.M. ; ISHAK, A. *Ind. Crops Prod.* 74, 381, 2015.

EMAGA, H.; ROBERT, T.; RONKART, C.; WATHELET, S.N.; PAQUOT, M. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. *Bioresource Technology*, 99, 4346-4354, 2008.

IOELOVICH, M. Specific Conditions for Isolation Nano-Crystalline Cellulose Particles. Anais Tappi International Conference, Canadá, 2012.

IRISSIN-MANGATA, J., BAUDUIN, G., BOUTEVIN, B.; GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. *European Polymer Journal*, 37, 1533–1541, 2001.

ISTIROKHATUN, T.; ROKHATI, N.; RACHMAWATY, R.; MERIYANI, M.; PRIYANTO, S.; SUSANTO, H. Cellulose Isolation from Tropical Water Hyacinth for Membrane Preparation. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 274 – 281, 2015.

JARVIS, M. C. Plant cell walls: supramolecular assemblies. *Food Hydrocolloids*, v. 25, n. 2, p. 257-262, 2011.

JOLIE, R. P.; CHRISTIAENS, S.; DE ROECK, A.; FRAEYE, I.; HOUBEN, K.; VAN BUGGENHOUT, S.; VAN LOEY, A. M.; HENDRICKX, M. E. Pectin conversions under high pressure: Implications for the structure-related quality characteristics of plant-based foods. *Trends in Food Science and Technology*, v. 24, n. 2, p. 103-118, 2012.

KOUBALA, B.B., CHRISTIAENS, S., KANSCI, G., VAN LOEY, A.M.; HENDRICKX, M.E. Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin. *Food Research International*, 55, 215-221, 2014.

LIDE, D. R. CRC handbook of chemistry and physics. Boca Raton: CRC Press, 2003.

LIN, N., DUFRESNE, A. Surface chemistry, morphological analysis and properties of cellulose nanocrystals with gradiented sulfation degrees. *Nanoscale*, 6, 5384–5393, 2014.

LI, H. Y.; SUN, S. N.; WANG, C. Z.; SUN, R. C. Structural and dynamic changes of lignin in Eucalyptus cell walls during successive alkaline ethanol treatments. *Industrial Crops and Products*, v.74, p.200–208, 2015.

LIU, D.Y.; YUAN, X.W.; BHATTACHARYYA, D.; EASTEAL, A.J. Characterisation of solution cast cellulose nanofibre – reinforced poly(lactic acid). *EXPRESS Polymer Letters*, v. 4, n. 1, p. 26–31, 2010.

LOPES, A. M. C.; JOÃO, K. G.; RUBIK, D.; BOGEL-LUKASIK, E.; ANDREAUS, J.; DUARTE, L.C.; BOGEL-LUKASIK, R. Pretreatment of lignocellulosic biomass using ionic liquids: Wheat straw fractionation. *Bioresource Technology*, v.142, p. 198-208, 2013.

LOREVICE, M.V., OTONI, C.G., MOURA, M.R.; MATTOSO, L.H.C. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. *Food Hydrocolloids*, 52, 732–740, 2016.

LOUREIRO, P.E.G.; ANTUNES, J.M.C.; FERREIRA, L.M.G.A.; EVTUGUIN, D.V.; LUPI, F. R.; SHAKEEL, A.; GRECO, V.; ROSSI, C. O.; BALDINO, N.; GABRIELE, D.; Estudo dos efeitos do branqueamento na retenção de caulim e nas propriedades do papel. *Mater. Sci. Eng., C*, 69, 358, 2016.

LV, W.J.; XUE, C.Y.; CAO, C.Y.; ZHANG, Y. Lignin distribution in wood cell wall and its testing methods. *J Beijing Univ.* 32(1):136–41. 2010.

MANRIQUE, G.D.; LAJOLO, F.M. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 99-107, 2002.

MARCOTT, C., LO, M., KJOLLER, K., FIAT, F., BAGHDADLI, N., BALOOCH, G., LUENGO, G.S. Localization of human hair structural lipids using nanoscale infrared spectroscopy and imaging. *Applied Spectroscopy*, 68, 564–569, 2014.

MATOS, A. T. Tratamento e Aproveitamento Agrícola de Resíduos Sólidos. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 2014.

MENDES, CA.C.; FERREIRA, N.M.S.; FURTADO, C.R.G.; SOUSA, A.M.F. Isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from corn husk. *Mater. Lett.* 148, 26, 2015.

MENDGEN, K.; DEISING, H. Infection structures of fungal plant pathogens. *New Phytol.*, 124, 193, 1993.

MORAIS, J.P.S., ROSA, M.F., SOUZA FILHO, M.S.M., NASCIMENTO, L.D., NASCIMENTO, D.M.; CASSALES, A.R. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. *Carbohydrate Polymers*, 91, 229–235. 2013.

MORELLI, C.L., BELGACEM, M.N., BRANCIFORTI, M.C., BRETAS, R.E.S., CRISCI, A.; BRAS, J. Supramolecular aromatic interactions to enhance biodegradable film properties through incorporation of functionalized cellulose nanocrystals. *Composites: Part A*, 83, 80-88, 2016.

MOON, R.J., MARTINI, A., NAIRN, J., SIMONSEN, J., YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* 40, 3941–3994, 2011.

NASCIMENTO, D.M., ALMEIDA, J.S., DIAS, A.F., FIGUEIRÊDO, M.C.B., MORAIS, J.P.S., FEITOSA, J.P.A.; ROSA, M.F. A novel green approach for the preparation of cellulose nanowhiskers from white coir. *Carbohydrate Polymers*, 110, 456–463, 2014.

NRC (National Research Council). Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Disposal of Chemicals. Washington, DC: National Academy Press, 1995.

OBEROI, H.S.; SANDHU, S.K.; VADLANI, P.V. Statistical optimization of hydrolysis process for banana peels using cellulolytic and pectinolytic enzymes. *Food and Bioproducts Processing* 90, 257-265, 2012.

OH, S.Y., YOO, D.I., SHIN, Y., KIM, H.C., KIM, H.Y., CHUNG, Y.S., PARK, W.H.; YOUK, J.H. Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 340, 2376–2391, 2005.

OLIVEIRA, T.I.S., ZEA-REDONDO, L., MOATES, G.K., WELLNER, N., CROSS, K., WALDRON, K.W.; AZEREDO, H.M.C. Pomegranate peel pectin films as affected by montmorillonite. *Food Chemistry*, 198, 107—112, 2016.

OLIVEIRA, T.I.S., ROSA, M.F., CAVALCANTE, F.L., PEREIRA, P.H.F., MOATES, G.K., WELLNER, N., MAZZETTO, S.E., WALDRON, K.W.; AZEREDO, H.M.C. Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chemistry*, 198, 113—118, 2016.

ORDOÑEZ-PEREDA, J. A. Tecnologia dos alimentos: componentes dos alimentos e processos. São Paulo: Artmed, 2005.

OUN, A.A.; RHIM, J.W. Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose nanofibril composite films. *Carbohydrate Polymers*, 127, 101–109, 2015.

PANDEY, J.K.; LEE, C.S.; AHN, S.H. Preparation and Properties of ioNanoreinforced Composites from Biodegradable Polymer Matrix and Cellulose Whiskers. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 115, p. 2493-2501, 2010.

PARK, S.; BAKER, J.O.; HIMMEL, M.E.; PARILLA, P.A.; JOHNSON, D.K. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, v. 3, n.10, p.1-10, 2010.

PBMH e PIF. Programa Brasileiro para a modernização da horticultura e produção integrada de frutas. Normas de Classificação de Banana. São Paulo: CEAGESP, 2006.

PELISSARI, F.M. M.M.; ANDRADE-MAHECHA, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. Characterization of tea catechins-loaded nanoparticles prepared from chitosan and an edible polypeptide. *Food Hydrocoll.* 30, 681, 2014.

PENG, X., MU, T., ZHANG, M., SUN, H., CHEN, J.; YU, M. Effects of pH and high hydrostatic pressure on the structural and rheological properties of sugar beet pectin. *Food Hydrocolloids*, 60, 161-169, 2016.

- PEREIRA, D.R.; OLIVEIRA, J.M.; REIS, R.L.; PANDIT, A.; BIGGS, M.J. Nanocellulose reinforced gellan-gum hydrogels as potential biological substitutes for annulus fibrosus tissue regeneration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 14 (3), 2017.
- RAMÍREZ, M. G. L.; SATYANARAYANA, K. G.; IWAKIRI, S.; DE MUNIZ, G. B.; TANOBE, V.; FLORES-SAHAGUN, T. S. Study of the properties of biocomposites. Part I. Cassava starch-green coir fibers from Brazil. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, n.4, p. 1712-1722, 2011.
- RAMESH K. S.; JAN, B. W.; VICKI, L. B.; XUEHAO, L; CHAN, W. G.; MOHAMMAD, R. H. Characterization of chars from pyrolysis of lignin. *Fuel.*, v.83 p. 1469-1482, 2004.
- ROOHANI, M.; HABIBI, Y.;BELGACEM, N.M.; EBRAHIM, G.; KARIMI,A.N.; DUFRESNE, A. Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites.*European Polymer Journal*, v. 44, p. 2489–2498, 2008.
- RUEDA, L.; SARALEGI, A.; FERNANDEZ-D'ARLAS, B.; ZHOU, Q.;ALONSO-VARONA, A.; BERGLUND, L.A.; MONDRAGON, I.; CORCUERA, M.A.; ECEIZA, A. In situ polymerization and characterization of elastomeric polyurethane-cellulose nanocrystal nanocomposites. Cell response evaluation. *Cellulose*, v. 20, p. 1819-1828, 2013.
- SARKANEN, K. V.; LUDWIG, C. H. Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions. New York: Wiley Science, 1971.
- SATYANARAYANA, K. G.; ARIZAGA, G. G. C.; WYPYCH, F. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers — An overview. *Progress in Polymer Science*, v. 34, p. 982–1021, 2009.
- SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN, A.E.; CONRAD, C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, v. 29, 786-794, 1959.
- SELIGRA, P.G., JARAMILLO, C.M., FAMÁ, L.; GOYANES, S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydrate Polymers*, 138, 66–74, 2016.
- SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.
- SILVA, C. G.; GRELIER, S.; PICHAVANT, F.; FROLLINI, E.; CASTELLAN, A. Adding value to lignins isolated from sugarcane bagasse and Miscanthus. *Industrial Crops and Products.*, v.42, p. 87– 95, 2013.

SINGTHONG, J.; NINGSANOND, S.; CUI, S. W.; GOFF, H. D. Pectin: from raw material to the final product. *Food Hydr.*, 19, p.793, 2005.

SIQUEIRA, G.; ABDILLAHI, H.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from *Syngonanthus nitens* (CapimDourado). *Cellulose*, v. 17, p. 289–298, 2010.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulose Whiskers versus Microfibrils: Influence of the Nature of the Nanoparticle and its Surface Functionalization on the Thermal and Mechanical Properties of Nanocomposites. *Biomacromolecules*, v. 10, p. 425-432, 2009.

SOPRANI, C.R. Impacto da qualidade dos cavacos gerados na fibra unidade aracruz no processo de polpação kraft. *O Papel*, v. 77, n. 7, 72-77, 2016.

SPINACÉ, M.A.S., LAMBERT, C.S., FERMOSELLI, K.K.G.; DE PAOLI, M.A. Characterization of lignocellulosic curaua fibres. *Carbohydrate Polymers*, 77, 47-53, 2009.

SULAIMAN, S. F. et al. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa sp*). *Journal of Food Composition and Analysis*, v.24, p.1 –10, 2011.

SZAKAL, C.; ROBERTS, S. M.; WESTERHOFF, P.; BARTHOLOMAEUS, A.; BUCK, N.; ILLUMINATO, I. Measurement of nanomaterials in foods: integrative consideration of challenges and future prospects. *ACS Nano*, 8(4), 3128-3135, 2014.

TANOBE, V.O.A., MUNARO, M., SYNDENSTRICKER, T.H.D., AMICO, S.C. A. Comprehensive chemically treated Brazilian sponge gourds (*luffa cylindrical*). *Polymer Testing*, v. 24, n. 4, pp. 474-482, jun. 2005.

TAPPI. T413 om-93. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 900°C. 1993.

_____. T204 om-97. Solvent extractives of wood and pulp. 1997.

_____. T 222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. 2000.

_____. T 203 cm-99. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp. 2009.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K.; HANDA, A.V. Chemistry and uses of pectin – A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, V.37, n.1, 1997.

WAI, W.W.; ALKARKHI, A.F.M.; EASA, A.M. Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design. *Food and Bioproducts Processing*, 88, 209-214, 2014.

YANG, K.K.; WANG, X.L.; WANG, Y.Z. Progress in Nanocomposite of Biodegradable Polymer. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v.13, n. 4, p. 485-500, 2007.

YANG, S.H. *Plant fiber chemistry*. Beijing: China Light Industry Press, 2008.

YAPO, B. M. Lemon juice improves the extractability and quality characteristics of pectin from yellow passion fruit by-product as compared with commercial citric acid extractant. *Biores. Tech.* , v.100, p. 3147–3151, 2009.

ZHAN, H.Y. *Fiber chemistry and physics*. Beijing: Science Press, 2005

ZHANG, J.; LIU, K-X.; LI, H-Q.; ZHANG, Z-G.; XU, J. Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design. *Bioresource Technology*, 214, 755-760, 2016.

APÊNDICE A - PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Participação e apresentação de trabalhos científicos

- Total Food – 2014

Website: <http://www.ifr.ac.uk/totalfood2014/>

- 15th Nuclear Magnetic Resonance Users Meeting

Website: <http://www.aunmr.com>

Tabela 16 - Elaboração de artigos científicos durante o Doutorado.

<i>Título do Artigo</i>	<i>Revista Científica</i>	<i>Fator Impacto</i>	<i>Qualis</i>	<i>Status</i>
<i>Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology</i>	Food Chemistry	4,5290	A1	Publicado
<i>Pomegranate peel pectin films as affected by montmorillonite</i>	Food Chemistry	4,5290	A1	Publicado
<i>Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid</i>	Intern.Journ. of Biolog. Macromol. - IJBM	3,6710	A2	Publicado
<i>Bionanocomposite films based on polysaccharides from banana peels</i>	Intern.Journ. of Biolog. Macromol. - IJBM	3,6710	A2	Publicado

Fonte: PRÓPRIO AUTOR

ANEXO A - ARTIGO PUBLICADO

Food Chemistry 198 (2016) 113–118



Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem

Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology



Túlio Ítalo S. Oliveira¹, Morsyleide F. Rosa², Fabio Lima Cavalcante¹, Paulo Henrique F. Pereira, Graham K. Moates, Nikolaus Wellner, Selma E. Mazzetto¹, Keith W. Waldron, Henriette M.C. Azeredo^{2,*}

Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 February 2015

Received in revised form 18 July 2015

Accepted 20 August 2015

Available online 21 August 2015

Keywords:

Polysaccharides

Biopolymers

Response surface methodology

Banana

Pectin

ABSTRACT

A central composite design was used to determine effects of pH (2.0–4.5), extraction temperature (70–90 °C) and time (120–240 min) on the yield, degree of methoxylation (DM) and galacturonic acid content (GA) of pectins extracted from banana peels with citric acid. Changes in composition during the main steps of pectin extraction were followed by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. FTIR was also used to determine DM and GA of pectins. Harsh temperature and pH conditions enhanced the extraction yield, but decreased DM. GA presented a maximum value at 83 °C, 190 min, and pH 2.7. The yield of galacturonic acid (YGA), which took into account both the extraction yield and the pectin purity, was improved by higher temperature and lower pH values. The optimum extraction conditions, defined as those resulting in a maximum YGA while keeping DM at a minimum of 51%, were: 87 °C, 160 min, pH 2.0.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Bananas (*Musa acuminata*, AAA Group) are one of the most important fruit crops, with a global annual production that surpassed 100 million tons in 2011 (The World Banana Forum, 2014). Bananas are mostly consumed raw, and their processed products include banana flour, chips, and puree (which can be used to produce nectars, smoothies, and a variety of other products). Banana peels constitute about 30% of the fruit, and represent an environmental problem because of their large nitrogen and phosphorus contents as well as their high water content, making them highly susceptible to microbial degradation (González-Montelongo, Lobo, & González, 2010). The use of banana peels as a source of high value compounds such as pectin (Happi Emaga, Ronkart, Robert, Wathelet, & Paquot, 2008b), cellulose nanofibers (Tibolla, Pelissari, & Menegalli, 2014), and phenolic compounds (González-Montelongo et al., 2010; Rebello et al., 2014) is

interesting not only from an economic point of view, but also from an environmental perspective.

Some previous studies were carried out to investigate effects of process variables on extraction of pectin from banana peels. Qiu et al. (2010) investigated the effects of pH, extraction time, temperature, and salting out time on pectin extraction by using an enzymatic method. Happi Emaga et al. (2008b) evaluated the differences in pH, temperature and time on pectin extraction from banana peels using sulfuric acid. However, no previous report has been found on studying effects of process variables on pectin extraction from banana peels using organic acids. On one hand, strong mineral acids are cheaper and more effective than organic acids; on the other hand, organic acids are more interesting than strong acids from an environmental point of view (Chan & Choo, 2013; Pinheiro et al., 2008). Moreover, because of their lower dissociation constant, organic acids have a lower hydrolyzing capacity than mineral acids, so they will be less likely to cause proton-catalyzed depolymerization of pectins (Kermani et al., 2014). That may be especially important during the mixing step, when the local acid concentrations can fluctuate dramatically. Pectin yields from extraction of apple pomace, cocoa husks, and passion fruit peel with citric acid were found to be similar to those obtained with hydrochloric acid (Canteri-Schemin, Fertoni, Waszczynski, & Wosiacki, 2005; Chan & Choo, 2013; Kliemann et al., 2009).

The objective of this study was to evaluate the influence of pH, temperature, and time on pectin extraction from banana peels with citric acid.

* Corresponding author.

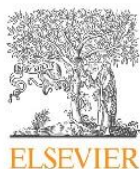
E-mail addresses: tulioufc@gmail.com (T.Í.S. Oliveira), morsyleide.rosa@embrapa.br (M.F. Rosa), fabiolima2008@hotmail.com (F.L. Cavalcante), selma@ufc.br (S.E. Mazzetto), henriette.azeredo@embrapa.br (H.M.C. Azeredo).

¹ Permanent address: Federal University of Ceara, Chemistry Department, Campus do Pici, Bloco 940, CP 6021, CEP 60455-760 Fortaleza, CE, Brazil.

² Permanent address: Embrapa Tropical Agroindustry, R. Dra. Sara Mesquita, 2270, CEP 60511-110 Fortaleza, CE, Brazil.

ANEXO B – ARTIGO PUBLICADO

Food Chemistry 198 (2016) 107–112



Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem

Pomegranate peel pectin films as affected by montmorillonite



Túlio Ítalo S. Oliveira¹, Luna Zea-Redondo², Graham K. Moates, Nikolaus Wellner, Kathryn Cross, Keith W. Waldron, Henriette M.C. Azeredo*

Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 January 2015

Received in revised form 25 August 2015

Accepted 29 September 2015

Available online 10 December 2015

Keywords:

Polysaccharides

Biopolymers

Nanoclays

Edible films

Food packaging

ABSTRACT

The industrial production of pomegranate juice has been favored by its alleged health benefits derived from its antioxidant properties. The processing of pomegranate juice involves squeezing juice from the fruit with the seeds and the peels together, leaving a pomace consisting of approximately 73 wt% peels. In this study, pectin was extracted from pomegranate peels, and used to produce films with different contents of montmorillonite (MMT) as a nanoreinforcement material. The nanoreinforcement improved the tensile strength and modulus of films when added at up to 6 wt%, while the further addition of MMT (to 8 wt%) reduced the reinforcement effect, probably because of dispersion problems. The elongation was decreased with increasing MMT concentrations. The water vapor permeability decreased with increasing MMT contents up to 8 wt% MMT, indicating that the increased tortuosity of the permeant path was effective on barrier properties of the film.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Pomegranate (*Punica granatum* L.) is an ancient fruit native to the Middle East, and widely cultivated nowadays in Western countries as well. The pomegranate arils are consumed as such, or are processed into juices, jams, and other products. The industrial production of pomegranate juice has been favored by its alleged health benefits derived from its antioxidant properties (Sturgeon & Ronnenberg, 2010; Viuda-Martos, Fernández-López, & Pérez-Álvarez, 2010). The processing of pomegranate juice involves squeezing juice from the fruit with the seeds and the peels together, resulting in a pomace consisting of approximately 73 wt% peels (Wang, Pan, Ma, & Atungulu, 2011). Pomegranate peels are one of the most valuable by-products of the food industry (Moorthy, Maran, Surya, Naganyashree, & Shivamathi, 2015), and have been the subject of several studies focused on extraction, chemical structure and biological activity of some bioactive compounds (Negi & Jayaprakasha, 2003; Pan, Qu, Ma, Atungulu, & McHugh, 2011; Saad et al., 2012). The extraction of pectin has

received relatively little attention, although there is a recent publication on optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel (Moorthy et al., 2015).

Biobased films and coatings have been extensively studied in the last few decades as biodegradable (or even edible) food packaging materials, which are meant to reduce the negative environmental impact caused by the huge volume of constantly discarded non-biodegradable petroleum-based packaging materials. Many of those biodegradable/edible materials are based on polysaccharides such as starch (Müller, Laurindo, & Yamashita, 2011; Ortega-Toro, Jiménez, Talens, & Chiralt, 2014) and pectin (Otoni et al., 2014; Penhasi & Meidan, 2014). However, polysaccharide-based materials usually have poor mechanical and barrier properties when compared to petroleum-based polymers. Polysaccharide films and coatings are not necessarily meant to replace an external (petroleum-based) packaging, but rather to help it in its protective function. Anyway, improvements in mechanical and barrier performance of polysaccharide-based materials would favor their applicability.

Vartiainen, Tammelin, Pere, Tapper, and Harlin (2010) and Mangiacapra, Gorrasi, Sorrentino, and Vittoria (2006) reported that the overall physical properties of pectin films were improved by addition of low levels of montmorillonite-type (MMT) nanoclays. MMT clays have been used as reinforcing materials for food packaging films and coatings (Busolo, Fernandez, Ocio, & Lagaron, 2010; Mascheroni, Chaliel, Gontard, & Gastaldi, 2010; Tunç & Duman, 2011). They are formed by platelets with two layers of tetrahedral silica sheets filled with an octahedral alumina sheet (Weiss,

* Corresponding author at: Embrapa – Secretariat for International Affairs, Edifício Embrapa Sede, Prédio CECAT, 3º andar, Parque Estação Biológica, Av. W3 Norte, Brasília, DF CEP 70770-901, Brazil.

E-mail addresses: tuliouf@gmail.com (Túlio Ítalo S. Oliveira), b12zerem@uco.es (L. Zea-Redondo), henriette.azeredo@embrapa.br (H.M.C. Azeredo).

¹ Permanent address: Federal University of Ceara, Chemistry Department, Campus do Pici, Bloco 940, CP 6021, CEP 60455-760 Fortaleza, CE, Brazil.

² Permanent address: University of Cordoba, Avd. Medina Azahara, 5, 14071 Cordoba, Spain.

ANEXO C – ARTIGO PUBLICADO

International Journal of Biological Macromolecules 88 (2016) 373–379



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijbiomac

Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid



Paulo Henrique F. Pereira^a, Túlio Ítalo S. Oliveira^b, Morsyleide F. Rosa^c,
 Fabio Lima Cavalcante^b, Graham K. Moates^a, Nikolaus Wellner^a, Keith W. Waldron^a,
 Henriette M.C. Azeredo^{c,*}

^a Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, UK^b Federal University of Ceara, Chemistry Department, Campus do Pici, Bloco 940, CP 6021, CEP 60455-760 Fortaleza, CE, Brazil^c Embrapa Tropical Agroindustry, R. Dra. Sara Mesquita, 2270, CEP 60511-110 Fortaleza, CE, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 August 2015

Received in revised form 30 March 2016

Accepted 31 March 2016

Available online 1 April 2016

Keywords:

Polysaccharides

Biopolymers

Response surface methodology

FTIR

Pomegranate peel

ABSTRACT

Pectins were extracted from pomegranate peels with citric acid, according to a central composite design with three variables: pH (2–4), temperature (70–90 °C), and extraction time (40–150 min). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy was used to follow changes in material composition during the main steps of pectin extraction, and also to determine the degree of methyl esterification and galacturonic acid content of pectins produced under different conditions. Harsh conditions enhanced the extraction yield and the galacturonic acid contents, but decreased the degree of methoxylation. The optimum extraction conditions, defined as those predicted to result in a yield of galacturonic acid higher than 8 g/100 g while keeping a minimum degree of methoxylation of 54% were: 88 °C, 120 min, pH 2.5. Close agreement was found between experimental and predicted values at the extraction conditions defined as optimum.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Pomegranate (*Punica granatum* L.) is one of the oldest known edible fruits, native to Persia, cultivated in ancient Egypt, Greece and Italy, then spread to several other regions [1]. The pomegranate arils are consumed as such or processed into juices and other products, whose consumption has been motivated by their alleged health benefits derived from their high antioxidant capacity [2–4]. The processing of pomegranate juice results in a pomace consisting of approximately 73 wt% peels [5]. Several studies have been focused on extraction of phenolic compounds from pomegranate peels and their active properties [6–8]. A recent study [9] was published on optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel, although the properties of pectin extracted from different extraction conditions have not been evaluated.

Pectin extraction is most commonly carried out using a dilute mineral acid, usually hydrochloric, sulfuric, or nitric acid, because of their lower price, and their ability to generate pectins enriched in homogalacturonic blocks as a result of significant hydrolysis of neutral sugar-containing rhamnogalacturonic regions at low pH and high temperature [10]. However, the main drawback of those

mineral acids are their toxicity and the generation of environmentally unfriendly (corrosive) effluents, requiring special treatments to remove undesirable compounds from the pectin extracts so the final product can receive the GRAS (generally recognised as safe) status [11]. Pectin extraction yields from apple pomace, cocoa husks, and passion fruit peel with citric acid have been reported to be similar to those obtained with hydrochloric acid [12–14]. Moreover, organic acids have a lower hydrolyzing capacity than mineral acids (because of their lower dissociation constant), and are therefore expected to cause less de-polymerization of pectins [15].

Pectins can be characterised by different parameters, the most important being the degree of methoxylation or degree of methyl esterification (DM), which refers to the percentage of methoxylated C₆ atoms in the galacturonic acid backbone, and is closely related to the gelling properties [16]. DM may reach the equivalent of 14% methoxyl, which means degrees of esterification between 50 and 80%, for high methoxyl pectins (HMP), whilst pectins with methoxyl contents below 7%, corresponding to a DM below 50%, are regarded as low methoxyl pectins (LMP) [17]. The main difference between HMP and LMP refers to their gel formation mechanisms, since gel formation is the key to most pectin applications. Pectin gels are formed when the molecule chains are crosslinked, forming a three-dimensional network where water and co-solutes are retained [17]. In the case of HMP, crosslinks are formed by hydro-

* Corresponding author.

E-mail address: henriette.azedo@embrapa.br (H.M.C. Azeredo).

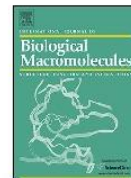
ANEXO D – ARTIGO PUBLICADO

International Journal of Biological Macromolecules 101 (2017) 1–8



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijbiomac

Bionanocomposite films based on polysaccharides from banana peels



Túlio Ítalo S. Oliveira^a, Morsyleide F. Rosa^b, Michael J. Ridout^c, Kathryn Cross^c,
Edy S. Brito^b, Lorena M.A. Silva^b, Selma E. Mazzetto^a, Keith W. Waldron^c,
Henriette M.C. Azeredo^{b,*}

^a Federal University of Ceara, Organic and Inorganic Chemistry Department, Campus Pici, 60440-900, Fortaleza, CE, Brazil

^b Embrapa Tropical Agroindustry, R. Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, 60511-110, Fortaleza, CE, Brazil

^c Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich, NR4 7UA, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 August 2016

Received in revised form 10 March 2017

Accepted 12 March 2017

Available online 16 March 2017

Keywords:

Polysaccharides

Biopolymers

Bionanocomposites

Food packaging

ABSTRACT

Pectin and cellulose nanocrystals (CNCs) isolated from banana peels were used to prepare films. The effects of a reinforcing phase (CNCs) and a crosslinker (citric acid, CA) on properties of pectin films were studied. Glycerol-plasticized films were prepared by casting, with different CNC contents (0–10 wt%), with or without CA. Overall tensile properties were improved by intermediate CNC contents (around 5 wt%). The water resistance and water vapor barrier properties were also enhanced by CNC. Evidences were found from Fourier Transform Infrared (FTIR) spectra supporting the occurrence of crosslinking by CA. Additionally, the tensile strength, water resistance and barrier to water vapor were improved by the presence of CA. The ¹³C ssNMR spectra indicated that both CA and CNC promoted stiffening of the polymer chains.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Concerns about environmental impacts from food packaging waste have motivated development of biodegradable materials, mostly from renewable sources. The global market for biodegradable polymers has increased from 0.4 to 1.3 billion pounds between 2006 and 2013 [1]. Pectins, present in plant primary cell walls and middle lamellae, have a main backbone consisting of α -1,4-linked galacturonic acids with variable degree of methoxylation (DM) of their carboxylic acid residues. According to their DM, pectins are classified as high methoxyl pectins (HMP) or low methoxyl pectins (LMP), having DM \geq 50 and DM < 50, respectively [2].

The global annual production of bananas (*Musa acuminata*, AAA Group) surpassed 100 million tons in 2011, Brazil being the fourth producer [3]. Banana peels (30% of fruit weight) are usually discarded, causing pollution because of their susceptibility to microbial degradation [4]. They have been presented as sources of pectin [5,6] as well as cellulose [6,7], which makes their proper exploitation interesting from the perspective of valorization of by-products for non-food applications in a biorefinery context, transforming them into value-added products, decreasing their

negative environmental impacts, and enhancing their economic feasibility.

Pectins from other sources have been used for development of biodegradable films [8,9]. However, the use of polysaccharide films for food packaging is still limited due to their poor tensile and barrier properties when compared to those of petroleum-derived polymers. The incorporation of nanoreinforcements such as cellulose nanocrystals (CNCs) has been suggested to improve the performance of pectin films [10]. CNCs are needlelike crystals measuring 4–25 nm in diameter and 100–1000 nm in length [11], often isolated by processes including acid hydrolysis [12]. The most studied effects of CNCs on polymer matrices are on tensile properties, due to the high strength and stiffness of CNCs [13] and to mechanical percolation yielded by CNC hydrogen bonding interactions [14].

Another limitation of polysaccharide-based films is their strong hydrophilic character, which makes them dissolve in contact with water, limiting their applications. Citric acid has been reported to crosslink polysaccharide films by forming covalent di-ester linkages between two of their carboxyl groups and hydroxyl groups of different polysaccharide chains [15,16]. Carboxyl groups of citric acid form cyclic anhydrides, which react further with hydroxyls from the polysaccharide [17]. The reaction is favored by curing the dried films, typically above 100 °C [16,18].

Although banana peels have been reported in previous studies as a source of pectins [5,6,19,20] and cellulose nanostructures [7,21,22], to our knowledge, this is the first study to propose the

* Corresponding author.

E-mail address: hennette.azeredo@embrapa.br (H.M.C. Azeredo).

ANEXO E – PARTICIPAÇÃO EM CONFERÊNCIA INTERNACIONAL



Edible films from pomegranate skin pectin as affected by montmorillonite

Luna Zea Redondo¹, Túlio I.S. Oliveira², Graham Moates³, Keith W. Waldron³, Henriette M. C. Azeredo^{4*}

¹University of Cordoba, Spain; ²Federal University of Ceará, Brazil; ³Institute of Food Research, UK; ⁴Embrapa - Secretary of International Relations; *henriette.azedo@embrapa.br.

1 INTRODUCTION

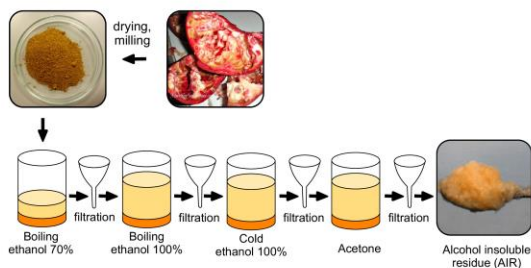
The industrial production of pomegranate juice has been favoured by its alleged health benefits derived from its antioxidant properties. The processing of pomegranate juice involves squeezing juice from the fruit with the seeds and the peels together, resulting in a pomace consisting of approximately 73% (w/w) skins. Pectins can be used for many applications, including biodegradable films for food packaging.

Biopolymer films can be used to replace conventional petroleum-derived materials for several applications including food packaging, with the important advantage of being usually biodegradable. However, most biopolymers have inferior performance when compared to conventional polymers. The use of nanoreinforcements such as montmorillonite (MMT), a silicate which has been studied to improve physico-mechanical performance of biopolymers. MMT is an excellent reinforcing filler, thanks to its high surface area and large aspect ratio. Moreover, it increases the tortuosity of the diffusive path for permeants, forcing them to travel a longer path to diffuse through a polymer matrix. MMT is recognized as a low toxicity material, and is commonly used in pharmaceutical products.

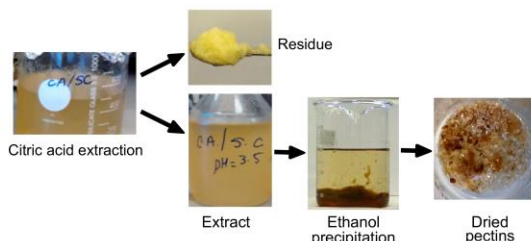
The objective of this study was to evaluate the influence of montmorillonite – unmodified (MMT) or modified with citric acid (MMT-CA) – as a nanoreinforcement for edible films from pomegranate skin pectin.

2 METHODOLOGY

2.1. Alcohol insoluble residue (AIR).



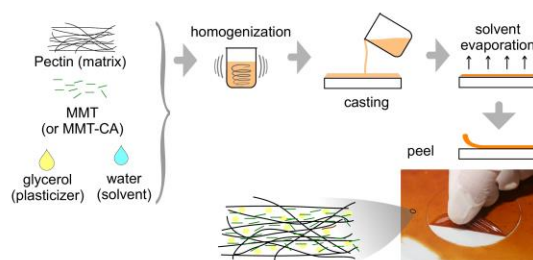
2.2. Pectin extraction with citric acid



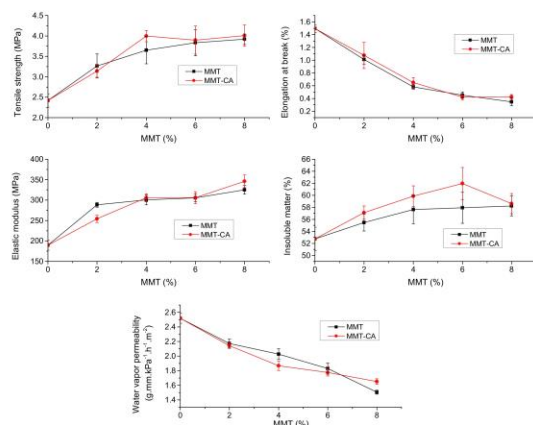
2.3. Elaboration of films:

MMT: previously hydrated (with water and glycerol, stirring overnight), homogenized, and sonicated.

Nine film forming dispersions were prepared: a control (without MMT), 4 dispersions with MMT (at 2, 4, 6, and 8% w/w, based on dry pectin) and 4 dispersions with MMT-CA (same concentrations as MMT).



3 RESULTS AND DISCUSSION



MMT (both unmodified and modified) improved the tensile strength and the elastic modulus of films, as expected from a reinforcing agent. The elongation was impaired, which usually happens with the addition of reinforcements.

The water vapour permeability was decreased by both fillers, indicating the tortuosity-increasing effect from the nanoclay. The water solubility was slightly reduced, probably because MMT is less hydrophilic than the pectin matrix.

The modification with citric acid did not affect MMT performance in improving film properties.

4 CONCLUSIONS

Films from pomegranate skin pectin were successfully obtained and reinforced with montmorillonite - either unmodified (MMT) or modified with citric acid (MMT-CA). Both nanofillers were effective to improve overall tensile properties and to decrease water vapour permeability and water solubility of the films. However, the MMT modification with citric acid did not improve MMT properties as a reinforcing agent.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support of the UK Biotechnology & Biological Sciences Research Council (BBSRC) and the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa).

ANEXO F – PARTICIPAÇÃO EM CONFERÊNCIA INTERNACIONAL



Pectin from banana skin as affected by citric acid extraction conditions

Túlio I.S. Oliveira¹, Keith W. Waldron², Graham Moates², Nikolaus Wellner², Morsyleide F. Rosa³, Henriette M. C. Azeredo^{4,5*}

¹Federal University of Ceará, Brazil; ²Institute of Food Research, UK; ³Embrapa Tropical Agroindustry, Brazil; ⁴Embrapa - Secretary of International Relations; ⁵henriette.azeredo@embrapa.br

1 INTRODUCTION

The world banana production was more than 100 million tons in 2011, 30% of which is represented by banana skins. With the increasing industrialization of banana, large amounts of banana skins have been wasted or used as animal feed, which is uneconomical and unfriendly to the environment. Banana skins may alternatively be used for extraction of high added value products such as pectin. Although commercial pectin is usually extracted with a hot solution of a strong mineral acid, the use of organic acids such as citric acid has been demonstrated as effective to extract pectin, with a lower environmental impact when compared to strong mineral acids.

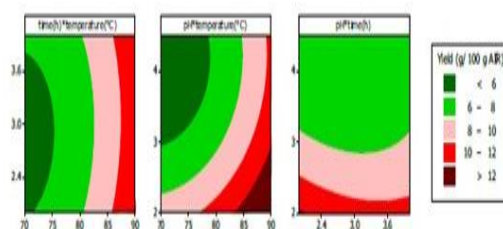
The objective of this study was to evaluate the influence of conditions (pH, temperature, and time) of pectin extraction from banana skin with citric acid.

2 METHODOLOGY

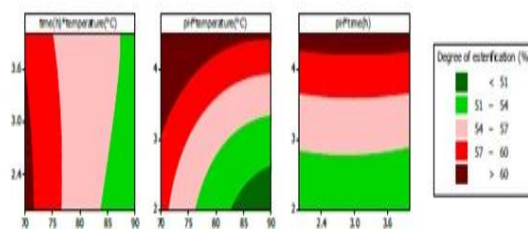
2.1. Alcohol insoluble residue (AIR): successive washings of dehydrated banana skins with ethanol and acetone.



3 RESULTS AND DISCUSSION



The yield was favoured by higher temperatures and lower pH values, and was virtually unaffected by extraction time.



Higher temperatures and lower pH values decreased the degree of esterification (DE), indicating their effects on breaking ester linkages. Anyway, even the least esterified pectins obtained in this experiment presented DE values higher than 50%, being classified as high methoxyl pectins (HMP).



ANEXO G – PARTICIPAÇÃO EM CONFERÊNCIA INTERNACIONAL



15TH NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE USERS MEETING



¹³C SOLID STATE NMR STUDY OF PECTIN NANOCOMPOSITE FILMS

Lorena M.A. SILVA¹, Túlio I.S. OLIVEIRA^{2*}, Henriette M.C. Azeredo¹, Edy S. BRITO¹

¹Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, ²Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE

e-mail: lorena.mara@embrapa.br

INTRODUCTION

Biofilms are malleable films and has received special attention because it is biodegradable, renewable, often edible and might be assembled with biological ingredients such as proteins and polysaccharides. The biofilms can be used as barriers of protection in order to extend the shelf life of perishable food by acting as barrier against water vapour and gases, for instance¹. In the present work the ¹³C MAS NMR was used to study the effect of citric acid (CA) and cellulose whiskers (CWH) on pectin films, obtained by casting and plasticized with glycerol (50% w/w on pectin).

MATERIALS

The concentrations (based on w/w on pectin) of CA and CWH on pectin films were defined with the central composite design (CA, 0-20%; CWH, 0-10%). The NMR spectra were acquired on Agilent 600-MHz equipped with a 4 mm ¹H-¹³C-¹⁵N probe, at 14 kHz. It was used the single pulse excitation (SPE) sequence with relaxation delay of 120 s and 350 scans. In addition, the ¹³C CPMAS was employed with a t_{CP} of 500 μ s, relaxation time of 4s and 2k scans. For variable contact time (VCT) delays from 0.1 ms to 10 ms and 256 scans were used. The data were processed in the VNMRJTM software and the CP curves were build up with the OriginTM 8.0.

RESULTS AND DISCUSSION

The SPE experiment provided comprehensive information of the mobile phase of the biopolymer. The SPE showed that with the CA and CWH addition, the amount of compounds with mobile signals reduce in 175 ppm (galacturonic residue of the pectin), 98 ppm (anomeric carbon), and at 95 ppm (carbohydrate chain) indicating stiffening of the polymer chains.

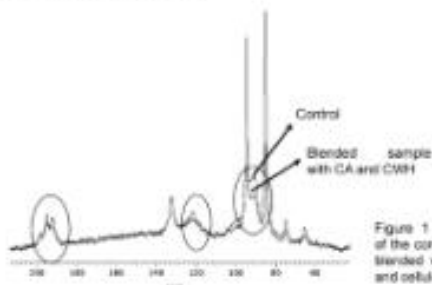


Figure 1 - comparison of the control and pectin blended with citric acid and cellulose whiskers.

The CPMAS (Fig. 2) shows a dynamic reduction (line broadening) of the signal at 98 ppm, 70 ppm and at 170 ppm that occurs mainly with the addition of CWH and CA. These data also shows the stiffening of the polymeric chains.

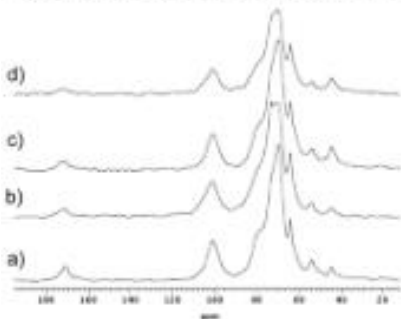


Figure 2 - comparison of the control and pectin blended with a) 10% of CWH, b) 20% of CA, c) 10% CWH and 20% of CA.

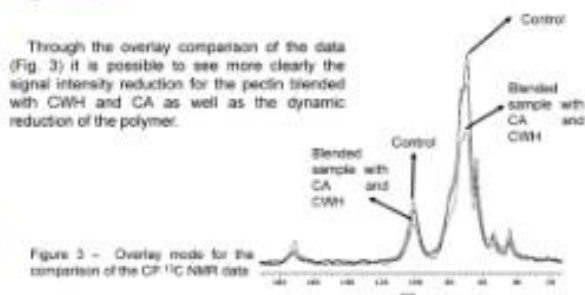


Figure 3 - Overlay made for the comparison of the CP ¹³C NMR data

The VCT was performed to carbohydrate (70 ppm) and anomeric regions (100 ppm) (Figure 4). For both, the more efficient mechanism was observed for the film prepared with CWH and CA. The CP mechanism also indicates the stiffening of the chains i.e. the use of both CA and CWH induced a rigidity of the films. Additionally, by means of an exponential adjustment of the data, the T_{DQ} and T_{ρ}^{*} can be obtained (Fig 5 a and b). The T_{DQ} corroborate the stiffening of the chains with a more efficient polarization transference (lower T_{DQ}) for the sample blended with both CWH and CA. The $^1H T_{\rho}^{*}$ increased with the addition of CA and CWH indicating slow motion regime by increasing the dipole-dipole interactions².

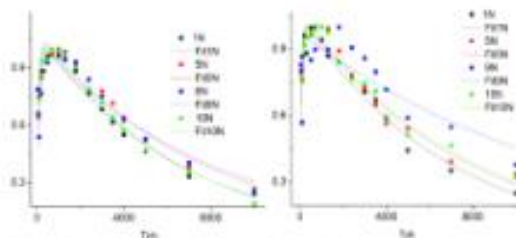


Figure 4 - VCT experiment of the normalized NMR signal intensity of a) 70 ppm; b) 100 ppm. Legend: 1N - Control; 5N 10% CWH; 10N 20% of CA; 5N 10% CWH and 20% of CA

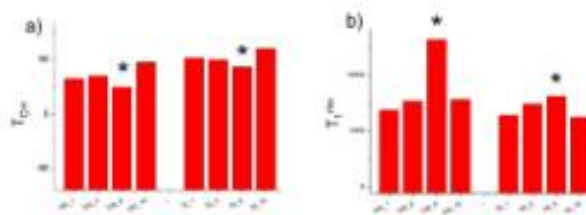


Figure 5 - a) T_{DQ} and b) $^1H T_{\rho}^{*}$ bar graphics from the dynamic polarization transference. Legend: 100 signal at 100 ppm; 70: signal at 70 ppm. 1 - Control; 5- 10% CWH; 10- 20% of CA; 5- 10% CWH and 20% of CA. * - sample with the best results

CONCLUSION

These results suggested that CA and CWH has a synergic effect with the reduction of the polymer dynamics and might be used as reinforcement agents. In addition, the ssNMR was a valuable tool for dynamic studies of pectic biopolymers.

REFERENCES

1 - Azeredo, et al., (2012). Journal of Food Science and Technology, 47, 710-715.
2 - Zhang X., Dean K., Burger I. M. Polymer Jour. 2010, 42: 689-695.

