

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MARGARITA MARIA ANDRADE MAHECHA

MICROCOMPÓSITOS, NANOCOMPÓSITOS E COBERTURAS A BASE DE MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS OBTIDOS A PARTIR DO BIRI (Canna indica L.)

TESE DE DOUTORADO APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli ORIENTADORA Profa. Dra. Delia Rita Tapia Blácido CO-ORIENTADORA

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida por Margarita María Andrade Mahecha, aprovada pela comissão julgadora em 04/05/2012 e orientada pela Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS, 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Andrade Mahecha, Margarita María, 1979-An24m Microcompósitos, nanocompósitos e coberturas a base de materiais biodegradáveis obtidos a partir do biri (*Canna indica* L.)/ Margarita María Andrade Mahecha. --Campinas, SP: [s.n], 2012.

> Orientador: Florencia Cecilia Menegalli. Coorientador: Delia Rita Tapia Blácido Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

> 1. Compósitos. 2. Nanofibras. 3. Amido. 4. Coberturas. 5. Canna indica. I. Menegalli, Florencia Cecilia. II. Tapia Blácido, Delia Rita. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Microcomposites, nanocomposites and edible coatings based on biodegradable materials from Canna indica L. Palavras-chave em inglês: Composites Nanofibers Starch Coatings Canna indica Área de concentração: Engenharia de Alimentos Titulação: Doutor em Engenharia de Alimentos Banca examinadora: Florencia Cecilia Menegalli [Orientador] Paulo José do Amaral Sobral João Borges Laurindo Miriam Dupas Hubinger Carlos Raimundo Ferreira Grosso Data da defesa: 04/05/2012 Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

Este exemplar corresponde à redação final da tese: Microcompósitos, nanocompósitos e coberturas a base de materiais biodegradáveis obtidos a partir do biri (Canna indica L.) defendida em 04 de maio de 2012 por Margarita María Andrade Mahecha aprovado pela comisão julgadora em 04 de maio de 2012

Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli (Orientadora)

Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral (Membro)

Prof. Dr. João Borges Laurindo (Membro)

Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger (Membro)

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso (Membro)

Prof. Dr. Nelson Eduardo Duran Caballero (Membro)

Profa. Dra. Maria Victoria Eiras Grossmann (Membro)

Profa. Dra. Maria Aparecida Mauro (Membro)

DEDICATÓRIA

A Hugo, Vale la pena disfrutar cada dia porque me ha regalado el privilegio de amarte

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus, a vontade é Tua e o querer também, e para ti não existe o impossível porque basta um querer.

À Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli, pela sua segurança, paciência, pensamento crítico, palavras de apoio e encorajamento que sempre soube me transmitir e que permanecem vivos em minha memória.

À Profa. Dra. Delia Rita Tapia Blácido, pela valiosa co-orientação no desenvolvimento deste trabalho, pela sua amizade, apoio e confiança transmitida durante esta importante etapa.

Aos membros da banca examinadora, pelas observações e contribuições dadas que enriqueceram notavelmente este trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA/FEA/UNICAMP) pelos ensinamentos nesta importante etapa da minha vida.

A CAPES (Programa PEC-PG) pela concessão da bolsa de doutorado, e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Aos técnicos dos laboratórios LEP, LEB, LASEFI, LAMEFI e EXTRAE, pela amizade e ajuda no empréstimo de alguns materiais requeridos para as análises realizadas neste trabalho.

Aos meus amados pais, José Helmer e Elizabeth, por todo o amor e apoio. Seus exemplos me mostraram o caminho da perseverança. Aos meus irmãos Diego, Jaime, Germán e Paulin pelo carinho e apoio.

Às minhas colegas e amigas Franciele Pelissari, Vanessa Goulart e Talita Akemi pelo apoio e carinho incondicional, pelos agradáveis momentos e companhia dentro e fora do âmbito acadêmico. Eba!!! ©. Agradeço também aos meus queridos amigos Natalia Carareto, Mariana Costa, Losiane Paviani, Klicia Sampaio, Katia Kunh, Lorena Garcia, Marcela Chiumarelli, Vanessa Martins, Rejane Santana, Luiz Fasolin, Diogo Maus, Gustavo Molina, Nelson Serrano, Lady María Salas, Kaliana Sitonio, Bianca Lima, Andrea Sanchez, Gabriela Vernaza, Luis Alberto Pedroza, Carla La Fuente, Kevin Begcy, Deise Zabeu e Sandra Obando pelos momentos agradáveis e valiosos conselhos durante minha estadia no Brasil.

A todos aqueles cuja amizade e convívio encheram de lembranças esta etapa da minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	XIII
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XIX
LISTA DE SIMBOLOS	XXI
RESUMO	xxIII
SUMMARY	xxv
ΔΡRESENΤΔΟÃΟ	XXVII
INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
1.1 O BIRI (Canna indica L.)	7
1.2 AMIDO E FARINHA DE BIRI	9
1.3 FILMES BIODEGRADÁVEIS	11
 1.3.1 FILMES A PARTIR DE AMIDO 1.3.2 FILMES A PARTIR DE FARINHAS	11 12 14 15 19 rais. 21 28 30
1.4 COBERTURAS COMESTÍVEIS A BASE DE BIOPOLÍMEROS	32
2. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS E FUNCIONAIS DO AMIDO E FAR DE BIRI	ELO 37
2.1 INTRODUÇÃO	39
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	41
 2.2.1 Amido e farelo 2.2.2 Composição química do amido e do farelo 2.2.3 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (S) do amido 2.2.4 Cristalinidade do amido e do farelo por Difração de Raios-X (DRX) 2.2.5 Propriedades térmicas do amido e do farelo por (DSC)	41 41 42 42 44
2.2.6 MORFOLOGIA DO AMIDO E DO FARELO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	44

2.	3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	.46
	2.2.8 ANÁLISE DE GRUPOS FUNCIONAIS DO AMIDO E DO FARELO (FTIR)	. 45
	2.2.7 DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO E DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS DO AMIDO E DO FARELO	. 45

2.3.1 Composição química do amido e do farelo

2.3.2 PODER DE INCHAMENTO (PI) E SOLUBILIDADE (S) DO AMIDO	49
2.3.3 CRISTALINIDADE DO AMIDO E DO FARELO POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	51
2.3.4 PROPRIEDADES TÉRMICAS DO AMIDO E DO FARELO (DSC)	53
2.3.5. MORFOLOGIA DO AMIDO E DO FARELO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (ME	V) 56
2.3.6 DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO E DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS DO AMIDO E DO FARELO	
2.3.7 ANÁLISE DE GRUPOS FUNCIONAIS DO AMIDO E DO FARELO (FTIR)	59
2.4 CONCLUSÕES	63

3. ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO DE BIRI REFORÇA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CELULOSE MICROCRISTALINA COMERO	DOS CIAL
(MCC)	65
3.1 INTRODUÇÃO	67
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	69
3.2.1. Matérias-primas	69
3.2.2. CARACTERIZAÇÃO DA MCC	70
3.2.3. AVALIAÇÃO DO TIPO DE AGITAÇÃO PARA A INCORPORAÇÃO DE MCC	71
3.2.4. DETERMINAÇÃO DA METODOLOGIA DE ELABORAÇÃO DOS FILMES DE AMIDO DE BIRI E MCC	72
3.2.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	76
3.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	78
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	79
3.3.1 CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE MICROCRISTALINA COMERCIAL (MCC)	79
3.3.2. AVALIAÇÃO DO TIPO DE AGITAÇÃO PARA A INCORPORAÇÃO DE MCC	84
3.3.3 ESTUDO DE GRAMATURA VS. ESPESSURA E DENSIDADE DOS MICROCOMPÓSITOS	85
3.3.4. DETERMINAÇÃO DA METODOLOGIA DE ELABORAÇÃO DOS FILMES DE AMIDO DE BIRI E MCC	86
3.3.4.1. Espessura e teor de umidade dos filmes	86
3.3.4.2. Propriedades mecânicas dos filmes	88
3.3.4.3 Permeabilidade ao vapor de água	94
3.3.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ELABORADOS PELO MÉTODO ESCOLHIDO	95
3.3.5.1 Solubilidade	96
3.3.5.2 Cor e opacidade	97
3.3.5.3. Transmissão de luz	98
3.3.5.4. Microestrutura	100
3.3.5.5. Análise de grupos funcionais por espectroscopia de absorção (FTIR)	102
3.4 CONCLUSÕES	105

4. PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS A PARTIR DO FARELO DE BIRI E SUA INCORPOR	ACAO
EM FILMES DE AMIDO DE BIRI (Canna indica L.)	107
4.1 INTRODUÇÃO	109
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	111
4.2.1. Produção de nanofibras	111
4.2.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE BIRI	115
4.2.2.1 Morfologia e diâmetro das nanofibras	115
4.2.2.2. Potencial zeta e determinação do comprimento das nanofibras	115

4.2.2.3. Cristalinidade das nanofibras por Difração de Raios-X (DRX)	116
4.2.2.4. Análise de grupos funcionais (FTIR)	116
4.2.3 ELABORAÇÃO DE FILMES DE AMIDO REFORÇADOS COM NANOFIBRAS (NANOCOMPÓSITOS)	116
4.2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS	117
4.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA POR AGLOMERAÇÃO HIERÁRQUICA	119
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
4.3.1. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE BIRI	120
4.3.1.1 Aparência das nanofibras e concentração das suspensões	120
4.3.1.2 Morfologia e diâmetro das nanofibras	124
4.3.1.3 Potencial zeta e determinação do comprimento das nanofibras	128
4.3.1.4 Cristalinidade das nanofibras por Difração de Raios-X (DRX)	131
4.3.1.5 Análise de grupos funcionais	135
4.3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS DE AMIDO E NANOFIBRAS DE BIRI	138
4.3.2.1. Espessura, teor de umidade e densidade	138
4.3.2.2 Propriedades mecânicas	139
4.3.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Solubilidade	143
4.3.2.4 Efeito da concentração de ácido peracético nas propriedades mecânicas, de barreira ac	vapor
de água e solubilidade dos nanocompósitos	149
4.3.2.5 Efeito do tipo de agente deslignificante nas propriedades mecânicas, de barreira ao va	oor de
água e solubilidade dos nanocompósitos	150
4.3.2.6 Efeito do tipo de ácido nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e	
solubilidade dos nanocompósitos	152
4.3.2.7 Efeito do tipo do tratamento mecânico a alta pressão nas propriedades mecânicas, de l	barreira
ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos	153
4.3.2.8 Absorção de umidade	154
4.3.2.9 Propriedades ópticas (Cor, opacidade e transmissão de luz)	164
4.3.2.10. Propriedades térmicas	168
4.3.2.11 Cristalinidade dos filmes por Difração de Raios-X (DRX)	171
4.3.2.12 Microestrutura e dispersão de energía por raios-X (MEV/EDS)	175
4.3.2.13 Análise de grupos funcionais	182
4.4 CONCLUSÕES	184

INDICA L.) EM COGUMELOS FRESCOS (AGARICUS BISPORUS)	
5.1 INTRODUÇÃO	
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	
5.2.1 MATERIAL	194
5.2.1.1 Cogumelos	
5.2.1.2 Cobertura Comestível	194
5.2.1.3 Embalagem	195
5.2.2 Métodos	195
5.2.2.1 Composição centesimal dos cogumelos	195
5.2.2.2 Seleção e acondicionamento dos cogumelos	196
5.2.2.3 Elaboração e aplicação das coberturas comestíveis	196
5.2.2.4 Etapa 1 - Tratamentos avaliados	198
5.2.2.5 Determinação da cor	199
5.2.2.6 Determinação das propriedades mecânicas	200

5.2.2.7 Determinação da taxa respiratória	201
5.2.2.8 Determinação da Perda de Peso	202
5.2.2.9 Resistência à transferência de vapor da água	203
5.2.2.10 Análise estatística	204
5.2.2.11 Etapa 2 – Seleção e validação da formulação de cobertura	204
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	205
5.3.1 Composição centesimal dos cogumelos	205
5.3.2 ETAPA 1 - TRATAMENTOS AVALIADOS	207
5.3.2.1. Cor	207
5.3.2.2. Propriedades Mecânicas	212
5.3.2.3. Taxa respiratória e composição gasosa	215
5.3.2.4. Perda de peso	219
5.3.2.5. Resistência à transferência de vapor de água	221
5.3.3. SELEÇÃO E VALIDAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE COBERTURA COMESTÍVEL	223
5.3.3.1 Cor	223
5.3.3.2 Propriedades Mecânicas	228
5.3.3.3 Taxa de respiração (TR) e composição gasosa	232
5.3.3.4 Perda de peso	234
5.3.3.5 Resistência à transferência de vapor de água (RVA)	236
5.4 CONCLUSÕES	237
CONCLUSÕES GERAIS	239
SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	241
REFERÊNCIAS	243
APÊNDICES	277
APÊNDICE I. Teor de umidade, densidade e propriedades mecânicas dos nanocompósitos em c ao filme controle	omparação 279
APÊNDICE II. Absorção de umidade, difusão, % de umidade final absorvida, permeabilidade a água em diferentes umidades relativas e solubilidade dos nanocompósitos	o vapor de 280
APÊNDICE III. Propriedades ópticas dos nanocompósitos em comparação ao filme controle	
APÊNDICE IV. Análise estatística multivariada por aglomeração hierárquica	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. 1. Caracterização dos rizomas de biri
Tabela 1.2. Composição centesimal da farinha e do amido de biri 10
Tabela 1.3. Propriedades térmicas e funcionais da farinha e do amido de biri11
Tabela 1.4. Algumas fontes de fibras vegetais pesquisadas nas últimas décadas
Tabela 1.5. Dimensões de nanocelulose 21
Tabela 1.6. Procedimentos empregados para a obtenção de nanofibras de celulose24
Tabela 1.7. Recentes trabalhos sobre filmes reforçados com microfibras de celulose
Tabela 1.8. Características de filmes com adição de nanofibras vegetais 31
Tabela 2.1. Composição química do amido de biri 46
Tabela 2.2. Composição química do farelo de biri
Tabela 2.3. Identificação de grupos funcionais para amido de biri (FTIR)
Tabela 3.1. Especificação têcnica da (MCC)
Tabela 3.2. Métodos empregados para a incorporação de MCC 75
Tabela 3.3. Filmes de amido de Canna indica L. com e sem MCC 79
Tabela 3.4. Identificação de grupos funcionais para MCC por FTIR
Tabela 3.5. Espessura e teores de umidade de filmes de amido com e sem MCC 87
Tabela 3.6. Propriedades ópticas de filmes de amido com e sem MCC
Tabela 3.7. Bandas de absorção (FTIR) observadas nos espectros dos filmes
Tabela 4.1. Etapas avaliadas na obtenção de nanofibras a partir do farelo de biri
Tabela 4.2. Condições de processo utilizadas para a produção de nanofibras 114
Tabela 4.3. Concentração das suspensões de nanofibras obtidas 123
Tabela 4.4. Tamanho e potencial zeta das nanofibras obtidas
Tabela 4.5. Picos de FTIR observados em nanofibras obtidas 138
Tabela 4.6. Nanocompósitos contendo nanofibras produzidas sem tratamento mecânico
Tabela 4.7. Nanocompósitos contendo nanofibras submetidas a tratamento mecânico
Tabela 4.8. Nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com diferente agente deslignificante 152

Tabela 4.9. Nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com diferente tipo de ácido	153
Tabela 4.10. Nanocompósitos em relação ao tratamento mecânico das nanofibras	154
Tabela 4.11. Valores de Tg apresentados pelos nanocompósitos	170
Tabela 4.12. Elementos químicos identificados nos nanocompósitos	181

Tabela 5.1.	. Esquema Fatorial Completo (2 ²) para a elaboração de coberturas	198
Tabela 5.2.	. Composição centesimal dos cogumelos (Agaricus bisporus)	207

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Fotografias da Canna indica L.	
Figura 1.2. Estrutura de uma fibra vegetal	
Figura 1.3. Estrutura da celulose	17
Figura 1.4. Representação das ligações hidrogênio presentes na estrutura da celulose	17

Figura 2.1 Espectro de difração de DRX de uma amostra de celulose I	43
Figura 2.2 Poder de inchamento (g/g) do amido de biri em diferentes temperaturas	50
Figura 2.3 Solubilidade (%) do amido de biri a diferentes temperaturas	51
Figura 2.4 Difratograma de raios X para o amido de biri	52
Figura 2.5 Difratograma de raios-X para o farelo de biri	53
Figura 2.6 Termograma da suspensão de amido de biri (30% p/p)	54
Figura 2.7 Termograma do farelo de biri	55
Figura 2.8 Microscopia Eletrônica de Varredura dos grânulos de amido de biri	56
Figura 2.9 Microscopia Eletrônica de Varredura do farelo de biri	57
Figura 2.10 Distribuição de tamanho das partículas no amido de biri	58
Figura 2.11 Distribuição de tamanho das partículas no farelo de biri	59
Figura 2.12 Espectro de absorção na região do infravermelho para o amido de biri	60
Figura 2.13 Espectro de absorção na região do infravermelho para o farelo de biri	62

Figura 3.1. Tipos de agitação para a incorporação de MCC na elaboração de filmes	72
Figura 3.2. Método 1 para a incorporação de MCC na elaboração de microcompósitos	73
Figura 3.3. Método 2 para a incorporação de MCC na elaboração de microcompósitos	74
Figura 3.4. Distribuição de tamanhos de partícula da MCC	80
Figura 3.5. Difratograma de raios X obtido para a MCC	81
Figura 3.6. Microestrutura da MCC	82
Figura 3.7. Espectro de absorção na região do infravermelho para a MCC	83
Figura 3.8. (a) Espessura média dos microcompósitos, (b) Densidade dos microcompósitos	85
Figura 3.9. Tensão de ruptura dos filmes	89
Figura 3.10. Elongação dos filmes.	91
Figura 3.11. Tensão versus elongação dos filmes	92

Figura 3.12. Módulo de Young dos filmes	
Figura 3.13. Permeabilidade ao vapor de água dos filmes	
Figura 3.14. Solubilidade em água dos filmes	
Figura 3.15. Transmissão de luz dos filmes	
Figura 3.16. Microestrutura de superficie e de fratura dos filmes	
Figura 3.17. Espectros de FTIR dos filmes	

Figura 4.1. Esquema geral das etapas do processo de obtenção de nanofibras de biri	. 113
Figura 4.2. Fotografias das etapas envolvidas na produção de nanofibras de biri	. 121
Figura 4.3. Aparência final das nanofibras de biri em suspensão e em estado coloidal	. 123
Figura 4.4. Microscopia eletrônica de transmissão das nanofibras: NF1 - NF6	. 125
Figura 4.5. Microscopia eletrônica de transmissão das nanofibras: NF7 - NF12	. 126
Figura 4.6. Difratogramas de raios X obtidos para as nanofibras obtidas	. 132
Figura 4.7. Índices de cristalinidade (Icr, %) de todos os materiais estudados	. 133
Figura 4.8. Espectros de FTIR das nanofibras obtidas por diferentes tratamentos	. 136
Figura 4.9. Tensão, elongação e módulo de Young do filme controle e dos nanocompósitos	. 140
Figura 4.10. Dendrograma correlacionando as propriedades mecânicas	. 141
Figura 4.11. Escalonamento em 2D para as propriedades mecânicas	. 142
Figura 4.12. Permeabilidade ao vapor de água do filme controle e dos nanocompósitos	. 144
Figura 4.13. Solubilidade do filme controle e dos nanocompósitos	. 146
Figura 4.14. Dendrograma correlacionando a permeabilidade ao vapor de água	. 147
Figura 4.15. Escalonamento em 2D para a permeabilidade ao vapor de água e solubilidade	. 149
Figura 4.16. Valores finais de absorção de água e teor de umidade dos filmes	. 155
Figura 4.17. Curva de absorção de água do filme controle (FC)	. 156
Figura 4.18. Curvas de absorção de água dos nanocompósitos F1 – F6	. 157
Figura 4.19. Curvas de absorção de água dos nanocompósitos F7 – F12	. 158
Figura 4.20. Parte inicial das curvas de absorção de água dos nanocompósitos	. 161
Figura 4.21. Parte inicial das curvas de absorção de água dos nanocompósitos	. 162
Figura 4.22. Parte inicial da curva de absorção de água do filme controle	. 163
Figura 4.23. Valores de difusividade de água calculados	. 164
Figura 4.24. Diferença de cor e opacidade dos nanocompósitos	. 165
Figura 4.25. Transmissão de luz do filme controle e dos nanocompósitos	. 166
Figura 4.26. Transmissão de luz do filme controle (FC) e dos nanocompósitos e PEBD	. 166

Figura 4.27. Termogramas do filme controle (FC) e dos nanocompósitos	168
Figura 4.28. Difratogramas de raios –X dos nanocompósitos F1 – F6	173
Figura 4.29. Difratograma de raios –X dos nanocompósitos F7 - F12	174
Figura 4.30. Difratograma de raios –X do filme controle (FC)	175
Figura 4.31. Microestrutura da superficie e fratura dos nanocompósitos F1 – F4	177
Figura 4.32. Microestrutura de superficie e de fratura dos nanocompósitos F5 - F8	178
Figura 4.33. Microestrutura de superfície e de fratura dos nanocompósitos F9 - F12	179
Figura 4.34. Espectro de EDS obtido para a região 1 do FC e F8	180
Figura 4.35. Espectro de EDS obtido para a região 2 dos nanocompósitos	181
Figura 4.36. Espectro de FTIR obtido para o FC e os nanocompósitos F1 - F4	183
Figura 4.37. Espectro de FTIR obtido para os nanocompósitos F5 - F8	183
Figura 4.38. Espectro de FTIR obtido para os nanocompósitos F9 - F12	184

Figura 5.1.Cogumelo de Paris (Agaricus bisporus)	194
Figura 5.2. Embalagem utilizada para os cogumelos frescos durante o estudo	195
Figura 5.3. Tratamentos prévios à aplicação das coberturas	196
Figura 5.4. Elaboração e aplicação de coberturas de amido de biri em cogumelos frescos	197
Figura 5.5. Determinação da cor em cogumelos frescos	199
Figura 5.6. Determinação das propriedades mecânicas dos cogumelos	201
Figura 5.7. Medição da produção de CO ₂ e o consumo de O ₂	202
Figura 5.8. Valores de luminosidade (L*) obtidos para cogumelos	208
Figura 5.9. Diferença de cor (ΔE^*) obtida para cogumelos	210
Figura 5.10. Valores de croma (C*) obtidos para cogumelos	211
Figura 5.11. Valores de tom (H*) obtidos para cogumelos	212
Figura 5.12. Valores de força máxima de penetração obtidos para cogumelos	213
Figura 5.13. Valores de força máxima de ruptura obtidos para cogumelos	214
Figura 5.14. Taxas respiratórias (TR) obtidas para cogumelos	217
Figura 5.15. Composição gasosa obtida durante o teste de respiração	218
Figura 5.16. Porcentagem de perda de peso obtida no 8º dia de vida útil	220
Figura 5.17. Resistência à transferencia de vapor de agua cogumelos	222
Figura 5.18. Valores de luminosidade obtidos para os cogumelos	224
Figura 5.19. Valores de diferença de cor (ΔE^*) obtidos para os cogumelos	226
Figura 5.20. Valores de croma (C*) obtidos para os cogumelos	227

Figura 5.21. Valores de tom (H*) dos cogumelos	228
Figura 5.22. Valores de força máxima de penetração obtidos para os cogumelos	230
Figura 5.23. Valores de força máxima de ruptura obtidos para os cogumelos	231
Figura 5.24. Taxa de respiração (ml CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) dos cogumelos	232
Figura 5.25. Composição gasosa no interior das embalagens contendo cogumelos	233
Figura 5.26. Composição gasosa no interior das embalagens contendo cogumelos tratados	234
Figura 5.27. Valores de perda de peso obtidos para cogumelos	235

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	-	Área cristalina do difratograma de DRX		
At	-	Área total do difratograma de DRX		
b.s.	-	Base seca		
b.u.	-	Base úmida		
Ca	-	Concentração de amido		
Cg	-	Concentração de glicerol		
C1	-	Filme de amido de biri elaborado pelo método 1		
C2	-	Filme de amido de biri elaborado pelo método 2		
DMP	-	Diâmetro médio de partículas		
DRX	-	Difração de Raios-X		
DSC	-	Calorimetria Diferencial de Varredura		
Е	-	Elongação dos filmes		
E1	-	Primeiro estágio de branqueamento no processo de obtenção de nanofibras		
E2	-	Segundo estágio de branqueamento no processo de obtenção de nanofibras		
FDN	-	Fibra Detergente Neutro		
FDA	-	Fibra Detergente ácido		
FTIR	-	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho		
FV	-	Fluxo de vapor de água		
Köppen Af	-	Classificação climática Köppen-Geiger correspondente ao clima tropical		
Köppen Cwa	-	Classificação climatica Köppen-Geiger correspondente ao clima subtropical		
		úmido		
Icr	-	Índice de cristalinidade		
I_{200}	-	Máxima intensidade do pico cristalino		
Inon-cr	-	Intensidade que representa a presença de material não cristalino		
M1	-	Método 1 para a incorporação de MCC na elaboração de microcompósitos		
M2	-	Método 2 para a incorporação de MCC na elaboração de microcompósitos		
MCC	-	Celulose microcristalina		
MEV	-	Microscopia Eletrônica de Varredura		
MEV/EDS	-	Microestrutura e dispersão de energia por Raios-X		

MY	-	Módulo de Young		
NF	-	Nanofibras		
nm	-	nanômetros		
Pa	-	Deslignificação empregando ácido peracético para a obtenção de nanofibras		
PP	-	Perda de peso		
PVA	-	Permeabilidade ao vapor de água		
PVC	-	Policloreto de vinila		
Q	-	Tratamento quelante no processo de obtenção de nanofibras		
RVA	-	Resistência à transferência de vapor de água		
S	-	Solubilidade		
SF	-	Solução filmogênica		
SP	-	Poder de inchamento		
Т	-	Tensão de ruptura		
T1	-	Primeiro tratamento acalino no processo de obtenção de nanofibras		
T2	-	Segundo tratamento acalino no processo de obtenção de nanofibras		
T3	-	Hidrólise ácida no processo de obtenção de nanofibras		
TEM	-	Microscopia Eletrônica de Transmissão		
TR	-	Taxa respiratória		
U1	-	Teor de umidade dos filmes após secagem e antes do acondicionamento		
U2	-	Teor de umidade dos filmes após 48 horas de acondicionamento (58% UR)		

LISTA DE SIMBOLOS

a*, b*	-	Parâmetros de cromaticidade
aw	-	Atividade de água
С	-	Carbono
Ca	-	Calcio
Cu	-	Cobre
СН3СОООН	-	Ácido peracético
C*	-	Croma
D	-	Difusividade do vapor de água
DTPA	-	Ácido dietilenotriaminopentacético
ΔE^*	-	Diferença de cor
H_2O_2	-	Peróxido de hidrogênio
H*	-	Tom
ΔH	-	Entalpía de gelatinização
K	-	Potássio
L*	-	Luminosidade
L/d	-	Relação comprimento/diâmetro
Si	-	Silicio
Tg	-	Temperatura de transição vítrea
Тр	-	Temperatura de processo
Tr	-	Transmissão de luz
Ts	-	Temperatura de secagem
UR	-	Umidade relativa
W.U	-	Absorção de umidade dos filmes

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar o potencial de uso do amido e do farelo obtidos a partir de rizomas de biri (Canna indica L.) na elaboração de filmes biodegradáveis e coberturas comestíveis. O primeiro estudo experimental deste trabalho, foi conduzido para estudar as propriedades físico-químicas, térmicas e funcionais do amido e do farelo de biri. O amido apresentou alto grau de pureza (99,8%) com alto teor de amilose (40,8%), índice de cristalinidade de 28%, uma distribuição monomodal de tamanhos com diâmetro médio de 41,3 µm e um menor poder de inchamento quando comparado com amidos de outras tuberosas como mandioca e batata. No farelo de biri constatou-se a presenca de celulose (19,1%), hemicelulose (16,1%) e lignina (3,9%) e, um baixo índice de cristalinidade (17,1%) devido à presença de componentes amorfos (hemiceluloses e lignina), os quais foram evidenciados a partir das bandas de absorção características dos grupos funcionais identificados através da análise de FTIR. O segundo estudo experimental teve como objetivo determinar a metodologia de elaboração de microcompósitos de amido de biri com incorporação de celulose microcristalina comercial (MCC) como material de reforco. Assim, microcompósitos de amido com diferentes concentrações de MCC foram elaborados por dois métodos e as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água desses microcompósitos foram comparadas. Os resultados mostraram que 5 g de celulose microscristalina por cada 100 g de amido seco empregando agitação mecânica com duas hélices para sua incorporação na matriz polimérica levaram a uma melhora significativa das propriedades dos microcompósitos, em termos de alta resistência mecânica e baixa permeabilidade ao vapor de água e solubilidade quando comparados com o filme controle (sem incorporação de material de reforco). No terceiro estudo experimental, o farelo de biri (subproduto do processo de extração de amido) foi utilizado como matéria-prima para a obtenção de nanofibras, empregando 12 tratamentos diferentes. A deslignificação e branqueamento, tipo de ácido empregado na hidrólise e a homogeneização a alta pressão foram as etapas de processo estudadas. As nanofíbras obtidas pelos diferentes tratamentos foram incorporadas na elaboração de nanocompósitos de amido da mesma fonte. As propriedades desses nanocompósitos foram comparadas com as de um filme de amido sem adição de nanofibras (controle), a fim de estudar o efeito de sua incorporação no teor de umidade, densidade, propriedades mecânicas, propriedades ópticas, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, absorção de umidade, propriedades térmicas, análise de grupos funcionais por FTIR e índice de cristalinidade. Os nanocompósitos apresentaram um incremento da tensão de ruptura sem afetar drasticamente a elongação, o qual demonstrou que a incorporação de nanofibras de biri melhorou a resistência mecânica dos filmes. A diminuição significativa da permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e absorção de umidade em relação ao controle também evidenciaram o efeito benéfico das nanofibras na matriz de amido. As propriedades dos nanocompósitos foram relacionadas com as características físico-químicas das nanofibras incorporadas e também com a boa compatibilidade apresentada entre os biopolímeros amido e nanofibras, uma vez que estes foram obtidos da mesma fonte vegetal. Finalmente, o quarto estudo experimental deste trabalho foi conduzido para a elaboração e aplicação de coberturas comestíveis a base de amido de biri (Canna indica L.) em cogumelos frescos (Agaricus bisporus) armazenados sob condições de refrigeração. Cinco formulações de cobertura foram elaboradas (variando a concentração de amido e a concentração de glicerol). Essas formulações foram avaliadas em função das características de qualidade dos cogumelos (cor, propriedades mecânicas, taxa de respiração, perda de peso e resistência à transferência de vapor de água). A formulação de cobertura contendo 4 g de amido seco /100g de solução e 25 g de glicerol /100 g de amido seco foi eficaz em manter as características de qualidade do produto por um período de 15 dias.

Palavras-chave: microcompósitos, nanocompósitos, coberturas comestíveis, amido, farelo, nanofibras, celulose microcristalina, *Canna indica* L.

SUMMARY

This work aimed at studying the potential use of the starch and bagasse obtained from the rhizomes of biri (*Canna indica* L.) in the development of biodegradable films and edible coatings. The first experimental study of this work was conducted to study the physico-chemical, thermal, and functional properties of biri starch and bagasse. The starch exhibited high degree of purity (99.8%), with high amylose content (40.8%), a crystallinity index of 28%, a monomodal distribution of particle sizes with an average diameter of 41.3 µm, and lower power swelling than other starches from tubers such as cassava and potato. Moreover, the biri bagasse presented a high content of cellulose (19.1%), hemicellulose (16.1%) and lignin (3.9%), as well as low crystallinity (17.1%), due to the presence of the amorphous components lignin and hemicellulose, which was evident from the characteristic absorption bands of functional groups identified by FTIR analysis. The second experimental study aimed to determine the method for the preparation of starch microcomposites of biri starch containing commercial microcrystalline cellulose (MCC) as a reinforcement material. To this end, starch microcomposites with different MCC concentrations were prepared by two methods, and mechanical properties and water vapor permeability were measured and compared. The results showed that the use of 5 g of microcrystalline cellulose per 100 g dry starch and mechanical agitation with the aid of two propellers led to incorporation of cellulose into the polymer matrix. This resulted in significant improvement of the properties of microcomposites in terms of high mechanical strength and low water vapor permeability and solubility, as compared to the control film, which did not contain reinforcement material. In the third experimental study, the biri bagasse (byproduct from the starch extraction process) was utilized as raw material for the attainment of nanofibres, using 12 different treatments. Delignification and bleaching, type of acid used in the hydrolysis, and high pressure homogenization process were studied. The nanofibres obtained via the different treatments were incorporated into starch nanocomposites from the same source. The properties of these nanocomposites were compared with those of a starch film without nanofibres (control), in order to study the effect of the incorporation of these fibers on the moisture content, density, mechanical properties, optical properties, solubility, water vapor permeability, moisture absorption, thermal properties, functional groups analysis by FTIR, and crystallinity index. The nanocomposites underwent an increase in tensile strength, but the elongation at break was not affected. Thus, the incorporation of the biri nanofibres led to improved mechanical strength of the films. The significant decrease in the water vapor permeability, solubility, and moisture absorption compared with the control film also evidenced the beneficial effect of the nanofibres on the starch matrix and demonstrated the good compatibility between the starch and the nanofibres, which were obtained from the same plant source. Also, it was verified that the properties of the nanocomposites are a function of the characteristics of the nanofibers, such as crystallinity, zeta potential, and aspect ratio. Finally, the fourth experimental study led to the development and application of edible coatings based on biri starch (Canna indica L.) in fresh mushrooms (Agaricus bisporus) stored under refrigeration. Five coating formulations were evaluated, by varying the starch and glycerol concentration, and the more coating that most efficiently maintained the quality properties of fresh mushrooms (color, mechanical properties, respiration rate, weight loss and water vapor resistance) was found. On the basis of the results, the best formulation was selected for the mushrooms shelflife study over a period of 15 days and compared with uncoated mushrooms (control). The coating formulation containing 4% starch (g dry starch / 100 g solution) and 25% glycerol (g glycerol / 100 g dry starch) was effective for maintenance of the quality of the product for a period of 15 days.

Keywords: microcomposites, nanocomposites, edible coatings, starch, bagasse, nanofibres, microcrystalline cellulose, *Canna indica* L.

APRESENTAÇÃO

Na última década, tem aumentado o interesse de diferentes pesquisadores pelo estudo e utilização de fontes naturais renováveis, com características e propriedades que ofereçam alternativas de aplicação em diferentes áreas, mas que também atendam à crescente necessidade de se preservar o meio ambiente. Nesse contexto, o grupo de pesquisa de filmes e coberturas comestíveis do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA/FEA/UNICAMP) vem desenvolvendo várias pesquisas com fontes promissoras de origem vegetal como o amaranto, a quinoa e o biri. Em trabalho recente sobre a elaboração e caracterização de biofilmes de farinha de biri (ANDRADE-MAHECHA, 2009), observou-se que o farelo obtido como resíduo do processo de obtenção de amido de biri representava uma matéria-prima interessante para o estudo de filmes reforçados com fibras naturais, as quais deveriam ser tratadas para produzir nanofibras facilitando assim sua inclusão na matriz polimérica. Diante disso, este estudo pretende dar continuidade ao primeiro trabalho desenvolvido pela autora a fim de explorar os materiais obtidos a partir do rizoma de biri e avaliar o potencial do amido e do farelo na elaboração de microcompósitos, nanocompósitos e coberturas comestíveis. Assim, este trabalho está dividido em cinco capítulos descritos a seguir:

- Capítulo 1: apresenta-se uma revisão bibliográfica sobre os tópicos abordados na presente pesquisa.
- Capítulo 2: capítulo sobre a caracterização do amido e farelo obtidos a partir de rizomas de biri, como matérias primas para a elaboração de microcompósitos e nanocompósitos.
- Capítulo 3: apresenta-se um estudo sobre o efeito da incorporação de celulose microcristalina comercial como material de reforço nas propriedades de microcompósitos de amido de biri.
- Capítulo 4: capítulo sobre a produção de nanofibras a partir do farelo de biri, sua caracterização e incorporação como material de reforço em nanocompósitos de amido e a caracterização desses filmes.
- Capítulo 5: neste capítulo é apresentado um estudo sobre a elaboração e aplicação de coberturas comestíveis à base de amido de biri em cogumelos frescos.

INTRODUÇÃO

O crescente interesse mundial no desenvolvimento de processos e produtos que levem a um menor impacto ambiental tem motivado a utilização de recursos naturais. A grande demanda por novos materiais que atendam a todas as especificações tecnológicas e de qualidade e a legislação ligada ao aspecto ambiental têm conduzido ao estudo e utilização de matérias-primas, processos e produtos amigáveis ao meio ambiente. Aspectos como a vida útil, qualidade e preservação dos produtos dependem em boa parte do tipo de material de embalagem usado para sua preservação, pois este é um fator determinante para a difusão de gases, umidade, gordura e aromas, entre outros. Filmes e coberturas, quando empregados como materiais de embalagem podem impedir a migração de umidade, proteger os produtos durante seu transporte, evitando danos mecânicos e conservando sua integridade física. Esses materiais têm demonstrado serem promissores no controle da respiração de frutas e hortaliças, funcionando como uma embalagem de atmosfera modificada que favorece a conservação das características sensoriais e pode prolongar o período de armazenamento dos produtos (MALI et al., 2010). Dentro das características desejadas de um filme comestível merece destaque a baixa permeabilidade ao vapor de água, para fornecer uma boa propriedade de barreira, e a alta resistência mecânica (DOGAN e McHUGH, 2007).

Na fabricação de filmes e coberturas comestíveis, é comum o uso de plastificantes como o glicerol, que adicionado à solução formadora do filme, rompe algumas ligações de hidrogênio existentes entre o solvente (água) e o biopolímero, reduzindo as forças intermoleculares, aumentando a mobilidade molecular e levando consequentemente, à obtenção de estruturas poliméricas mais flexíveis. Isto também favorece ao aumento da permeabilidade e baixa resistência mecânica do filme. Diante disso, filmes com alta permeabilidade e baixa resistência mecânica têm se tornado o ponto de partida de diferentes pesquisadores, para encontrar materiais de reforço que quando adicionados na formulação dos filmes possam melhorar essas propriedades. Na área de materiais poliméricos, destaca-se a utilização de fibras naturais ou lignocelulósicas como material de reforço de matrizes poliméricas. A partir do ano de 2009, a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO-ONU) vêm incentivando o estudo das fibras naturais, em virtude da enorme variedade de fontes disponíveis, principalmente as de origem vegetal (SILVA et al., 2009). Diante do expressivo número de artigos publicados, patentes e produtos já comercializados, as fibras vegetais apresentam-se como excelente matéria-prima para a

química de polímeros e compósitos. Os compósitos são misturas preparadas na tentativa de conciliar as distintas propriedades dos componentes puros, procurando interações favoráveis entre estes, que levem a melhores características e desempenho dos materiais resultantes (CURVELO et al., 2001; LU et al., 2006; AZEREDO et al., 2009). Na preparação de compósitos, as fibras vegetais de tamanho nanométrico vêm sendo exploradas como materiais de reforço, já que sua elevada área superficial específica por peso de material (> 100 m²/g) lhes permitem interagir de forma mais efetiva com a fase contínua dos compósitos, quando comparadas com aquelas que possuem dimensões micrométricas (FAVIER et al., 1995; DUFRESNE et al., 2002). Em concordância com tal abordagem, os participantes do Workshop realizado em 2005 pela American Forest and Paper Association recomendaram, dentro dos trabalhos de pesquisa, o estudo de compósitos poliméricos reforçados e nano-materiais, apontando ao emprego de fibras celulósicas de dimensão nanométrica (HUBBE et al., 2008). A celulose é o principal componente das fibras vegetais e sua característica de hidrofilicidade lhe confere alta afinidade com a maioria dos polímeros naturais (YU et al., 2006). No entanto, as condições de processo para a obtenção das nanofibras, seja na etapa de obtenção das fibras ou de hidrólise para atingir dimensões nanométricas, afetam as características morfológicas desses nanomateriais e, consequentemente, seu desempenho como partícula de reforço em compósitos (JOLY et al., 1996; ARAKI et al., 1998; GEORGE et al., 2001; BONDESON et al., 2006; CASTRO et al., 2007; ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008). Desta maneira, a maior dificuldade na obtenção e incorporação de nanocristais de celulose aos compósitos está relacionada a evitar a degradação das cadeias poliméricas e a aglomeração das partículas nanométricas, esta última devido a que nanofibras de celulose sem modificação de superfície apresentam fortes interações entre partículas, com notória dificuldade em serem redispersas em água (VAN DER BERG et al., 2007; SILVA et al., 2009). Assim, diferentes autores têm avaliado o emprego de diversos métodos físicos e químicos ou a combinação destes para a separação de nanofibras ou nanocristais de celulose a partir de diferentes fibras vegetais: algodão, madeira, rami, cânhamo, linho, sisal, banana, casca de ervilha, bagaço de cana de açúcar, beterraba açucareira, entre outras.

Sendo o Brasil um dos países que possuem a maior biomassa do mundo e maior extensão territorial cultivável, este potencial deve ser mais explorado, buscando a melhor utilização dos recursos existentes e a identificação de espécies vegetais com propriedades interessantes, cujas culturas possam ser adaptadas e aproveitadas. Em virtude da disponibilidade de fontes vegetais, existe uma crescente motivação pelo estudo destas fontes para a obtenção de nanocristais de celulose. Uma fonte ainda não pesquisada para tal fim é o biri (*Canna indica* L.), uma planta

tropical de origem andina, usada como matéria-prima amilácea nessa região e na Ásia (FRANCO et al., 2001). No Brasil, o biri é encontrado apenas como planta ornamental, entretanto, algumas pesquisas brasileiras têm avaliado o processo de obtenção de amido, sua composição e propriedades (LEONEL et al., 2002; PERONI et al., 2006; LEONEL et al., 2007) e, recentemente, a elaboração e caracterização de biofilmes de farinha e amido (ANDRADE-MAHECHA, 2009), indicando a potencialidade industrial desta fonte. No entanto, o farelo de biri (subproduto resultante do processo de extração do amido), não foi reportado previamente como fonte de material lignocelulósico para a obtenção de nanofibras. Isto permitiria um aproveitamento completo dos rizomas de biri, tornando-se também uma oportunidade de pesquisa interessante para explorar novas alternativas de uso do biri que continuem incentivando sua cultura e utilização em diferentes países. A presente pesquisa visa o estudo e valorização de amido, farelo e nanofibras, obtidos a partir de rizomas de biri (*Canna indica* L.) como matérias-primas para a elaboração de microcompósitos, nanocompósitos e coberturas comestíveis.

OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo principal a elaboração e caracterização de filmes microcompósitos, nanocompósitos e coberturas comestíveis, a partir de amido de biri (*Canna indica* L.), com cargas de microfibras de celulose comercial e de nanofíbras obtidas do farelo de biri.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o amido e o farelo obtidos a partir de rizomas de biri (*Canna indica* L.)
- Elaborar microcompósitos de amido de biri e celulose microcristalina comercial (MCC) e avaliar o efeito dessas microfibras nas propriedades mecânicas e de barreira dos compósitos resultantes.
- Obter e caracterizar as nanofibras a partir do farelo de biri (*Canna indica* L.), comparando diferentes condições de tratamento químico e mecânico dentro da metodologia desenvolvida.
- Elaborar, caracterizar e comparar nanocompósitos de amido e nanofibras de biri obtidas por diferentes tratamentos.

 Avaliar o efeito da aplicação de coberturas comestíveis de amido de biri em algumas características de qualidade de cogumelos frescos (*Agaricus bisporus*).

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O conhecimento sobre as matérias-primas que apresentam potencial para serem aplicadas na obtenção de biofilmes constitui uma importante etapa a ser abordada no desenvolvimento de biomateriais. Aspectos como a composição centesimal, a microestrutura e as propriedades térmicas e funcionais, fornecem informações importantes que estão relacionadas com as características dos materiais obtidos a partir destas.

1.1 O biri (Canna indica L.)

O biri (Canna indica L.) é uma planta originária dos Andes na América do Sul, distribuída nas regiões tropicais da América. Na América Latina, esta planta também é denominada de achira, sagú, arawac, imocoma, chisgua, maraca e capacho. Sendo uma planta perene que alcança 3 metros de altura, com folhas ovais oblongas, inflorescências vermelhas e rizomas esféricos, fibrosos e ricos em amido (Figura 1.1), orientados paralelamente à superfície do solo, faz parte das 25 fontes amiláceas de consumo nos países tropicais. O cultivo tem se estendido até a Ásia, especialmente na China, Vietnã, Taiwan e Tailândia, países onde o amido é usado na indústria alimentícia para a produção de "noodles" e como espessante para alimentos, molhos, temperos e principalmente sopas (CASTRO, 1995; THITIPRAPHUNKUL et al., 2003; ALONSO e MORAES-DALLAQUA., 2004; CHANSRI et al., 2005; MORENO, 2006; PUNCHA-ARNON et al., 2007). A Canna indica L. é uma espécie cultivada em altitudes de 500 até 2700 m, cresce bem em solos arenosos com bom conteúdo de matéria orgânica e com precipitações bem distribuídas durante o crescimento da planta. O ciclo da cultura está na faixa de 10 a 12 meses, com produtividade elevada, que depois de 8 a 9 meses, atinge 80 Ton/ha em terras ricas em nitrogênio e 40 Ton/ha em terras mais pobres. Trata-se de uma planta robusta resistente a ataques de pragas e a doenças (HERMANN et al., 1998; FRANCO et al., 2001; CAICEDO et al., 2003).

Maas-Van de Kamer e Maas (2008) estudando o gênero *Canna* encontraram que, ao longo do tempo, diferentes cientistas vêm classificando taxonomicamente esta espécie com diferentes nomes. Assim, ao redor de 69 sinônimos são conhecidos para a mesma espécie. Seguindo as regras internacionais de nomenclatura botânica, a taxonomia oficial do gênero *Cannaceae* começou em 1753 com Linnaeus, cujo trabalho menciona a espécie *Canna indica* L. Em concordância, a presente pesquisa segue a nomenclatura original, embora muitas publicações referentes ao estudo da obtenção, caracterização e uso do seu amido tenham empregado o sinônimo *Canna edulis*

(PIYACHOMKWAN et al., 2002; LEONEL et al., 2002; THITIPRAPUNKUL et al., 2003; PÉREZ e LARES, 2005; HUNG e MORITA, 2005, entre outros).



Figura 1.1. Fotografias da *Canna indica* L.: (A) Planta, (B) Fotografia da parte externa do rizoma (C) Fotografia da parte interna do rizoma

Os rizomas de biri são uma matéria-prima interessante para a extração de amido, produção de hidrolisados e fermentados, nas indústrias farmacêutica, têxtil, de papel e para a elaboração de filmes biodegradáveis (FRANCO et al., 2001; HERNÁNDEZ et al., 2008; ANDRADE-MAHECHA, 2009). A caracterização físico-química de rizomas de biri cultivados em diferentes regiões da Ásia e do Sul da América tem sido reportada por vários autores (LEONEL et al., 2002; PUNCHA-ARNON et al., 2007). Na Tabela 1.1 é apresentada a caracterização de rizomas de biri cultivados no sudeste do Brasil.
Características	(% base úmida)
Umidade inicial	75,7 ± 1,0
Amido	$18,5 \pm 0,8$
Cinzas	$1,7 \pm 0,1$
Proteína	$1,1 \pm 0,1$
Matéria graxa	$0,3 \pm 0,04$
Fibras	$1,0 \pm 0,03$
Açúcares totais	$0,8 \pm 0,1$
Açúcares redutores	$0,5 \pm 0,1$
pH	6,8 ± 0,03
Acidez total (ml NaOH 1N/100 g)	3,9 ± 0,2

Tabela 1. 1. Caracterização dos rizomas de biri

Fonte: LEONEL et al. (2002)

1.2 Amido e farinha de biri

Os rizomas de biri apresentam um teor de matéria seca de 24,3%, com elevado teor de amido (74% base seca). Esta característica e o fato dos rizomas poderem ser colhidos durante todo o ano tornam esta matéria-prima uma boa alternativa para a obtenção de amido (FRANCO et al., 2001; LEONEL et al., 2002). A industrialização deste amido na região andina da América do Sul e em países como Vietnã e Sri Lanka, no sudeste da Ásia representa uma alternativa rentável (CISNEROS et al., 2009). Desenvolver novos produtos e materiais, tais como filmes comestíveis a partir de amido é algo que pode agregar valor e ampliar o uso industrial de matérias-primas (MÜLLER et al. 2009), entre elas o biri, que tem sido tradicionalmente usado para panificação em alguns países da América do Sul e para a produção de macarrão no Vietnã. Diferentes estudos sobre este amido indicaram algumas propriedades interessantes, como alta viscosidade e estabilidade (LEONEL et al., 2002; SANTACRUZ et al., 2003; MOORTHY et al., 2008). O estudo e desenvolvimento de outras aplicações deste amido seriam vantajosos para os agricultores e processadores de amido que tem trabalhado na industrialização desta cultura (PIYACHOMKWAN et al., 2002). Na Tabela 1.2 é apresentada a composição centesimal da farinha e do amido de biri obtidos a partir de rizomas frescos cultivados no estado de São Paulo, Brasil (ANDRADE-MAHECHA, 2009).

Composição centesimal	Farinha	Amido
Umidade ^a	4,6 ± 0,1	9,8 ± 0,1
Cinzas	$5,1 \pm 0,04$	$0,6\pm0,02$
Proteína	$4,3 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$
Lipídeos totais	$1,1 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,02$
Fibra alimentar total	$16,0 \pm 0,8$	$0,9\pm0,04$
F. Insolúvel	$13,6 \pm 0,3$	ND
F. Solúvel	$2,0 \pm 0,4$	ND
Amido ^b	$73,5 \pm 0,9$	$97,7\pm0,03$
Amilose ^c	$27,2 \pm 0,9$	$36,1 \pm 0,3$
Amilose ^d	$37,0 \pm 1,2$	37,0 ± 0,3

Tabela 1.2. Composição centesimal da farinha e do amido de biri, expressa em matéria seca (g/100 g bs) (ANDRADE-MAHECHA, 2009)

^a Expresso em base úmida

^b Calculado por diferença

^c Expresso em g de amilose / g de amostra seca

^d Expresso em g de amilose / g de amido seco

ND (não determinado)

A farinha e o amido de biri são materiais promissores a serem empregados na elaboração de filmes biodegradáveis, dada sua interessante composição centesimal. Cabe ressaltar seu considerável conteúdo de amido (73,5 e 97,7% respectivamente) com alto teor de amilose (37,0%), além de fibra alimentar, proteína e lipídios. Em virtude da composição centesimal da farinha e do amido, estas matérias-primas apresentam diferenças quanto às suas propriedades funcionais. Assim, propriedades como poder de inchamento e solubilidade tem maiores valores na farinha quando comparados com o amido (Tabela 1.3). Desta maneira, a alta proporção de fibra insolúvel presente na farinha (13,6%) pode contribuir para um maior poder de inchamento, enquanto a presença de compostos de caráter solúvel (pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses), pode contribuir para uma maior solubilidade quando comparada com o amido. Em relação às propriedades térmicas, os menores valores de entalpia de gelatinização (Δ H) da farinha podem indicar uma fusão parcial dos cristais de amilopectina na mesma (CORAL et al., 2009) ou uma diferença na estabilidade dos cristais associada ao tamanho dos grânulos de amido. Em relação ao formato e tamanho dos grânulos de amido, Andrade-Mahecha (2009) reportou grânulos íntegros de formato oval elipsóide com diâmetro médio de 43,6 µm na farinha e 38,6 µm no amido de biri.

Propr	riedades	Farinha	Amido
	$T_{o}(^{\circ}C)$	$67,3 \pm 0,3^{a}$	$67,6 \pm 0,1^{a}$
Parâmetros de	$T_p(^{\circ}C)$	$71,6 \pm 0,1^{a}$	$71,2 \pm 0,2^{a}$
gelatinização	$T_{f}(^{\circ}C)$	$77,0 \pm 0,3^{a}$	$77,4 \pm 0,2^{a}$
	Δ H *	$8,\!79\pm0,\!2^{\mathrm{a}}$	$13,\!68 \pm 0,\!3^{\mathrm{b}}$
Poder de inchar	nento (g/g)**	$19,70 \pm 0,53^{a}$	$15,\!48 \pm 0,\!58^{\mathrm{b}}$
Solubilidade (%	b)**	$48,28 \pm 0,63^{a}$	$27,92 \pm 0,81^{b}$

 Tabela 1.3. Propriedades térmicas e funcionais da farinha e do amido de biri

 (ANDRADE-MAHECHA, 2009)

 T_o : Tenperatura de inicio da gelatinização, T_p : Temperatura pico de gelatinização e, T_f : Temperatura final de gelatinização

* (J/g amido seco)

**Determinado a temperatura de 85 °C

Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

1.3 Filmes biodegradáveis

1.3.1 Filmes a partir de amido

Macromoléculas de polissacarídeos como o amido são estruturas compostas pela interação da amilose e amilopectina, que têm sido amplamente estudadas desde a década e 1960. Dos dois biopolímeros, a amilose tem sido mais estreitamente associada com a capacidade para formar filmes e coberturas, devido à sua natureza linear. O amido é abundante na natureza e apresenta-se como um produto barato entre os disponíveis comercialmente. Um filme pode ser feito de qualquer tipo de amido que contém amilose quando preparado nas condições requeridas para a formação de filmes (KRAMER, 2009). Amidos com alto teor de amilose (50, 70 ou 90%) têm sido produzidos a partir de mutações genéticas do milho visando sua utilização na elaboração de filmes. Em geral, esses tipos de amidos têm a desvantagem de serem altamente cristalinos, precisando de altas temperaturas para atingir uma completa gelatinização (KRAMER, 2009). Lourdin et al. (1995) estudaram o efeito da proporção amilose/amilopectina usando uma combinação de frações de amido nativos. Estes autores reportaram que a resistência mecânica e a elongação à ruptura aumentaram

com o incremento do percentual de amilose. Hernández et al. (2008) elaboraram filmes comestíveis à base de amidos de banana e biri com e sem adição de plastificante (glicerol), e estudaram a digestibilidade *in vitro* desses filmes, em comparação com filmes produzidos a partir de amidos de milho e batata. Andrade-Mahecha (2009) desenvolveu filmes à base de amido de biri extraído a partir de rizomas cultivados no sudeste do Brasil. Bergo et al. (2008) estudaram o efeito da concentração de glicerol em filmes de amido de mandioca. Dias et al. (2010) desenvolveram filmes biodegradáveis à base de amido de arroz com adição de glicerol ou sorbitol como plastificantes. Araujo et al. (2010) estudaram o efeito de algumas variáveis de processo nas propriedades de filmes à base de amido de quinoa, e otimizaram as condições de processo para esses filmes.

Embora a utilização de diferentes amidos na produção de filmes tenha sido bastante estudada, estes materiais possuem moderada permeabilidade ao oxigênio, baixa barreira à umidade e baixa resistência mecânica (KROCHTA e MULDER-JHONSTON, 1996; VEIGA-SANTOS et al., 2005). Uma alternativa para melhorar tais propriedades consiste na preparação de filmes compostos, obtidos a partir da combinação de polissacarídeos, proteínas e lipídios ou a adição de fibras (GUILBERT et al., 1997; WOLLERDORFER e BADER, 1998; ARVANITOYANNIS e BILIADERIS, 1999). Esta alternativa tem incentivado pesquisas para melhorar as propriedades dos filmes de amido dependendo das características desejadas e em virtude do uso a que se destinam.

1.3.2 Filmes a partir de farinhas

O emprego de misturas naturais (carboidratos, proteínas, lipídeos e fibras) de uma mesma fonte para elaboração de filmes biodegradáveis é uma tendência recente e compreende o grupo das farinhas de diversas fontes como frutas, grãos de cereais, pseudocereais, tubérculos e rizomas. Assim, as propriedades dos filmes de farinha dependem do tipo de interações formadas por seus biopolímeros (amido, proteína e fibras) e pelo lipídio, da distribuição dessas interações dentro da matriz do filme, do balanço das interações hidrofílicas e hidrofóbicas, assim como da concentração de cada componente dentro do filme (TAPIA-BLÁCIDO, 2006; ANDRADE-MAHECHA, 2009).

Filmes de farinha de amaranto da especie *A. caudatus* foram elaborados utilizando glicerol como plastificante apresentando coloração amarelada, opacidade moderada, alta flexibilidade, baixa

resistência mecânica, solubilidade intermediária e excelente propriedade de barreira ao vapor de água (TAPIA-BLÁCIDO et al., 2005). Filmes de amido, proteína, proteína-lipídeo e de farinha extraídos do grão de amaranto foram elaborados e comparados (TAPIA-BLÁCIDO et al., 2007). Foi determinado que as proteínas e lipídios nativos na farinha de amaranto foram estabilizados na matriz de amido, conferindo aos biofilmes de farinha, propriedades de barreira muito superiores aos biofilmes dos componentes puros (amido, proteína ou proteína-lipídeo).

Sothornvit e Pitak (2007) elaboraram filmes de farinha de banana adicionados de pectina e plastificados com glicerol e concluíram que, com o acréscimo na quantidade de pectina (0-1%) e de amido de banana (4-8%), propriedades como a tensão e o módulo de elasticidade foram incrementadas enquanto que diminuiu a flexibilidade dos filmes. Nesse estudo o incremento na concentração de glicerol de 30 a 50% levou a um aumento na flexibilidade do filme, evidenciando o efeito típico do composto plastificante adicionado.

Araujo (2008) desenvolveu filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa da variedade "Real" (amido, farinha extraída por via úmida e farinha integral). Este estudo abrangeu a capacidade dos derivados obtidos de formar filmes com características específicas em função da composição centesimal da matéria-prima inicial. Em geral, os filmes obtidos a partir de farinhas, apresentaram uma coloração amarelada e permeabilidade ao vapor de água moderada como consequência da falta de homogeneidade na distribuição de partículas ou fibras presentes na matriz polimérica. Quanto às propriedades mecânicas, os filmes de farinha extraída por via úmida apresentaram-se mais resistentes enquanto os de farinha integral foram mais flexíveis. De maneira geral, os filmes obtidos a partir das duas farinhas mostraram-se pouco solúveis na espessura de 80 µm. Neste estudo, também foi apresentada a otimização das condições de processo para elaboração de filmes a partir desta fonte.

Dias et al. (2010) desenvolveram filmes biodegradáveis à base de farinha de arroz, comparando as propriedades destes filmes com as de filmes produzidos a partir do amido da mesma fonte, empregando glicerol ou sorbitol como plastificante. Ambos os tipos de filmes (farinha e amido) apresentaram estruturas compactas e com propriedades mecânicas similares. No entanto, a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de farinha foi duas vezes superior à dos filmes de amido. Filmes com sorbitol foram menos permeáveis ao vapor de água e mais rígidos do que os filmes plastificados com glicerol.

Andrade-Mahecha (2009) elaborou filmes de farinha obtidos a partir de rizomas de biri cultivados no sudeste do Brasil. Os filmes de farinha apresentaram maior flexibilidade em termos de elongação, maior permeabilidade ao vapor de água e menor resistência mecânica e rigidez quando comparados com os filmes de amido de biri. Este comportamento está associado a um maior grau de plasticização da matriz polimérica dos biofilmes de farinha, o qual foi favorecido pelo conteúdo de umidade final e pelas interações resultantes entre as moléculas de fibra, proteína e lipídios presentes em maior proporção nestes biofilmes. Em relação às propriedades ópticas, os filmes de farinha apresentaram cor amarelada, enquanto que os filmes de amido apresentaram-se mais claros e menos opacos.

1.3.3 Materiais de reforço para filmes

O emprego de fibras como material de reforço começou no início do século XX com a utilização de celulose em resinas fenólicas. Hoje em dia, a indústria dos polímeros reforçados com fibras é um negocio que movimenta bilhões de dólares ao redor do mundo (JHON e THOMAS, 2008). O emprego de fibras em compósitos tem-se incrementado muito nas últimas décadas pelas vantagens que este material oferece como: baixo custo, boa resistência mecânica, biodegradabilidade e ser proveniente de fontes renováveis de matéria-prima disponíveis em todo o mundo.

A eficiência do reforço a partir de fibras naturais está associada à natureza do polímero (celulose) e sua cristalinidade. Geralmente, a resistência mecânica e a rigidez das fibras aumentam com o conteúdo de celulose. O ângulo de orientação das microfibrilas determina a dureza das fibras. Desta maneira, as fibras vegetais são mais flexíveis se suas microfibrilas encontram-se orientadas na forma de espiral em direção ao eixo da fibra, enquanto que uma orientação das microfibrilas paralela ao eixo está associada a uma maior rigidez das fibras. Pesquisas orientadas à melhoria das propriedades de barreira de biofilmes a base de amido têm indicado que a adição de fibras naturais consegue reduzir a permeabilidade ao vapor de água nestes filmes (DIAS, 2008; MÜLLER et al., 2009a). No entanto, a melhoria das propriedades de biofilmes com adição de fibras depende do grau de incorporação das fibras, o qual é limitado em função das dificuldades de dispersão na matriz polimérica. Assim, fatores como a técnica de processamento usada, a natureza físico-química da

matriz e o grau de interação matriz-fibra afetam tal incorporação (DUFRESNE et al., 1997; AVÉROUS et al., 2001). A natureza polar e hidrofílica das fibras lignocelulósicas constitui a sua maior desvantagem para seu uso na elaboração de filmes, dada sua incompatibilidade com polímeros não polares. Também sua alta capacidade de absorver umidade limita o emprego destas fibras para algumas aplicações. Diante disso, as propriedades dos compósitos dependem das características dos seus componentes individuais e da compatibilidade interfacial entre estes (GEORGE et al., 2001; JHON e THOMAS, 2008).

1.3.3.1 Fibras vegetais

As fibras vegetais são estruturas alongadas de secção transversal arredondada, amplamente distribuídas na natureza podendo ser classificadas de acordo com a origem anatômica como fibras de talo (como as de juta, rami, linho e algodão), fibras de folha (sisal, abacaxi, banana e palma), fibras de lenho (bambu, bagaco de cana) e fibras de superfície que formam a camada protetora de caules, folhas, frutos e sementes (açaí e coco) (FAGURY, 2005). São abundantes, renováveis, recicláveis, biodegradáveis e têm baixo custo quando comparadas com as fibras sintéticas (JHON e THOMAS, 2008). As fibras vegetais podem ser consideradas como compósitos de fibrilas de celulose interligadas por uma rede de moléculas de hemicelulose e lignina permeada por pectinas (JAYARAMAN, 2003). Além desses componentes, nas fibras podem-se encontrar compostos inorgânicos, pectinas, carboidratos simples, terpenos, alcalóides, saponinas, polifenóis, gomas, resinas, gorduras e ceras, entre outros (MOHAN et al., 2006; ARAUJO et al., 2008). Na Figura 1.2 é apresentada a estrutura comum de uma fibra vegetal, a qual possui camadas constituídas por microfibrilas formadas por longas cadeias de celulose estendidas (entre 30 e 100) que circundam o lúmen ou cavidade central de seção elíptica localizada no interior da fibra (SAVASTANO, 2000; PIETAK et al., 2007; SILVA et al., 2009). Essas camadas recebem denominações sucessivas da parte externa para interna: primária, secundária, e assim por diante. O principal componente das microfibrilas é a celulose.



Figura 1.2. Estrutura de uma fibra vegetal. A imagem de MEV se refere à fibra de Eucalipto (SILVA et al., 2009)

A celulose é um polímero linear cristalino, formado por unidades de β -D-glicopiranose unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4). A unidade repetitiva é a celobiose (Figura 1.3). As cadeias de celulose formam ligações de hidrogênio (LHs) intra e intermoleculares. As ligações intramoleculares ocorrem entre grupos hidroxila da mesma molécula, enquanto as intermoleculares ocorrem entre grupos hidroxila de cadeias adjacentes, como é apresentado na Figura 1.4. O primeiro tipo de interação é responsável pela rigidez da cadeia e o segundo pela formação da fibra vegetal. Desta maneira, as fibras naturais são de natureza hidrofílica, pois o grande número de grupos hidroxila incrementa a afinidade da celulose com a água (HON, 1994; MOREIRA, 2009; SILVA et al, 2009).



Figura 1.3. Estrutura da celulose a partir da β-D-glicopiranose destacando a unidade repetitiva (celobiose) (MOREIRA, 2009)

As microfibrilas que compõem as fibras, resultantes do arranjo das moléculas de celulose, são constituídas de regiões ordenadas tridimensionalmente (cristalitos) que se alternam com regiões completamente desordenadas (amorfas) constituídas de hemicelulose, lignina e pectina (SEDAN et al., 2007). A relação entre regiões ordenadas e desordenadas varia consideravelmente conforme a origem da celulose. O tipo de ligações de hidrogênio que conformam a rede de celulose faz com que este seja um polímero relativamente estável. Esta rede também dá às cadeias de celulose alta rigidez axial e esta rigidez é uma propriedade desejável para uma fibra de reforço em compósitos (EICHHORN et al., 2010).



Figura 1.4. Representação das ligações hidrogênio presentes na estrutura cristalina da celulose (MOREIRA, 2009)

As propriedades físicas das fibras naturais são influenciadas pela estrutura química da celulose, o grau de polimerização, a orientação molecular e a cristalinidade. Estas, por sua vez, encontram-se influenciadas pela origem e as condições durante o crescimento da planta como também pelos métodos de extração empregados (GEORGE et al., 2001; FAGURY, 2005; SILVA et al., 2009). Diversas pesquisas têm sido orientadas ao aproveitamento de fibras de diferentes fontes vegetais e ao estudo de tratamentos químicos, mecânicos e/ou enzimáticos para a obtenção de celulose a partir das fibras. Na Tabela 1.4 são apresentados alguns tipos de fibras pesquisadas nas duas últimas décadas.

Fonte de fibras	Seção	Pesquisadores	
vegetais	utilizada		
Açaí	Bagaço	Fagury (2005)	
Algodão	Talo	Li et al. (2001); Elazzouzi-Hafraoui et al. (2008)	
Banana	Talo	Cherian et al. (2008); Zuluaga et al. (2009); Deepa et al. (2011)	
Beterraba	Polpa	Dufresne et al. (1997); Sun e Hughes (1998)	
Cânhamo	Fibras	Thygesen et al. (2005); Sedan et al. (2007); Wang et al. (2007)	
Coco	Fibras	Rosa et al. (2010); Reddy et al. (2010)	
Ervilha	Casca	Chen et al. (2009a, b)	
Fique	Fibras	Gañan e Mondragón (2005); Castro et al. (2007)	
Linho	Fibras	Bledzki et al. (2008)	
Madeira	Bagaço	Araki et al. (1998); Janardhnan e Sain (2006); Stelte et al. (2009)	
Mandioca	Bagaço	Teixeira et al. (2009)	
Sisal	Fibras	Morán et al. (2008); Martin et al. (2009); Siqueira et al. (2009)	
Soja	Bagaço	Wang e Sain (2007)	

Tabela 1.4. Algumas fontes de fibras vegetais pesquisadas nas últimas décadas (1990 – 2010)

1.3.3.2 Microfibras, nanofibras e celulose microcristalina

A produção de fibras de celulose em escala nanométrica e sua aplicação em materiais compósitos é uma matéria de pesquisa relativamente nova. Embora haja uma crescente atividade de publicação, o número ainda é modesto quando comparado com publicações que abordam materiais de reforço inorgânico (por exemplo, nanoargilas). A aplicação de nanofibras de celulose pode ainda se encontrar limitada devido à dificuldade de separação das fibras vegetais em componentes nanoestruturados (SIRÓ e PLACKETT, 2010).

É interessante mencionar as diferenças existentes na literatura a respeito da nomenclatura aplicada aos componentes da celulose. A expressão "microfibrilas" é geralmente usada para descrever estruturas com 2-10 nm de espessura e várias dezenas de microns de comprimento, os quais são formados durante a biossíntese de celulose em plantas superiores. Dependendo de sua origem, os diâmetros das microfibrilas podem variar. No entanto, microfibrilas de celulose entrelacadas também formam agregados com larguras de 20-25 nm na parede celular do parênguima (CLOWES et al., 1968). Os termos "Nanofibril" e "nanofibras" também são utilizados como sinônimos de "microfibrilas". O termo celulose "microfibrilada" (MFC) não deve ser confundido com a expressão "microfibrilas". Embora a espessura de elementos MFC pode, em princípio, ser tão pequena quanto 3-10 nm, geralmente agregados de microfibrilas de celulose formam MFC que tipicamente se encontra na faixa de 20-40 nm (SVAGAN et al., 2007). Celulose Microfibrilada (MFC) extraída de plantas por tratamento mecânico e/ou homogeneização, foi relatada pela primeira vez no início dos anos 1980 (TURBAK et al., 1983). Desde então, e em tempos mais recentes, vários termos têm sido usados para descrever MFC na literatura, incluindo: microfibrilas, agregados de microfibrilas, celulose microfibrilar, nanofibril, nanofibras, celulose nanofibrilar, ou agregados de fibrilas (SIRÓ e PLACKETT, 2010).

Quando submetidas a tratamentos químicos, físicos, etc, as microfibrilas de celulose podem ser clivadas transversalmente ao longo das regiões amorfas, resultando em um material com alta relação de aspecto (razão entre comprimento e largura) e similar a um bastonete, conhecido como "*whiskers*" de celulose (GARDNER et al., 2008). O diâmetro típico dos "*whiskers*" de celulose está em torno de 2-20 nm, mas possuem uma ampla distribuição do comprimento, na faixa de 100-600 nm e, em alguns casos, acima de 1 µm (HUBBE et al., 2008). Devido ao quase perfeito arranjo cristalino dos "*whiskers*" de celulose, esta forma de nanocelulose tem uma elevada resistência e,

portanto, um potencial significativo como um material de reforço (EICHHORN et al., 2010). Sinônimos para "*whiskers*" de celulose incluem: "*nanowhiskers*", '*nanorods*", "*cristais de celulose*", entre os mais utilizados recentemente (SIRÓ e PLACKETT, 2010). As fortes ligações de hidrogênio entre os cristais de celulose ("*whiskers*") promovem sua re-agregação durante alguns processos como o "*spray-drying*" (LEVIS e DEASY, 2001), resultando em outra estrutura de celulose chamada "celulose microcristalina" (MCC). O diâmetro e/ou comprimento da MCC é geralmente maior que 1µm (SOUZA e BORSALI, 2004; SIRÓ e PLACKETT, 2010).

A celulose microcristalina (MCC) é um material disponível comercialmente e usado principalmente como um agente de controle reológico e como aglutinante, na indústria farmacêutica (JANARDHNAN e SAIN, 2006). Este material consiste em partículas cilíndricas e rígidas formadas por "whiskers" ou nanocristais, os quais apresentam dimensões nanométricas (iguais ou menores que 100 nm). Os nanocristais de celulose, também reportados na literatura como nanofibras ou nanowhiskers são os domínios cristalinos de fibras celulósicas, isolados por meio de hidrólise ácida, e são assim chamados devido a suas características de rigidez, de espessura e de comprimento (SOUZA e BORSALI, 2004; DUFRESNE et al., 2006; FILSON e DAWSON-ANDOH, 2009). De acordo com tais dimensões, as nanofibras possuem alta relação de aspecto (razão entre comprimento e largura) e alta área superficial específica (ao redor de 150 m^2/g) (TERECH et al., 1999; SILVA et al., 2009). Diferentes fontes têm sido utilizadas para a obtenção de nanofibras de celulose. Entre as fontes vegetais pesquisadas encontram-se: polpa de beterraba açucareira (DINAND et al., 1996; HEUX et al., 1999), de madeira conífera (SAXENA et al., 2009), de batata (DUFRESNE et al., 2000), eucalipto (CURVELHO et al., 2001), sisal (ALVAREZ e VÁSQUEZ, 2006; MORÁN et al., 2008), fique colombiano ou Agave furcrarea (GAÑÁN e MONDRAGÓN, 2005; CASTRO et al., 2007), cânhamo (CAO et al., 2008a), linho (CAO et al., 2008b), talho de banana (ZULUAGA et al., 2009), farelo de trigo (FAMÁ et al., 2009) e casca de ervilha (CHEN et al., 2009a, b). No Brasil, podem ser citados alguns estudos utilizando fibra de açaí, coco e juta (FAGURY, 2005; SANTIAGO e SELVAM, 2006), bagaço e palha de cana de açúcar (DA LUZ et al., 2006) e bagaço de mandioca (TEIXEIRA et al., 2009), entre outros.

Os parâmetros dimensionais para as várias formas de celulose citadas anteriormente encontram-se resumidos na Tabela 1.5.

Tipo de estrutura	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)	Relação de aspecto (L/d)
Microfibrilas	2 - 10	>10.000	>1.000
Celulose microfibrilada (MFC)	10 - 40	>1.000	100 - 150
<i>whiskers</i> de celulose	2 - 20	100 - 600	10 - 100
Celulose microcristalina (MCC)	>1.000	>1.000	~1

Tabela 1.5. Dimensões de nanocelulose (SAMIR et al., 2005; TANEM et al., 2006; HUBBE et al., 2008).

Fonte: Siró e Plackett (2010)

1.3.3.3 Métodos de obtenção de "microfibras" e "nanofibras" de celulose a partir de fibras vegetais

Devido a diferentes procedências e condições de processo de separação, embora constituídas por moléculas de celulose, as micro ou nanofibras podem apresentar particularidades nas suas características dimensionais e superficiais e, consequentemente, no seu desempenho como material de reforço em filmes (SILVA e D'ALMEIDA, 2009). Desde 1980, diferentes métodos têm sido desenvolvidos para a separação de fibras de celulose a partir de fontes vegetais, já que quanto menor o tamanho da partícula maior o índice de cristalinidade obtido (BONDESON et al., 2006). Esses métodos podem ser agrupados em: tratamentos químicos, mecânicos e dissolução, sendo utilizados separadamente, em següência ou combinação (HUBBE et al., 2008). Apesar da diversidade de fontes para se obter nanopartículas de celulose, os procedimentos para o isolamento de celulose, geralmente seguem um esquema de três etapas: (1) Tratamento químico ou enzimático para eliminar os componentes amorfos das fibras como hemiceluloses e lignina, (2) Hidrólise parcial, por ácidos ou enzimas para quebrar a estrutura das fibras em cristais e (3) Desintegração mecânica, por exemplo, pelo uso de forças de cisalhamento, para separar as nanopartículas. Na maioria dos casos, estas etapas estão orientadas em produzir uma suspensão coloidal de nanofibras em água, estabilizada pelas cargas negativas dos grupos aniônicos introduzidas durante uma etapa de hidrólise parcial. Detalhes dos tratamentos, assim como a ordem das etapas (2) e (3), dependem da fonte da celulose: algas, bactérias, plantas ou tunicados (animais marinhos cuja epiderme está composta essencialmente por tunicina, um isômero da celulose) (NEWMAN e STAIGER, 2008). Desta maneira, a separação das fibras a partir de matérias-primas celulósicas consiste de várias etapas, começando no pré-tratamento, passando pela hidrólise e finalizando com processos de purificação final. Alguns autores consideram que o pré-tratamento das fibras é necessário para garantir a eficácia da hidrólise. Nesta etapa o material é classificado e purificado por meio de operações de moagem e classificação em peneiras (BECK-CANDANEDO et al., 2005; SILVA e D'ALMEIDA, 2009) e, em alguns casos, a adição de hidróxido de sódio ou de potássio é utilizada com o objetivo de purificar o material antes da hidrólise com ácido (HABIBI et al., 2007).

A remoção de componentes amorfos das fibras, como a lignina, pode ser realizada mediante o emprego de reagentes seletivos e sob condições de processo brandas para evitar a solubilização e degradação de celulose e hemicelulose (IPT/SENAI, 1988). Legislações ambientais mais severas têm levado à busca de processos de deslignificação e branqueamento livres de cloro. Em função disto, vários reagentes como oxigênio, peróxido de hidrogênio e ozônio têm sido empregados. O peróxido de hidrogênio é um agente químico cuja utilização no branqueamento de pastas celulósicas tem crescido devido às rígidas regulamentações ambientais que conduziram a uma diminuição do consumo de reagentes à base de cloro. O peróxido de hidrogênio conquistou uma posição de destaque nos processos de pré-branqueamento, extração e branqueamento final da celulose, com sucesso. Diferentes tecnologias têm sido desenvolvidas no campo da aplicação do peróxido de hidrogênio. Atualmente a combinação do peróxido de hidrogênio e dióxido de cloro se tornou a maneira mais eficiente de branquear polpas sem cloro elementar (ECF), e peróxido de hidrogênio com oxigênio e ozônio a mais eficiente em polpas totalmente livres de cloro (TCF) (MICHALOWSKI et al., 1988; LOUREIRO et al., 2010; MUSSATO et al., 2008; ZIAIE-SHIRKOLAEE, 2009). Mais recentemente, devido ao seu elevado poder oxidante, os perácidos passaram a ser considerados como potenciais substitutos para os reagentes clorados e, considerando-se que a remoção de lignina envolve processos oxidativos, parece razoável investigálos com este fim. Um dos perácidos mais estudados é o ácido peracético (Pa) que vem sendo investigado como reagente de branqueamento e deslignificação para polpas químicas. Este reagente é o resultado da reação entre o peróxido de hidrogênio e o ácido acético. O ácido peracético, em meio ácido, é considerado um agente deslignificante altamente seletivo, devido à sua capacidade de oxidar estruturas ricas em elétrons, como os anéis aromáticos da lignina (POTUCEK e MILICHOVSKY, 2000; BRASILEIRO et al., 2001; PIRES DE BARROS, 2008).

A maioria dos tratamentos químicos para a obtenção de celulose, reportados na literatura, emprega ácidos fortes. O uso de ácidos deve-se ao fato de que as regiões cristalinas são insolúveis em ácidos nas condições em que estes são empregados e que a desorganização natural das moléculas de celulose nas regiões amorfas, favorece a hidrólise das cadeias presentes nestas regiões

(SILVA e D'ALMEIDA, 2009). Por outro lado, também tem sido pesquisado o emprego de tratamentos alcalinos como método de separação de microfibras com boa flexibilidade e uniformidade. Estes tratamentos consistem em dissolver o material inicial (fonte de celulose) em solventes alcalinos, precipitando as microfibras sob condições controladas (GEORGE et al., 2001).

Na hidrólise ácida pode ser utilizado ácido sulfúrico ou clorídrico. Segundo Braun et al. (2008) a hidrólise com ácido sulfúrico foi inicialmente documentada em 1951 e atualmente constitui o ácido que mais vem sendo utilizado para a separação de micro e nanofibras de celulose. Araki et al. (1998) avaliando o efeito do tipo de ácido empregado sobre as propriedades de dispersão de "whiskers" de celulose observou que estes apresentaram tamanhos e formas de partículas similares para os dois tipos de ácidos (sulfúrico e clorídrico). Entretanto, o emprego de ácido sulfúrico levou à obtenção de dispersões aquosas de nanopartículas de celulose mais estáveis. De acordo com a literatura, variáveis como concentração de ácido (40 - 64%), tempo de tratamento (0,5 – 10 h), temperatura (44 – 80°C) e a relação ácido/matéria prima (~20 ml/g) exercem alta influência nas características das micro ou nanofíbras obtidas (ARAKI et al., 1998; DONG et al., 1998; BECK-CANDANEDO et al., 2005; ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008). Depois de completado o tempo de hidrólise, algumas alternativas são citadas para paralisar a reação, como diluir 10 vezes os conteúdos da mistura ou submeter a mistura a um banho de gelo para completo resfriamento (SILVA e D'ALMEIDA, 2009). Na Tabela 1.6 são apresentados alguns trabalhos recentes sobre a obtenção de nanofíbras empregando diferentes tratamentos.

Tabela 1.6. Procedimentos empregados na última década para a obtenção de nanofibras de celulose

Autor	Fonte de celulose	Método	Resultado
LI et al. (2001)	Fibras naturais de algodão	Pré-tratamento com solução de NaOH (5 mol/L) e DMSO. Hidrólise ácida com mistura de H_2SO_4 + HCl (relação 3:1) v/v, concentração de ácido de 40% v/v. Após pré- tratamento as fibras e o ácido são misturados e submetidos a agitação em ultrasom a a 75°C por mais de 8 h. Uma suspensão coloidal final é obtida após processos sequenciais de filtração, lavagem e centrifugação.	Cristais de celulose I e II de forma esférica com tamanhos médios de 8,3 e 7,2 nm respectivamente.
GAÑÁN e MONDRAGÓN (2005)	Fibras de <i>fique</i> colombiano Comprimento: 4 mm	Tratamento alcalino. Solução de NaOH (20%) /1 hora, a temperatura ambiente. Neutralização com acido acético glacial. Lavagens com água para remover a solução álcali até atingir pH neutro. Secagem a $105 \pm 5^{\circ}$ C durante 24 horas.	Diâmetro: $0,11 \text{ nm}$ Comprimento: $2,1 \pm 0,7 \text{ nm}$ Alta remoção de componentes não celulósicos (hemicelulose).
ALVAREZ e VÁSQUEZ (2006)	Fibras de sisal Comprimento: 7,2 ± 0,6 mm Diâmetro: 0,3 ± 0,05 mm	 Método 1. Tratamento alcalino Tratamento com NaOH em solução aquosa (5% p/v) durante 24, 48 e 72 h em três temperaturas diferentes: 5, 25 e 40°C. Lavagem com água destilada até remoção do NaOH (até o pH neutro). Secagem a 60°C. Método 2. Acetilação Tratamento com ácido acético glacial, à temperatura ambiente em tempos diferentes: 1, 4 e 24 h. Decantação das fibras. Tratamento com ácido acético contendo duas gotas de ácido sulfúrico concentrado por 5 min. Filtração e lavagem com água destilada para remover o ácido. Secagem a 60°C. 	Relação de aspecto: 14,5 – 20,1. As propriedades mecânicas empregando tratamento alcalino, à temperatura ambiente por 48 h foram as mais altas. Por outro lado, menor absorção de água e alto desempenho mecânico de impacto são necessários, a acetilação por 1 h é uma opção interessante.

Continuação Tabela 1.6.

Autor	Fonte de celulose	Método	Resultado
Zhang et al. (2007)		Peneiragem 20 mesh Pretratamento com NaOH e DMSO Tratamento com HCl, H ₂ SO ₄ e NaOH	Distribuição bimodal (500 nm e 70 – 200 nm). Maior rendimento e uniformidade empregando peneiragem prévia ao pretratamento.
Leitner et al. (2007)	Polpa de beterraba açucareira (1 - 5 mm)	Tratamento mecânico. Polpa + NaOH (0,5 M), 80°C/2h, agitação freqüente. Lavagens com água destilada. Adição de NaOH, repetindo a lavagem. Branqueamento da polpa com NaClO ₂ a 70°C/2h e agitação freqüente. Lavagem com água destilada. Desintegração da polpa usando ultra turrax, 24000 rpm. Homogenização a 300 bar (10 - 15 passos).	Obtiveram-se suspensões de nanofibras de celulose com um conteúdo de 0,5% em peso. Diâmetro: 30 – 100 nm e comprimento: vários µm.
Morán et al. (2008)	Fibras de sisal Diâmetro: 220,5 ± 105 μm	1. Obtenção da celulose <u>Método 1.</u> Pré-tratamento com NaOH (0,1 M) + Etanol (50% v), 45 °C / 3h , agitação continua. Tratamento com H_2O_2 45°C/3h em agitação continua. Tratamento com NaOH (10% p/v) e Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O (1% p/v), 28°C/ 15h em agitação continua. Tratamento com HNO ₃ (70%) + HAc (80%) (1/10 v/v), 120 °C / 15 min. Lavagem com etanol 95%. Secagem em estufa a 60 °C. <u>Método 2.</u> Tratamento com NaClO ₂ (0,7% p/v). Tratamento com solução de NaOH (17,5% p/v). Filtração e lavagem com água destilada. Secagem em estufa ao vácuo a 60 °C. 2. Produção da nanocelulose <u>Hidrólise ácida da celulose obtida</u> Solução de H ₂ SO ₄ (60% p), 45 °C / 30 min	Método 1.Diâmetro: $22,0 \pm 9,2 \mu m$.9,2 μm .Maior número de etapas.etapas.Tratamento menos agressivo e totalmente livre de cloro.Método 2.Diâmetro: $9,1 \pm 2,1 \mu m$.Distribuição de diâmetros mais homogênea. Menor tempo de processo. Menor quantidade de defeitos na superfície das fibras.

Continuação Tabela 1.6.

Autor	Fonte de celulose	Método	Resultado
Saxena et al. (2009)	Fibras de celulose de madeira conífera branqueada com 7% de umidade foram moídas e peneiradas em tamiz 0,5 mm.	<u>Método 1.</u>Obtenção da celulose (Pu et al., 2007). Tratamento ácido com H_2SO_4 (64%), 45°C/45 min. Diluição da suspensão em água deionizada. Separação da celulose com uma quantidade mínima de água. Lavagem. Centrifugação (3000 rpm/20 min e 11000 rpm/20 min), descartando a fase aquosa. Diálise com água deionizada durante vários dias até atingir pH neutro. Ultrasom (35 min). Repouso sobre uma resina de leito misto durante 48 h. Filtração. Obtenção da nanocelulose (Zhang et al 2007). Tratamento da polpa refinada (0,35 mm) com NaOH (5,0 M), 75°C/3 h. Lavagem e tratamento com DMSO, 75°C/3 h. Lavagem. Hidrólise ácida com HCl (12,1 N) + H ₂ SO ₄ (36,0 N), 75°C/10 h em ultrasom. Centrifugação (2750 rpm). Diálise (Membrana PM 1000). Tratamento ácido (2 ^a etapa) a 75°C/4 h. Centrifugação. Diálise	Diâmetro médio: 80 nm Rendimento: 70% Microcristais Largura: 3,5 nm Comprim.: 180 ± 75 nm Rendimento: 7-10%
		Método 2. Obtenção da celulose (Araki et al., 1998 e 1999). Tratamento ácido com HCl (4,0 N), 80°C/8 h. Diluição da suspensão em água deionizada. Diluição da celulose em água deionizada. Diálise com água deionizada durante vários dias. Ultrasom (2 min). Centrifugação (1600g/5 min). Ultrasom (2 min). Centrifugação (1600g/5 min). O procedimento foi repetido até o sobrenadante se tornar claro. Obtenção da nanocelulose (Zhang et al 2007). Centrifugação da suspensão de celulose (20000g/25 min). O sobrenadante claro foi descartado.	Para se obter uma boa dispersão dos microcristais tratados com HCl, uma remoção mais completa do ácido do hidrolisado é necessária.

Continuação Tabela 1.6.

Autor	Fonte de celulose	Método	Resultado
Chen et al. (2009a)	Fibras de casca de ervilha	Hidrólise ácida com H_2SO_4 : 64% (p/p) a 45°C/4 horas. Neutralização com NaOH (40% p/p). Branqueamento com NaClO. Lavagens com água deionozada. Diálise durante 3 dias. Suspensão em água deionizada.	Comprimento: 400 ± 200 nm. Diâmetro: 12 ± 6 nm. Obtenção de celulose tipo I.
Teixeira et al. (2009)	Bagaço de mandioca seco	Hidrólise ácida com H_2SO_4 (6,5 M), 60°C/40 min sob agitação mecânica. Centrifugação (8000 rpm/10 min). Diálise. Ultrasom (5 min).	Largura: $2 - 11$ nm, comprimento: $360-1700$ nm e diâmetro: 25 ± 7 nm
Wang et al. (2008)	Celulose microcristalina (MCC) comercial com tamanho de partícula de 20 µm	Hidrólise ácida com H_2SO_4 (98% p/p) + HCl (37% p/p) + água destilada (3:1:6 v/v). Hidrólise ácida sob ultrasom por 10 h. Repouso a temperatura ambiente. Lavagens, centrifugação e diálise descartando o sobrenadante turvo.	Suspensão de nanocrsitais (3,9% de sólidos p/p). Distribuição de tamanho de 10 a 180 nm, com predomínio de 20 e 90 nm.
Zuluaga et al. (2009)	Fibras do talho de banana da terra	Método 1. Tratamento com NaOH (0,5 M), a 30°C/18 horas sob agitação. Tratamento do resíduo insolúvel com NaOH (0,5 M) e H_2O_2 (3% peso), a 45°C/14 horas. Tratamento com NaOH (2 M), a 55°C/2 horas. Método 2. As primeiras etapas do método 1 e muda a etapa final de NaOH por um tratamento com HCl (2 M), a 80°C/2 horas. Método 3. Tratamento com KOH (5% peso), a temperatura ambiente por 14 horas sob agitação. Tratamento com NaClO ₂ (1% peso) a 70°C/1 hora. Segundo tratamento com KOH nas mesmas condições. Tratamento com HCl (1% peso), a 80°C/2 horas.	Método 1. Diâmetro: 5 nm Comprimento: vários µm Relação de aspecto ∞ Método 2. Tamanhos "nano" em diâmetro e comprimento Método 3. Diâmetro: 5 nm Comprimento: vários µm Foi o método mais eficiente na remoção de lignina

1.3.4. Filmes reforçados com microfibras de celulose

Materiais de reforço tais como fibras já foram estudados para melhorar as características dos filmes, revelando que o emprego desses materiais pode afetar as propriedades mecânicas de filmes, por exemplo, aumentando o módulo de elasticidade em até três vezes (DOGAN e MCHUGH, 2007). Entretanto, a adição de materiais de reforço em mais de 25%, geralmente resulta em uma diminuição da elongação à ruptura. Segundo Revol et al. (1994), a isotropia e a anisotropia da dispersão das micropartículas de celulose dependem de sua concentração. Dispersões diluídas levam a sistemas isotrópicos em que os cristalitos estão orientados aleatoriamente. Por outro lado, dispersões concentradas levam a sistemas anisotrópicos, em que os cristalitos aparecem como gotas esféricas ou ovais. Assim, a presença de elevada quantidade de fibras pode limitar as forças intermoleculares entre os componentes dos filmes de amido, o que induz o desenvolvimento de uma estrutura de filme heterogênea (WITTAYA, 2009). Existem dois tipos de fibras de celulose que são utilizadas principalmente como reforço para compósitos: microfibras e nanofibras. A principal diferenca entre elas é o seu tamanho. As fibras são consideradas como microfibras, quando a sua largura (diâmetro) é superior a 100 nm e são nomeadas como nanofibras quando sua largura é inferior a 100 nm (FILSON e DAWSON-ANDOH, 2009). Na Tabela 1.7 são apresentados alguns trabalhos recentes empregando microfibras de celulose como material de reforço de filmes biodegradáveis.

A maioria dos pesquisadores tem estudado o efeito das fibras em filmes biodegradáveis e, provavelmente, uma das propriedades mais estudadas tem sido a permeabilidade ao vapor de água (PVA). Müller et al. (2009) utilizaram microfibras com 0,1 mm de largura e 1,2 mm de comprimento e avaliaram sua influência na PVA de filmes de amido de mandioca submetidos a diferentes gradientes de umidade relativa (Δ UR). Os autores observaram que nas faixas Δ UR de 2-33% e 64-90%, os filmes contendo 0,5 g de fibras / g de amido seco, apresentaram uma diminuição nos valores de PVA em aproximadamente 3,7 e 1,5 vezes comparado com o filme controle (sem adição de microfibras). No trabalho desenvolvido por Dogan e McHugh (2007), foram estudadas três variáveis de processo para analisar sua influência na PVA e nas propriedades mecânicas de filmes de hidroxipropilmetil celulose (concentração de microfibras, tamanho das partículas e velocidade de homogeneização da solução filmogênica). Estes autores observaram que as variáveis estudadas não apresentaram influência significativa nos valores de PVA dos filmes obtidos, mas o tamanho das partículas de fibra e a velocidade de homogeneização influenciaram nas propriedades

mecânicas destes filmes. Os autores verificaram que a resistência à tração dos filmes teve um aumento de mais de 40% ($28,5 \pm 1,5$ para 70,1 $\pm 7,9$ MPa) com a adição de celulose microcristalina de menor tamanho ($0,5 \mu$ m), empregando a maior velocidade de agitação do estudo (10000 rpm). Entretanto, o módulo de elasticidade foi mais alto quando as microfibras foram incorporadas na velocidade de agitação de 10.000 rpm quando comparado com as incorporadas a 600 rpm. Outros estudos também têm demonstrado a importância do tamanho do material de reforço nas propriedades dos filmes (AZEREDO et al., 2009 ; CHUAYJULJIT et al., 2010). Assim, nanofibras têm melhores resultados do que microfibras quando se trata de reforço de filmes.

Author	Biopolimero/microfibras	Resultados
Dogan e McHugh (2007)	Hidroxipropilmetil celulose / celulose microcristalina (MCC) Tamanho da MCC (0.5, 1.5 e 3 μm).	A melhor dispersão das microfibras na matriz foi obtida empregando a velocidade de agitação mais alta (1000 rpm). O menor tamanho de MCC empregado (0.5 μm) foi o mais eficaz como material de reforço para melhorar as propriedades mecânicas dos filmes.
Wittaya (2009)	Amido de arroz / celulose microcristalina a partir de fibras de palma prensada Comprimento: 0.480 ± 0.023 μm	A incorporação de MCC incrementou a resistência à tração dos filmes. Observou-se uma alta compatibilidade entre a matriz de amido e o material de reforço (MCC). Concentração acima de 25% de MCC leva à obtenção de uma estrutura polimérica heterogênea.
Müller et al. (2009a)	Amido de mandioca/ Microfibras de celulose (Comprimento: 1.2 mm e largura: 0.1 mm)	Filmes reforçados com microfibras de celulose apresentaram altos valores de resistência à tração e baixos valores de solubilidade quando comparados com filmes sem adição de microfibras.

Tabela 1.7. Recentes trabalhos sobre filmes reforçados com microfibras de celulose

1.3.5. Filmes reforçados com nanofibras de celulose

Os nanocompósitos são obtidos pela incorporação física de nanopartículas de celulose em matrizes poliméricas. As propriedades destes nanocompósitos dependem das características dos nanocristais de celulose, da matriz polimérica, da interação entre ambos e das técnicas de processamento. O trabalho pioneiro de Favier et al. (1995) foi um dos fatos que motivou o interesse na utilização de cristais de celulose em conjunto com matrizes poliméricas.

A obtenção de nanocompósitos homogêneos é o principal desafio no seu processo de preparação. A utilização de matrizes hidrosolúveis facilita a formação de compósitos em virtude da alta dispersabilidade da suspensão coloidal dos nanocristais em meio aquoso. A importância da dispersão das nanofibras em matrizes poliméricas tem sido reportada por vários pesquisadores como pré-requisito para alcançar resultados desejáveis como materiais de reforço mecânico (KVIEN et al., 2005). Segundo Bondeson et al. (2007), a repulsão eletrostática de nanofibras em suspensão pode ser alcançada por hidrólise com ácido sulfúrico devido à introdução natural de grupos sulfatos sobre a superfície das nanopartículas durante essa etapa. Van der Berg et al. (2007) verificaram que nanofibras de celulose sem modificação de superfície apresentam fortes interações entre elas, com notória dificuldade em serem redispersas em água. A este respeito, alguns autores têm reportado que a dispersão dos nanocristais na matriz polimérica é homogênea para compósitos com concentração de nanocristais de celulose acima de 10% em massa ocorre a aglomeração dos nanocristais, causando a separação de fase no compósito, o que compromete as propriedades mecânicas do material (PARALIKAR et al., 2008).

Na Tabela 1.8 são apresentadas as características de filmes obtidos em algumas pesquisas recentes empregando nanofibras vegetais como material de reforço.

Autor	Biopolímero / Nanofibras	Resultados
Azeredo et al. (2009)	Purê de manga / Nanofibras de celulose comercial (Diâmetro 7,2 ± 0,3 nm e comprimento 82,6 ± 4,3 nm)	Boa dispersão das nanofibras na matriz sem presença significativa de aglomerados. A adição de nanofibras aumentou a tensão de ruptura e o modulo de elasticidade dos filmes entanto que diminuiu sua elongação e permeabilidade ao vapor de água. Também levou a um pequeno incremento da Tg.
Chen et al. (2009a)	Amido de ervilha / Nanofibras de casca de ervilha (Diâmetro: 12 ± 6 nm e comprimento: 400 ± 200 nm)	Dispersão homogênea das nanofibras na matriz polimérica. Alta transparência, tensão e elongação à ruptura e barreira ao vapor de água quando comparados com filmes de amido de ervilha sem adição de nanofibras.
Saxena et al. (2009)	Xilana obtida a partir de aveia / Nanofibras de madeira conífera obtidas por hidrólise com H ₂ SO ₄ com diâmetro médio de 80 nm	Filmes com 7% de nanofibras obtidas por hidrólise com H_2SO_4 apresentaram maior resistência à tração e elongação quando comparados com os filmes adicionados de microcristais obtidos por hidrólise com HCl.
	Xilana obtida a partir de aveia / Microcristais de madeira conífera obtidos por hidrólise com HCl com largura de 3,5 nm e comprimento de 180 ± 75 nm	Microcristais tratados com HCl adicionados aos filmes em concentrações acima de 7% apresentaram pobre dispersabilidade e formação de agregados soltos e volumosos.
Teixeira et al. (2009)	Amido de mandioca / Nanofibras obtidas a partir de bagaço de mandioca (largura entre 2 e 11 nm, comprimento entre 360 e 1700 nm)	Diminuição da hidrofilicidade dos nanocompósitos plastificados com glicerol.

 Tabela 1.8. Características de filmes com adição de nanofibras vegetais

1.4 Coberturas comestíveis a base de biopolímeros em alimentos frescos

A escolha de produtos naturais para uma alimentação saudável é uma tendência moderna que tem aumentado rapidamente. Neste sentido a aquisição de produtos minimamente processados é benéfica para a saúde. No entanto, as operações de processamento podem desencadear mudanças que afetam a qualidade. Os filmes e coberturas têm sido desenvolvidos como uma estrategia para reduzir os efeitos que o processamento dos produtos ocasiona (ROJAS GRAÜ et al., 2006).

As coberturas comestíveis têm sido aplicadas sobre os alimentos, para criar uma atmosfera modificada que restringe a transferência de gases (CO₂ e O₂) e compostos aromáticos, favorecendo a proteção da textura e aparência do alimento. Hoje em dia, as coberturas vêm sendo empregadas como veículos transportadores de agentes antioxidantes, antimicrobianos e potenciadores de sabor (MILLER e KROCHTA, 1997; FALGUERA et al., 2011). Segundo Torres et al. (2007), as coberturas comestíveis ajudam na conservação de frutas, vegetais e produtos cárneos, dada sua eficácia contra a ação microbiana, os gases e a umidade do meio, reduzindo a perda de nutrientes do alimento. O tipo de cobertura a utilizar depende das características do produto a conservar, das características do material estrutural (composição, peso molecular), das condições em que o material foi preparado (tipo de solvente, concentração de componentes, pH e temperatura) e do tipo e concentração de aditivos (plastificantes, agentes antimicrobianos, antioxidantes ou emulsionantes) (ROJAS-GRAÜ et al., 2009). Desta maneira, para alimentos suscetíveis à oxidação, as coberturas devem apresentar baixa permeabilidade ao oxígênio. Assim, por exemplo, frutas e hortaliças frescas, requerem coberturas com adequada transferência de gases para reduzir sem inibir a respiração destes alimentos, evitando os processos fermentativos (DEBEAUFORT e VOILLEY, 1994). As coberturas são produzidas a partir de biopolímeros, sendo os mais utilizados: os polissacarídeos (amido, pectina, celulose, alginato e carragena, entre outros), proteínas (gelatina, zeína, glúten, caseína, ovoalbúmina, entre outros) e lipídeos (monoglicérideos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácidos graxos), ou a combinação destes com capacidade de produzir matrizes contínuas.

O amido é o polissacarídeo natural mais comumente utilizado nas formulações de cobertura por ser barato, abundante, comestível e de fácil utilização. Além disso, estas coberturas são brilhantes e transparentes, o que melhora o aspecto visual dos produtos, e podem ser ingeridas juntamente com o produto protegido ou podem ser removidas com água (HENRIQUE e CEREDA, 1999). As fontes de amido mais exploradas para a elaboração de coberturas comestíveis têm sido milho, batata e mandioca, aplicadas em produtos como morangos, pimentões e tomates, algumas empregando agentes antimicrobianos e obtendo um aumento na vida útil desses produtos (GARCIA et al., 1998; HENRIQUE e CEREDA, 1999; VICENTINI et al., 1999; DAMASCENO et al., 2003; GARCIA et al., 2010).

Chiumarelli et al. (2010) desenvolveram coberturas à base de amido de mandioca para preservar os parâmetros de qualidade de mangas minimamente processadas, reportando que o tratamento empregando imersão da fruta em ácido cítrico (5 g / L) e aplicação da cobertura, promoveram a preservação da textura e das características de cor das mangas e retardaram a formação de carotenóides e reações de escurecimento durante o armazenamento. Além disso, as mangas revestidas com cobertura tiveram grande aceitação sensorial por parte dos consumidores durante 15 dias de armazenagem. Mais recentemente, Chiumarelli et al. (2011) reportaram que coberturas à base de amido de mandioca e de alginato de sódio são alternativas para preservar mangas minimamente processadas, mantendo os parâmetros de qualidade da fruta fresca e aumentando a vida útil desse produto. Coberturas à base de amido de mandioca também têm sido aplicadas em abacaxi minimamente processado, demonstrando ser eficientes em reduzir a taxa de respiração, perda de peso e exsudação do suco, mantendo as propriedades mecânicas da fruta (BIERHALS et al., 2011).

A quitosana e seus derivados apresentam um grande número de aplicações focadas em sistemas de embalagem ativas. A quitosana tem um grande potencial que pode ser aplicado na indústria de alimentos devido às suas particulares propriedades físico-químicas, tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade com os tecidos humanos, toxicidade nula e, especialmente, suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas (THARANATHAN e KITTUR, 2003; AIDER, 2010). Misturas contendo quitosana permitem obter permeabilidade seletiva a gases (CO₂, O₂). No entanto, as aplicações deste material são limitadas, dada sua alta permeabilidade ao vapor de água.

Coberturas à base de proteínas também têm sido desenvolvidas, dentre as quais podem-se citar aquelas elaboradas à base de caseína, de proteínas de soro de leite, assim como misturas de gelatina com amido nativo de trigo, sorgo, batata e arroz (KROCHTA e DE-MULDER-JOHNSTON, 1997; FAKHOURI et al., 2007). Fatores como solubilidade da proteína e sua dependência do pH são parâmetros de importância na elaboração destas coberturas. Coberturas à

base de glúten de trigo demonstraram ser eficazes para manter a qualidade e aumentar a vida útil de morangos refrigerados. A adição de lipídios nestas coberturas mostrou um efeito benéfico sobre a retenção de firmeza, redução da perda de peso e preservação das características sensoriais dos morangos (TANADA-PALMU e GROSSO, 2005).

Em geral, os polissacarídeos e proteínas apresentam grande potencial de uso como material para a formação de coberturas comestíveis, mostrando boas propriedades estruturais e mecânicas, mas estes materiais apresentam pouca propriedade de barreira à transferência de umidade. Esse problema não é encontrado em lipídios, devido às suas propriedades hidrofóbicas, especialmente aqueles com alto ponto de fusão, como a cera de abelha e de carnaúba (SHELLHAMMER e KROCHTA, 1997; MORILLON et al., 2002).

Dentre os lipídios empregados para a formação de coberturas, merecem destaque as ceras (de abelha, carnaúba, triglicerídeos, monoglicerídeos, diacetilados, ácidos graxos, entre outros). Devido à sua baixa barreira ao vapor de água, a principal aplicação destas coberturas é referida a frutas e vegetais para controlar a perda de umidade (MORILLON et al., 2002). Fatores como grupos químicos, comprimento de cadeia alifática e presença de duplas ligações, são propriedades físico-químicas que permitem controlar de diferentes formas a transferência de água mediante o uso de um lipídio específico. As coberturas contendo lípidos apresentam propriedades de barreira ao vapor de água bastante efetivas, mas podem ser opacas e apresentar sabor residual, o que pode influenciar nas características sensoriais do alimento (FAKHOURI et al., 2007).

Pesquisas recentes têm sido orientadas ao desenvolvimento de coberturas com propriedades bioativas, empregando produtos químicos, enzimas ou microorganismos que impedem, por exemplo, o crescimento microbiano, ou lipídios que retardam a oxidação em produtos alimentícios. A utilização de componentes como óleos, em combinação com polímeros estruturais, apresenta-se como uma fonte promissora de materiais com função antimicrobiana e antioxidante (ATARES et al., 2010; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010). Devido às modernas técnicas de microencapsulação e nanoencapsulação, outro tipo de aplicação recentemente explorada é a de coberturas contendo nutrientes ou outros compostos bioativos que têm um efeito positivo sobre a saúde. Desta forma, os materiais de cobertura atuariam como portadores desses compostos bioativos, permitindo seu transporte para locais de destino, como o intestino, sem perder sua atividade, estando dentro de uma matriz durante a sua passagem através do trato gastrointestinal

(KORHONEN, 2005). Outras pesquisas têm demonstrado a eficácia das coberturas comestíveis no controle dos processos de escurecimento provocados pela atividade da polifenol oxidase (PPO), a qual é a principal responsável pelas alterações de cor em tecidos vegetais que contêm compostos fenólicos. Eissa (2008) demonstrou que coberturas à base de quitosana foram efetivas para reduzir a atividade enzimática da PPO, e tiveram um efeito positivo na preservação da cor de cogumelos minimamente processados e armazenados a 4°C. As tendências no uso de coberturas comestíveis estão orientadas à redução da incorporação de gordura durante a fritura dos produtos (ALBERT e MITTAL, 2002; MELLEMA, 2003; SALVADOR et al., 2005), ao transporte de compostos bioativos e à extensão da vida útil de produtos altamente perecíveis. Assim, as pesquisas neste campo, visam à caracterização de novas fontes de biopolímeros com capacidade para formar matrizes contínuas, de liberar moléculas com funções específicas, como vitaminas, antioxidantes naturais, cores, sabores, aromas e avaliar as interações que podem fornecer essas moléculas com a matriz de encapsulamento.

1.5 CONCLUSÕES

Os estudos citados neste capítulo sobre o uso de amido e celulose obtida a partir de fontes vegetais evidenciaram que estes biopolímeros são materiais promissores para a produção de microcompósitos, nanocompósitos e coberturas, devido a suas propriedades mecânicas, ao melhoramento das propriedades de barreira ao vapor de água e solubilidade, além do seu caráter renovável e biodegradável. A eficácia da celulose como material de reforço em filmes compósitos depende de vários fatores como a origem, métodos de obtenção, características fisico-químicas e o método de preparação dos compósitos. Diante da necessidade de desenvolver métodos de obtenção de celulose amigáveis com o meio ambiente, o emprego de ácido peracético ou peróxido de hidrogênio nas etapas de deslignificação das fibras vegetais, apresenta-se como alternativa potencial em processos de branqueamento livres de cloro. Estes reagentes poderiam ser avaliados no tratamento químico do farelo de biri para a obtenção de celulose, visando à utilização deste biopolímero como material de reforço na elaboração de compósitos de amido. Desta maneira, a compatibilidade de dois biopolímeros (amido e celulose) obtidos a partir da mesma fonte vegetal (biri) poderia ser avaliada a partir das propriedades dos compósitos resultantes.

2. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS E FUNCIONAIS DO AMIDO E FARELO DE BIRI (*Canna indica* L.)

Neste capítulo apresenta-se a caracterização do amido e farelo de biri (*Canna indica* L.) com base em suas propriedades físico-químicas, térmicas e funcionais. O amido apresentou alto grau de pureza (99,8%) com alto teor de amilose (40,8%), índice de cristalinidade de 28%, uma distribuição monomodal com uma ampla faixa de diâmetros entre 17,4 e 104,7 µm e menor poder de inchamento quando comparado com amidos de outras tuberosas, como mandioca e batata. No farelo de biri, destacou-se a presença de celulose (19,1%), hemicelulose (16,1%) e lignina (3,9%), um baixo índice de cristalinidade (17,1%) devido à presença de componentes amorfos (hemiceluloses e lignina) e uma temperatura de transição vítrea em 45,4°C, atribuída à presença de celulose. A análise do espectro de absorção no infravermelho (FTIR) do farelo revelou a presença de bandas típicas dos grupos funcionais característicos de materiais lignocelulósicos.

2.1 INTRODUÇÃO

A biomassa florestal representa um enorme reservatório de material renovável, rico em carbono, que tem potencial para ser utilizado como matéria-prima para a produção de uma grande variedade de produtos industriais e "commodities", que vão desde o papel, madeira, produtos químicos e uma plataforma para uma variedade de combustíveis e materiais avançados, incluindo os polímeros biodegradáveis (KEENAN et al., 2005). Visando à diminuição do impacto ao meio ambiente, existe uma contínua busca de novos biopolímeros para ser utilizados no desenvolvimento de filmes biodegradáveis e mais recentemente, uma necessidade de melhorar as propriedades dos materiais existentes utilizando fibras naturais. Nas aplicações de bipolímeros em filmes biodegradáveis é importante o conhecimento das propriedades físicas, mecânicas e químicas de cada componente da matriz polimérica, que combinadas proporcionarão as características desejadas ao filme. Atualmente, as pesquisas apontam ao estudo de biopolímeros tais como amido, celulose e proteínas produzidos a partir de monômeros orgânicos (HAUGAARD e MORTENSEN, 2003). A ampla gama de matérias-primas disponíveis constitui a motivação de cientistas do mundo inteiro pelo estudo e aplicação de novas fontes de biopolímeros. Assim, muitas das grandes empresas nacionais e internacionais contam com laboratórios avançados de pesquisa e desenvolvimento de processos focados na utilização de matérias-primas renováveis e polímeros biodegradáveis (NARAYAN e PETTIGREW, 1999). Estes biopolímeros podem ser extraídos de plantas, resíduos agrícolas ou florestais, entre outros. Exemplos incluem a celulose, amido, pectinas e proteínas. Estes fazem parte da parede celular, são materiais de reserva de plantas (amido), ou são polímeros estruturais (HAUGAARD e MORTENSEN, 2003).

Em alguns países da região Andina, a cultura de espécies tuberosas como o biri (Canna indica L.) e a extração do amido a partir destas são atividades importantes para a economia, constituindo uma fonte de renda, emprego e alimentação, dado que parte da dieta é baseada no consumo de produtos de panificação elaborados a partir do amido. Geralmente, a extração do amido de biri é um processo artesanal com a maioria das máquinas feitas por artesãos locais da região dos Andes. Na Colômbia, calcula-se uma produção anual de 1400 toneladas de amido e em certas regiões deste país, empresas conseguem obter até 300 kg/dia de amido. Entretanto, o rendimento da extração não ultrapassa 13%, provavelmente porque os raladores não conseguem liberar todo o amido localizado no tecido fibroso dos rizomas. O material fibroso, obtido como subproduto deste processo, é destinado a melhorar as propriedades estruturais do solo (porosidade e aeração), servindo de substrato para facilitar o crescimento dos rizomas do ciclo da próxima cultura (HERMANN, 1994; LEONEL et al., 2002; RODRÍGUEZ et al., 2003). Em outros países como o Vietnã, o resíduo fibroso, na época de maior produção, é seco e armazenado para a alimentação animal (HERMANN et al., 1998). De acordo com isto, os rizomas de Canna indica são uma fonte potencial para a obtenção de biopolímeros como amido e celulose, porém ainda não há registros científicos na literatura sobre a caracterização do farelo ou das fibras que podem ser obtidas a partir desta espécie vegetal. Estudos desenvolvidos por Andrade-Mahecha (2009) sobre as propriedades de filmes elaborados à base de farinha e amido de Canna indica L. ressaltaram como oportunidade de pesquisa o emprego de fibras naturais como materiais de reforço desses filmes. Atualmente, o farelo de biri é um resíduo resultante do processo de extração de amido, mas pode constituir uma fonte interessante de pesquisa para a obtenção de celulose. O presente estudo teve como objetivo a caracterização do amido e do farelo de biri, com base na composição química, cristalinidade, propiedades térmicas, microestrutura, distribuição de tamanho e diâmetro médio de partícula e grupos funcionais presentes nesses materiais.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Amido e farelo

O amido e o farelo de biri (*Canna indica* L.) foram adquiridos na região central da Colômbia, no município de Gutiérrez, Cundinamarca (4 ° 15 '00" N, 74 ° 00' 00" W, 2.291 m de altitude). Esta região possui um clima tropical (Köppen *Af*) com precipitação ao longo do ano e representa o maior mercado de amido de biri na Colômbia com produção em escala semi-industrial. O farelo seco (7,30 \pm 0,02% b.u.) foi submetido à moagem em um moínho de facas Marconi (Modelo MA340, Piracicaba-SP, Brasil) para sua utilização no presente trabalho. Em seguida, o material foi peneirado utilizando-se um classificador vibratório com temporizador e peneiras da série Tyler (65 e 200) para obter um tamanho de partícula (X) dentro de uma faixa específica (0.075 mm > X < 0.21 mm). Posteriormente o farelo foi mantido em recipientes de polietileno, estocados sob refrigeração (~ 5°C).

2.2.2 Composição química do amido e do farelo

O amido foi caracterizado quanto à umidade (AOAC., 2005, método nº 925.09), cinzas (AOAC., método nº 923.03), proteína (AOAC., 2005, método no. 926.86), fibra alimentar total (AOAC., 2005, método nº 985.29), lipídios totais (BLIGH & DYER., 1959) e amido (DIEMAIR, 1963). O teor de amilose do amido foi determinado de acordo com o método da ISO 6647 (1987) e expresso em porcentagem (g de amilose / 100 g de amido seco). Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

O farelo foi caracterizado quanto à umidade (AOAC., 2005, método nº 925.09), teor de cinzas (AOAC., 2005, método nº 923.03), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), celulose e lignina (VAN SOEST et al., 1991). A concentração de hemiceluloses foi estimada pela diferença entre o valor de FDN e o de FDA (VAN SOEST, 1994). As análises foram conduzidas em triplicata.

2.2.3 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (S) do amido

O poder de inchamento (PI) e a solubilidade (S) foram determinados segundo o método descrito por Yu et al. (2010). Amostras de amido (0,5 g b.s) foram pesadas (W) em tubos de centrífuga e, em seguida, 20 ml de água destilada foram adicionados. Os tubos foram aquecidos a 55, 65, 75, 85 e 95°C em banho-maria com agitação por 30 minutos em cada temperatura. Cada tubo foi resfriado à temperatura ambiente e centrifugado a $2600 \times g$ por 15 minutos. O sobrenadante foi colocado em placa de petri (de peso conhecido) e levado à estufa a 105 °C até peso constante (Wr). O material aderido à parede do tubo foi considerado como o sedimento úmido e pesado (Wt). O poder de inchamento (SP) e solubilidade (S) foram calculados segundo as equações [2.1] e [2.2]. As análises foram conduzidas em triplicata.

$$SP = \frac{W_t}{W - W_r}$$
[2.1]

$$S = \frac{W_r}{W} \times 100\%$$
 [2.2]

2.2.4 Cristalinidade do amido e do farelo por Difração de Raios-X (DRX)

A cristalinidade do amido e do farelo foi estudada pela técnica de difração de raios-X (DRX) usando um difractômetro modelo D5005 (marca Siemens, Karlsruhe, Deutschland) equipado com um monocromador de grafite. Utilizou-se uma fonte de radiação CuK α ($\lambda = 0.154$ nm) de 40kV e 30mA. Os difratogramas foram obtidos à temperatura ambiente (25°C) sob ângulo 20 variando de 5° a 70° em passos de 0.02°/seg, usando o software Diffrac Plus Evaluation 11, Release 2005. Os difratogramas foram suavizados usando o método de Savitsky-Golay (polynome = 2, points = 15) (VAN SOEST et al., 1996). O índice de cristalinidade (Ic_r, %) das amostras foi calculado como o quociente entre a área cristalina (Ac) dos picos de maior difração e a área total (At) do difratograma, como descrito por Cheetham et al. (1998) e Nuwamanya et al. (2010). Para o cálculo da área correspondente aos picos característicos da região cristalina da amostra (Ac), uma linha na

base desses picos foi plotada no difratograma, enquanto que para o cálculo da área total (At), a linha base foi plotada na faixa angular de 5 a 50°. O cálculo destas áreas foi realizado usando o software Origin v.8.5 (Northampton, MA, USA).

O índice de cristalinidade (Ic_r, %) do farelo foi calculado empregando a equação [2.3], seguindo o método proposto por Segal et al. (1959) e utilizado por diferentes autores para o estudo de fibras naturais (THYGESEN et al., 2005; REDDY et al., 2010; NADA et al., 2009; ABE e YANO et al., 2009; DUCHEMIN e STAIGER, 2009; CHUAYJULJIT et al., 2010; PARK et al., 2010; TERINTE et al., 2011). Nesse método, o Ic_r é calculado a partir da razão de alturas entre a máxima intensidade do pico cristalino (I₂₀₀) e a intensidade de difração do material não-cristalino, representada por I_{non-cr}, como pode ser observado na Figura 2.1.



Figura 2.1 Espectro de difração de DRX de uma amostra de celulose I, ilustrando o método da altura de pico (FONTE: TERINTE et al., 2011)

$$Ic_r = \frac{I_{200} - I_{non-cr}}{I_{200}} \times 100$$
 [2.3]

Onde:

 I_{200} = Máximo valor de intensidade do pico cristalino, localizado em 20 entre 22-24°

 I_{non-cr} = Valor de intensidade que separa os dois picos de difração observados na Figura 2.1. Esta é localizada em 20, 18° e representa o material não-cristalino.

2.2.5 Propriedades térmicas do amido e do farelo por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As propriedades térmicas do amido e do farelo foram medidas com um calorímetro diferencial de varredura (DSC 2920, TA Instruments, New Castle, DE, EUA). Para o caso do amido, 7,0 \pm 0,1 mg de suspensão de amido na concentração de 30% (p/p em base seca) foram pesadas diretamente em cápsulas de alumínio (TA Instruments, EUA). Estas cápsulas foram seladas hermeticamente após a pesagem e mantidas em temperatura ambiente por uma hora antes da análise. Empregou-se uma taxa de aquecimento de 10°C/min, varrendo uma faixa de temperatura de 30 a 100°C e usando uma cápsula de alumínio vazia como referência. O sistema foi calibrado com índio (Δ H de fusão de 28,71 J/g e ponto de fusão de 156,6°C) com elevada pureza (99,9%) e água deionizada (Δ H de fusão de 335 J/g e ponto de fusão de 0,01 °C). Os valores de temperatura inicial (To), temperatura de pico (Tp), a temperatura final (Tf) e a entalpia de gelatinização (Δ H) foram obtidas a partir dos termogramas das amostras analisadas utilizando o software Universal Analysis (TA Instruments). Todas as propriedades térmicas obtidas correspondem à média das triplicatas. Para análise calorimétrica do farelo, pesaram-se 4,0 \pm 0,1 mg de amostra seca em cápsulas de temperatura de alumínio e empregou-se uma taxa de aquecimento de 10°C/min e uma varredura na faixa de temperatura de 230 a 250°C.

2.2.6 Morfologia do amido e do farelo por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido e do farelo de biri foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram colocadas em suportes de alumínio e cobertas com uma camada de 92 Å de ouro (Sputter Coater, SCD050) para melhorar a condutividade.
Empregou-se um Microscópio Eletrônico de Varredura marca JEOL modelo JSM-5800LV, sob voltagem de aceleração de 10 kV para a análise das amostras.

2.2.7 Distribuição de tamanho e diâmetro médio das partículas do amido e do farelo por Difração de Laser

A análise da distribuição do tamanho de partículas foi determinada em um aparelho com difração de laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer 2000, MALVERN Instruments Ltda., U.K). As medidas foram realizadas em triplicata, na temperatura de 25°C, empregando ultrasom acoplado ao equipamento para aumentar a dispersibilidade da amostra e etanol grau analítico como meio dispersante.

O diâmetro médio das partículas (*DMP*) foi determinado com base no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume da partícula (diâmetro médio de Brouckere $D_{4,3}$, equação [2.4], geralmente utilizado para caracterizar partículas de pó (RAMALHO e OLIVEIRA, 1999).

$$DMP = D_{4,3} = \frac{\sum n_i D_i^4}{\sum n_i D_i^3} \quad [2.4]$$

2.2.8 Análise de grupos funcionais do amido e do farelo por Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de grupos funcionais presentes no amido e no farelo foi realizada por espectroscopia na região do infravermelho de 4000 a 650 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹, com 20 varreduras (VICENTINI et al., 2005), utilizando-se um espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), marca Perkin Elmer, modelo Spectrum One, provido com o acessório UATR (atenuador de reflectância total universal). Para o tratamento dos resultados foi utilizado o software Spectrum One B (versão 5.31).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.3.1 Composição química do amido e do farelo

A composição química do amido de biri está apresentada na Tabela 2.1. Observou-se que o amido apresentou considerável teor de fibra alimentar ($0,82\pm0,01\%$), o qual está associado ao tecido fibroso característico de rizomas de *Canna indica* L. como tem sido indicado por diferentes autores (HERMANN et al., 1998; MAAS-VAN e MAAS, 2008). Isto sugere que o amido extraído desta fonte pode apresentar maior teor de fibras, comparado com materiais extraídos de outras tuberosas como mandioca e batata doce (ARYEE et al., 2006; OSUNDAHUNSI et al., 2003). Andrade-Mahecha (2009) obteve amido de biri a partir de rizomas cultivados no Sudeste do Brasil com teores de fibra alimentar e proteínas similares aos obtidos neste estudo. No entanto, estes dois amidos (colombiano e brasileiro) apresentaram maiores teores de proteína quando comparados com amidos obtidos a partir de diferentes variedades de *Canna* cultivados em algumas regiões da Tailândia e Vietnam. (PIYACHOMKWAN et al., 2002; THITIPRAPHUNKUL et al., 2003; CHANSRI et al., 2005; PUNCHA-ARNON et al., 2007).

%
(g/100 g)
$9,11 \pm 0,11$
$0,\!82\pm0,\!01$
$0,\!81 \pm 0,\!06$
$0,\!05\pm0,\!00$
$0,\!22 \pm 0,\!01$
$99,\!84\pm0,\!04$
$40,76 \pm 0,30$

Tabela 2.1. Composição química do amido de biri, expressa em base seca (g/100g)

*Composição expressa como g de amilose/ 100 g de amido seco

O teor de lipídios do amido foi concordante com os resultados apresentados por outros pesquisadores (LEONEL et al., 2002; THITIPRAPHUNKUL et al., 2003; LARES e PÉREZ, 2006). O baixo teor de proteína e lipídios é uma característica típica de amidos obtidos a partir de raízes e tubérculos (THITIPRAPHUNKUL et al., 2003; PUNCHA-ARNON et al., 2007). O teor de cinzas obtido neste estudo foi similar ao reportado por Peroni et al. (2006) para amido de Canna indica também cultivado no Sudeste do Brasil (0,24%). Valores de cinzas similares também foram reportados por esses autores para amidos de outras tuberosas: mandioca (0,21%), araruta (0,28%), batata doce (0,21%), inhame (0,22%) e gengibre (0,35%). O amido de biri colombiano apresentou maior grau de pureza (99,84%) em relação ao amido de biri brasileiro (98,7%) que poderia ser atribuído à diferença de variedades, idade dos rizomas, eficiência do método de obtenção e condições de cultivo, como clima e tipo de solo. O alto conteúdo de amilose também é uma característica do amido de rizomas de biri, sendo o valor obtido neste estudo (40,76%) próximo ao reportado por Cisneros et al. (2009) para amido de biri obtido a partir de rizomas cultivados na região de San Gabán, no sudeste do Peru. No entanto, uma ampla variação no teor de amilose (19-39%) para amido de biri tem sido reportada por vários autores (LEONEL et al., 2002; THITIPRAPUNKUL et al., 2003; HUNG & MORITA, 2005; PERONI et al., 2006; PUNCHA-ARNON et al., 2008). Segundo esses autores, o teor de amilose desta fonte é relativamente alto em comparação com o de outras tuberosas, como mandioca, batata, inhame e batata doce. Alguns autores têm indicado que nas tuberosas, como biri e inhame, o teor de amilose pode variar de acordo com a variedade, posição da amostra no rizoma ou tubérculo e duração do armazenamento (BRUNNSCHWEILER et al., 2005; PUNCHA-ARNON et al., 2007).

A composição química do farelo de biri está apresentada na Tabela 2.2. Como não existem dados na literatura sobre a composição química desse farelo, os resultados obtidos neste estudo foram comparados com os publicados para outras fibras vegetais que têm despertado o interesse de diferentes pesquisadores para serem usadas como reforço de filmes poliméricos. Entre essas fibras vegetais encontram-se as extraídas a partir de linho, cânhamo, sisal, mandioca, algodão, entre outras. Observou-se que o conteúdo de celulose do farelo de biri (19,1%) é próximo do reportado para farelo de mandioca (16,7%), entretanto o teor de hemicelulose (16,1%) é menor do que o encontrado em fibras de sisal (18,9%), mas maior do que o encontrado nas fibras de cânhamo e linho (10 e 12% respectivamente). Quanto ao teor de lignina do farelo de biri (3,9%), este se encontra dentro dos menores valores reportados na Tabela 2.2. Ainda que a maioria dos subprodutos agrícolas de composição lignocelulósica tenha um conteúdo de celulose de 40 - 45%

(REDDY e YANG, 2009), fatores como a idade da planta, origem, fatores climáticos, processos de extração e métodos de análises dos constituintes influenciam na estrutura e composição química da fibra (MISHRA, 2004).

A composição química do farelo de biri está apresentada na Tabela 2.2. Comparando materiais obtidos a partir de tuberosas, observou-se que o conteúdo de celulose do farelo de biri (19,1%) é próximo do reportado para farelo de mandioca (16,7%). Entretanto, estes materiais apresentam diferenças notáveis nos teores de hemicelulose e lignina. Segundo Reddy e Yang (2009), a maioria dos subprodutos agrícolas de composição lignocelulósica têm um conteúdo de celulose de 40 - 45%, mas fatores como a idade da planta, origem, fatores climáticos, processos de extração e métodos de análises dos constituintes influenciam na estrutura e composição química da fibra vegetal (MISHRA, 2004). Nos farelos, a presença de amido e de outros componentes faz com que as fibras encontrem-se menos purificadas quando comparadas com outras fibras vegetais como as de linho, cânhamo, sisal e algodão, as quais têm despertado o interesse de diferentes pesquisadores para serem usadas como reforço em filmes poliméricos (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Composição química do farelo de biri, expressa em base seca (g/100g) em comparação com fibras vegetais usadas como material de reforço de filmes biodegradáveis

COMPONENTES	Farelo de biri	Farelo de	Fibras de	Fibras de	Forragem	Fibras de	Fibras de
COMPONENTES	(Este estudo)	mandioca ^a	sisal ^b	cânhamo ^c	de milho ^c	algodão ^d	linho ^e
Celulose	$19,1\pm0,2$	16,71	$65{,}5\pm0{,}5$	68,0	32,0	85 - 90	72
Hemicelulose	$16,1\pm0,5$	4,53	$18{,}9\pm0{,}7$	10,0	31,0	-	12
Lignina	$3,9\pm0,3$	8,7	$12,3\pm0,5$	3,0	6,0	0,7-1,6	5
Cinzas	$3,6\pm0,03$	2,54	$1,0\pm0,6$	-	-	0,8-2,0	-
Umidade	$8,2 \pm 0,1$	ND	$6,7\pm0,1$	-	-	-	-
FDN	$40,2 \pm 0,2$	38,26	-	-	-	-	-
FDA	$24,1 \pm 0,1$	33,73	-	-	-	-	-

^a SAITO et al. (2006); ^b MEGIATTO JUNIOR (2006); ^c THYGESEN et al. (2005); ^d LOUIS e ANDREWS (1987); ^e BLEDZKI et al. (2008) FDN: Fibra detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido

O farelo apresentou 64,3% de fibras insolúveis (FDA+FDN), o que poderia ser interessante para aplicações deste farelo na indústria de alimentos, já que esse tipo de fibras auxilia no trânsito intestinal devido às características de baixa fermentabilidade e alto poder de hidratação (SAITO et

al., 2006). A FDA está mais associada com a digestibilidade enquanto a FDN está relacionada com a ingestão, taxa de enchimento e passagem dos alimentos no sistema digestivo (VAN SOEST, 1994). Cabe ressaltar que FDN e FDA não quantificam as substâncias pécticas, gomas, mucilagens e, portanto, subestimam a fibra alimentar total que pode apresentar o farelo de biri (SAITO et al., 2006).

2.3.2 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (S) do amido

O poder de inchamento e a solubilidade do amido estão apresentados nas Figuras 2.2 e 2.3., respectivamente. Na Figura 2.2 pode-se observar que o poder de inchamento do amido de biri incrementou linearmente com o incremento da temperatura na faixa estudada ($55 - 95^{\circ}$ C), obtendo-se um alto coeficiente de correlação (R²=0,99). Os valores de poder de inchamento do amido colombiano foram semelhantes aos reportados por Perez e Lares (2005), mas maiores aos reportados por Andrade-Mahecha (2009) para amido de biri brasileiro. Alguns estudos têm indicado que amilose e lipídios podem formar complexos insolúveis que inibem o poder de inchamento (TESTER e KARKALAS, 1996). De acordo com isto, o menor teor de lipídios apresentado pelo amido colombiano (0,05%) em comparação ao brasileiro (0,2%) pode ter limitado a formação de complexos amilose-lipídios, favorecendo um maior poder de inchamento. Diferenças no poder de inchamento (PRINYAWIWATKUL et al., 1997). Em comparação com outras espécies de tuberosas, o amido de biri deste estudo apresentou menor poder de inchamento em relação aos amidos de mandioca (a partir de 60°C) (HOOVER, 2001; GUNARATNE e HOOVER, 2002).



Figura 2.2 Poder de inchamento (g/g) do amido de biri em diferentes temperaturas

A solubilidade do amido aumentou com o incremento da temperatura (Figura 2.3), porém o coeficiente de correlação (\mathbb{R}^2) obtido entre as duas variáveis foi de 0,89, o qual pode ser devido ao fator de erro experimental. Estes valores de solubilidade na faixa de temperatura estudada foram maiores aos obtidos por Andrade-Mahecha (2009) para amido de biri brasileiro. Esta diferença pode estar associada à composição de cada amido, uma vez que, o amido colombiano tem maior grau de pureza (99,84%) e teor de amilose (40,76 ± 0,30 g de amilose/100g de amido seco) em comparação ao amido de biri brasileiro (98,78% de amido e 37,0 ± 0,3 g de amilose/100 g de amido seco). A maior solubilidade apresentada pelo amido colombiano também poderia estar refletindo uma estrutura molecular mais fraca, fazendo com que os grânulos de amido percam sua integridade mais facilmente na faixa de temperatura estudada quando comparado com o amido brasileiro. No entanto, os valores de solubilidade obtidos para ambos os amidos encontram-se dentro da faixa reportada por Piyachomkwan et al. (2002) para quatro variedades diferentes de amido de biri cultivadas na Tailândia.



Figura 2.3 Solubilidade (%) do amido de biri a diferentes temperaturas

2.3.3 Cristalinidade do amido e do farelo por Difração de Raios-X (DRX)

Os padrões de difração de raios-X obtidos para o amido e farelo de biri estão apresentados nas Figuras 2.4 e 2.5, respectivamente. Na Figura 2.4 observou-se a presença de picos em 5,64°, 15,08°, 17,12°, 22,26° e 24,10°, os quais são característicos da estrutura cristalina tipo "B" do amido, típica em amidos obtidos a partir de tubérculos e raízes, como a batata e o biri (SHUJUN et al., 2005). Evidenciou-se que o pico de difração mais forte do padrão apareceu em 17 ° 20, seguido de picos pequenos com valores em torno de 20 de 22 ° e 24 °. Resultados semelhantes foram relatados por outros autores (WATCHARATEWINKUL et al., 2009; THITIPRAPHUNKUL et al., 2003; HUNG e MORITA, 2005; PUNCHA-ARNON et al., 2007). O padrão de cristalinidade tipo B apresentado pelo amido de biri pode estar relacionado em grande parte com as longas cadeias ramificadas de amilopectina como descrito por Thitipraphunkul et al. (2003). O índice de cristalinidade obtido neste estudo foi de 28,0%, o qual é concordante com o valor reportado por Srichuwong et al. (2005), similar à cristalinidade do amido de batata (28.0 – 30.0%) e menor quando comparada com a do amido de mandioca (37,0 – 38,0%) (HOOVER, 2001; GUNARATNE e HOOVER, 2002).



Figura 2.4 Difratograma de raios X para o amido de biri

O difratograma de raios X do farelo de biri está apresentado na Figura 2.5. O índice de cristalinidade (Icr, %) do farelo de biri foi calculado a partir da razão de alturas entre a máxima intensidade do pico cristalino, localizada em 20 21,76° com uma altura de 278,98 (intensidade I₂₀₀, Figura 2.1) e a intensidade que separa os dois picos de difração observados na amostra (intensidade Inon-cri, Figura 2.1), como descrito por Terinte et al. (2011). Esta última corresponde ao material não-cristalino, localizada no farelo de biri em 20 18,54° com uma altura de 230,67 (Figura 2.5). Utilizando-se a equação [2.3] (ítem 2.2.4), obtevese um índice de cristalinidade de 17,31%. O baixo valor de Ic_r apresentado pelo farelo estaria indicando a presença de componentes amorfos como: celulose amorfa, hemiceluloses e lignina (REDDY et al., 2010). Diferentes autores têm indicado que as propriedades mecânicas dos materiais lignocelulósicos são fortemente dependentes do índice de cristalinidade dos mesmos, pois este índice está relacionado com as ligações secundárias moleculares que existem em grande número em regiões cristalinas e com o nível de compactação nessas regiões. Assim, a resistência e a rigidez das fibras dependem do conteúdo de celulose (BISANDA e ANSELL, 1992; SAO et al., 1994). Os resultados desta análise evidenciaram a necessidade de tratar o farelo de biri para reduzir a presença de componentes amorfos, e aproveitar a celulose como material de reforço para filmes de amido dessa mesma fonte vegetal.



Figura 2.5 Difratograma de raios-X para o farelo de biri

2.3.4 Propriedades térmicas do amido e do farelo por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As propriedades térmicas do amido de Canna indica L. estão apresentadas na Figura 2.6. Os valores de temperatura de início de gelatinização (59,9°C \pm 0,1), temperatura pico (63,7°C \pm 0,2) e temperatura final de gelatinização (71,6°C \pm 0,9) obtidas neste estudo foram menores que os reportados por Andrade-Mahecha (2009) para farinha e amido de Canna cultivados no sudeste do Brasil (67,0 – 77,4°C). Isto pode ser atribuído às diferenças encontradas na composição centesimal dos materiais, uma vez que o amido colombiano apresentou maior pureza (99,8%) e menor teor de lipídios (0,05%) quando comparado com os materiais brasileiros. Alguns autores têm indicado que os lipídios podem formar complexos estáveis com a amilose, incrementando os valores de temperatura pico de gelatinização (MORRISON, 1995; DENARDIN e SILVA, 2009). Em relação à entalpia de gelatinização (Δ H), o valor obtido para o amido deste estudo (14,0 ± 0,8 J/g amido seco) foi similar ao reportado por Andrade-Mahecha (2009) para amido brasileiro $(14,5 \pm 0,5 \text{ J/g})$ e maior ao reportado por este autor para farinhas dessa mesma fonte e diferente granulometría (9,2 - 9,7 J/g)de amido). Os valores de entalpia para amido de Canna indica L. reportados na literatura, variam no intervalo de 9,4 - 20,1 J / g para as diferentes variedades cultivadas no Equador, Venezuela, Brasil, Tailândia, Vietnã e Indonesia (THITIPRAPUNKUL et al., 2003; HUNG e MORITA, 2005; SRICHUWONG et al., 2005; PERONI et al., 2006). As propriedades térmicas do amido como a entalpia de gelatinização podem ser relacionadas com as características do grânulo de amido, tais como arquitetura molecular da região cristalina, relação amilose/amilopectina, comprimento das cadeias de amilopectina e o grau de cristalinidade (KRUEGER et al., 1987; HOOVER, 2001). Isto é influenciado pela composição química do amido, pois a amilopectina desempenha um papel importante na cristalinidade dos grânulos de amido e, a presença de amilose (rica em regiões amorfas) reduz o ponto de fusão das regiões cristalinas e, a energia requerida para iniciar a gelatinização (SINGH et al., 2003). Esta correlação indica que, o amido com elevado teor de amilose possue mais regiões amorfas e menos regiões cristalinas e, portanto, menor energia é necessária para a fusão dos cristais (SASAKI et al., 2000), Diante disso, as diferenças nos valores de entalpia de gelatinização reportados para amido de biri podem ser associadas ao teor de amilose e consequentemente, à cristalinidade dos amidos obtidos a partir de variedades de biri cultivadas em diferentes regiões tropicais. Assim, por exemplo, o amido de biri deste estudo apresentou um elevado teor de amilose (40,7%), um índice de cristalinidade de 28% e uma entalpia de gelatinização de 14,0 J/g de amido seco, comparado com os menores teores de amilose (21-28%) e maiores valores de entalpia de gelatinização (~18,0 J/g) reportados para três variedades de amido de biri da Tailândia (THITIPRAPUNKUL et al., 2003).



Figura 2.6 Termograma da suspensão de amido de biri (30% p/p)

O termograma do farelo de biri apresentado na Figura 2.7, mostra a presença de uma temperatura de transição vítrea em 45,4°C. Este evento térmico pode ser associado à presença de macromoléculas polifenólicas (MOUSAVIOUN e DOHERTY, 2010). Ramiah e Goring (1965), reportaram temperaturas de transição vítrea na faixa de 20-33°C para celulose e lignina obtidas de madeira. Estes autores reportaram que a quebra de fracas ligações de hidrogênio produz a transição de segunda ordem observada para celulose e lignina na faixa mencionada. Silva et al. (2000) reportaram eventos térmicos na faixa entre 28 e 38°C para fibras de palma de coco, os quais foram associados às transições de segunda ordem relatadas por Ramiah e Goring (1965). Outros autores reportaram temperaturas de transição vítrea em 51 e 58°C para ligninas obtidas a partir de bagaço de cana (MOUSAVIOUN e DOHERTY 2010) e de resíduos lignocelulósicos de palma (MOHAMAD IBRAHIM et al., 2010), respectivamente. O pico endotérmico em torno de 122°C observado no termograma do farelo de biri foi atribuído principalmente à evaporação de água e outros voláteis presentes no farelo. Essa evaporação tem sido reportada por diferentes autores em estudos sobre as propriedades térmicas de materiais ligno-celulósicos (JIN et al., 2009; ZHAO e LIU, 2010, entre outros).



Figura 2.7 Termograma do farelo de biri contendo $8,2 \pm 0,1\%$ de umidade

2.3.5. Morfologia do amido e do farelo por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias obtidas por MEV para o amido e farelo de biri estão apresentadas nas Figuras 2.8 e 2.9, respectivamente. Na Figura 2.8 evidencia-se o formato oval elipsóide de diferentes tamanhos de grânulos encontrados no amido de biri analisado neste trabalho, o qual é concordante com a morfologia descrita por diferentes autores para amidos obtidos a partir de rizomas cultivados em diferentes regiões tropicais da Ásia e América do Sul (PIYACHOMKWAN et al., 2002; LEONEL et al., 2007; CISNEROS et al., 2009 entre outros).

Na Figura 2.9 podem se observar alguns grânulos de amido remanescentes junto ao material fibroso, componente de interesse do farelo neste estudo. Nesta Figura, observa-se também um conjunto de fibras que apresentam uma superfície longitudinal irregular com relevos e alguns resíduos da moagem. A seção transversal deste material fibroso mostrou forma elíptica. Segundo Fagury (2005), na utilização de fibras como material de reforço em filmes, é importante considerar a forma geométrica, por exemplo, as de forma elíptica possuem um melhor empacotamento que as de forma circular e as irregularidades superficiais conferem às fibras uma melhor ancoragem na matriz polimérica.



Figura 2.8 Microscopia Eletrônica de Varredura dos grânulos de amido de biri (50X de aumento)



Figura 2.9 Microscopia Eletrônica de Varredura do farelo de biri (50X de aumento)

2.3.6 Distribuição de tamanho e diâmetro médio das partículas do amido e do farelo por Difração de Laser

A distribuição de tamanho em volume obtida para o amido e o farelo de biri é apresentada nas Figuras 2.10 e 2.11, respectivamente. O amido apresentou uma distribuição monomodal com uma ampla faixa de diâmetros entre 17,4 e 104,7 μ m. O pico no qual se situou o maior volume de partículas (36,1%) corresponde a diâmetros entre 39,8 e 45,7 μ m. O diâmetro médio obtido (*DMP*), baseado no volume da partícula foi $D_{4,3} = 41,3 \mu$ m. Puncha-Arnon et al. (2007) estudaram a relação entre o tamanho do grânulo e o estágio de desenvolvimento do rizoma. Esses autores encontraram maior número de grandes tamanhos de grânulos (80-140 μ m) no amido extraído de segmentos maduros do rizoma, com um tamanho médio de 60 μ m, enquanto para o segmento do rizoma denominado de adulto, houve uma redução na quantidade de grandes tamanhos de grânulos, aumentando o número de grânulos pequenos (<50 μ m) e obtendo-se um tamanho médio de 46 μ m. Estes resultados podem sugerir que os rizomas utilizados para a extração de amido empregado como matéria-prima deste estudo, encontravam-se em estágio de desenvolvimento adulto quando colhidos e processados. Outros autores tem reportado resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho: 35-101 μ m (SANTACRUZ et al., 2002), 40-80 μ m (LEONEL et al., 2007) e 10-152 μ m (PUNCHA-ARNON et al., 2008).



Figura 2.10 Distribuição de tamanho das partículas no amido de biri

Para o farelo de biri (Figura 2.11) foi obtida uma distribuição bimodal, com duas populações distintas de partículas, a primeira com tamanhos de partícula entre 0,8 e 363,1 µm, na qual o pico correspondente ao maior volume de partículas (25%) apresentou diâmetros entre 52,5 e 104,7 µm e a segunda população de partículas apresentou tamanhos entre 478,6 e 1905,5 µm. Como foi mostrado na microestrutura do farelo (Figura 2.9), as partículas de menor tamanho (\leq 104,7 µm) corresponderiam a grânulos de amido remanescentes do processo de extração e as partículas maiores corresponderiam às fibras, sendo que aglomerados de partículas de fibras e/ou amido possívelmente também se encontram presentes.



Figura 2.11 Distribuição de tamanho das partículas no farelo de biri

2.3.7 Análise de grupos funcionais do amido e do farelo por Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 2.12 está apresentado o espectro de FTIR obtido para o amido de biri e as atribuições das principais bandas de vibração observadas nesse espectro estão mostradas na Tabela 2.3. O espectrograma do amido observou-se um pico arredondado e de base larga observado em 3280 cm⁻¹, o qual foi associado à contribuição majoritária da molécula de água, que teoricamente aparece na região de 3500 cm⁻¹, como descrito por Banwell (1983). Este pico também também foi reportado por Garcia et al. (2009) em amidos de mandioca e milho. Um segundo pico observado em 2926 cm⁻¹ foi atribuído ao estiramento da ligação CH (CH₂ assimétrica). Este pico também foi reportado por Andrade-Mahecha (2009) para amido (2928 – 2932 cm⁻¹) e farinha (2921 -2926 cm⁻¹) e por Santha et al. (1990) para amido de mandioca (2911 cm⁻¹). Diferenças na intensidade desses picos poderiam ser associadas às variações na quantidade de amilose e amilopectina presente nos materiais, de acordo com Kizil et al. (2002).



Figura 2.12 Espectro de absorção na região do infravermelho para o amido de biri

O pico observado em 1640 cm⁻¹ é característico da banda amida I, principalmente do alongamento da ligação C=O. Esta banda fornece informações sobre a estrutura secundária das proteínas (FABIAN e SCHULTZ, 2000), representada pelos tipos de estrutura hélices alfa e folhas beta. Segundo Krimm e Bandekar (1986), as bandas na região entre 1640 e 1620 cm⁻¹ têm sido atribuídas a folhas beta. A existência deste pico também foi reportada por Andrade-Mahecha (2009) para farinha (1633 - 1634 cm⁻¹) e amido de biri brasileiros (1639 cm⁻¹). Segundo Kizil et al. (2002), picos observados nesta região (1642 - 1637 cm⁻¹) podem estar relacionados com a cristalinidade do amido. As bandas na região entre 1334 e 1202 cm⁻¹ foram associadas à banda amida III, situada na região do infravermelho entre 1200 e 1350 cm⁻¹ como reportado por Singh (2000). Esta banda surge do estiramento da ligação C-N e da flexão da ligação N-H do grupo amida das proteínas. Na região entre 1200 e 400 cm⁻¹ podem se identificar as vibrações dos carboidratos. Dentro desta faixa, o pico observado em 1148 cm⁻¹ foi atribuído ao alongamento das ligações C-O, C-C. Os picos em 1076, 993 e 927 cm⁻¹foram atribuídos às deformações C-OH das moléculas de amido e CH₂ (VAN SOEST et al., 1995; KIZIL et al., 2002). Cael et al. (1975) observaram picos a 861 e 840 cm⁻¹ para amilose de batata, mas estes não foram observados em amidos de mandioca e batata doce como reportado por Santha et al. (1990), enquanto que no amido de biri esta banda foi observada a 858 cm⁻¹. Os picos identificados no espectro de infravermelho do amido deste estudo

٦

foram semelhantes aos reportados por Andrade-Mahecha (2009) para farinha e amido de biri brasileiros, com algumas variações na intensidade dos picos como consequência de diferenças na composição dos materiais.

Tabela 2.3. Identificação de grupos funcionais para amido de biri com base na literatura e a partir do
valores obtidos por Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Г

Comprimento de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Farelo de biri
~3500 (BANWELL, 1983)	Alongamento simétrico e assimétrico da ligação O-H (H ₂ O)	3280
3000 – 2800 (TAPIA-BLÁCIDO et al., 2010)	Alongamento C-H	2926
1720 – 1600 (FABIAN e SCHULTZ, 2000)	Amida I Alongamento da ligação C=O	1640
1320 – 1220 (SINGH, 2000)	Amida III Alongamento da ligação N-H	1334 1240 1202
1150 (VAN SOEST et al., 1995)	Alongamento das ligações C-O, C-C	1148
1077 (CAEL et al., 1975)	Alongamento da ligação C-OH	1076
994, 928 (VAN SOEST et al., 1995)	Deformação C-OH e modos relacionados ao grupo CH ₂	993 927
861 (VAN SOEST et al., 1995) (CAEL et al., 1975)	Alongamento simétrico da ligação C-O-C, deformação CH e CH ₂	858

O espectro de FTIR obtido para o farelo de biri (Figura 2.13) mostra bandas típicas dos grupos funcionais presentes em materiais lignocelulósicos. A absorção em 3332 cm⁻¹ corresponde à deformação axial dos grupos –OH, também reportada por Zhao e Liu (2010) para lignina obtida do caule de plantas nativas da América do Sul. A banda observada a 2919 cm⁻¹ é originária da deformação simétrica e assimétrica de ligações C-H da cadeia alifática, também reportada a 2925 cm⁻¹ para bagaço de cana (BILBA e OUENSANGA, 1996), e a 2912 cm⁻¹ para fibras de Curauá (TOMCZAK et al., 2007). Esta banda também tem sido atribuída ao estiramento de ligações C-H dos grupos metila ou metileno presentes em hemiceluloses e ligninas, obtidas a partir de resíduos agrícolas (ALRIOLS et al., 2009; SUN et al., 2011). O ombro observado a 1733 cm⁻¹ foi atribuído aos grupos carbonila da hemicelulose (ALVAEZ e VÁSQUEZ, 2006), cetona não conjugada e deformação axial de grupos carboxílicos da lignina (XU et al., 2006; ZHAO e LIU, 2010; SUN et al., 2011).



Figura 2.13 Espectro de absorção na região do infravermelho para o farelo de biri

A banda observada em 1632 cm⁻¹ tem sido associada à deformação C=C do anel de benzeno característico de lignina, também observado por Bilba e Ouensanga (1996) em bagaço de cana, mas também tem sido reportada por outros autores como banda carboxila associada à celulose (TOMCZAK et al., 2007). As bandas observadas a 1513 cm⁻¹ e 1416 cm⁻¹ são características das vibrações do anel aromático da lignina, como tem sido reportado por vários autores (BILBA e OUENSANGA, 1996; XU et al., 2006; TOMCZAK et al., 2007; ALRIOLS et al., 2009; JIN et al.,

2009; ZHAO e LIU, 2010; SUN et al., 2011). O pequeno pico observado em 1368 cm⁻¹ pode ser atribuído à flexão C-H simétrica da celulose (HINTERSTOISSER e SALMÉN, 2000; AKERHOLM e HINTERSTOISSER, 2004; SUN et al., 2011), entretanto, outros autores atribuem esta banda aos grupos hidroxila fenólicos da lignina (ALRIOLS et al., 2009; ZHAO e LIU, 2010). Outro pequeno pico observado a 1316 cm⁻¹ pode ser associado a grupos –CH da celulose que foram reportados por Jin et al. (2009) a 1321 cm⁻¹. O pico pronunciado observado a 1240 cm⁻¹está associado à deformação do grupo C-O aromático característico da lignina (XU et al., 2006; SUN et al., 2011). O pequeno ombro observado a 1202 cm⁻¹ é característico da presença de celulose na amostra como reportado por Jin et al. (2009). A banda em 1149 cm⁻¹ e o pequeno ombro observado a 1071 cm⁻¹ foram atribuídos às vibrações das deformações C-H e C-O como reportado por Ren et al. (2008) para hemiceluloses obtidas a partir de bagaço de cana. O notável pico observado a 1018 cm⁻¹ e o pequeno ombro em 898 cm⁻¹ podem estar associados às vibrações C-O e C-H de celulose de acordo com (ALEMDAR e SAIN, 2008). A banda em 840 cm⁻¹ é característica dos grupos C-H de aromáticos presentes na lignina (MARCOVICH et al., 1996).

2.4 CONCLUSÕES

O amido de biri apresentou elevado teor de pureza (99,8%), com alto teor de amilose (40,76%), sendo este último relativamente alto quando comparado com o de amidos de outras tuberosas, como mandioca, inhame e batata doce. Esta característica é importante, já que a amilose tem sido associada com a capacidade para formar filmes e coberturas com alta resistência mecânica devido à sua natureza linear. A maior solubilidade apresentada por este amido na faixa de $55 - 95^{\circ}$ C foi associada a um maior teor de amilose e menor teor de lipídios quando comparados com os reportados para amido de biri brasileiro. Este comportamento sugere que, na elaboração de filmes a partir deste biopolímero, a incorporação de fibras vegetais como material de reforço pode ser avaliada, com o intuito de obter estruturas poliméricas menos solúveis em água. O teor de celulose (19,1%) presente no farelo confirmou sua potencialidade como material de reforço em filmes compósitos devido à afinidade química entre amido e celulose. Entretanto, o baixo índice de cristalinidade (17,3%) e a presença de grupos funcionais característicos de materiais lignocelulósicos evidenciaram a necessidade de empregar tratamentos para eliminar os componentes amorfos do farelo como hemicelulose (16,1%) e lignina (3,9%) e, desta maneira, obter

um material mais cristalino, que ao ser incorporado na matriz de amido lhe transfira resistência mecânica e contribua na redução da afinidade dos compósitos com a água.

3. ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO DE BIRI REFORÇADOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CELULOSE MICROCRISTALINA COMERCIAL (MCC)

A celulose microcristalina (MCC) é um tipo de microfibra usada como material de reforço na elaboração de filmes compósitos para melhorar principalmente suas propriedades mecânicas. MCC encontra-se comercialmente disponível e pode ser obtida em escala industrial, através da hidrólise química ou enzimática de fibras da madeira, algodão ou de diferentes resíduos agrícolas. Neste estudo, diferentes concentrações de MCC (1, 3, 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco) foram incorporadas nos filmes a base de amido de biri utilizando glicerol como plastificante (25 g de glicerol / 100 g de amido seco). Os filmes foram elaborados pela técnica casting, avaliando dois métodos diferentes de agitação para a incorporação da MCC. As propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor de água dos filmes resultantes foram comparadas com as de um filme controle (0 g de MCC / 100 g de amido seco). Os testes de caracterização foram realizados com um mínimo de três repetições e as diferenças significativas entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey (p < 0.05). Os resultados mostraram que as propriedades variaram com a concentração de MCC incorporada, sendo verificado um incremento na tensão de ruptura (T) e no módulo de Young (MY) e uma diminuição na elongação (E) e na permeabilidade ao vapor de água (PVA). Adicionalmente, encontrou-se que a concentração de 1g de MCC /100 g de amido seco e o emprego de agitação mecânica com duas hélices para sua incorporação na matriz polimérica (método 2), levaram a um melhor efeito de reforço nos filmes de amido de Canna indica L, obtendo-se um aumento na resistência mecânica de 64% (13,6 ± 0,8 MPa) e uma diminuição na permeabilidade ao vapor de água de 35% ($3.8 \pm 0.2 \times 10^{-10} \text{ g.m/m}^2$.s.Pa), quando comparado com o filme controle (8.3 \pm 0.6 MPa e 5.9 \pm 0.8 x 10⁻¹⁰ g.m/m².s.Pa, respectivamente). O effito deste material de reforco foi explicado pela presença de grupos hidroxila no amido e na MCC, que aumentaram as interações moleculares entre estes biopolímeros. Adicionalmente, outras propriedades como solubilidade, cor e opacidade foram medidas para os filmes elaborados pelo método 2 e comparadas com as do filme controle, obtendo-se uma diminuição significativa da solubilidade dos filmes, quando empregada a concentração de 5 g de MCC / 100 g de amido seco. Este estudo permitiu a avaliação e seleção do método de incorporação de celulose como material de reforço para a elaboração dos filmes microcompósitos apresentados neste capítulo e dos nanocompósitos apresentados no capítulo 4.

3.1 INTRODUÇÃO

O crescente interesse em reduzir a quantidade de resíduo não degradável tornou-se um dos pontos de partida para um novo foco de pesquisas: encontrar polímeros naturais que possam ser

usados como materiais de embalagem, que não criem uma quantidade excessiva de resíduos e também possam ser obtidos a partir de fontes renováveis. Os filmes biodegradáveis obtidos de fontes de amido geralmente têm baixa resistência mecânica e baixa barreira ao vapor de água, em relação aos filmes obtidos a partir de polímeros sintéticos. Em consequência, a tendência atual para melhorar as propriedades de filmes de amido está direcionada à incorporação de materiais de reforço, obtendo-se, desta maneira, um material compósito. Considerando que a interface entre o material de reforço e a matriz determina as propriedades do compósito resultante, existe um crescente interesse na utilização de celulose como material de reforço, dada sua afinidade química com o amido e por se tratar de uma fonte renovável, abundante na natureza e biodegradável, entre outras vantagens (BERGLUND, 2005).

Diferentes estudos têm relatado que a incorporação de celulose em matrizes poliméricas atua como um material de reforço, para melhorar a resistência mecânica dos filmes e, em alguns casos, diminuir a permeabilidade ao vapor de água, levando em consideração que a eficácia deste reforço está associada à natureza do polímero (celulose), sua cristalinidade e as características da interface fibra/matriz (AVÉROUS et al., 2001; AZIZI SAMIR et al., 2005; DOGAN e McHUGH, 2007; CAO et al., 2008a; CHUAYJULJIT et al., 2010). Segundo Chakraborty et al. (2006), as microfibras podem ser definidas como fibras de celulose com diâmetros entre 0,1 e 1 µm e comprimento entre 5 e 50 µm. Vários estudos também têm reportado o aumento da resistência mecânica e a redução significativa da sensibilidade à água de filmes compósitos à base de amido, quando incorporada uma suspensão homogênea de microfibras de celulose, durante o processo de elaboração do compósito, garantindo um alto nível de dispersão na mistura com a suspensão aquosa de amido (DUFRESNE e VIGNON, 1998; DUFRESNE et al., 2000; LU et al., 2005; WITTAYA, 2009).

A celulose microcristalina (MCC) é o termo estabelecido para o material disponível comercialmente, o qual é utilizado como agente aglutinante na indústria farmacêutica. Este material é produzido por hidrólise química e/ou tratamento mecânico das fibras de celulose, obtendo-se um pó composto de microfibras de celulose com alto grau de cristalinidade, que pode formar um gel estável em água (SOUZA e BORSALI, 2004; BERGLUND, 2005). Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da incorporação de diferentes concentrações de celulose microcristalina comercial (MCC) nas propriedades mecânicas, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, propriedades ópticas e microcestrutura de filmes microcompósitos à base de amido de biri.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Matérias-primas

O amido de biri (*Canna indica* L.) foi adquirido na região central da Colômbia, no município de Gutiérrez (4 ° 15 '00" N, 74 ° 00' 00" W, 2.291 m de altitude). A caracterização física-quimica, térmica e funcional do amido de biri foi apresentado no capitulo 2.

A celulose microcristalina comercial (MCC) Avicel[®] PC 105 foi doada pela empresa FMC Biopolymer (Campinas, Brasil). Na Tabela 3.1 são apresentadas as características da MCC Avicel[®] PC 105 fornecidas pela FMC Biopolymer como especificações técnicas deste material.

Características fisico-quimicas			
Umidade	< 6,0%		
Substâncias solúveis em água	< 12 mg / 5 g		
Cinzas	< 0,05%		
Metais pessados	<0,001%		
рН	5,0 - 7,0		
Cor	Branca		
Fração retida em 60 mesh	<0,1% em peso		
Fração retida em 400 mesh	<3,0% em peso		
Características microbio	ológicas		
Contagem de microorg. Aeróbicos	< 1000 UFC / g		
Bolores e leveduras	< 100 UFC / g		
Salmonella	Ausência		
E. coli	Ausência		
Staphylococcus aureus	Ausência		
Pseudomonas aerugenosa	Ausência		

Tabela 3.1. Especificação técnica da Celulose Microcristalina Avicel® PC 105 (FMC Biopolymer)

3.2.2. Caracterização da MCC

Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partícula da MCC

A análise da distribuição do tamanho e a determinação do diâmetro médio das partículas (*DMP*) da celulse microcristalina comercial (MCC) foi determinada como descrito no item 2.2.7 do Capítulo 2, empregando água como meio dispersante.

Cristalinidade da MCC por Difração de Raios-X (DRX)

O índice de cristalinidade da celulose microcristalina (MCC) foi determinado por difração de raios X, como descrito para o farelo de biri no item 2.2.4 do Capítulo 2.

Microestrutura

Para a análise de microestrutura por microscopia eletrônica de varredura, uma amostra de MCC em pó foi colocada em suporte de alumínio e coberta com uma camada de 92 Å de ouro para melhorar a condutividade, em um Sputter Coater POLARON SC7620 Marca VG Microtech (Uckfield, Inglaterra). Seguidamente, a amostra foi analisada em um microscópio eletrônico de varredura com detector de energia dispersiva de raios X, LEO 440i EDS 6070 (Cambridge, Inglaterra). Para a obtenção das micrografias utilizou-se uma tensão de aceleração igual a 20 kV e uma corrente do feixe igual a 150 pA.

Análise de grupos funcionais da MCC

A análise de grupos funcionais da MCC foi realizada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier, nas condições descritas no item 2.2.8 do Capítulo 2.

3.2.3. Avaliação do tipo de agitação para a incorporação de MCC

Ensaios preliminares foram realizados a fim de avaliar três tipos de agitação no preparo de suspensões contendo amido, glicerol e MCC. Para estes ensaios foram fixadas as seguintes condições: 3 g amido seco/100 g solução, 25 g de glicerol/100 g de amido e 5 g de MCC/100 de amido. As suspensões foram gelatinizadas a 90°C e os três tipos de agitação avaliados foram:

- a) Agitação magnética (350 400 rpm, diâmetro do béquer de 8,5 cm, peixinho 5 cm x 1,2 cm, Figura 3.1a,b)
- b) Agitação com Ultraturrax (10000 rpm, Figura 3.1c)
- c) Agitação mecânica com duas hélices (570, 940 e 1100 rpm, diâmetro do tanque de 10 cm, diâmetro das hélices de 6,5 cm, Figura 3.1d,e,f).

A aparência das soluções filmogênicas resultantes foi avaliada visualmente em relação à formação de grumos ou bolhas de ar, e depois foram secas a 45°C e 36,4% de UR, a fim de avaliar a aparência dos filmes resultantes e a uniformidade na espessura.



Figura 3.1. Tipos de agitação para a incorporação de MCC na elaboração de filmes: (a) agitação magnética em béquer, (b) tipo de agitador magnético, (c) agitação em Ultra-Turrax, (d) agitador mecânico com duas hélices, (e) tipo de hélices e, (f) tipo de tanque para a agitação com hélices

3.2.4. Determinação da metodologia de elaboração dos filmes de amido de biri com incorporação de celulose microcristalina (MCC)

Nas Figuras 3.2 e 3.3 estão apresentados os dois métodos avaliados para a incorporação da MCC na elaboração de microcompósitos de amido de biri, a partir de suspensões contendo 3 g de amido seco / 100 g suspensão, 25 g de glicerol / 100 g de amido seco, concentrações de MCC de 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco quando empregado o método 1 e concentrações de 1, 3 e 5 g de MCC / 100 g de amido seco quando empregado o método 2.



Figura 3.2. Método 1 para a incorporação de MCC na elaboração de microcompósitos de amido de biri



Figura 3.3. Método 2 para a incorporação de MCC na elaboração de microcompósitos de amido de biri

O amido, MCC, glicerol e água foram pesados separadamente. A quantidade total de água foi dividida para preparar as suspensões de amido, MCC e para diluir o glicerol. As condições de temperatura de processo (Tp = 90°C), temperatura de secagem (Ts = 45°C) e umidade relativa de secagem (UR = 36,4 %) foram escolhidas com base nas condições otimizadas por Andrade-Mahecha (2009) para a elaboração de biofilmes de farinha de biri (*Canna indica* L). Na Tabela 3.2 são apresentadas as diferenças existentes entre as condições de processo dos dois métodos avaliados para a incorporação de MCC na elaboração dos microcompósitos.

Tabela 3.2. Métodos empregados para a incorporação de MCC na elaboração de filmes de amido de
1

Método 1 (M1)	Método 2 (M2)
 Agitação magnética da suspensão MCC+água, 200 rpm, 20 horas (E1) 	 Agitação magnética da suspensão MCC+água, 200 rpm, 20 horas (E1) Agitação em ultra-turrax da suspensão MCC+água, 8000 rpm, 15 min (E2a)
 Agitação mecânica amido+água, 570 rpm, 30 min (E2) Agitação em ultra-turrax de ambas as suspensões (amido+água+MCC), 8000 rpm, 15 min (E3) 	 Agitação mecânica amido+água 570 rpm, 15 min (E2b) Agitação mecânica com duas hélices de ambas as suspensões (amido+água+MCC), 940 rpm, 15 min (E3)

Após a etapa E3 em ambos os métodos, a suspensão foi aquecida em banho térmico até temperatura de processo (Tp = 90°C) mantendo agitação mecânica com duas hélices a 1100 rpm, como se mostra na Figura 3.2 e 3.3. Quando a solução filmogênica (SF) atingiu o valor de Tp foram adicionados 25 g de glicerol / 100 g de amido seco, previamente dissolvidos em 10 ml de água destilada, e a Tp da solução filmogênica foi mantida constante durante 15 minutos. Para determinar a quantidade de solução filmogênica a ser colocada nas placas de acrílico (18,1 x 21,1 cm) foram realizados ensaios preliminares de gramatura a fim de obter uma espessura constante

biri

 $(0,085 \text{ mm} \pm 0,002 \text{ mm})$. Para tal fim, gramaturas na faixa de 0,24 a 0,30 g/ cm² foram avaliadas para soluções filmogênicas (SF) com concentrações fixas de 3 g de amido seco /100 g de SF e 25 g de glicerol / 100 g de amido seco e variando a concentração de MCC. O estudo da gramatura foi realizado elaborando os filmes de amido incorporados de MCC utilizando o método 1.

Nesse estudo da gramatura foi determinado que para obter a espessura desejada nos filmes precisava-se de 115 ± 0.5 g de solução formadora de filme, a qual, depois de espalhada em uma placa de acrílico foi submetida à desidratação em incubadora BOD Modelo MA-415UR (Marconi) equipada com sistema de controle de temperatura e umidade relativa. Após secagem dos filmes foi realizada a medição de sua espessura usando um micrômetro digital (modelo FOW72-229-001, Fowler, USA) em 15 posições diferentes. Os filmes foram cortados em formatos específicos para os diferentes testes e acondicionados a 25°C e 58% de umidade relativa em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, durante 48 horas.

Também foram elaborados os filmes controle (C1 e C2) para cada método estudado (M1 e M2 respectivamente), a partir de uma suspensão contendo 3 g de amido seco / 100 g de suspensão, 25 g de glicerol/100 g de amido seco e sem adição de MCC. Estes filmes foram elaborados de acordo com as etapas, tipos e tempos de agitação da suspensão amido+água, descritos para cada método na Tabela 3.2.

3.2.5. Caracterização dos filmes

A determinação do teor de umidade dos filmes após secagem e após acondicionamento foi conduzida em triplicata, de acordo com o método gravimétrico da ASTM D644-99, em estufa a 105°C por 24 horas (ASTM, 1999). A densidade dos filmes foi calculada a partir da razão entre gramatura (g/cm²) e espessura (cm) obtida para cada microcompósito, em função da concentração de celulose microcristalina (MCC).

As propriedades mecânicas (tensão de ruptura, elongação e módulo de Young) foram determinadas em um Texturômetro TA.TX Plus Texture Analyzer, empregando-se o programa "Texture Exponent 32" (Stable Micro Systems, Surrey, UK, Inglaterra). Os parâmetros utilizados

para os testes foram escolhidos de acordo com a norma da ASTM D882-02 (2002) e foram feitas cinco repetições para cada amostra analisada.

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes (PVA) foi determinada pelo método gravimétrico, com base na norma ASTM E96-95 (ASTM 1995). Amostras dos filmes foram fixadas em células de permeação de aço inox contendo sílica gel, as quais foram colocadas dentro de dessecador contendo água destilada, para obter um gradiente de umidade relativa ($\Delta UR = 2 - 100\%$) entre o ambiente de cada lado do filme. A massa do sistema (célula+filme) foi determinada em balança semi-analítica em intervalos de 1 h durante 9 horas. A análise foi conduzida em triplicata.

A solubilidade em água foi calculada como o percentual de matéria seca do filme solubilizado após imersão durante 24 h em água a $25^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ (GONTARD et al., 1992). Discos de filme (2 cm de diâmetro) foram cortados, pesados, imersos em 50 mL de água destilada com agitação esporádica. A massa seca inicial e final do filme foi obtida após secagem em estufa a $105^{\circ}C$ por 24 h.

A cor, representada como a diferença de cor (ΔE^*), foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Gennadios et al. (1996) e a opacidade foi determinada utilizando o método HunterLab (Sobral, 1999). Para a realização destas análises, utilizou-se um Colorímetro Ultra Scan Vis 1043, marca Hunter Lab, com escala CIELab (L*, a*, b*). Duas diferenças de cor foram calculadas, a primeira (ΔE^*_1) tomando como padrão o filme controle e a segunda (ΔE^*_2) considerando como padrão uma amostra de polietileno de baixa densidade. Estes parâmetros foram calculados de acordo com a equação [3.1].

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad [3.1]$$

Onde:

 ΔE^* : diferença total de cor;

 $\Delta L^* = L^* - Lo^*$, sendo $L^*e Lo^*$, os índices de luminosidade da amostra e do padrão, respectivamente;

 $\Delta a^* = a^* - ao^* \in \Delta b^* = b^* - bo^*$, sendo a* e b* os parâmetros croma da amostra, e ao* e bo*, os parâmetros croma do padrão.

A transmissão da luz (Tr) dos filmes foi medida em um espectrofotômetro de Ultravioleta-Visível (UV-Vis) Varian Modelo Gary 1G (Mulgrave, Austrália) operado no modo transmitância e em uma faixa de comprimento de onda de 190-780 nm com resolução de 1 nm.

Para a análise de microestrutura por microscopia eletrônica de varredura, amostras de filmes foram acondicionadas em sílica por um período mínimo de duas semanas, colocadas em suportes de alumínio e cobertas com uma camada de 92 Å de ouro em um Sputter Coater POLARON SC7620 Marca VG Microtech (Uckfield, Inglaterra). A seguir, as amostras foram analisadas em um microscópio eletrônico de varredura com detector de energia dispersiva de raios X, LEO 440i EDS 6070 (Cambridge, Inglaterra). Para a obtenção das micrografias utilizou-se uma tensão de aceleração igual a 15 kV e uma corrente do feixe igual a 100 pA.

A análise de grupos funcionais presentes nos filmes de amido e MCC foi realizada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), nas condições descritas no item 2.2.8 do Capítulo 2.

3.2.6. Análise estatística

Neste estudo foi realizado um total de sete experimentos (Tabela 3.3), a fim de avaliar a concentração de MCC e os métodos, para sua incorporação no processo de elaboração dos filmes. As diferenças significativas entre as médias dos experimentos para as propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, cor e opacidade foram avaliadas através do teste de Tukey ao nível de 5% de significância, com o auxílio do programa STATISTICA® 7.0.

Exp.	Método	MCC (%)
1	C1	0
2	C2	0
3	M1	5,0
4	M1	10,0
5	M2	1,0
6	M2	3,0
7	M2	5,0

 Tabela 3.3. Filmes de amido de Canna indica L. elaborados com e sem incorporação de diferentes

 concentrações de MCC por dois métodos diferentes

C1: Filme controle elaborado pelo método 1

C2: Filme controle elaborado pelo método 2

M1: Método 1 para a incorporação da celulose microcristalina M2: Método 2 para a incorporação da celulose microcristalina

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3.1 Caracterização da celulose microcristalina comercial (MCC)

a) Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partícula da MCC

A Figura 3.4 representa a distribuição de tamanho em volume obtida para a celulose microcristalina (MCC). Observou-se uma distribuição monomodal com uma ampla faixa de tamanhos entre 0,5 e 120 μ m. O pico no qual se situa o maior volume de partículas (8,5%) corresponde ao diâmetro de 26,3 μ m. Este diâmetro é próximo do diâmetro médio (*DMP*, Eq. [2.4]), baseado no volume da partícula ($D_{4,3} = 25,7 \mu$ m) e do diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada (d[0,5] = 22,7 μ m).



Figura 3.4. Distribuição de tamanhos de partícula da celulose microcristalina empregada como material de reforço de filmes de amido de biri

b) Cristalinidade da MCC por Difração de Raios-X (DRX)

O difratograma da celulose microcristalina mostrou três picos nos ângulos 20 em 15,16°, 22,3° e 34,4°, como pode ser observado na Figura 3.5. Esses picos são característicos de materiais lignocelulósicos (ANGLES e DUFRESNE, 2000; TERINTE et al., 2011). As moléculas de celulose estão orientadas aleatoriamente tendo a tendência de formar ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Assim, à medida que a densidade de empacotamento da celulose aumenta, regiões cristalinas são formadas (ROWELL et al., 1997). Os cristalitos de celulose estão concebidos como estruturas imperfeitas, pois, uma porção significativa da estrutura da celulose é menos ordenada; esta porção é muitas vezes referida como amorfa. O parâmetro denominado como índice de cristalinidade (Ic_r, %) tem sido utilizado para descrever a quantidade relativa de material cristalino em celulose. O modelo de celulose tradicional de duas fases descreve cadeias de celulose como contendo regiões cristalinas (ordenadas) e amorfas (menos ordenadas) (NISIZAWA, 1973).

Thygesen et al. (2005) compararam quatro técnicas de análise diferentes envolvendo DRX, e reportaram que o Ic_r de celulose microcristalina (Avicel®) variou significativamente de 39% a 67%,
dependendo da técnica utilizada. No presente estudo, empregou-se o método da altura de pico desenvolvido por Segal et al. (1959). Apesar de ser um método empírico, um recente levantamento bibliográfico de cerca de 80 artigos científicos sobre celuloses comercialmente disponíveis, relatou que este é o método mais amplamente usado para a determinação do Ic_r, sendo utilizado em cerca de 70 a 85% dos estudos (PARK et al., 2010). Nesse método, o Ic_r é calculado a partir da razão entre a altura máxima da intensidade do pico cristalino (pico localizado a 20 entre 22-24°) e a altura da intensidade de difração do material não-cristalino, a qual é localizada no ângulo de 20, 18° como pode ser observado na Figura 2.1 (item 2.2.4, Capitulo 2). O pico de difração de maior intensidade observado para a MCC (Figura 3.5) localizou-se em 20 22,3° (pico cristalino) com uma altura de 1015,45 (intensidade I₂₀₀), e a difração de material não-cristalino, localizou-se em 20 18,38° com uma altura de 209,79 (intensidade I_{non-cri}). Utilizando a equação [2.3] (ítem 2.2.4, Capitulo 2), obteve-se um índice de cristalinidade para a MCC (Avicel® PC 105) de 79,34%. Nada et al. (2009) reportaram um índice de cristalinidade de 76,02% para celulose microcristalina obtida a partir da hidrólise de fibras de algodão com uma concentração de 5% de HCl. Outros autores também reportaram picos similares no estudo da cristalinidade de fibras de sisal (MARTIN et al., 2009).



Figura 3.5. Difratograma de raios X obtido para a celulose microcristalina comercial (MCC)

Devido à sua forma simples de aplicação, o método da altura de pico é útil para comparar as diferenças relativas de cristalinidade entre amostras. No entanto, sugere-se que este método seja utilizado como uma medida da estimativa relativa da cristalinidade e não deve ser usado para estimar a quantidade absoluta de material cristalino e não-cristalino, em uma amostra de celulose. As razões dessas observações são apresentadas em detalhe nos trabalho de Thygessen et al. (2005) e Park et al. (2010).

c) Microestrutura

Como pode ser observado na Figura 3.6, a partir da análise de microscopia eletrônica de varredura da MCC foram evidenciadas fibras curtas com formato de bastonete e algumas com formato arredondado, apresentando uma ampla variação de tamanhos como discutido anteriormente no item *a*. Uma microestrura similar foi reportada por Nada et al. (2009) e Chuayjuljit et al. (2009) para celulose microcristalina obtida por hidrólise com HCl de fibras de algodão, atribuindo o comprimento curto das microfibras às condições da hidrólise (concentração de 15% de HCl). Levis e Deasy (2001) reportaram que as fortes ligações de hidrogênio entre os cristais de celulose promovem sua re-agregação durante alguns processos como o *spray-drying*, fato que poderia explicar a variação de tamanhos observada para a MCC neste estudo.



Figura 3.6. Microestrutura da celulose microcristalina (MCC). Magnificação de 1000X.

d) Análise de grupos funcionais da MCC

O espectro de absorção na região do infraverlmelho (FTIR) obtido para a celulose microcristalina (MCC) está apresentado na Figura 3.7. As bandas observadas nesse espectro foram coincidentes com as reportadas por diferentes autores para celulose (LIANG et al., 1959; TASHIRO e KOBAYASHI, 1991; MARCOVICH et al., 1996; BILBA e OUENSANGA, 1996; HINTERSTOISSER e SALMÉN, 2000; AKERHOLM e HINTERSTOISSER, 2004; KONDO, 2004; JIN et al., 2009; ALEMDAR e SAIN, 2008) e somente uma banda foi associada a grupos funcionais da lignina (BILBA e OUENSANGA, 1996). Na Tabela 3.4 são apresentadas as bandas observadas com suas respectivas atribuições (grupos funcionais) e as referências consultadas.



Figura 3.7. Espectro de absorção na região do infravermelho para a celulose microcristalina comercial (MCC)

Comprimento de	Atribuição	Referência consultada	
onda (cm^{-1})	7 ti louișuo	Referencia consultada	
3284	6 –OHO-3 ligações de hidrôgenio intermoleculares da celulose	Liang et al. (1959) Tashiro e Kobayashi (1991)	
		Hinterstoisser e Salmén (2000)	
2858	Alongamento C-H da celulose	Marcovich et al. (1996)	
1581	deformação do anel aromático da lignina	Bilba e Ouensanga (1996)	
	orunos –CH da celulose	$\operatorname{Iin et al} (2009)$	
1378 - 1310	Flexão CH e COH da celulose	Hinterstoisser e Salmén (2000)	
1175	Grupos C-O-C e C-OH	Mitchell (1993)	
	without a second s	Bilba e Ouensanga (1996)	
1123	da celulose	Hinterstoisser e Salmén (2000)	
1077	vibração estrutural envolvendo o alongamento	Kondo (2004)	
	C-O da celulose amorta		
1008	vibração envolvendo o alongamento C-O da celulose	Marcovich et al. (1996)	
888	alongamento devido à ligação β em celulose	Marcovich et al. (1996)	
000	vibrações C-O e C-H da celulose	Alemdar e Sain (2008)	

 Tabela 3.4. Identificação de grupos funcionais para celulose microcristalina comercial (MCC) com

 base na literatura e a partir dos valores obtidos por FTIR

3.3.2. Avaliação do tipo de agitação para a incorporação de MCC

O primeiro tipo de agitação avaliado (agitação magnética a 350 - 400 rpm) se mostrou eficaz até quando a solução filmogênica (SF) atingia os 65° C. Acima desta temperatura, o amido de *Canna indica* desenvolvia uma alta viscosidade e não era possível conseguir uma agitação homogênea para toda a SF, o qual era necessário para atingir a temperatura de processo (Tp=90°C) e incorporar o glicerol. Os filmes obtidos com este tipo de agitação apresentaram grumos e, em consequência, uma grande variação de espessura (0,073 – 0,097 mm). Com o segundo tipo de agitação avaliado (empregando Ultra-Turrax), a SF perdia viscosidade e uma grande quantidade de ar era incorporada na velocidade avaliada (10000 rpm). Em consequência, os filmes resultantes apresentaram bolhas de ar, afetando sua espessura, aparência e resistência mecânica. Por último, a agitação mecânica com duas hélices foi o método mais eficaz, empregando 570 rpm na etapa de agitação da suspensão de amido, aumentando a 940 rpm quando a suspensão de nanofíbras foi

incorporada e finalmente, empregando agitação a 1100 rpm quando a SF atingia a Tp (90°C). Na solução filmogênica obtida com este mecanismo foram observadas algumas bolhas de ar, as quais foram eliminadas com um tratamento de 10 minutos em ultrasom. Os filmes obtidos por este método apresentaram espessura uniforme.

3.3.3 Estudo de gramatura vs. espessura e densidade dos microcompósitos

Os resultados do estudo de gramatura vs. espessura dos microcompósitos secos contendo diferente concentração de MCC (1, 3, 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco) estão apresentados na Figura 3.8a. Observou-se uma relação diretamente proporcional entre o incremento da concentração de sólidos (concentração de MCC) e o aumento da espessura dos filmes. Assim, para garantir o controle da espessura de todos os filmes na faixa de 0,085 mm \pm 0,002 mm, escolheramse as gramaturas de 0,30; 0,29; 0,28 e 0,27 g de solução filmogênica / cm² quando adicionado 1, 3, 5 e 10 g de MCC /100 g de amido seco, respectivamente. Para a elaboração do filme controle (sem adição de MCC) escolheu-se a gramatura de 0,30 g de solução filmogênica / cm², já que em ensaios preliminares a espessura obtida para este filme se manteve dentro da faixa mencionada. A densidade dos micrompósitos foi de 1,62; 1,56; 1,50 e 1,42 g de filme seco /cm³ quando incorporados 1, 3, 5 e 10 g de MCC /100 g de amido seco respectivamente, observando-se uma relação inversamente proporcional entre a densidade dos microcompósitos e a concentração de MCC (Figura 3.8b).



Figura 3.8. (a) Espessura média dos microcompósitos secos contendo diferente concentração de MCC em função da gramatura, (b) Densidade dos microcompósitos em função da concentração de MCC

3.3.4. Determinação da metodologia de elaboração dos filmes de amido de biri com incorporação de celulose microcristalina (MCC)

Para a elaboração de filmes pelo método 1 foram empregadas as concentrações de 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco. Na medida em que foram obtidas e comparadas as propriedades mecânicas desses filmes com as do respectivo filme controle (C1), observou-se a necessidade de diminuir a concentração de MCC como material de reforço. Assim, menores concentrações de MCC foram empregadas na elaboração de filmes pelo método 2 (1, 3 e 5 g de MCC / 100 g de amido seco).

O efeito da concentração de MCC como material de reforço em filmes de amido de *Canna indica* L. foi avaliado comparando as propriedades desses filmes (teor de umidade, propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água) com as do respectivo filme controle. Finalmente, outras propriedades como a solubilidade, cor, opacidade e análise de grupos funcionais foram determinadas para filmes de amido reforçados com 1, 3 e 5 g de MCC / 100 g de amido seco e elaborados pelo método 2.

3.3.4.1. Espessura e teor de umidade dos filmes

A espessura dos filmes se manteve na faixa de $0,085 \pm 0,005$ mm, como pode ser observado na Tabela 3.5, evidenciando-se que o controle da espessura foi eficaz para os filmes elaborados com diferentes concentrações de MCC. O controle deste parâmetro é fundamental, dado sua influência nas propriedades dos filmes (SOBRAL, 2000).

Exp.	Mátada	MCC	Espessura	Teor de umidade (%)		
	Metodo	(%)	(mm)	U_1	U_2	
1	C1	0	$0,\!088\pm0,\!001$	$12,6 \pm 0,4$ ^a	$11,9 \pm 0,4^{\rm d}$	
2	C2	0	$0,085 \pm 0,004$	$10,3 \pm 0,3^{\rm d}$	$12,3 \pm 0,1^{d}$	
3	M1	5,0	$0,\!086 \pm 0,\!004$	$11,1\pm0,3^{b,c}$	$12,9 \pm 0,5^{c,d}$	
4	M1	10,0	$0,\!088\pm0,\!001$	$10,6 \pm 0,1^{c,d}$	$13,3 \pm 0,7^{\text{ c, d}}$	
5	M2	1,0	$0,\!085\pm0,\!001$	$11,3 \pm 0,2^{b}$	$13,9 \pm 0,7^{b,c}$	
6	M2	3,0	$0,\!085 \pm 0,\!004$	$10,8 \pm 0,5^{b, c, d}$	$16,0 \pm 0,3$ ^a	
7	M2	5,0	$0,\!086 \pm 0,\!001$	$12,2 \pm 0,1$ ^a	$14,7 \pm 0,3^{a,b}$	

 Tabela 3.5. Espessura e teores de umidade de filmes de amido com e sem incorporação de diferentes concentrações de MCC

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre os filmes (p<0,05)

U1 corresponde ao teor de umidade dos filmes após secagem e antes do acondicionamento

U₂ corresponde ao teor de umidade dos filmes após 48 horas de acondicionamento (58% de UR)

Após a secagem, os filmes apresentaram teores de umidade em torno de $11,1 \pm 0,9\%$. Quando a concentração de MCC empregada foi de 5 g / 100 g de amido seco, observou-se que os microcompósitos elaborados pelo método 1, apresentaram menor teor de umidade ($11,1 \pm 0,3\%$) quando comparados com os microcompósitos elaborados pelo método 2 ($12,2 \pm 0,1\%$). Este comportamento poderia estar associado ao tipo de agitação empregado em cada método, principalmente na etapa E3 (suspensão de amido + água + MCC), prévio à gelatinização. Assim, a agitação em ultra-turrax a 8000 rpm empregada no método 1 pode ter favorecido a interação entre as moléculas de amido e as moléculas da celulose e consequentemente, um menor número de sítios foram disponibilizados para a ligação da água quando comparado com o método 2, empregando agitação com duas hélices a 940 rpm.

Na Tabela 3.5 também pode ser evidenciado que, após acondicionamento, os microcompósitos elaborados pelo método 1, mostram uma tendência a serem menos higroscópicos quando comparados com os microcompósitos elaborados pelo método 2. Isto poderia indicar que o método de incorporação da MCC apresentou maior influencia no teor de umidade dos microcompósitos em comparação à concentração de celulose microcristalina.

3.3.4.2. Propriedades mecânicas dos filmes

a) Tensão de ruptura (T)

A Figura 3.9 apresenta a tensão de ruptura dos filmes em função da concentração de MCC. Os filmes elaborados pelo método 1 apresentaram um incremento de 93% e 150% nesta propriedade com a incorporação de 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco, respectivamente, quando comparados com o filme controle (C1). Os filmes elaborados pelo método 2 também apresentaram um incremento desta propriedade de 64% e 20% com a incorporação de 1 e 3 g de MCC / 100 g de amido seco respectivamente.

Diferentes estudos têm indicado que os valores de resistência à tração de filmes com incorporação de celulose encontram-se diretamente correlacionados com a quantidade desse material de reforço. Em concordância, Dogan e McHugh (2007) reportaram que resistência à tração (MPa) de filmes de hidroxipropil metilcelulose aumentou de $28,5 \pm 1,5$ (filme controle sem MCC) para 70,1 \pm 7,9 quando foi incoporado 1% de celulose microcristalina (com tamanho médio de partícula de 0,5µm). Müller et al. (2009) estudaram o efeito da incorporação de fibras de celulose (diâmetro de 100 µm) nas propriedades mecânicas de filmes de amido de mandioca, observando que a incorporação de 0,10 e 0,50 g de fibras / g de amido aumentou a resistência à tração dos filmes reforçados em 6,7 e 18 vezes, respectivamente. Apesar dos resultados reportados por Dogan e McHugh (2007) e por Müller et al. (2009a), mostrarem uma relação diretamente proporcional entre a resistência à tração dos filmes e a concentração de MCC na matriz polimérica, neste trabalho observou-se que os filmes elaborados pelo método 2 mostraram um comportamento diferente, sendo que o maior valor de tensão foi obtido para o filme reforçado com a menor concentração de MCC (1 g / 100 g de amido seco) como pode ser observado na Figura 3.9. Comparando os resultados de tensão dos filmes reforçados com 5% de MCC por ambos os métodos, evidenciou-se que o efeito de reforço da MCC quando comparado com o respectivo filme controle foi significativamente maior quando empregado o método 1. Este resultado sugere que uma alta velocidade de agitação, como a empregada na etapa E2a do método 2 (8000 rpm em Ultra-Turrax), ao invés de levar a uma dispersão homogênea da suspensão contendo 5% de MCC em água, levou à aglutinação das microfibras de celulose, dadas as fortes interações entre os grupos hidroxila na superfície dessas microfibras. Consequentemente, a aglutinação ou agregação da MCC limitou a extensão do reforço mecânico, como tem sido reportado por diversos autores (DUFRESNE et al., 2000; SCHROERS et al., 2004; LJUNGBERG et al., 2005; EICHHORN et al., 2010).



Figura 3.9. Efeito da concentração de celulose microcristalina (MCC) e do método de incorporação na tensão de ruptura dos filmes. As letras minúsculas e maiúsculas representam a comparação estatística entre as médias do método (1) e do método (2), respectivamente. Médias com a mesma letra indicam que não houve diferença significativa (p<0,05)

Outro fator que determina a eficácia do material de reforço é sua dispersão homogênea na matriz polimérica como reportado em vários estudos (DUFRESNE et al., 2000; AZIZI SAMIR et al., 2005; AZEREDO et al., 2009, entre outros). Chuayjuljit et al. (2009) reportaram que a resistência à tração de folhas de latex natural reforçadas com celulose microcristalina (MCC) foi afetada por uma pobre dispersão da MCC na matriz quando a concentração de MCC era muito baixa (10%) ou muito alta (30%). Isto estaria sugerindo que existe um ponto ou concentração de MCC para cada tipo de matriz polimérica, no qual é possível obter uma boa dispersão do material de reforço, refletindo-se em uma melhora na resistência mecânica do material. Alguns autores tem reportado que a dispersão de microcristais ou nanocristais de celulose na matriz polimérica é homogênea em concentrações menores a 10%, já que acima deste valor podem se formar aglomerados entre as partículas de celulose, o que compromete as propriedades mecânicas do filme (PARALIKAR et al., 2008).

Neste estudo, pode-se observar que as concentrações de 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco foram eficazes para aumentar a tensão de ruptura dos filmes de amido de *Canna indica* L

empregando o método 1, enquanto que empregando o método 2, o incremento dessa propriedade pode ser obtido incorporando menores concentrações de MCC (\leq 3 g de MCC / 100 g de amido seco). A resistência à tração é largamente dependente da distribuição e intensidade das interações inter e intramolecular (BILBAO- SAÍNZ et al, 2010). As microfibras de celulose exercem um efeito antiplastificante atribuído à formação de interações celulose-água, celulose-amido e/ou celulose-glicerol que levam à diminuição da mobilidade ou flexibilidade global da matriz polimérica (ANGLÈS e DUFRESNE, 2000). As partículas de MCC têm características polares, que lhes permitem interagir com os grupos hidrofilicos do amido. Essas interações podem resultar em uma forte adesão interfacial entre a MCC e a matriz de amido, o que leva a uma maior eficiência da transferência de tensão. O tamanho de partícula é outro fator que influência a eficácia do material de reforço, sendo que menores tamanhos de partícula apresentam maior área superficial, o qual aumenta sua capacidade de interação com os componentes da matriz polimérica para a transferência de resistência mecânica (DOGAN e McHUGH, 2007; EICHHORN et al., 2010). De acordo com isso, a heterogeneidade de tamanhos apresentada pela MCC (0,5 - 120 µm) pode ter limitado sua capacidade como material de reforço.

b) Elongação (E)

O efeito da concentração de MCC e do método de incorporação avaliado pode ser visualizado na Figura 3.10. Comparando os filmes controle elaborados por ambos os métodos (C1 e C2) foi evidenciado que um maior valor de elongação foi obtido quando o método 1 foi empregado na elaboração do controle. Isto estaria sugerindo que, contrariamente ao observado para a suspensão MCC+água, o emprego de agitação em ultra-turrax a 8000 rpm durante 15 minutos (etapa E3, Figura 3.2) favoreceu a homogeneização da suspensão de amido. Quanto aos filmes reforçados com MCC, observou-se que os valores de elongação diminuíram consideravelmente com a incorporação desse reforço. Este resultado foi evidenciado em uma maior proporção nos filmes elaborados pelo método 1, sendo evidenciada uma relação inversamente proporcional entre a elongação e a tensão de ruptura obtida para esses filmes. Por outro lado, nos filmes elaborados pelo método 2, a diminuição na elongação somente foi significativa para o filme contendo 5 g de MCC / 100 g de amido seco. Estes resultados estariam confirmando que tanto o método de dispersão empregado quanto a concentração de material de reforço e sua distribuição de tamanhos influenciam significativamente no desempenho mecânico dos filmes, dependendo dos componentes da matriz

polimérica, o que pode ser evidenciado a partir dos resultados reportados em estudos recentes (DOGAN e McHUGH, 2007; CHUAYJULJIT et al., 2009; MULLER et al., 2009a; AZEREDO et al., 2009). Como reportado por Wittaya (2009) uma alta concentração de material de reforço pode contribuir para retardar a interação intermolecular dos filmes de amido, o que leva ao desenvolvimento de uma estrutura de filme heterogênea, apresentando descontinuidades e resultando, assim, na diminuição da elongação dos filmes. Além disso, a dispersão da MCC poderia não ser totalmente homogênea, formando agregados pequenos e em consequência, afetando o desempenho mecânico dos filmes.



Figura 3.10. Efeito da concentração de celulose microcristalina (MCC) e do método de incorporação na elongação dos filmes. As letras minúsculas e maiúsculas representam a comparação estatística entre as médias do método (1) e do método (2), respectivamente. Médias com a mesma letra indicam que não houve diferença significativa (p<0,05)</p>

O efeito do método de preparação pode ser melhor observado na Figura 3.11 que apresenta a tensão vs. elongação dos filmes e em função da concentração de MCC. Quando o método 1 foi empregado, o efeito anti-plastificante da celulose microcristalina foi evidenciado: a elongação dos filmes foi diminuindo, ao mesmo tempo que, a tensão dos mesmos foi aumentando, conforme foi incrementada a concentração de MCC. Este é o efeito comumente reportado na literatura sobre filmes reforçados com microfibras de celulose, dada a característica de alta rigidez das mesmas. Quando empregado o método 2, um comportamento diferente foi obtido: a menor concentração de MCC (1%) foi a mais eficaz, em termos de altos valores de tensão na ruptura (13,6 \pm 0,8 MPa) e

moderada elongação $(11,9 \pm 3,3\%)$ dos microcompósitos. Este resultado apresenta-se como uma boa alternativa para melhorar a resistência mecânica de filmes de amido de *Canna indica* L.



Figura 3.11. Tensão versus elongação dos filmes, avaliando dois métodos para a elaboração dos mesmos e variando a concentração de MCC como material de reforço

c) Módulo de Young (MY)

O modulo de Young é um indicador de rigidez do filme, sendo calculado na região de resposta linear da curva de tensão de tração *versus* elongação. Quanto maior o módulo mais rígido é o material (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Os resultados obtidos pelo método 1 mostraram claramente que um aumento na concentração de MCC, levou ao aumento do MY dos filmes (Figura 3.12), porém os valores de rigidez dos filmes reforçados com 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco não mostraram diferença significativa entre eles. Müller et al. (2009a) relataram um comportamento semelhante para filmes de amido de mandioca reforçados com fibras de celulose e, Ma et al. (2005) reportaram que o aumento na tensão e rigidez dos filmes é atribuído à adesão notável da interface fibra-matriz causada pela similaridade química do amido e a celulose. Por outro lado, para os filmes elaborados pelo método 2, o comportamento dessa propriedade mostrou claramente que 1 g de MCC / 100 g de amido seco foi suficiente para alcançar um aumento no módulo de Young dos filmes, quando comparado com o filme de controle (C2), enquanto que os

filmes reforçados com 3 e 5 g de MCC / 100 g de amido seco não mostraram um aumento significativo desta propriedade.

Como foi mencionado anteriormente, dependendo do método de incorporação de MCC usado, existe um ponto em que a concentração de MCC é eficaz para melhorar o desempenho mecânico dos filmes. Segundo Azizi Samir et al. (2005), o desempenho de materiais compósitos reforçados com celulose depende do comportamento específico de cada fase, da composição (fração volumétrica de cada fase), da morfologia (arranjo espacial das fases) e das propriedades interfaciais. Em geral, três parâmetros principais podem afetar as propriedades mecânicas dos materiais reforçados tais como: (i) A relação de aspecto do material de reforço (L / d, sendo L o comprimento e d o diâmetro da partícula): este fator está ligado à origem da celulose e às condições de preparação da mesma. Partículas com uma elevada relação L/d resultam em um melhor efeito de reforço, (ii) O método de processamento, já que este influencia a dispersão homogênea do material de reforço dentro da matriz e o tipo de interações entre os componentes da mesma e, (iii) A estrutura da matriz e a concorrência entre dois tipos de interações: celulose/matriz e celulose/celulose.



Figura 3.12. Efeito da concentração de celulose microcristalina (MCC) e do método de incorporação no módulo de Young dos filmes. As letras minúsculas e maiúsculas representam a comparação estatística entre as médias do método (1) e do método (2), respectivamente. Médias com a mesma letra indicam que não houve diferença significativa (p<0,05)

Como evidenciado nas Figuras 3.11 e 3.12, microcompósitos com altos valores de tensão de ruptura (16 – 20 MPa) e de Módulo de Young (1400 – 1700 MPa), porém pouco flexíveis (2 – 5% de elongação), podem ser obtidos pelo método 1, empregando concentrações de MCC entre 5 e 10 g / 100 g de amido seco. Por outro lado, microcompósitos com boa resistência mecânica (14 MPa de tensão de ruptura, 1422 MPa de Módulo de Young e 12% de elongação), podem ser obtidos incorporando baixa concentração de MCC (1 g / 100 g de amido seco) e empregando o método 2.

3.3.4.3 Permeabilidade ao vapor de água

A Figura 3.13 mostra a permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes reforçados com diferentes concentrações de MCC e elaborados pelos dois métodos diferentes. Os filmes com MCC elaborados pelo método 1, mostraram uma tendência a serem mais permeáveis quando comparados com o filme controle (C1), sendo que a incorporação de 10 g de MCC /100 g de amido seco levou a um aumento significativo desta propriedade. Algunos autores têm reportado que uma incorporação excessiva de material de reforço pode levar à formação de aglomerados desse material, o qual diminui a eficácia do reforço e facilita a permeação do vapor de água (CHANG et al., 2010).

Um comportamento diferente foi evidenciado para os filmes elaborados pelo método 2, sendo observado que a incorporação de MCC levou a uma redução significativa na permeabilidade ao vapor de água dos filmes. Porém, os valores de PVA obtidos para os filmes reforçados com 1, 3 e 5 g de MCC / 100 g de amido seco, por este método não mostraram diferenças significativas entre eles. Este resultado estaria confirmando a influência do método de dispersão empregado no desempenho da MCC como material de reforço. Uma dispersão homogênea desse material, na qual as microfibras têm uma tendência a se orientar aleatoriamente em planos horizontais, resulta em filmes reforçados e em consequência, menos permeáveis ao vapor de água (AZIZI SAMIR et al., 2005; AZEREDO et al., 2009; WITTAYA, 2009). Como pode ser evidenciado neste trabalho, a agitação com duas hélices empregada na etapa E3 foi eficaz para conseguir uma boa dispersão da celulose microcristalina na matriz de amido, o que resultou na diminuição da permeabilidade ao vapor de água dos filmes elaborados pelo método 2.

A incorporação de celulose como material de reforço em filmes compósitos provavelmente introduz um caminho tortuoso para as moléculas de água (CHANG et al., 2010). Isto depende da boa dispersão do material de reforço na matriz polimérica, a qual por sua vez, está relacionada com a baixa concentração desse material e com o método de incorporação durante a elaboração do compósito. Por outro lado, vários autores têm reportado que a diminuição da permeabilidade ao vapor de água em compósitos de amido e celulose, pode ser associada à menor hidrofilicidade da celulose microcristalina em comparação com a do amido, devida à alta cristalinidade da celulose, já que a transferência de umidade ocorre preferencialmente através de áreas não cristalinas (FUNKE et al., 1998; DUFRESNE et al., 2000; BILBAO-SAÍNZ et al., 2010).



Figura 3.13. Efeito da concentração de celulose microcristalina (MCC) e do método de incorporação na permeabilidade ao vapor de água dos filmes. As letras minúsculas e maiúsculas representam a comparação estatística entre as médias do método (1) e do método (2), respectivamente. Médias com a mesma letra indicam que não houve diferença significativa (p<0,05)</p>

3.3.5. Caracterização dos filmes elaborados pelo método escolhido

A partir dos resultados discutidos anteriormente encontrou-se que o emprego do método 2 para a incorporação de MCC levou a um melhor efeito de reforço nas propriedades dos filmes de amido de *Canna indica* L. Um incremento na tensão de ruptura sem afetar significativamente a elongação foram obtidos quando empregadas as concentrações de 1 e 3 g de MCC / 100 g de amido

seco. Além disso, foi evidenciada uma diminuição significativa na permeabilidade ao vapor de água independentemente da concentração de MCC (1, 3 ou 5g de MCC / 100 g de amido seco). O efeito do material de reforço alcançado com o emprego do método 2 poderia ser o resultado de uma dispersão homogênea da celulose microcristalina na matriz de amido, favorecendo as interações moleculares entre os grupos hidroxila do amido e da MCC. Assim, o método 2 foi escolhido para continuar com o estudo de outras propriedades nos filmes de amido reforçados com MCC apresentadas nesta seção.

3.3.5.1 Solubilidade

A Figura 3.14 apresenta os valores de solubilidade em água do filme controle e dos microcompósitos contendo 1, 3 e 5 g de MCC / 100 g de amido seco, elaborados pelo método 2. Observou-se que a incorporação de 5 g de MCC / 100 g de amido seco na elaboração do filme, levou a uma diminuição significativa da solubilidade em comparação com o filme controle (C2). Este resultado sugere que nos filmes com baixas concentrações de MCC (1 e 3 g / 100 g de amido seco) um menor número de interações amido/MCC foram formadas e em consequência, predominou o caráter hidrofílico do amido, entretanto uma maior concentração de MCC (5 g / 100 g de amido seco) pode ter favorecido sua ação como material de reforço, dado que a alta cristalinidade das microfíbras de celulose lhe confere um caráter menos hidrofílico quando comparada com o amido, como mencionado anteriormente. Wittaya (2009) reportou um comportamento similar em filmes de amido de arroz reforçados com MCC, observando que uma redução na solubilidade desses filmes foi obtida com uma concentração maior ou igual a 5 g de MCC / 100 g de amido seco, quando comparada com o filme seco, quando comparada com o filmes de amido comparada com o filmes de amido de arroz reforçados com MCC, observando que uma redução na solubilidade desses filmes foi obtida com uma concentração maior ou igual a 5 g de

É importante mencionar que a solubilidade dos filmes é vantajosa em situações em que estes serão consumidos com um produto que é aquecido antes do consumo e também pode ser um fator importante que determina a biodegradabilidade dos filmes quando utilizado como material de embalagem envoltório (WITTAYA et al., 2009).



Figura 3.14. Efeito da concentração de celulose microcristalina (MCC) na solubilidade em água dos filmes. As letras representam a comparação estatística entre às médias. Médias com a mesma letra indicam que não houve diferença significativa (p<0,05)

3.3.5.2 Cor e opacidade

A Tabela 3.6 apresenta as propriedades ópticas dos filmes elaborados pelo método 2. À medida que a concentração de MCC foi incrementada de 0 a 5 g / 100 g de amido seco, observou-se que a luminosidade dos filmes (L*) diminuiu, entretanto, a opacidade dos mesmos aumentou significativamente. Isto indica que os filmes de amido de biri tornaram-se menos claros e translúcidos com a incorporação do material de reforço, possívelmente devido à cor branca original da MCC. Sendo a* e b* os parâmetros responsáveis pela cromaticidade, evidenciou-se que a diminuição de a* foi significativa nos filmes com incorporação de 5 g de MCC / 100 g de amido seco e a diminuição de b* nos filmes com concentração maior ou igual a 3 g de MCC / 100 g de amido seco. Estes resultados refletem os valores de diferença de cor (ΔE_1 *) entre os filmes contendo MCC foi incorporada, maiores de ΔE_1 * foram obtidos. Entretanto, é interessante destacar que, quando MCC foi incorporada nos filmes de amido de biri, a cor destes filmes ficou mais próxima à cor de um filme de polietileno de baixa densidade, sendo que a diferença de cor em relação a este último (ΔE_2 *) foi reduzida com o incremento da concentração de MCC. Um comportamento similar

nas propriedades ópticas de filmes de amido de arroz foi reportado por Wittaya (2009) com a incorporação de diferentes concentrações de MCC (0 - 40%), evidenciando-se que a incorporação deste material de reforço teve efeito significativo na cor dos filmes.

E		MCC						
схр.	Nietodo	(%)	L*	a*	b*	ΔE_1^*	ΔE_2^*	Opacidade (%)
2	C2	0	$99,96 \pm 0,07$ ^a	$0,91 \pm 0,01$ ^a	$-1,10 \pm 0,02$ ^a		$3,95 \pm 0,06$ ^a	$11,20 \pm 0,61$ ^a
5	M2	1,0	$99{,}59 \pm 0{,}02 \ ^{b}$	$0,93 \pm 0,00$ ^a	$-1,06 \pm 0,00^{a}$	$0{,}38\pm0{,}02~^a$	$3{,}61\pm0{,}01^{\text{ b}}$	$16,83 \pm 0,49$ ^b
6	M2	3,0	$99,26 \pm 0,07$ ^c	$0,91 \pm 0,01$ ^a	-0,86 \pm 0,04 ^b	$0,74\pm0,07^{\text{ b}}$	$3,24 \pm 0,07$ ^c	$25,33 \pm 0,45$ ^c
7	M2	5,0	$98,12 \pm 0,06^{d}$	$0,89 \pm 0,01^{b}$	$-0,56 \pm 0,02$ ^c	$1,92 \pm 0,06$ ^c	$2,13 \pm 0,06^{d}$	$31,33 \pm 0,32^{d}$

 Tabela 3.6. Propriedades ópticas de filmes de amido elaborados pelo método 2 com e sem incorporação de diferentes concentrações de MCC

 ΔE_1^* calculado usando como padrão o filme controle (C2), com valores L* = 99,96 ± 0,07; a* = 0,91 ± 0,01 e b* = -1,10 ± 0,02 ΔE_2^* calculado usando como padrão um filme de polietileno de baixa densidade (L*=96,35 ± 0,02; a*=0,06 ± 0,00 e b*=0,28 ± 0,01) Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre os filmes (p<0,05)

3.3.5.3. Transmissão de luz

A energia radiante de fontes luminosas naturais ou artificiais, seja ultravioleta (UV) ou visível, é capaz de afetar a estabilidade de produtos fotossensíveis, uma vez que pode iniciar ou acelerar reações de degradação fotoquímica. Tais reações alteram as características intrínsecas do produto através do aumento dos níveis energéticos dos compostos, formando produtos altamente oxidantes, como radicais livres e íons (ALVES et al., 2008). Diante disso, a medição de transmitância dos microcompósitos de amido e celulose microcristalina resulta interessante para avaliar sua capacidade de atuar como barreira à luz ultravioleta ou visível. A luz visível abrange comprimentos de onda de 380 a 780 nm e a radiação ultra-violeta (UV) possui comprimentos de onda de 200 a 380 nm (SILVERSTEIN et al., 1987). Embora os comprimentos de onda correspondentes à luz UV sejam relativamente baixos, a radiação emitida nessa região tem maior energia que aquela emitida no espectro visível, induzindo a uma maior taxa de oxidação comparativamente da luz visível (ALVES et al., 2008).

A Figura 3.15 mostra a transmissão da luz (Tr) do filme controle e dos microcompósitos, no comprimento de onda de 190-780 nm. Os valores de Tr dos filmes obtidos neste estudo foram significativamente menores aos de um filme comercial de polietileno de baixa densidade (PEBD) com espessura similar à dos microcompósitos. Também se evidenciou que os valores de transmitância dos microcompósitos foram diminuindo conforme foi incrementando a concentração de MCC, mostrando que a maior concentração de MCC (5%) diminuiu significativamente a transparência dos microcompósitos. Os valores de Tr dos microcompósitos contendo 1, 3 e 5% de MCC em comprimentos de onda menores a 300 nm foram inferiores em relação ao filme controle e ao filme de PEBD, indicando que a incorporação de MCC aumentou a absorção de luz ultravioleta dos filmes microcompósitos. Acima de 300 nm, foi evidenciado que os valores de transmitância dos microcompósitos contendo 1 e 3% de MCC foram muito próximos ao controle, e até mesmo superiores a este em comprimentos de onda de 600 a 800 nm, indicando que a adição de microfibras de celulose (MCC) na matriz de amido não diminuiu a transparência dos filmes e até, em certa medida, aumentou a transparência dos microcompósitos. Este resultado estaria indicando que a incorporação de 1 e 3% de MCC não melhora a propriedade de barreira à luz visível quando comparado com o controle. Isto pode ser atribuído à dispersão homogênea da MCC na matriz e às fortes interações celulose-matriz, como reportado por Chen et al. (2009a). Para os microcompósitos contendo 1 e 3% de MCC, os resultados da análise de transmitância são diferentes do comportamento obtido para a opacidade (item 3.3.5.2). Esta diferença poderia estar associada a diferentes tamanhos da MCC e ao grau de distribuição da MCC presente nas amostras utilizadas no momento das análises, fatores que podem afetar as propriedades ópticas dos compósitos, como reportados por Chen et al. (2009b).

Outro fato interesante evidenciado nesta análise é que no comprimento de onda de 380 nm, a transmitância do microcompósito contendo 5% de MCC foi de 43,8%, a do controle de 55,1% e a do PEBD de 67,4%, mostrando que este microcompósito tem potencial de utilização como material com barreira à luz UV, uma vez que as embalagens da maioria dos productos industrializados que ficam dispostos em prateleiras de supermercados estão expostas a algum tipo de luz e, consequentemente, está sujeitas à fotoxidação (COLTRO, 2002).



Figura 3.15. Transmissão de luz do filme controle (C) e dos microcompósitos reforçados com diferente concentração de MCC em comparação com um filme de polietileno de baixa densidade comercial (PEBD)

3.3.5.4. Microestrutura

Como pode ser observado na Figura 3.16, os microcompósitos contendo diferentes concentrações de MCC apresentaram uma microestrutura na superfície bastante homogênea, sem mudanças visíveis quando comparada com a do filme controle (C). Isto sugere que o aumento da concentração de MCC não modificou a microestrura de superfície dos microcompósitos, provavelmente devido a que a agitação mecânica com duas hélices, contribuiu para uma dispersão homogênea da celulose microcristalina na matriz polimérica. Este resultado está associado com o aumento da resistência mecânica evidenciado nos microcompósitos (item 3.3.4.2), uma vez que, a dispersão homogênea da MCC limita a formação de aglomerados desse material e promove as interações celulose-amido, necessárias para garantir a transferência de tensão na interface reforço/matriz polimérica. Como mencionado anteriormente, a incorporação de MCC homogêneamente distribuída na matriz polimérica, também introduze um caminho tortuoso para as moléculas de água, o qual se refleteu na diminuição da permeabilidade ao vapor de água dos microcompósitos elaborados pelo método 2 (item 3.3.4.3).

Nas micrografias de fratura dos microcompósitos, observaram-se as seguintes mudanças em relação ao filme controle:

- A região dos microcompósitos exposta ao ar de secagem (parte superior da micrografia de fratura de cada filme), se manteve lisa e homogênea, evidenciando-se que, nessa região, a incorporação de 1 ou 3% de MCC não afetou a microestrutura. Entretanto, quando a concentração de MCC aumentou para 5%, observou-se a formação de camadas ou lâminas paralelas entre si e no sentido vertical à superfície do microcompósito.
- Em todas as micrografias de fratura, observou-se uma tendência à formação de camadas entrecruzadas quando a MCC foi incorporada. Esta característica foi evidenciada em maior proporção no microcompósito contendo 5% de MCC, isto poderia estar associado com a obtenção de uma estrutura polimérica menos flexível (4,5 ± 0,3% de elongação).
- Não foram observados aglomerados nos microcompósitos, o qual mostra que houve uma boa dispersão da MCC na matriz polimérica. No entanto, os melhores resultados em propriedades mecânicas, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água foram evidenciados quando a menor concentração de MCC (1 g / 100 g de amido seco) foi incorporada.



Figura 3.16. Microestrutura de superficie e de fratura do filme controle (FC) e dos microcompósitos contendo 1, 3 e 5% de MCC.

3.3.5.5. Análise de grupos funcionais por espectroscopia de absorção (FTIR)

Os espectros de FTIR dos filmes reforçados com diferentes concentrações de MCC (1, 3 e 5 de MCC / 100 g de amido seco) e do filme controle (sem incorporação de MCC) são apresentados na Figura 3.17. As bandas identificadas nesses espectros são mostradas na Tabela 3.7. Observou-se que os filmes reforçados com incorporação de MCC apresentaram espectros similares mostrando que a concentração de MCC não afetou a absorção dos grupos funcionais característicos dessas

bandas. Entretanto, algumas diferenças foram observadas para estes filmes quando comparados com o filme controle. Estas diferenças foram analisadas em função dos grupos funcionais identificados no espectro do amido (Tabela 2.3, Capítulo 2,) e no espectro da celulose microcristalina (Tabela 3.3 deste capítulo). As bandas identificadas na região entre 2895 e 2860 cm⁻¹ que foram observadas no filme controle e na MCC em 2858 cm⁻¹ foram identificados a 2926 cm⁻¹ nos filmes de amido reforçados com MCC, o que se deve ao fato do alongamento C-H estar presente nos dois tipos de biopolímeros (amido e celulose). A banda em 1612 cm⁻¹ identificada no filme controle foi deslocada a 1645 e 1646 cm⁻¹ nos filmes com MCC. Está banda foi atribuída ao alongamento da ligação C=O identificado no espectro do amido. As bandas na região entre 1366 e 1361 cm⁻¹ observadas nos espectros dos filmes reforçados também foram observadas no espectro de MCC e podem ser atribuídas à flexão dos grupos CH e COH da celulose. Esta banda foi observada a 1379 cm⁻¹ no espectro do filme controle, o que pode ser associado à presença do grupo amida III que foi identificado no espectro do amido. A banda em 1206 cm⁻¹ foi identificada em 1239 e 1240 cm⁻¹ nos filmes reforçados. Uma vez que esta banda não foi observada no espectro da MCC, sua absorção também foi atribuída à presença do grupo amida III presente no amido. A banda em 1173 cm⁻¹, observada em todos os espectros foi atribuída à presenca dos grupos C-O-C e C-OH identificados no espectro da MCC em 1175 cm⁻¹ e à presença de grupos C-O e C-C no caso do filme controle, já que esses grupos foram relacionados com a banda em 1148 cm^{-1} identificada no espectro do amido. A banda em 1090 cm⁻¹ observada no espectro do filme controle pode ser atribuída ao alongamento da ligação C-OH, a qual foi identificada no espectro do amido 1076 cm⁻¹. As bandas em 1077 e 1078 cm⁻¹ que somente foram identificadas nos espectros dos filmes reforçados, foram atribuídas às vibrações estruturais envolvendo o alongamento C-O da celulose amorfa, como identificado no espectro da MCC em 1077 cm⁻¹. As bandas em 993, 992, 927, 926 e 920 cm⁻¹ observadas em todos os espectros foram atribuídas à deformação C-OH e modos relacionados ao grupo CH₂ também identificados no espectro do amido, mas ausentes no espectro da MCC. As bandas observadas na região entre 850 e 844 cm⁻¹ também observadas em todos os espectros podem ser atribuídas aos grupos C-O e C-H presentes no amido e na celulose, dado que essas bandas também foram observadas nos espectros desses biopolímeros.



Figura 3.17. Espectros de FTIR dos filmes de amido de biri: controle e reforçados com diferentes concentrações MCC

Tabela 3.7. Bandas de absorção (FTIR) observadas nos espectros dos filmes de amido de biri:controle e reforçados com diferentes concentrações MCC

	Número de onda (cm ⁻¹)						
Controlo	Filmes reforçados com MCC						
Controle	1% 3%		5%				
3257	3264	3296	3306				
-	2926	2926	2926				
2895	-	-	-				
2860	-	-	-				
1612	1645	1646	1645				
1379	1366	1366	1361				
1206	1239	1239	1240				
1173	1173	1173	1173				
1146	1149	1150	1149				
1090	-	-	-				
-	1077	1078	1077				
1052	-	-	-				
992	992	993	993				
920	926	926	927				
844	849	849	850				
752	759	759	759				

3.4 CONCLUSÕES

As propriedades mecânicas e de barreira de filmes de amido reforçados com celulose microcristalina comercial podem ser afetadas por condições como a concentração do material de reforço e o método de dispersão empregado no processo de elaboração do microcompósito. De acordo com isto, as concentrações de 5 e 10 g de MCC / 100 g de amido seco foram eficazes para aumentar a tensão de ruptura dos microcompósitos quando a MCC foi incorporada empregando agitação em ultra-turrax a 8000 rpm (método 1), enquanto que o incremento dessa propriedade foi obtido incorporando menores concentrações de MCC (≤ 3 g de MCC / 100 g de amido seco) e empregando agitação mecânica com duas hélices a 940 rpm (método 2). Comparando os resultados obtidos por ambos os métodos, observou-se que a incorporação de 1g de MCC por cada 100 g de amido seco como material de reforço e o emprego do método de incorporação 2 apresentaram-se como uma boa combinação para melhorar a resistência mecânica dos filmes em termos de alta tensão de ruptura (13,6 \pm 0,8 MPa) sem afetar significativamente a elongação (11,9 \pm 3,3%). No entanto, considerando outras propriedades, como: permeabilidade ao vapor de água e solubilidade evidenciou-se que, a concentração de 5 g de MCC por cada 100 g de amido seco favoreceu a diminuição da permeabilidade ao vapor de água e da solubilidade, quando empregado o método 2, mostrando que a agitação com duas hélices a 940 rpm foi eficaz para conseguir uma boa dispersão da celulose microcristalina na matriz de amido de biri (Canna indica L). Assim, a partir dos resultados obtidos no presente capítulo, evidenciou-se que a incorporação de 5 g de material de reforço por cada 100 g de amido seco e o emprego do método 2 para sua incorporação na matriz polimérica levam à obtenção de microcompósitos com maior resistência mecânica e menor permeabilidade ao vapor de água e solubilidade, quando comparados com o filme controle (sem incorporação de material de reforço). Também foi evidenciado que o microcompósito contendo 5% de MCC apresentou maior barreira à luz UV quando comparado com o filme controle e com um filme comercial de polietileno de baixa densidade.

4. PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS A PARTIR DO FARELO DE BIRI E SUA INCORPORACAO EM FILMES DE AMIDO DE BIRI (*Canna indica* L.)

Neste capitulo, diferentes suspensões de nanofibras foram produzidas a partir do farelo de biri para ser incorporadas como material de reforço em filmes de amido da mesma fonte. No processo de obtenção das nanofibras foram estudadas três etapas: tipo de deslignificação e branqueamento, tipo de ácido empregado na hidrólise e homogeneização a alta pressão, o que levou ao desenvolvimento de 12 tratamentos diferentes. Esses tratamentos foram avaliados com base na morfologia, tamanho, índice de cristalinidade e grupos funcionais das nanofibras obtidas por cada tratamento. As nanofibras obtidas apresentaram diâmetros de partícula entre 13,8 e 37,2 nm, comprimento entre 832,8 e 2640,3 nm e altos índices de cristalinidade (60,0-69,8%), em relação ao farelo (17%), e ligeiramente menores quando comparados com a cristalinidade de uma amostra de celulose microcristalina comercial (79,34%) empregada como padrão. As nanofibras obtidas foram usadas como material de reforço em filmes de amido de biri, resultando em 12 tipos de nanocompósitos, cujas propriedades (teor de umidade, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, propriedades ópticas, absorção de umidade, propriedades térmicas, índice de cristalinidade e grupos funcionais) foram comparadas com as de um filme controle (sem incorporação de nanofibras). Os 12 tipos de nanofibras produzidos por diferentes tratamentos se mostraram eficazes para melhorar significativamente as propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos resultantes. O nanocompósito contendo nanofibras tratadas com ácido peracético (1 e 5%), H₂SO₄ e submetidas a 5 passagens em homogeneizador a alta pressão (nanocompósito F8), foi identificado como aquele que apresentou as melhores propriedades, considerando o aumento da tensão de ruptura sem afetar significativamente a elongação, e a diminuição significativa da solubilidade e da permeabilidade ao vapor de água.

4.1 INTRODUÇÃO

O estudo de nanofibras de celulose como uma fase de reforço em nanocompósitos começou há 15 anos aproximadamente e desde então, uma grande quantidade de trabalhos científicos têm sido desenvolvidos empregando nanofibras de diferentes fontes. Em essência, a principal razão para se utilizar nanofibras de celulose em materiais compósitos é a de explorar a elevada rigidez da celulose para reforço e o interesse no tamanho nanométrico deste material está associado com a utilização de uma elevada relação de aspecto (comprimento / diâmetro), a qual é desejável para seu uso em compósitos, pois favorece a transferência de tensão na interface fibra/matriz através de

ligações de hidrogênio (FAVIER et al., 1995; EICHHORN et al., 2010). Desta maneira, a estrutura altamente ordenada das nanofibras pode conferir mudanças significativas nas propriedades de filmes compósitos como uma melhor resistência mecânica e a diminuição da permeabilidade ao vapor de água (ALEMDAR e SAIN, 2008b; AZEREDO et al., 2009). No entanto, as propriedades de filmes elaborados com incorporação de nanofibras são o resultado da influência de diferentes fatores, como: a compatibilidade entre os biopolímeros utilizados, as características das nanofibras (composição, morfologia, tamanho, cristalinidade e carga superficial), e a dispersão e concentração das nanofibras na matriz polimérica (DUFRESNE, 2006; BONDESON e OKSMAN, 2007). A partir de uma revisão bibliográfica de diferentes métodos reportados em artigos científicos e patentes sobre a produção de nanofibras (CANTIANI et al., 2002; SAIN e BHATNAGAR, 2008; GHALI et al., 2009; ZIAIE-SHIRKOLAEE, 2009; ZULUAGA et al., 2009) foi observado que principalmente três etapas do processo, deslignificação e branqueamento, hidrólise ácida e homogeneização a alta pressão, influenciam nas características da nanofibras obtidas e, consequentemente, sua capacidade de reforço em filmes poliméricos. A técnica de elaboração dos filmes compósitos também agrega outros fatores de influência no desempenho desses materiais, como: o tipo de interações resultantes entre biopolímeros, nanofibras, fase aquosa e plastificante e as condições de processo (temperatura e umidade relativa de secagem), quando se emprega a metodologia *casting*.

Baseado no estudo de Andrade-Mahecha (2009) sobre filmes de amido e farinha de biri (*Canna indica* L.), evidenciou-se que os rizomas dessa fonte vegetal são uma matéria-prima interessante para a elaboração de filmes biodegradáveis. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo a obtenção e caracterização de nanofibras a partir do farelo de biri (subproduto do processo de extração de amido), sua incorporação como material de reforço na elaboração de filmes de amido de biri e a caracterização dos nanocompósitos resultantes. As propriedades dos nanocompósitos (teor de umidade, densidade, propriedades mecânicas, propriedades ópticas, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, absorção de umidade, propriedades térmicas, análise de grupos funcionais e índice de cristalinidade) foram comparadas com as do filme de amido sem incorporação de nanofibras (filme controle).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Produção de nanofibras

A sequência de etapas que compõem o processo desenvolvido para a obtenção de nanofibras a partir do farelo se encontra esquematizada na Figura 4.1. O principal objetivo dos tratamentos utilizados foi eliminar os componentes não-celulósicos, tais como amido, substâncias pécticas, hemicelulose e lignina, como descrito por Zuluaga et al. (2009). Na primeira etapa (T1), foi usada uma relação 18:1 (solução de KOH: farelo de biri) para o tratamento alcalino do farelo. Em seguida, a polpa úmida foi separada por centrifugação (10.000 rpm/15°C/15 min) e este mesmo mecanismo foi utilizado para lavar três vezes a polpa úmida com água deionizada. Após cada ciclo de centrifugação, o sobrenadante foi descartado. O material resultante foi diluído em água deionizada e ajustado o pH até 5,0 (empregando ácido acético a 10%) para se iniciar o tratamento quelante (Q) com EDTA. Este agente quelante tem a função de remover íons metálicos presentes nas fibras, provenientes da matéria-prima, água, equipamentos e impurezas dos reagentes que podem iniciar a degradação da celulose. A aplicação sequencial de reagentes de branqueamento, aliada a lavagens intermediárias, permite a obtenção de celulose branqueada com excelentes propriedades físicas a custos moderados (IPT/SENAI, 1988). Após tratamento quelante foram realizados dois estágios de branqueamento (E1 e E2) empregando ácido peracético ou peróxido de hidrogênio. No caso do peróxido de hidrogênio foram adicionados três reagentes: NaOH, DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético) e MgSO₄. O NaOH promove a ação do peróxido em meio alcalino, o DTPA evita os efeitos indesejados dos íons ferro, cobre e manganês, já que esses metais promovem a formação do radical hidroxil (OH), o qual degrada as cadeias de celulose e decompõe os agentes do branqueamento (OVIEDO e RODRÍGUEZ, 2003). O MgSO₄ é adicionado como agente estabilizante do peróxido de hidrogênio (ZIAIE-SHIRKOLAEE, 2009). Entre os estágios que compõem a etapa de deslignificação e branqueamento, foram realizadas lavagens sucessivas com água deionizada e ciclos de centrifugação (10.000 rpm/15°C/15 min). Na sequência, a polpa úmida foi submetida a um segundo tratamento alcalino (T2) com solução de KOH (1:2), o qual permite melhorar a eficácia da deslignificação das fibras como reportado por Zuluaga et al. (2009). Após este tratamento, a polpa foi lavada três vezes com água deionizada nas condições mencionadas anteriormente. Em seguida, a polpa lavada foi diluída em água deionizada e submetida à agitação mecânica e o pH foi neutralizado com reagente ácido (HCl ou H₂SO₄ a 1% dependendo de cada

experimento). A mistura foi submetida a lavagens sucessivas com água deionizada mediante centrifugação para eliminar possíveis cristais de sais formados durante a neutralização. No final da sequência de deslignificação e branqueamento, um tratamento ácido (T3) empregando HCl ou H₂SO₄ a 1% v/v, foi realizado para favorecer a hidrólise das regiões amorfas da celulose (SILVA e D'ALMEIDA, 2009). Este tratamento também é eficaz em reforçar a remoção de íons metálicos, destruir o agente branqueador residual e criar condições de pH favoráveis para a estabilidade da polpa de celulose, como indicado por IPT/SENAI (1988) e Zuluaga et al. (2009). Após tratamento ácido, a mistura foi resfriada em banho de gelo e submetida a lavagens sucessivas com água deionizada até neutralidade (pH 7,0 – 7,3) empregando ciclos de centrifugação (10.000 rpm/5°C/10 min). Ao final, uma suspensão coloidal foi obtida, diluída em água deionizada e armazenada a temperatura de refrigeração (5°C) em frascos de polietileno. Adicionalmente, em alguns experimentos (3, 4, 7, 8, 11 e 12), as suspensões de nanofibras foram submetidas a 5 passagens em um homogeneizador PANDA 2K NS1001L2K (Niro Soavi S.p.A., Parma, Italy), de altas pressões e dois estágios. A pressão no primeiro estágio foi de 500 bar e no segundo estágio foi de 50 bar. Este tratamento mecânico foi realizado a fim de individualizar as nanofibras e, posteriormente, avaliar o efeito deste tratamento na sua morfologia, tamanho e índice de cristalinidade e, consequentemente, no seu desempenho como material de reforço. Durante a homogeneização a alta pressão, a suspensão passa por um estreito orifício sob uma pressão elevada. O fluido acelera rapidamente, alcançando uma velocidade de 300 m/s nos micro canais. A energia fornecida pelo processo, como resultado do cisalhamento, impacto e cavitação é responsável pela quebra das partículas (SANTANA et al., 2011).

Na Figura 4.1, as etapas grifadas em cinza (E1, E2, T3 e homogeneização a alta pressão) correspondem às variáveis estudadas (etapas avaliadas). A combinação de diferentes condições de processo empregadas nessas etapas deu origem ao número de experimentos realizados neste estudo como apresentado na Tabela 4.1 e as condições de processo utilizadas encontram-se detalhadas na Tabela 4.2.

Para determinar a concentração de sólidos em cada uma das suspensões de nanofibras obtidas, cada suspensão foi homogeneizada empregando agitação magnética durante 30 minutos e 2 g de cada suspensão foram levadas à secagem em estufa a 105°C até peso constante. Esta determinação foi conduzida em triplicata e utilizada para a elaboração dos nanocompósitos.



Figura 4.1. Esquema geral das etapas do processo de obtenção de nanofibras de biri

	Deslignificação e branqueamento		Hidrólise ácida			Homogeneização a alta pressão		
Exp.	Peróxido de hidrôgeno	Ácido per (CH ₃ 0	acético (Pa) COOOH)	HCI	H ₂ S	SO4	0 Passagens	5 Passagens
	(H_2O_2)	(0.25%)	(1 e 5%)*	2 h	1 h	2 h	_	
1		1		1			J	
2		J				J	J	
3		J		J				J
4		J				J		J
5			J	J			J	
6			J		1		J	
7			J	J				J
8			J		J			J
9	J			J			J	
10	J				J		J	
11	J			J				J
12	1				J			J

Tabela 4.1. Etapas avaliadas na obtenção de nanofibras a partir do farelo de biri

* 1% na etapa E1 e 5% na etapa E2

✔ Etapas de processo empregadas em cada experimento para a obtenção de nanofibras de biri

Tabela 4.2. Condições de processo utilizadas para a produção de nanofibras de biri nas diferente	S
etapas de processo	

Condică de macence	E1		E2		Т3	
Condições de processo	CH ₃ COOOH (Pa)	H_2O_2	CH ₃ COOOH (Pa)	H_2O_2	(HCl ou H ₂ SO ₄)	
Temperatura (°C)	75	90	75	90	80	
Tempo (Horas)	2	3	2	3	1 ou 2*	
Concentração de reagente (%)	0,25 ou 1,0 (p/v)*	4,0 (p/p)**	0,25 ou 5,0 (p/v)*	4,0 (p/p)**	1,0 (v/v)	
pH inicial	5	-	5	-	-	
pH final	-	11,0 - 11,2	-	11,0 - 11,2	-	

* Na Tabela 4.1 encontra-se a condição para cada experimento

** Neste tratamento foram adicionados: NaOH (2%), DTPA (0,2%) e MgSO₄.7H₂O (0,3%) em relação à polpa seca

4.2.2 Caracterização das nanofibras de biri

As nanofibras de biri obtidas pelos 12 tratamentos apresentados neste estudo foram comparadas quanto à sua morfologia, diâmetro, comprimento, carga superficial (potencial zeta), índice de cristalinidade por difração de raios-X (DRX) e grupos funcionais por FTIR. Para as análises de DRX e FTIR, uma quantidade de suspensão de nanofibras de cada tipo (200 - 300 g) foi seca em um liofilizador (Virtis Freezemobile 25EL, USA). O material liofilizado foi armazenado em frascos de vidro com sistema de fechamento hermético.

4.2.2.1 Morfologia e diâmetro das nanofibras

A visualização da estrutura e determinação do diâmetro das nanofibras foi realizada por microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Esta técnica tem sido muito empregada na obtenção de informações relativas à forma e ao tamanho de nanopartículas (SCHAFFAZICK e GUTERREZ, 2003). Cada suspensão de nanofibras foi colocada em ultrasom por 5 minutos e, a seguir, uma gota da suspensão foi depositada em uma micrograde de carbono e parlodio (300 mesh) e seca a 40°C, por 5 minutos. As imagens foram obtidas em um microscópio de transmissão ZEISS CEM 902 com analisador EELS empregando uma tensão de aceleração de 80 kV.

4.2.2.2. Potencial zeta e determinação do comprimento das nanofibras

A carga superficial e o comprimento das nanofíbras em suspensão aquosa foram analizados por um Zetasizer (Malvern Instruments, Ltda., U.K). Para cada tipo de nanofíbra foram obtidas seis medidas do comprimento e seis medidas do potencial zeta. Estas medidas foram realizadas à temperatura ambiente (25°C).

4.2.2.3. Cristalinidade das nanofibras por Difração de Raios-X (DRX)

O índice de cristalinidade das nanofibras foi determinado por difração de raios X, como descrito para o farelo de biri no item 2.2.4 do Capítulo 2.

4.2.2.4. Análise de grupos funcionais por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A análise de grupos funcionais presentes nos diferentes tipos de nanofibras foi realizada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho, nas condições descritas no item 2.2.8 do Capítulo 2.

4.2.3 Elaboração de filmes de amido reforçados com nanofibras (nanocompósitos)

Os nanocompósitos foram elaborados pelo método casting. A incorporação das nanofibras de biri no processo de elaboração dos nanocompósitos foi realizada conforme o método 2 detalhado no Capitulo 3 (Figura 3.3), com uma modificação na etapa E3, a qual consistiu no aumento do tempo de homogeneização (de 15 a 30 minutos) para a suspensão amido+nanofibras+água, já que esse método mostrou-se eficaz para a incorporação e dispersão homogênea do material de reforço na matriz polimérica conforme foi discutido nesse capítulo. Para cada tratamento utilizado para produção de nanofibras, como detalhado na Tabela 4.1, foram elaborados nanocompósitos a fim de avaliar a incorporação das nanofibras na matriz de amido, e seu efeito nas propriedades dos nanocompósitos resultantes. Os nanocompósitos foram elaborados utilizando uma concentração de 3 g de amido seco / 100 g de solução filmogênica, 5 g de nanofibras secas / 100 g de amido seco e 25 g de glicerol / 100 g de amido seco. Adicionalmente, foi elaborado um filme controle (sem adição de nanofibras) para avaliar posteriormente o efeito das diferentes nanofibras nas propriedades dos nanocompósitos. Quanto ao controle da espessura dos nanocompósitos, uma gramatura de 0,28 g de solução filmogênica / cm² de placa suporte foi determinada em ensaios preliminares a fim de obter nanocompósitos com uma espessura de 0.085 mm \pm 0.002 mm. A concentração de glicerol também foi determinada a partir de resultados de ensaios preliminares. As
outras condições como: temperatura de processo (90°C), temperatura de secagem (45°C) e umidade relativa de secagem (36,4%), corresponderam às condições otimizadas por Andrade-Mahecha (2009) para filmes de farinha de biri. Previamente à sua caracterização, os nanocompósitos foram acondicionados durante 48 horas nas condições de 25°C e 58% de umidade relativa em dessecadores contendo solução saturada de NaBr.

4.2.4 Caracterização dos nanocompósitos

A espessura, teor de umidade (após secagem e após acondicionamento), propriedades mecânicas, propriedades ópticas (diferença de cor e opacidade), solubilidade em água e análise de grupos funcionais por espectroscopia de absorção (FTIR) foram determinadas como descrito no capítulo 3 (itens 3.2.4 e 3.2.5). A metodologia para a determinação de outras propriedades também estudadas nos nanocompósitos são descritas a seguir:

Densidade

Para a determinação da densidade, amostras de filmes foram cortadas em quadrados de 20 mm x 20 mm e a espessura foi medida (três medidas de cada amostra). As amostras foram secas em estufa a 105°C durante 24 horas, resfriadas em dessecador contendo sílica e pesadas para a determinação da sua massa seca. A análise foi conduzida em triplicata.

Índice de cristalinidade (Ic_r, %)

O índice de cristalinidade foi determinado pelo método de Segal et al. (1959), a partir dos difratogramas obtidos das análises de difração de raios-X, as quais foram realizadas de acordo com a metodologia empregada por Cheetman et al. (1998) e Nuwamanya et al. (2010), como descrito no capítulo 2 (item 2.2.4).

Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada usando o método padrão modificado ASTM E 96-95 (ASTM, 1995). Esta propriedade foi determinada para três faixas de umidade relativa (2-33%, 33-64% e 64-90%). Assim, soluções saturadas de MgCl₂, NaNO₂ e BaCl₂ foram usadas para garantir as umidades relativas de 33%, 64% e 90% respectivamente e sílica gel foi empregada para garantir a mínima condição de umidade relativa no primeiro gradiente. A análise foi conduzida em triplicata para cada faixa de umidade relativa.

Absorção de umidade

As amostras de filme seco usadas para a determinação de densidade foram acondicionadas a 25 °C em um dessecador contendo solução saturada de Na₂SO₄, a fim de garantir uma umidade relativa de 95%. As amostras foram removidas periodicamente e pesadas em balança analítica. Durante as primeiras 12 horas desta análise, as amostras foram pesadas a cada hora, depois, a pesagem foi realizada a cada 12 horas até atingir o equílibrio (até peso constante da amostra de filme). A absorção de umidade (W.U) foi calculada a partir da equação [4.1].

$$\%W.U = \frac{M_{t} - M_{0}}{M_{0}} \times 100 \qquad [4.1]$$

Onde M_t corresponde ao peso do filme exposto a UR de 95% no tempo t e M_0 corresponde ao peso do filme seco antes da exposição a 95% de UR. Assim, a absorção de umidade média de cada amostra foi calculada em tempos diferentes de condicionamento (t), como descrito por Dufresne et al. (2000) e a análise foi conduzida em triplicata.

Estudos sobre a difusão de água em filmes a partir de matrizes naturais têm demonstrado que o mecanismo predominante está relacionado com a difusividade fickiana (BERKUN et al., 2008). Neste sentido, a partir dos dados de sorção, a difusividade efetiva do vapor da água (D) através dos filmes com espessura L, foi determinada pela inclinação da região linear da curva de Mt / M ∞ vs t

^{1/2} (BERKUN et al., 2008; BILBAO-SAINZ et al., 2010), mediante um ajuste dos dados experimentais, empregando a equação [4.2] que representa a difusão da água para tempos curtos.

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = \frac{4}{L} \sqrt{\frac{D \times t}{\pi}} \qquad [4.2]$$

Onde Mt, representa a massa absorvida no tempo t e, M_{∞} corresponde á massa de água absorvida no equilíbrio termodinâmico.

Propriedades térmicas por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A determinação de transições de fase dos nanocompósitos foi realizada por análise calorimétrica de varredura, utilizando-se um DSC TA 2010, controlado por um módulo TA5000 (TA *Instruments*, New Castle, DE, EUA). As amostras (aproximadamente 7 mg \pm 0,01 mg) foram colocadas em capsulas de alumínio e, após condicionamento em solução saturada de NaBr durante duas semanas, foram pesadas em balança analítica (*Ohaus Analytical Plus*). As amostras foram aquecidas a uma taxa de 10°C/min, entre -60°C e 120°C, em ambiente inerte (45 mL/min de N₂). Utilizou-se como referência uma capsula de alumínio vazía. O equipamento foi calibrado com amostra de indium (Tm=156,6°C, Δ Hm=28,71 J/g) (TA *Instruments*) e os resultados foram analisados utilizando o software Universal Analysis (TA *Instruments*). Considerou-se a temperatura de transição vítrea (Tg) como o ponto médio de inflexão, a qual é causada pela descontinuidade de calor na amostra e, a temperatura de transição solido-gel (Tm), como a temperatura onde ocorreu o pico endotérmico (temperatura máxima de fusão). A entalpia (Δ Hm) foi calculada como a área sob o pico endotérmico observado (SOBRAL et al., 2002; TAPIA-BLÁCIDO, 2006). A Tg reportada para o filme controle e para cada nanocompósito corresponde à média de três réplicas.

4.2.5 Análise estatística multivariada por aglomeração hierárquica

Neste estudo, empregou-se o método de agrupamento por aglomeração hierárquica, o qual se caracteriza pelo estabelecimento de uma estrutura em forma de árvore, sendo esta a mais utilizada

(Vide Apêndice IV). Dentro deste método, escolheu-se o encadeamento de *Ward* (um método que busca gerar grupos que possam minimizar a variância dentro destes grupos). Assim, o método de *Ward* calcula as médias de todas as variáveis para cada grupo, escolhendo a que proporciona a menor variância. Este método é altamente eficiente na formação de grupos (VICINI, 2005; HAIR et al., 2005). A análise de aglomeração hierárquica empregando o método de *Ward* foi relizada utilizando o software statistica versão 9.0 (StatSoft, Inc., USA), obtendo-se um dendrograma para cada grupo de variáveis a saber:

- Propriedades mecânicas (tensão, elongação e módulo de Young)
- Permeabilidade ao vapor de água e solubilidade

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Caracterização das nanofibras de biri

4.3.1.1 Aparência das nanofibras e concentração das suspensões

Os produtos obtidos na sequência de etapas realizadas para a obtenção das nanofibras estão mostrados na Figura 4.2. Observou-se que na sequência em que o farelo foi passando pelas etapas do tratamento químico, a cor marrom inicial do material (na etapa T1) foi mudando para castanho (nas etapas Q, E1 e E2) até ficar com tom bem claro (T2) e finalmente de cor branca (T3). O objetivo do tratamento químico é o de remover a lignina da lamela média (região entre as fibras, rica em lignina), visando à separação de fibras. Porém, a ação dos reagentes empregados não se limita à lamela média, pois atinge os carboidratos e a parede da fibra. Desta forma, componentes, como: pectinas e amido dissolvem-se completamente, também consideráveis quantidades de hemiceluloses contendo manoses e xiloses e a lignina solúvel em meio alcalino são eliminados (IPT/SENAI, 1988). O tratamento T1 provocou um inchamento alcalino, causando alterações físicas na parede da fibra para facilitar a penetração e a difusão dos reagentes nas três direções da estrutura das fibras. Como a lignina é formada por unidades de hidroxifenilpropano e este componente possui caráter fenólico, a etapa de branqueamento destina-se à oxidação dos grupos cromóforos (grupos

funcionais que conferem cor às substâncias), principalmente da lignina residual, e/ou a degradação e dissolução das unidades moleculares que os contêm (VIIKARI et al., 1994).



Figura 4.2. Fotografías das etapas envolvidas na produção de nanofibras de biri

Muitas pastas celulósicas parecem mais escuras quando em suspensão em solução alcalina, o que se atribui principalmente à ionização de grupos fenólicos ou enólicos (cromógenos) associados aos cromóforos. Os mais importantes grupos cromógenos entre os radicais das moléculas da lignina

são as carbonilas conjugadas, as duplas ligações e a combinação destes (IPT/SENAI, 1988). A mudança de cor observada na Figura 4.2 estaria indicando a remoção de grupos cromógenos responsáveis pela cor marrom-castanha do material lignocelulósico. As nanofíbras obtidas empregando ácido peracético (Figura 4.3 a, b) apresentaram cor castanho enquanto que as obtidas com peróxido de hidrogênio apresentaram cor branca (Figura 4.3 c,d).

Os parâmetros usuais que medem a eficiência do branqueamento são as propriedades ópticas da pasta celulósica: alvura (fator de reflectância no azul), opacidade e estabilidade de alvura, todas elas relacionadas com a absorção ou reflexão da luz (IPT/SENAI, 1988). Segundo Brasileiro et al. (2001), a seletividade na degradação da lignina e a eficiência do branqueamento com perácidos podem ser melhoradas em função das condições usadas (concentração, pH, temperatura, tempo de reação). Por exemplo, em concentrações mais elevadas de ácido peracético os grupos cromóforos da lignina podem ser consumidos rapidamente, mas também, podem ocorrer reações de decomposição desse reagente que diminuem a seletividade do processo. Em pH neutro ou levemente ácido, a degradação dos carboidratos é dependente da concentração de Pa, como foi verificado por Jääskelãinen e Poppius-Levlin (1998). Embora a eficiência dos perácidos seja maior em meio ácido, condições de reação fortemente ácidas (pH < 1) poderiam provocar a extensiva degradação da celulose (SPRINGER e McSWEENY, 1992).

Diferentemente do tratamento com ácido peracético, o branqueamento com peróxido de hidrogênio teve a adição de outros reagentes como DTPA e MgSO₄, reforçando a etapa quelante. Estes produtos podem ter contribuído positivamente para uma eficaz deslignificação do material, desde que eles atuam no controle dos metais presentes na polpa de celulose, principalmente no sequestro do íon manganês, que causa a decomposição indesejável do peróxido de hidrogênio, a qual é evitada com um adequado balanço Mg/Mn ou pela adição de compostos sequestrantes. Desta maneira, a seletividade do peróxido de hidrogênio na deslignificação depende fortemente da concentração desses metais na polpa celulósica (POTŮČEK e MILICHOVSKÝ, 2000; ZIAIE-SHIRKOLAEE, 2009). Finalmente, os 12 tratamentos realizados para a obtenção de nanofibras resultaram em 12 suspensões de nanofibras com o aspecto físico mostrado na Figura 4.3 (a, c) e antes de serem diluídas em água deionizada apresentaram o aspecto coloidal mostrado na Figura 4.3 (b, d). A concentração das suspensões de nanofibras variou entre 0,19 e 0,86 (g nanofibras / 100 g de suspensão), como apresentado na Tabela 4.3.



Figura 4.3. Aparência final das nanofibras de biri em suspensão e em estado coloidal, quando empregados (a) e (b) ácido peracético e, (c) e (d) peróxido de hidrogênio

Euro	g de nanofibras secas /
Exp.	100 g de suspensão aquosa
1	0,57
2	0,59
3	0,19
4	0,28
5	0,86
6	0,83
7	0,73
8	0,69
9	0,44
10	0,74
11	0,39
12	0,31

Tabela 4.3. Concentração das suspensões de nanofibras obtidas por diferentes tratamentos

4.3.1.2 Morfologia e diâmetro das nanofibras

Em geral, as nanofibras obtidas neste trabalho apresentaram diâmetros entre 13,8 e 37,2 nm, evidenciando-se que todos os tratamentos realizados foram eficazes para a obtenção de fibras de biri de tamanho nanométrico (Tabela 4.4). A confirmação da presença de nanofibras nas 12 suspensões obtidas se deu através da análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão, como apresentado nas Figuras 4.4 e 4.5.

Evn	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)	Relação de aspecto	Potencial Zeta
Exp.	(d)	(C)	(C / d)	(mV)
1	17,3	2192,0	126,7	$-44,0 \pm 0,8$
2	20,0	2074,0	103,7	$-35,1 \pm 2,7$
3	21,2	1028,6	48,5	$-89,9 \pm 2,5$
4	18,2	934,7	51,4	$-77,3 \pm 2,2$
5	25,8	1987,8	77,0	$-27,4 \pm 0,7$
6	20,1	2223,8	110,6	$-29,2\pm 0,5$
7	31,7	1025,4	32,3	$-63,1 \pm 1,7$
8	19,5	932,4	47,8	$-61,5 \pm 1,1$
9	14,9	2640,3	177,2	$-14,0 \pm 0,5$
10	13,8	2190,2	158,7	$-26,5 \pm 1,9$
11	33,4	979,6	29,3	$-26,2\pm 0,6$
12	37,2	832,8	22,4	$-55,4\pm 2,6$

Tabela 4.4. Tamanho e potencial zeta das nanofibras obtidas pelos diferentes tratamentos

Em relação à concentração de ácido peracético, as nanofibras NF5 e NF6 apresentaram-se mais separadas entre si e visivelmente mais finas do que as nanofibras NF1 e NF2 (Figura 4.4). Este fato estaria indicando que uma maior concentração de ácido peracético (1 e 5%) foi eficaz para remover componentes amorfos das fibras, resultando em filamentos mais finos. A mesma característica foi observada para NF7 (Figura 4.5), onde as nanofibras apresentam-se mais finas e melhor distribuídas como consequência do emprego de uma maior concentração de Pa, quando comparadas com as nanofibras NF3 (Figura 4.4), as quais foram tratadas com baixa concentração de Pa (0,25%).



Figura 4.4. Microscopia eletrônica de transmissão das nanofíbras: (NF1) tratadas com Pa (0,25%) e HCl, (NF2) tratadas com Pa (0,25%) e H₂SO₄, (NF3) tratadas com Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a álta pressão, (NF4) tratadas com Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a álta pressão, (NF5) tratadas com Pa (1 e 5%) e HCl e (NF6) tratadas com Pa (1 e 5%) e H₂SO₄



Figura 4.5. Microscopia eletrônica de transmissão das nanofibras: (NF7) tratadas com Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (NF8) tratadas com Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (NF9) tratadas com H₂O₂ e HCl, (NF10) tratadas com H₂O₂ e H₂SO₄ e, (NF11) tratadas com H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e (NF12) tratadas com H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

O efeito da concentração de Pa foi observado em menor grau ao se comparar as nanofibras NF8 (Figuras 4.5) e NF4 (Figura 4.4) quando empregadas alta e baixa concentração de Pa respectivamente. Isto provávelmente devido a que o maior tempo de tratamento com H_2SO_4 (2 horas) realizado para as NF4 pode ter contribuído na remoção de componentes amorfos e, na introdução de uma maior quantidade de íons SO_4 deixando a superfície das nanofibras com uma maior carga superficial negativa quando comparadas com as nanofibras NF8. Consequentemente, uma maior carga superficial contribui na separação das nanofibras.

O efeito do tratamento mecânico foi evidenciado na morfologia das nanofibras, sendo que quando submetidas a passagens a alta pressão (NF3, NF4, NF7, NF8, NF11 e NF12) observou-se uma maior quantidade de filamentos, o qual pode ser associado a uma eficaz individualização quando comparadas com as nanofibras que não foram submetidas a esse tratamento mecânico (NF1, NF2, NF5, NF6, NF9 e NF10) como pode ser observado nas Figuras 4.4 e 4.5. Um fato interessante observado nas TEM de todas as suspensões de nanofibras submetidas à homogeneização a alta pressão é a presença de uma maior quantidade de nanofibras de diâmetro mais grosso em comparação as nanofibras que não passaram por esse tratamento mecânico. A este respeito, Souza e Borsali (2004) reportaram que os cristais de celulose podem ser maiores em dimensão do que as microfibrilas originais após tratamentos químicos para sua separação e purificação, uma vez que os íons de hidrogênio (provenientes do tratamento ácido) podem penetrar as cadeias de celulose nos domínios amorfos, promover a clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas e, finalmente, liberar cristalitos individuais. Esses cristais podem crescer em tamanho por causa da grande liberdade de movimento, após a clivagem hidrolítica.

Dufresne et al. (2000) também empregaram tratamento mecânico a alta pressão (15 passos a 500 bar) na obtenção de suspensões de microfibras a partir de batata e verificaram por TEM a individualização dessas microfibras, reportando diâmetros de 5 nm e uma relação de aspecto praticamente infinita, mas também observaram que algumas microfibras encontraram-se associadas entre si formando feixes. Teixeira et al. (2009) obtiveram nanofibras de celulose em suspensões a partir de bagaço de mandioca, com diâmetros entre 2 e 11 nm e comprimento de 360 a 1700 nm. Estes autores reportaram a individualização das nanopartículas após sonicação, mas também a associação de nanofibras formando longos e emaranhados feixes. Comparando a morfologia e os tamanhos das nanofibras de biri obtidas neste trabalho com nanofibras obtidas a partir das tuberosas mencionadas, verificou-se que todos 12 tratamentos empregados neste estudo levaram a obtenção

de nanofibras individualizadas como mostrado nas Figuras 4.4 e 4.5 e com diâmetros maiores aos reportados para nanofibras de batata e mandioca. As dimensões de nanofibras de celulose obtida após hidrólise química são dependentes principalmente do percentual de regiões amorfas que variam com a origem da celulose (SOUZA e BORSALI, 2004) e das condições de processo utilizadas na obtenção.

Nas microscopias das nanofibras NF9, NF10, NF11 e NF12 (Figura 4.5), as quais foram tratadas com peróxido de hidrogênio (H_2O_2), observou-se uma menor quantidade de partículas escuras (pontos pretos) em comparação com as nanofibras tratadas com ácido peracético (Pa). Esses pontos pretos podem corresponder a traços de minerais remanescentes nas etapas de deslignificação e branqueamento, indicando que nos tratamentos empregando H_2O_2 , o sequestro de metais foi mais eficaz do que nos tratamentos com Pa. Esta hipótese pode ser correlacionada com a maior eficácia do H_2O_2 em absorver os grupos cromóforos da lignina e, consequentemente, contribuir ao branqueamento das nanofibras, como foi discutido no item 4.3.1.1 (Figura 4.3 c, d).

4.3.1.3 Potencial zeta e determinação do comprimento das nanofibras

Na obtenção de nanofibras de celulose busca-se maximizar as forças repulsivas entre elas, a fim de minimizar as interações que levam à formação de agregados que podem comprometer sua capacidade como material de reforço em matrizes poliméricas. Uma medida das interações elétricas entre as partículas é seu potencial zeta: Se superior a +30mV ou inferior a -30mV, pode prevenir a agregação de duas ou mais partículas adjacentes, já que as partículas tenderão a se repelir umas às outras e o sistema será estável (PANDOCHI, 2009; RÉFEGA, 2010). No caso das nanofibras, a carga pode estar associada aos grupos carboxilo, sulfônicos, fenólicos ou hidroxilo e o tipo e quantidade destes grupos funcionais depende das condições de processamento a que as fibras foram submetidas (PALA, 2002). Segundo Bondeson et al. (2007), a repulsão eletrostática de nanofibras em suspensão pode ser alcançada por hidrólise com ácido sulfúrico devido à introdução natural de grupos sulfato sobre a superfície das nanofibras durante essa etapa.

Avaliando o efeito da concentração de ácido peracético no potencial zeta das nanofibras obtidas no presente estudo, observou-se que nanofibras tratadas com baixa concentração (0,25%) apresentaram uma maior carga superficial negativa (Tabela 4.4) quando comparadas com

nanofibras tratadas com maior concentração desse agente deslignificante (1 e 5%), o qual pode ser evidenciado ao se comparar o potencial zeta entre os seguintes pares: NF1-NF5 e NF3-NF7 (vide condições operacionais na Tabela 4.1). Contudo, o efeito benéfico da baixa concentração de ácido peracético na obtenção de valores de potencial zeta mais eletronegativos encontrou-se influenciada pelo tratamento mecânico, como evidenciado ao se comparar NF3 e NF4 (mais eletronegativas) com NF1 e NF2 respectivamente. As fibras possuem carga negativa quando em suspensão aquosa, devido à ionização dos grupos ácidos presentes nas hemiceluloses e lignina. Estes grupos podem ser ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, grupos hidroxilos catecólicos e fenólicos (BHARDWAJ et al., 2004a; BHARDWAJ et al., 2004b; CHEN et al., 2004), sendo os dois primeiros grupos os que mais contribuem para a carga das fibras. No entanto, a carga das fibras também depende da sua origem, do tipo de branqueamento da pasta e também do emprego de tratamentos mecânicos como a refinação (BHARDWAJ et al., 2004a; BHARDWAJ et al., 2004b). Nos processos de branqueamento com perácidos, estes podem reagir com grupos ácidos ligados principalmente às xilanas das hemiceluloses (ácidos urônicos e hexenurônicos (BRASILEIRO et al., 2001). Alguns estudos têm demonstrado que as reações com ácido peracético podem envolver tanto o ataque eletrofílico primário à dupla ligação dos ácidos hexenurônicos, promovendo a sua hidroxilação, quanto o ataque nucleofílico secundário aos grupos carbonílicos formados após a hidrólise dos compostos hidroxilados. Uma das principais causas para as cargas negativas das fibras são os grupamentos urônicos (ácidos hexenurônicos). Assim, as etapas de branqueamento que destroem os ácidos hexenurônicos (estágios ácidos) reduzem as quantidades de cargas superficiais nas fibras (FOELKEL, 2009). Neste trabalho, o emprego de concentrações de ácido peracetico de 1 e 5% nos dois estágios de deslignificação e branqueamento das nanofibras pode ter levado à degradação das hemiceluloses com consequente redução do teor de ácidos urônicos, resultando em nanofibras com uma menor carga superficial ou potencial zeta.

Sobre o efeito do agente deslignificante, evidenciou-se uma menor carga superficial eletronegativa nas nanofibras tratadas com H_2O_2 (NF9, NF10, NF11 e NF12) quando comparadas com as nanofibras tratadas com 0,25% de ácido peracético independentemente do tratamento ácido e do tratamento mecânico (NF1, NF2, NF3 e NF4) e com nanofibras tratadas com 1 e 5% de ácido peracético que foram submetidas a tratamento mecânico (F7 e F8). Isto pode ser atribuído a uma maior remoção da lignina degradada e de hemiceluloses durante o branqueamento empregando H_2O_2 . Geralmente, as fibras de celulose possuem carga negativa quando suspendidas em água devido à presença e à ionização de grupos ácidos característicos das hemiceluloses e da lignina, tais

como carboxílicos, ácido sulfônico, fenólicos e grupos hidroxila (HORVATH e LINDSTRÖM, 2007). Durante a polpação alcalina e branqueamento da celulose, a carga superficial das fibras geralmente diminui devido à dissolução e remoção de polissacarídeos ácidos, particularmente xilanas e lignina degradada (SJÖSTRÖM, 1989; BHARDWAJ et al., 2004c). Os diferentes agentes clareadores utilizados no branqueamento de celulose reagem com a lignina residual de diferentes formas, influenciando no número de grupos ácidos (carregados negativamente).

Quando baixa concentração de ácido peracético (0,025%) foi utilizada nas etapas de deslignificação (E1e E2), o tipo de ácido empregado (HCl *versus* H₂SO₄) na etapa T3, mostrou influenciar o potencial zeta. Isto, pode ser evidenciado ao se comparar a maior electronegatividade apresentada pelas nanofibras tratadas com HCl (NF3) frente à de nanofibras tratadas com H₂SO₄ (NF4). Entretanto, quando a concentração de ácido peracético foi incrementada nas etapas E1 e E2 (1 e 5%, respectivamente), um efeito diferente foi evidenciado: o tipo de ácido empregado (HCl ou H₂SO₄) não mostrou influência no potencial zeta das nanofibras (NF7 \approx NF8). Outros autores têm reportado que nanopartículas obtidas a partir do tratamento com H₂SO₄, quando em suspensão apresentam maior carga de superfície negativa quando comparadas com as tratadas com HCl, devido à introdução de grupos sulfato (ARAKI et al., 1998). Estas diferenças podem ser associadas ao efeito de outras variáveis como concentração de ácido, tempo e temperatura do tratamento.

O tratamento mecânico exerceu um efeito desejável na carga superficial das nanofibras, sendo que as nanofibras NF3, NF4, NF7, NF8, NF11 e NF12, submetidas a esse tratamento, mostraram-se mais eletronegativas quando comparadas com nanofibras que não foram submetidas ao tratamento mecânico (NF1, NF2, NF5, NF6, NF9 e NF10). Como mencionado anteriormente, a maior eletronegatividade leva a prevenir a agregação entre partículas adjacentes (PANDOCHI, 2009; RÉFEGA, 2010). De acordo com isto, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o tratamento mecânico a alta pressão pode maximizar as forças repulsivas entre as nanofibras e, em consequência, uma suspensão aquosa de nanofibras torna-se um sistema mais estável.

Os maiores comprimentos (1987 – 2640 nm) foram apresentados pelas nanofibras não submetidas a tratamento mecânico (NF1, NF2, NF5, NF6, NF9 e NF10), o que estaria mostrando que esse tratamento, além de individualizar as nanofibras, levou à quebra das mesmas quando submetidas a 5 passagens pelo homogeneizador a alta pressão. Por outro lado, observou-se que as condições de processo empregadas nas etapas E1, E2 e tratamento mecânico exerceram maior

influência no diâmetro das nanofibras em comparação com as condições da etapa T3 (tipo de ácido e tempo de hidrólise). Isto pode ser evidenciado ao se comparar o diâmetro das nanofibras: NF9 (14,9 nm) com NF10 (13,8 nm) e NF11 (33,4 nm) e NF12 (37,2 nm): As tratadas com H₂O₂ sem tratamento mecânico (NF9 e NF10) apresentaram os menores diâmetros, enquanto que, as tratadas com H₂O₂ com tratamento mecânico (NF11 e NF12) apresentaram os maiores diâmetros, em ambas as comparações o resultado se mostrou independente das condições da hidrólise ácida (T3). Os resultados obtidos levam a pensar que, o tratamento mecânico afeta o comprimento das nanofibras independentemente das outras condições de processo, enquanto que, o diâmetro das nanofibras depende mais das condições empregadas na deslignificação (E1 e E2) e do tratamento mecânico.

Quando calculada a relação de aspecto (C/d), evidenciou-se que maiores valores (177 e 158) foram apresentados pelas nanofibras NF9 e NF10, como consequência do menor diâmetro e maior comprimento apresentados por estas. Entretanto, os menores valores de relação de aspecto (29,3 e 22,4) foram apresentados pelas nanofibras NF11 e NF12, as quais, diferentemente de NF9 e NF10, foram submetidas a tratamento mecânico, o que pode ter levado a menores comprimentos (\leq 979 nm). Os comprimentos das nanofibras NF3, NF4, NF7 e NF8 também evidenciaram que o tratamento mecânico pode ter sido a principal causa para a redução do comprimento das nanofibras.

Vários autores concordam em que a relação de aspecto das nanofibras tem um papel importante no seu desempenho como material de reforço em matrizes poliméricas, uma vez que uma alta relação de aspecto favorece a transferência de tensão na interfase nanofibra-matriz, mas o desempenho do reforço também está associado a outras características, como: a compatibilidade com os componentes da matriz, a concentração do reforço e a carga superficial do mesmo.

4.3.1.4 Cristalinidade das nanofibras por Difração de Raios-X (DRX)

A Figura 4.6 (a, b, c) mostra os difratogramas de DRX obtidos para os 12 tipos de nanofibras Os picos de difração observados em 2θ 16° e 22° podem ser atribuídos à celulose tipo I, como reportado por Anglès e Dufresne (2000). A celulose I - celulose nativa- é a base da estrutura cristalina da cela unitária encontrada nas fibras celulósicas (SILVA e D' ALMEIDA, 2009).



Figura 4.6. Difratogramas de raios X obtidos para as nanofíbras obtidas por diferentes tratamentos (a) 1, 2, 3 e 4, (b) 5, 6, 7 e 8 e, (c) 9, 10, 11 e 12

Os índices de cristalinidade (Ic_r, %) das nanofibras obtidas pelos diferentes tratamentos foram calculados a partir dos difratogramas de raios X e estão apresentados na Figura 4.7.Como pode ser observado, todas as nanofibras obtidas apresentaram maior índice de cristalinidade (entre 57,5 e 69,8%) em relação ao do farelo (17,31%), indicando que todos os tratamentos empregados neste estudo foram eficazes para extrair uma grande proporção de componentes amorfos da fibra presente

no farelo. Na medida em que os tratamentos empregados favoreceram a remoção de componentes amorfos presentes nas fibras do farelo de biri, os difratogramas das nanofibras ficaram mais parecidos com o da celulose microcristalina comercial (MCC) apresentado no capítulo 3 (Figura 3.5) e usado como padrão de referência. Terinte et al. (2011) recopilaram valores reportados na literatura sobre índices de cristalinidade calculados a partir de difratogramas de raios X para celulose obtida a partir de línter de algodão (65 - 83%) e para Avicel PH 101 (37 - 93%). Esta última corresponde à referência comercial de celulose microcristalina mais amplamente estudada e reportada na literatura. Os autores explicaram que as amplas faixas de índice de cristalinidade encontradas derivam-se dos diferentes métodos de determinação reportados e das condições experimentais usadas na análise de DRX. No presente estudo, os maiores índices de cristalinidade foram obtidos para as nanofibras dos experimentos 6 e 12 (69,8% e 68.9% respectivamente), esses materiais têm em comum o emprego de H_2SO_4 durante 1 hora para a etapa de tratamento ácido (T3), independentemente do agente deslignificante e de uma etapa final de homogenização à alta pressão. Uma faixa intermediária de valores de índices de cristalinidade entre 61,0 e 64,9% foi encontrada para os materiais que tiveram em comum o emprego de ácido peracético (Pa) como deslignificante e HCl durante 2 horas na etapa de tratamento ácido (T3), independentemente da concentração de Pa e da etapa final de homogenização à alta pressão. Entretanto, o menor índice de cristalinidade foi obtido para as nanofibras do experimento 2 (57,4%), as quais foram o resultado de combinação: baixa concentração de Pa e 2 horas de tratamento com H₂SO₄ na etapa T3.



Figura 4.7. Índices de cristalinidade (Icr, %) de todos os materiais estudados

Analisando o efeito da concentração de Pa (etapas E1 e E2) na cristalinidade das nanofibras, observou-se que o Icr (%) das nanofibras aumentou quando uma maior concentração de Pa foi empregada nos experimentos 5 e 6, quando comparados com 1 e 2, respectivamente, como mostrado na Figura 4.7. Um efeito oposto foi observado para as nanofibras do experimento 8, cujo índice de cristalinidade foi menor quando comparado com o experimento 4. Isto poderia estar indicando que, apesar de ter usado uma concentração maior de Pa e um tratamento mecânico de 5 passos à alta pressão no exp. 8, o fato de ter diminuído para 1 hora o tratamento com H_2SO_4 pode ter afetado a remoção de traços de minerais, os quais reagiram com o agente deslignificante (presente em maior concentração no exp. 8), resultando em radicais livres (OH) que podem ter acelerado a degradação de algumas cadeias de celulose que se encontravam mais disponíveis após o tratamento mecânico a alta pressão. Esta hipótese pode ser reforçada ao comparar os índices de cristalinidade dos exp. 3 e 7 (61,3 e 61,5% respectivamente), sendo que não houve variação no índice de cristalinidade. Apesar de ter sido aumentada a concentração de Pa e ter sido realizado tratamento mecânico, o tratamento ácido com HCl foi de 2 horas, sendo talvez suficiente para reforçar a proteção das cadeias de celulose do ataque de traços de metais de transição remanescentes.

Ao comparar os experimentos: 3 e 4; 5 e 6; 9 e 10; 11 e 12, observou-se que, quando empregado H_2SO_4 no tratamento ácido, os índices de cristalinidade das nanofíbras aumentaram entre 4 e 9% em relação aos índices de cristalinidade obtidos para as nanofíbras tratadas com HCl. Entretanto, um resultado oposto foi obtido comparando os experimentos 1 e 2, onde houve uma diminuição do 6% no índice de cristalinidade. Este comportamento pode ter sido afetado pela ausência de tratamento mecânico nesses experimentos, o qual pode ser verificado ao se comparar os exp. 2 e 4 com 57,4% e 66,3% de índice de cristalinidade respectivamente, já que para ambos experimentos foi empregado H_2SO_4 mas as nanofíbras do exp. 4 foram submetidas à homogeneização a alta pressão.

O efeito do tratamento mecânico a alta pressão na cristalinidade das nanofibras também foi analisado comparando os experimentos realizados sob as mesmas condições de deslignificação e tratamento ácido. Assim, foi verificado que para todos os tratamentos empregando peróxido de hidrogênio, o tratamento mecânico de 5 passagens a alta pressão (500 bar) aumentou o índice de cristalinidade das nanofibras, independentemente do tipo de ácido empregado (exp. 9 e 11, 10 e 12). Entretanto, foi verificado que o tratamento mecânico diminuiu o índice de cristalinidade das

nanofibras quando maiores concentrações de ácido peracético foram empregadas (1 e 5%), independentemente do tipo de ácido (H_2SO_4 ou HCl), como foi observado ao comparar os exp. 5 e 7, 6 e 8. Em concordância com isto, o tratamento mecânico só foi efetivo para aumentar o índice de cristalinidade de nanofibras tratadas com ácido peracético quando a menor concentração deste reagente foi empregada (0,25%), como pode ser observado ao se comparar os exp. 2 e 4.

Diferentes autores têm reportado o emprego deste tipo de tratamento mecânico a fim de individualizar as microfibras ou nanofibras da parede celular (DUFRESNE et al., 1997; DUFRESNE e VIGNON, 1998; LEITNER et al., 2007; ABE e YANO, 2009). No entanto, um tratamento excessivo pode levar à diminuição da cristalinidade de celulose (IWAMOTO et al., 2008). Isto pode sugerir, que neste estudo, a combinação de alta concentração de Pa e 5 passagens pela homogeneização a alta pressão resultaram em um tratamento químico e mecânico excessivo que afetou o índice de cristalinidade das nanofibras de celulose.

4.3.1.5 Análise de grupos funcionais

Os espectros de FTIR dos 12 tipos de nanofibras obtidas a partir do farelo de biri estão apresentados na Figura 4.8 (a - c) e as bandas de absorção identificadas estão apresentadas na Tabela 4.5, junto com as bandas observadas no espectro de infravermelho da celulose microcristalina comercial, empregada como padrão de comparação no presente estudo. A ampla banda característica do alongamento-OH foi observada em todos os espectros das nanofibras, na região entre 3283 e 3353 cm⁻¹. A banda em 2919 cm⁻¹, que tinha sido identificada no espectro do farelo, não foi observada nos espectros das nanofibras, indicando que os tratamentos empregados foram eficazes para reduzir a presença de ligações C-H dos grupos metila ou metileno de hemicelluloses e ligninas (ALRIOLS et al., 2009; SUN et al., 2011). Em todos os espectros das nanofibras foi observada uma banda na região entre 2857 e 2851 cm⁻¹. Alguns autores têm reportado que vibrações em torno de 2850 cm⁻¹ são originadas pela presença do alongamento C-H de ligninas e ceras (GAÑAN et al., 2004; XU et al., 2007). Isto estaria indicando que em todas as nanofibras de biri houve remanescentes destes componentes.



Figura 4.8. Espectros de FTIR das nanofíbras obtidas por diferentes tratamentos (a) 1, 2, 3 e 4, (b) 5, 6, 7 e 8 e (c) 9, 10, 11 e 12

O ombro em 1733 cm⁻¹ que representa as vibrações dos grupos acetil e éster urônico de hemiceluloses ou ligação éster do grupo carboxílico dos ácidos ferúlico e p-cumárico da lignina (SUN et al., 2002; SUN et al., 2005) não foi observado nos espectros das nanofibras e sim no espectro do farelo, mostrando que os diferentes tratamentos empregados foram eficazes para a clivagem da ligação éster dos componentes não celulósicos do farelo de biri. A banda a 1632 cm⁻¹ observada no farelo de biri, foi observada nos espectros das nanofibras em torno de 1607 cm⁻¹, o que pode ser associado à reação parcial de ligações C=O de hemiceluloses, como resportado por Wang e Sain (2007). As bandas observadas em torno de 1378 cm⁻¹ para todos os espectros de nanofibras podem ser atribuídas à deformação C-H presente em celulose, hemicelulose e lignina (ROSA et al., 2010). As bandas na região entre 1170 e 1082 cm⁻¹ estão associadas à celulose (ligação C-O-C do anel estrutural de piranose) de acordo com Morán et al. (2008). As bandas em torno 1034 cm⁻¹ estão relacionadas com o alongamento C-O de celulose e lignina. Esta banda somente foi observada nos espectros das nanofibras correspondentes aos experimentos 1, 5, 6, 9, 10 e 11 entre 1031 e 1039 cm⁻¹. O notável pico observado na região entre 1009 e 1021 cm⁻¹ para os 12 tipos de nanofibras, que também foi observado no espectro do farelo de biri, está associado às vibrações C-O e C-H de celulose de acordo com (ALEMDAR e SAIN, 2008a).

Segundo Marcovich et al. (1996), as bandas de absorção em torno de 840 cm⁻¹ poder ser associadas aos grupos C-H de componentes aromáticos da lignina. Uma vez que bandas de absorção foram identificadas para todas as nanofibras na região entre 888 e 859 cm⁻¹, pode-se confirmar a presença de lignina residual nas nanofibras após os diferentes tratamentos realizados. Entretanto, é importante ressaltar que, diferentemente do espectro do farelo de biri, em todos os espectros das nanofibras foi evidenciada a ausência das bandas de absorção em: 1513 cm⁻¹ (vibrações do anel aromático), 1416 cm⁻¹ (deformação C-H), 1240 cm⁻¹ (deformação do grupo C-O aromático da lignina) e 840 cm⁻¹ (grupos C-H de aromáticos presentes na lignina), confirmando que houve remoção de estruturas da lignina com os tratamentos empregados.

Adicionalmente, comparando os espectros das nanofibras, observou-se que, os picos em 3353 cm⁻¹, 2857 cm⁻¹ e 1021 cm⁻¹, correspondentes às nanofibras do exp. 1 (Tabela 4.5), apresentaram-se melhor definidos e mais estreitos quando comparados com os picos observados nessas bandas de absorção para as nanofibras 2, 3 e 4 (Figura 4.9 a). Também observou-se que todos os picos identificados no espectro das nanofibras do exp. 5 apresentaram-se melhor definidos e mais estreitos, quando comparados com os picos das nanofibras 6, 7 e 8 (Figura 4.9 b). Entretanto, todos

os picos observados nos espectros das nanofibras 7, 8 (Figura 4.9 b) e 12 (Figura 4.9 c) foram bastante fracos (picos de base ampla). Por outro lado, é interessante mencionar que a maioria das bandas de absorção identificadas nos espectros dos 12 tipos de nanofibras foram também observadas no espectro da celulose microcristalina comercial empregada como padrão de comparação no presente estudo (Tabela 4.5).

Material	Números de onda (cm ⁻¹)										
MCC*	3284	2858	1581	1378 - 1310	1175	1123	1077	-	1019	-	888
1	3353	2857	1604	1394 - 1308	1174	1124	1078	1038	1021	-	887
2	3303	2858	1577	1381 - 1299	1173	1124	1077	-	1018	-	877
3	3290	-	-	-	-	1118	1072	-	1013	988	875
4	3298	2862	1606	1393 - 1302	1173	1120	1075	-	1019	-	883
5	3293	2859	1603	1388 - 1307	1174	1123	1078	1038	1018	-	888
6	3293	2859	1607	1388 - 1306	1174	1119	1076	1036	1017	1010	877
7	3289	2858	1611	1383	1170	1123	1067	-	1018	979	859
8	3285	2857	1611	1393 - 1285	1167	1118	1071	-	1018	979	864
9	3283	2858	1591	1395 - 1286	1172	1125	1077	1031	1012	996	873
10	3292	2858	1602	1387 - 1297	1173	1122	1078	1037	1009	-	884
11	3300	2858	1606	1391 - 1308	1175	1124	1077	1039	1018	-	881
12	3290	-	-	-	-	1121	1071	-	1016	978	862

 Tabela 4.5. Picos de FTIR observados em nanofibras obtidas por diferentes tratamentos em comparação com celulose microcristalina comercial (MCC)

* Celulose Microcristalina Comercial (usada como padrão de referência)

4.3.2 Caracterização dos nanocompósitos de amido e nanofibras de biri

4.3.2.1. Espessura, teor de umidade e densidade

O filme de amido e os nanocompósitos de amido e nanofibras de biri apresentaram espessura na faixa de $0,085 \pm 0,02$ mm, mostrando que esta propriedade foi controlada na preparação de todos os filmes. A partir de uma espessura uniforme é possível realizar a comparação desses filmes em relação ao teor de umidade, densidade e propriedades mecânicas (Apêndice I), absorção de umidade, difusividade da água, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade (Apêndice II) e propriedades ópticas (Apêndice III). Em relação ao teor de umidade após acondicionamento, os nanocompósitos F5, F6 e F8 foram os mais hidrofílicos entre os 12 nanocompósitos analisados e não apresentaram diferença significativa (p<0,05) em comparação ao filme controle, obtendo-se para esses nanocompósitos um teor de umidade entre 15 e 16%. Entretanto, os nanocompósitos F9 e F10 foram os menos hidrofílicos, apresentando um teor de umidade em torno de 12%. Esta diferença no teor de umidade pode ser associada ao tipo de tratamento empregado na etapa de deslignificação, desde que os nanocompósitos mais hidrofílicos contêm nanofíbras tratadas com ácido peracético e os menos hidrofílicos contém nanofíbras tratadas com peróxido de hidrogênio. Uma vez que as fibras naturais estão compostas principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina e, estes componentes possuem moléculas ricas em grupos hidroxila, consequemente, as fibras são materiais fortemente polares e exibem um caráter hidrofílico. Como discutido no item 4.3.1.1, as nanofíbras tratadas com ácido peracético apresentaram uma cor castanho que estaria indicando remanescentes de componentes amorfos como lignina, os quais facilitaram a absorção de umidade na matriz polimérica.

A incorporação de nanofibras não afetou significativamente a densidade dos nanocompósitos (p<0,05) quando comparados com o filme controle (Apêndice I). Isto pode sugerir que os tratamentos desenvolvidos para a obtenção de nanofibras de biri permitiram a obtenção de um material de reforço cujo tamanho (diâmetro e comprimento) pode ser facilmente incorporado na matriz polimérica na concentração de 5 g de nanofibras por cada 100 g de amido seco sem afetar essa propriedade.

4.3.2.2 Propriedades mecânicas

Os valores de tensão, elongação e módulo de Young dos nanocompósitos de amido e nanofibras podem ser observados na Figura 4.9, em comparação ao filme controle (FC). Em todos os casos, observou-se que a incorporação de nanofibras afetou as propriedades mecânicas dos nanocompósitos, evidenciando-se uma tendência ao incremento da tensão de ruptura. A partir da análise multivariada empregando o método de agrupamento por aglomeração hierárquica, foram obtidos grupos de nanocompósitos formados por semelhança em relação ao conjunto das três

propriedades mecânicas. Desta maneira, as propriedades mecânicas foram analizadas em função dos grupos formados e correlacionadas com as características das nanofibras incorporadas.



Figura 4.9. Tensão, elongação e módulo de Young do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄ e, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

A Figura 4.10 apresenta o dendrograma que correlaciona as propriedades mecânicas dos 12 nanocompósitos e do filme controle, a fim de identificar grupos de nanocompósitos semelhantes em propriedades mecânicas e as distâncias entre esses grupos. A leitura do dendrograma é feita da direita para esquerda, no qual a posição no eixo X representa os grupos unidos por ordem decrescente de semelhança e as linhas verticais, ou o eixo Y, representam a distância euclidiana, que é comumente usada como uma medida de similaridade ou semelhança entre os objetos a serem agrupados.

Em relação ao conjunto de propriedades mecânicas, na Figura 4.10 pode-se observar que os nanocompósitos F8, F3 e F5 foram os mais semelhantes ao filme controle (FC). As distâncias representadas pelas linhas verticais mostram que os nanocompósitos F6 e F12 apresentaram as

maiores distâncias, o que indica que esses nanocompósitos foram totalmente diferentes do FC e do resto dos nanocompósitos, em termos de propriedades mecânicas.



Figura 4.10. Dendrograma para os nanocompósitos e o filme controle correlacionando as propriedades mecânicas

Correlacionando as propriedades mecânicas em um gráfico de duas dimensões, o qual também foi obtido pela técnica de exploração multivariada, é possível visualizar com maior facilidade os grupos formados por semelhança entre nanocompósitos (Figura 4.11). Assim, em termos de propriedades mecânicas podem se identificar os seguintes grupos em relação à posição do filme controle (FC):

- F12: apresentou o maior valor de elongação para uma tensão de ruptura semelhante de FC, isto pode ser devido a que uma menor relação de aspecto apresentada pelas nanofibras incorporadas (22,4) pode ter limitado a transferência de tensão na interfase nanofibrasmatriz e, em consequência, uma matriz mais aberta e flexível foi obtida.
- F4, F3, F5 e F8: apresentaram propriedades mecânicas semelhamtes às do controle, porém, observou-se uma tendência ao incremento da tensão de ruptura. As nanofibras incorporadas nesses filmes têm em comum valores intermediários de relação diâmetro/comprimento (51,4; 48,5; 77,0 e 47,8 respectivamente) que levaram a um aumento ligeiro na tensão de ruptura, sem afetar significativamente a elongação e o módulo de Young.



Figura 4.11. Escalonamento em 2D para as propriedades mecânicas dos nanocompósitos e o filme controle

- F7 e F11: apresentaram incremento da tensão e do módulo de Young, mantendo a elongação, o qual poderia ser associado à característica de baixa relação de aspecto apresentada pelas nanofibras incorporadas nesses nanocompósitos (32,3 e 29,3 respectivamente).
- F9: apresentou o menor valor de elongação. As nanofibras incorporadas neste nanocompósito apresentaram a maior relação de aspecto (177,2) e a menor carga superficial eletronegativa (-14,0 mV). Essas características podem ter levado a um maior número de interações celulose-celulose comprometendo a flexibilidade da matriz polimérica.
- F1, F10 e F2: apresentaram aumento significativo da tensão e do módulo de Young. A alta relação de aspecto apresentada pelas nanofibras neles incorporadas (126,7; 158,7 e 103,7 respectivamente) pode ter sido o principal fator que contribuiu para a transferência de tensão na interface nanofibras/matriz.
- F6: apresentou os maiores valores de tensão e de módulo de Young, mas acompanhado por uma diminuição significativa na elongação, quando comparado com o resto dos

nanocompósitos. As nanofibras incorporadas como reforço nestes nanocompósitos apresentaram o maior valor de índice de cristalinidade (69,8%) somado a uma alta relação de aspecto (110,6), o que pode ter levado à obtenção de nanocompósitos resistentes mecanicamente, porém, menos flexíveis, quando comparados ao controle (FC).

Vários autores têm reportado que as propriedades de nanocompósitos com fibras de celulose estão fortemente relacionadas às dimensões do material de reforço, sendo que uma alta relação de aspecto favorece a transferência de tensão na interface fibra/matriz (RUSLI e EICHHORN, 2008; ŠTURCOVÁ et al., 2005; CHEN et al., 2009a). Geralmente, a incorporação de nanofibras tende a diminuir a elongação dos filmes (LU et al., 2005; LJUNGBERG et al., 2005; DOGAN e McHUGH, 2007; WANG e SAIN, 2007; FREIRE et al., 2008; KIM et al., 2009). No entanto, alguns estudos relataram que a elongação de filmes pode ser melhorada com as fibras (PETERSSON e OKSMAN, 2006; ZIMMERMANN et al., 2004), ou pelo menos a elongação pode não ser significativamente afetada pelo material de reforço (IWATAKE et al., 2008). Essas diferenças estão possivelmente relacionadas com diferentes graus de interações celulose-matriz. De acordo com Jordan et al. (2005), uma interação fraca do nanoreforço com a matriz leva à diminuição da resistência mecânica do material, em termos de tensão e elongação. Chang et al. (2010) elaboraram compósitos de amido de trigo plastificado com glicerol incorporando 5 g de nanopartículas de celulose /100 g de amido seco como material de reforço, reportando um aumento significativo na tensão de ruptura (11 MPa) acompanhado de uma diminuição significativa na elongação (32%) quando comparado com o filme sem incorporação de nanofibras.

Neste estudo, as nanofibras produzidas pelos diferentes tratamentos levaram a diferentes características em termos de relação diâmetro/comprimento, índice de cristalinidade e carga superficial que, quando incorporados na matriz polimérica de amido e glicerol, se mostraram eficazes para melhorar a resistência mecânica dos nanocompósitos, uma vez que foi evidenciado um aumento na tensão de ruptura sem afetar drasticamente a elongação dos nanocompósitos.

4.3.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Solubilidade

Na Figura 4.12 está apresentada a permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos nanocompósitos determinada em três gradientes de umidade relativa (UR): 2-33% (PVA1), 33-64%

(PVA2) e 64-90% (PVA3). A diferença dos plásticos convencionais, os filmes de amido são materiais higroscópicos, cuja permeabilidade é afetada por diferentes fatores como a umidade relativa à qual se encontram expostos. De acordo com isto, o estudo da permeabilidade ao vapor de água (PVA) desses filmes em diferentes gradientes de UR é interessante para avaliar a capacidade destas estruturas para efetuar ou inibir trocas entre o produto e o ambiente, e, consequentemente, identificar suas possibilidades de utilização como materiais de embalagem (MARTELLI et al., 2006; MOORE et al., 2006). Segundo Müller (2007), o aumento da PVA é pequeno a baixas e intermediárias UR (2-33% e 33-64%), entanto que a UR mais altas (64-90%) ocorre uma elevação drástica da PVA. As condições de umidade relativa em que os filmes de amido são armazenados modifica as características de cristalinidade dos mesmos, o qual leva a mudanças significativas nas suas propriedades mecânicas e de barreira.



Figura 4.12. Permeabilidade ao vapor de água do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F1) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

Neste estudo, dependendo do gradiente de UR e quando comparados com o filme controle (FC), os 12 tipos de nanofibras empregados como materiais de reforço levaram a uma redução significativa da PVA. Assim, evidenciou-se que 9 dos 12 nanocompósitos (F1 - F4, F6 - F9 e F11) mostraram uma diminuição de 34 a 71% na PVA quando expostos ao menor gradiente de UR (2-

33%). Esses mesmos nanocompósitos também foram eficazes para reduzir entre 18 e 74% a PVA quando expostos ao gradiente de UR intermediário (33 a 64%). Já quando expostos a altas umidades relativas, somente os nanocompósitos F5, F6, F8, F9 e F10 mostraram uma redução significativa desta propriedade (entre 14 e 64% menos permeáveis ao vapor de água quando comparados com o controle). Entre todos os nanocompósitos, é interessante destacar que F5 e F10 foram os menos permeáveis ao vapor de água no gradiente de alta umidade relativa (64-90%), mostrando uma redução de 51,9 e 63,8% respectivamente e em relação ao filme controle. As nanofibras incorporadas nesses nanocompósitos não foram submetidas ao tratamento mecânico a alta pressão e apresentaram baixa carga superficial (potencial zeta) eletronegativa (-27,4 e -26,5 mV respectivamente).

Quando avaliado o comportamento dos nanocompósitos nos três gradientes de UR, cabe destacar que o nanocompósito F8 foi o menos permeável, mostrando reduções de 73, 74 e 34% nos três gradientes de UR, respectivamente. As nanofibras incorporadas neste filme foram tratadas com ácido peracético (1 e 5%), H₂SO₄ (1 hora) e submetidas a 5 passagens a alta pressão, apresentando valores de cristalinidade e relação de aspecto intermediários (60,2% e 47,8 respectivamente) em relação aos obtidos para as outras nanofibras. Vários estudos têm reportado que a presença de fibras cristalinas aumenta a tortuosidade na matriz do filme, levando a processos de difusão mais lentos e, portanto, menores valores de permeabilidade dos filmes podem ser obtidos (NIELSEN, 1962; PINNAVAIA e BEALL, 2000; SANCHEZ-GARCIA et al., 2008; PARALIKAR et al., 2008).

Em relação à solubilidade em água dos nanocompósitos, observou-se que a incorporação de nanofibras levou a uma diminuição desta propriedade em até 60% em relação à solubilidade do filme controle (Figura 4.13). Ao se comparar os valores de solubilidade dos nanocompósitos com os apresentados pelos microcompósitos contendo 5 g de celulose microcristalina comercial / 100 g de amido seco ($27,3 \pm 0,4\%$, capítulo 3), foi evidenciado que o tamanho nanométrico do material de reforço foi mais eficaz em reduzir a solubilidade da matriz de amido de biri. Este resultado, também poderia ser relacionado com um maior grau de compatibilidade apresentado entre os biopolímeros amido e celulose extraídos da mesma fonte vegetal (biri) e utilizados na elaboração dos nanocompósitos.

Dentre os 12 tipos de nanocompósitos obtidos neste estudo, somente a solubilidade do nanocompósito F6 (28,3%) não apresentou diferença significativa (p<0,05) quando comparado com

o controle (31,0%). As nanofibras incorporadas neste filme apresentaram o maior índice de cristalinidade (69,8%), uma boa relação de aspecto (110,6), porém apresentaram uma baixa carga superficial negativa (-29,2 mV) quando comparadas com outras nanofibras obtidas, o qual pode ter favorecido a formação de agregados de nanofibras que afetaram sua dispersão homogênea na matriz polimérica, limitando as interações entre estas e a matriz (SILVA e D'ALMEIDA, 2009).



Figura 4.13. Solubilidade do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄ e, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

Correlacionando a permeabilidade ao vapor de água nos três gradientes de umidade relativa e a solubilidade dos 12 nanocompósitos e do filme controle (Figura 4.14), observou-se que o nanocompósito F6 contendo nanofibras tratadas com ácido peracético e H_2SO_4 (NF6), foi o mais semelhante ao filme controle (FC) enquanto que o nanocompósito F9 contendo nanofibras tratadas com H_2O_2 e HCl (NF9) foi o menos semelhante ao FC. Levando em consideração que ambos os tipos de nanofibras não sofreram tratamento mecânico a alta pressão, a maior relação de aspecto apresentada pelas NF9 (117,2) pode ter sido o fator determinante para seu desempenho como material de reforço frente à alta cristalinidade apresentada pelas NF6 (69,8%). Estes resultados mostram que as condições de processo para a obtenção de nanofibras vegetais determinam suas características (relação de aspecto, cristalinidade e carga superficial) e consequentemente, sua efetividade como material de reforço em matrizes de amido. Também cabe ressaltar que a incorporação de nanofibras não necessariamente leva à melhoria de todas as propriedades do nanocompósito, como evidenciado neste estudo para o F6, o qual apresentou os maiores valores de tensão e módulo de Young (Apêndice I), mas em termos de solubilidade foi muito semelhante ao filme controle Apêndice II).

Outro resultado interessante para se destacar é o efeito do tratamento mecânico a alta pressão quando comparados os nanocompósitos F6 (0 passagens) e F8 (5 passagens), já que o F8 apresentou uma estrutura polimérica menos semelhante à do controle, em termos de menor sensibilidade à água (Figura 4.14). Este resultado sugere que a efetividade do reforço em F8 deve-se à maior carga superficial apresentada pelas nanofibras que sofreram tratamento mecânico (-61,5 \pm 1,1 mV), frente às incorporadas em F6 (-29,2 \pm 0,5 mV). De acordo com isto, uma melhor homogeneidade na dispersão das nanofibras na matriz do F8, favoreceu um maior número de interações amido/nanofibras.



Figura 4.14. Dendrograma para os nanocompósitos e o filme controle correlacionando a permeabilidade ao vapor de água nos três gradientes de umidade relativa e a solubilidade

No gráfico de duas dimensões apresentado na Figura 4.15, podem-se visualizar 6 grupos de nanocompósitos formados por semelhança em termos de permeabilidade ao vapor de água e solubilidade:

- F1, F2, F3 e F4: apresentaram redução significativa da solubilidade e da permeabilidade ao vapor de água (PVA) nos gradientes de baixa e intermediária UR. As nanofibras neles incorporadas têm em comum o emprego de ácido peracético como agente deslignificante e em baixa concentração (0,25%).
- F7 e F11: apresentaram valores de PVA no gradiente intermediário de UR (33-64%) ainda menores em relação ao grupo anterior de nanocompósitos (Apêndice II). Ambos os tipos de nanofibras (NF7 e NF11) foram tratadas com HCl e sofreram tratamento mecânico a alta pressão, podendo-se concluir que sob essas condições tanto o emprego de ácido peracético (para NF7) como de H₂O₂ (para NF11) foi eficaz para a obtenção de materiais de reforço capazes de reduzir significativamente a PVA e a solubilidade dos nanocompósitos. Cabe mencionar que o emprego de H₂O₂ promoveu a formação de um nanocompósito (F11) menos solúvel (16,8 ± 0,3%) em comparação ao F7 (20,8 ± 0,6%) e ao filme controle (31,0 ± 1,2%). Apesar das nanofibras tratadas com H₂O₂ (NF11) apresentar menor relação de aspecto (diâmetro/comprimento) e menor carga superficial negativa quando comparadas com as tratadas com Pa (NF7), o maior índice de cristalinidade obtido pelas NF11 (~65%) parece ter sido o principal fator que contribuiu para este resultado.
- F6: foi o filme mais semelhante ao FC, pois sua solubilidade em água não apresentou diferença significativa em comparação com a do filme controle, apesar de ter mostrado valores de permeabilidade ao vapor de água significativamente menores nos três gradientes de UR (vide Apêndice II).
- F12: não apresentou diminuição da PVA no gradiente de 64-90% de UR. Apesar das nanofibras nele incorporadas apresentar um alto índice de cristalinidade (68%), estas apresentaram a menor relação de aspecto (22,4) em comparação com os outros tipos de nanofibras.
- F5 e F10: apresentaram os menores valores de PVA no gradiente de 64 90% de UR. As nanofibras neles incorporadas não sofreram tratamento mecânico a alta pressão e apresentaram valores semelhantes de carga superficial (-27,4 e -26,5 respectivamente).



 F8 e F9: foram os nanocompósitos menos sensíveis à água no conjunto de propriedades correlacionadas.

Figura 4.15. Escalonamento em 2D para a permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos e do filme controle

4.3.2.4 Efeito da concentração de ácido peracético nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos

A O efeito da concentração de ácido peracético foi avaliado comparando os pares de experimentos F1-F5 e F3-F7 como apresentado nas Tabelas 4.6 e 4.7. Observou-se que a combinação de baixa concentração de ácido peracético (0,25%) sem tratamento mecânico a alta pressão levou a melhores propriedades para o nanocompósito F1, em termos de incremento de 68,7% na tensão de ruptura sem afetar significativamente a elongação (Apêndice I), redução da permeabilidade ao vapor de água nos gradientes de 2-33% e 33-64% de UR e, redução significativa da solubilidade (Apêndice II). Entretanto, quando se empregou tratamento mecânico a alta pressão, as maiores concentrações de ácido peracético (1 e 5%) levaram à obtenção de melhores

propriedades para o nanocompósito F7, em termos de um incremento de 32,5% na tensão de ruptura sem afetar significativamente a elongação, redução da permeabilidade nos três gradientes de UR e redução significativa da solubilidade. Desta maneira, evidenciou-se que a efetividade das nanofibras de biri como material de refoço quando tratadas com ácido peracético dependerá das variáveis: concentração de ácido peracético *versus* tratamento mecânico a alta pressão.

 Tabela 4.6. Nanocompósitos contendo nanofibras produzidas com diferente concentração de ácido peracético sem tratamento mecânico a alta pressão

Evn	Concentr	Hidrólise ácida (T3)	
Exp.	(0,25% p/v)*	(1 e 5% p/v)**	HCl (2 h)
F1	J		J
F5		1	J

* Concentração de ácido peracético (Pa) empregada nas etapas E1 e E2

** Concentração de ácido peracético (Pa) empregada (1% na etapa E1 e 5% na etapa E2)

√ Condições de processo empregadas nas etapas E1, E2 e T3

 Tabela 4.7. Nanocompósitos contendo nanofibras produzidas com diferente concentração de ácido peracético e submetidas a tratamento mecânico a alta pressão

Eve	Concentra	ação de Pa	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
Exp.	(0,25% p/v)*	(1 e 5% p/v)**	HCl (2 h)	5 passagens
F3	J		J	J
F7		J	J	J

* Concentração de ácido peracético (Pa) empregada nas etapas E1 e E2

** Concentração de ácido peracético (Pa) empregada (1% na etapa E1 e 5% na etapa E2)

√ Condições de processo empregadas nas etapas E1, E2, T3 e homogeneização a alta pressão

4.3.2.5 Efeito do tipo de agente deslignificante nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos

Para avaliar o efeito do agente deslignificante (ácido peracético *versus*. H₂O₂) nas propriedades mecânicas, PVA e solubilidade dos nanocompósitos, estes foram agrupados considerando iguais condições de tratamento ácido e tratamento mecânico (Tabela 4.8), evidenciando-se os seguintes resultados:

- Quando as nanofibras foram tratadas com HCl e não sofreram tratamento mecânico a alta pressão, o emprego de ácido peracético levou a melhores propriedades mecânicas em F1 e o emprego de H₂O₂ levou a menores valores de PVA e Solubilidade em F9.
- Nanofibras tratadas com H₂O₂ podem ser mais eficazes para reduzir a PVA e a solubilidade quando tratadas com HCl sem serem submetidas a tratamento mecânico, como evidenciado para F9 em comparação a F5.
- Quando as nanofibras foram tratadas com H₂SO₄ sem sofrer tratamento mecânico, ambos agentes deslignificantes levaram a incrementar significativamente a tensão de ruptura dos nanocompósitos F6 e F12, mas reduzindo em 60 e 42%, respectivamente, a elongação dos mesmos.
- Quando as nanofibras foram tratadas com H₂SO₄ e submetidas a tratamento mecânico, o emprego de ácido peracético levou à melhoria de todas as propriedades em F8 quando comparado com F12.
- Quando as nanofibras foram tratadas com HCl e submetidas ao tratamento mecânico, ambos agentes deslignificantes levaram a excelentes propriedades para F7 e F11.

Evn	Deslig	nificação	Hidrólise ácida (T3)	
Exp.	$(H_2O_2, 4\% p/p)$	Pa (0,25% p/v)*	HCl (2 h)	
F1	J		V	
F9	J		J	
Exp	Deslig	nificação	Hidrólise ácida (T3)	
Елр.	$(H_2O_{2,} 4\% p/p)$	Pa (1 e 5% p/v)**	HCl (2 h)	
F5		J	J	
F9	J		V	
Evn	Deslignificação		Hidrólise ácida (T3)	
Lxp.	$(H_2O_{2,} 4\% p/p)$	Pa (1 e 5% p/v)**	$H_2SO_4(1 h)$	
F6	J		J	
F10	J		J	
Evn	Deslignificação		Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
Exp.	$(H_2O_{2,} 4\% p/p)$	Pa (1 e 5% p/v)**	$H_2SO_4(1 h)$	5 passagens
F8	J		J	J
F12	J		J	J
Exp.	Deslig	nificação	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
	$(H_2O_{2,} 4\% p/p)$	Pa (1 e 5% p/v)**	HCl (2 h)	5 passagens
F7		J	1	J
F11	J		J	J

 Tabela 4.8. Comparação entre nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com diferente agente

 deslignificante

* Concentração de ácido peracético (Pa) empregada nas etapas E1 e E2

** Concentração de ácido peracético (Pa) empregada (1% na etapa E1 e 5% na etapa E2)

√ Condições de processo empregadas nas etapas E1, E2, T3 e homogeneização a alta pressão

4.3.2.6 Efeito do tipo de ácido nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos

O efeito de HCl *versus* H_2SO_4 nas propriedades dos nanocompósitos foi avaliado comparando as propriedades entre pares de nanocompósitos como apresentado na Tabela 4.9. Quando as nanofibras não sofreram tratamento mecânico a alta pressão, ambos os tipos de ácido levaram à obtenção de nanofibras eficazes como materiais de reforço, ao se comparar F1 e F2. Entretanto, quando se empregou tratamento mecânico a alta pressão, as nanofibras tratadas com
H_2SO_4 foram mais eficazes para reduzir a PVA e a solubilidade dos nanocompósitos, mas não provocaram mudanças significativas nas propriedades mecânicas. Desta maneira, pode se concluir que H_2SO_4 se mostrou mais eficiente independentemente do tratamento mecânico.

Evr	$D_{2} (0.25\% n/v)*$	Tipo de áci		
LAL	$1 a (0,2370 p/v)^{-1}$	HCl (2 h)	H_2SO_4 (2 h)	
F1	J	J		
F2	J		J	
Evr	$D_{2} (0.250/ n/v) *$	Tipo de ácido na etapa T3		T. mecânico
LA	$1 a (0,2370 p/v)^{-1}$	HCl (2 h)	H_2SO_4 (2 h)	5 passagens
F3	J	J		J
F4	J		J	J

Tabela 4.9. Comparação entre nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com diferente tipo deácido (HCl versus H2SO4)

* Concentração de ácido peracético (Pa) empregada nas etapas E1 e E2

√ Condições de processo empregadas nas etapas E1, E2, T3 e homogeneização a alta pressão

4.3.2.7 Efeito do tipo do tratamento mecânico a alta pressão nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos

Para avaliar o efeito do tratamento mecânico, os nanocompósitos foram agrupados como apresentado na Tabela 4.10. Encontrou-se que a ausência do tratamento mecânico nas nanofibras empregadas como material de reforço nos nanocompósitos F1, F2 e F10 levou a um incremento na tensão de ruptura. Porém, o nanocompósito F2 apresentou uma diminuição significativa na elongação. Para os nanocompósitos F7, F8, F11 e F12, o tratamento mecânico de 5 passagens a alta pressão foi favorável, pois as nanofibras obtidas apresentaram excelente desempenho como material de reforço, em termos de incremento na tensão de ruptura e somente F12 apresentou diminuição significativa na elongação à ruptura. Finalmente foi evidenciado que, independentemente do tratamento mecânico a alta pressão, todas as nanofibras foram eficazes na diminuição da PVA e da solubilidade dos nanocompósitos.

Fyn	Pa	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
Lxp.	(0,25% p/v)*	HCl (2 h)	5 passagens
F1	J	1	
F3	J	J	J
Evn	Pa	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
Lxp.	(0,25% p/v)*	H_2SO_4 (2 h)	5 passagens
F2	J	1	
F4	J	1	1
Exn	Pa	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
Exp.	(1 e 5% p/v)**	HCl (2 h)	5 passagens
F5	J	J	
F7	J	J	J
Exn	Pa	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
Exp.	(1 e 5% p/v)**	$H_2SO_4(1 h)$	5 passagens
F6	V	J	
F8	J	1	J
Exp.	$(H_2O_2, 4\% p/p)$	Hidrólise ácida (T3)	T. mecânico
L.	$(-2, 2, 2, 3, 3, 4, \mathbf{F}, \mathbf{F})$	HCl (2 h)	5 passagens
F9	V	V	
F11	J	V	V
		II. 1. (1	Τ
Exp.	(H ₂ O ₂ , 4% p/p)	Hidrolise acida (13)	I. mecanico
F ·		$H_2SO_4(1 h)$	5 passagens
F10	J	J	
F12	J	J	J

 Tabela 4.10. Comparação entre nanocompósitos em relação ao tratamento mecânico das nanofibras incorporadas como material de reforço

* Concentração de ácido peracético (Pa) empregada nas etapas E1 e E2

** Concentração de ácido peracético (Pa) empregada (1% na etapa E1 e 5% na etapa E2)

√ Condições de processo empregadas nas etapas E1, E2, T3 e homogeneização a alta pressão

4.3.2.8 Absorção de umidade

No presente estudo, os 12 nanocompósitos apresentaram menor absorção de água (W.U entre 51 e 69%) quando comparados com o filme controle ($76,1 \pm 2,8\%$) como pode ser evidenciado na Figura 4.16. Este resultado sugere que houve uma boa adesão entre as nanofíbras e a matriz,

diminuindo o número de microcavidades presentes na interface fibra-matriz e, portanto, um menor número de sítios foi disponibilizado para alojar moléculas de água. É esperado que a adição de nanofibras de celulose em matrizes de amido reduza a sensibilidade à água dos compósitos já que a semelhança química dos dois componentes pode resultar em uma boa adesão fibra-matriz, dificultando o caminho para a difusão de moléculas de água ao longo da interface fibra-matriz (DUFRESNE e VIGNON, 1998; DUFRESNE et al., 2000; SOUZA e BORSALI, 2004; LU et al., 2005; LUO et al., 2006).



Figura 4.16. Valores finais de absorção de água e teor de umidade na condição final de equilíbrio do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄ e, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

Os diferentes processos para a produção de nanofibras de biri desenvolvidos no presente estudo originaram nanofibras com características diferentes que influenciaram de maneira distinta os filmes com elas reforçados. Segundo Silva e D'Almeida (2009), devido a diferentes condições de processo, as nanofibras podem apresentar particularidades nas suas características dimensionais e superficiais e, consequentemente, no seu desempenho como partícula de reforço em compósitos.

Isto se deve a que no caso da celulose existem mais de uma forma polimórfica, ou seja, não há uma dimensão única para a cela unitária (arranjo geométrico) e, a depender do tratamento a que a celulose nativa (base da estrutura cristalina da cela unitária encontrada nas fibras celulósicas) for submetida - químico e/ou térmico -, há diferentes alterações nas dimensões da cela unitária e, consequentemente, na sua estrutura cristalina, o que resulta em diferentes polimorfos da celulose.

Nas cinéticas de absorção apresentadas nas Figuras 4.17, 4.18 e 4.19 pode ser observado que todos os nanocompósitos mostraram um comportamento similar: Estes absorveram água rapidamente durante as quatro primeiras horas, alcançando uma absorção de água na faixa entre 30 e 40 g de água / 100 g de filme seco. Esta primeira condição de equilíbrio se manteve por um periodo de mais 4 horas de exposição do filme ao ambiente saturado de umidade (95% UR), e em seguida, os filmes apresentaram um segundo estágio de absorção de água, alcançando os valores finais de absorção de umidade que foram mostrados na Figura 4.16 (W.U entre 51 e 69%). O primeiro platô corresponderia ao equilíbrio do processo difusivo e, a posterior absorção de água, se daria pela relaxação da matriz polimérica provocada pela sorção de água por parte dos polímeros constituintes (LIM e TUNG, 1997).



Figura 4.17. Curva de absorção de água do filme controle (FC)



Figura 4.18. Curvas de absorção de água dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (a) Pa (0,25%) e HCl, (b) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (c) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (d) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (e) Pa (1 e 5%) e HCl e, (f) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄



Figura 4.19. Curvas de absorção de água dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (g) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (h) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (i) H₂O₂ e HCl, (j) H₂O₂ e H₂SO₄, (k) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (l) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

Segundo Wan et al. (2009), a maior resistência à absorção de água apresentada por compósitos reforçados com nanofibras de celulose pode ser interpretada por dois aspectos:

- O amido tem menor cristalinidade e é mais suscetível à água do que a celulose (ALVAREZ et al., 2006). Desta maneira, os nanocompósitos (amido+celulose) absorvem menos umidade quando comparados ao filme controle (amido).
- A presença de fortes interações através de ligações de hidrogênio entre o amido e os cristais de celulose tendem a estabilizar a matriz de amido quando submetida à atmosfera altamente úmida (LU et al., 2005).

Teoricamente, a absorção de umidade em filmes compósitos, pode ser descrita pela segunda lei de Fick da difusão (CRANK, 1975), a qual é dada pela equação [4.3] e tem sido empregada por diferentes autores (PICARD et al., 2008; WAN et al., 2009; MEGIATTO Jr. et al., 2010).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad [4.3]$$

Onde C = C(C,t) corresponde á concentração do soluto, D é o coeficiente de difusão e, t o tempo. As condições iniciais e de contorno são:

 $\begin{array}{ll} C = 0, & 0 < x < L, & t = 0 \\ \\ C = C_{\infty}, & x = 0, & t > 0 \\ \\ C = C_{\infty}, & x = L, & t > 0 \end{array}$

A solução da equação [4.3] é dada pela relação entre a massa absorvida M_t e a massa absorvida no equilíbrio para um filme de espessura L, por meio da equação [4.4].

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left\{\frac{-D(2n+1)^2 \pi^2 t}{L^2}\right\} \quad [4.4]$$

Para tempos curtos ($Mt/M \infty < 0.6$ ou Número de Fourier = $D.t/L^2 < 0,2$) a equação [4.4] fica reduzida à equação [4.5], assim D pode ser calculado a partir do coeficiente angular da região linear da curva M_t vs $t^{0.5}$, onde R² ≥ 0.99 .

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = \sqrt{\frac{16D}{\pi L}} t^{0.5} \qquad [4.5]$$

Nas Figuras 4.20, 4.21 e 4.22 é mostrada a parte inicial das curvas de absorção M_t/M_{∞} vs. $t^{0.5}$ utilizada para o cálculo da difusividade de água nos nanocompósitos e no filme controle, tomando como M_{∞} o valor de massa de água absorvida por cada filme quando este alcançou o primeiro estágio de equilíbrio, como explicado anteriormente. Foi evidenciado que a maioria dos dados experimentais apresentou um alto coeficiente de correlação com o modelo representado pela equação [4.5] e somente os dados apresentados na Figura 4.20 (b) mostraram baixa reprodutibilidade entre as amostras, obtendo-se um menor coeficiente de correlação ($R^2 = 0.96$).



Figura 4.20. Parte inicial das curvas de absorção de água dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (a) Pa (0,25%) e HCl, (b) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (c) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (d) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (e) Pa (1 e 5%) e HCl e, (f) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄



Figura 4.21. Parte inicial das curvas de absorção de água dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (g) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (h) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (i) H₂O₂ e HCl, (j) H₂O₂ e H₂SO₄ e, (k) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (l) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão



Figura 4.22. Parte inicial da curva de absorção de água do filme controle

A Figura 4.23 apresenta os valores médios de difusividade obtidos para o filme controle e para os 12 nanocompósitos. A incorporação de nanofibras dificultou o processo de difusão das moléculas de água no interior dos compósitos em comparação com o filme controle (FC). Isto evidenciou que os tratamentos desenvolvidos para a obtenção de nanofibras e o método empregado para sua incorporação como material de reforço levaram a uma boa adesão nanofibras-matriz que resultou em um menor número de microvazíos para a difusão das moléculas de água e desta maneira, nanocompósitos menos permeáveis foram obtidos. Também observou que, os de valores de difusividade apresentados pelos nanocompósitos F3, F5, F6 e F8 - F12 foram menores em comparação com os reportados na literatura para filmes de amido de tapioca (FLORES et al., 2007), amido de arroz (DIAS et al., 2010) e outros materiais poliméricos como: celofane (DEL NOBILE et al., 2002), poliamida com 6% de argilas (PICARD et al., 2008), hidroxipropil celulose (BERKÜN et al., 2008), e matrizes fenólicas contendo fibras de sisal (MEGIATTO Jr. et al., 2010).



Figura 4.23. Valores de difusividade de água calculados a partir da parte inicial das curvas de absorção de água do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄ e, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

4.3.2.9 Propriedades ópticas (Cor, opacidade e transmissão de luz)

Em relação às propriedades ópticas dos nanocompósitos (Figura 4.24), observou-se que a incorporação de nanofíbras afetou significativamente estas propriedades, quando comparadas com as do filme controle. Os menores valores de luminosidade (L*, vide Apêndice III) e os maiores valores de opacidade foram obtidos para os filmes reforçados com nanofíbras tratadas com ácido peracético (F1 – F8). Como discutido no item 4.3.1.1, essas nanofíbras apresentaram cor castanha indicando que o emprego de ácido peracético nas condições de processo utilizadas, deixou grupos cromóforos característicos da lignina remanescentes nas nanofíbras. Quando comparadas com a do filme controle, as menores diferenças de cor (ΔE *1) foram obtidas nos filmes reforçados com nanofíbras tratadas com peróxido de hidrogênio. Desde que essas nanofíbras apresentaram uma cor branca, era esperado que sua incorporação afetasse em menor grau a cor característica dos filmes de amido. Um resultado similar foi obtido quando se comparou a cor dos filmes reforçados com a cor de um filme de polietileno de baixa densidade (padrão), sendo evidenciado que os filmes reforçados

com nanofibras tratadas com peróxido de hidrogênio também apresentaram os menores valores de ΔE^{*2} .



Figura 4.24. Diferença de cor e opacidade dos nanocompósitos: (ΔE^{*1}) Diferencia de cor dos nanocompósitos em relação ao filme controle e, (ΔE^{*2}) diferencia de cor dos nanocompósitos em relação a um filme de polietileno comercial de baixa densidade

A transmissão da luz (% Transmitância) dos nanocompósitos no comprimento de onda de 190-780 nm é mostrada nas Figuras 4.25 e 4.26. Os resultados foram analizados em função da faixa de radiação UV (200 - 380 nm) e de luz visível (380 – 700 nm). Para ambas faixas de comprimento de onda, evidenciou-se que:

Em toda a faixa de comprimento de onda (190 a 780 nm), todos os nanocompósitos (F1 – F12) apresentaram menores valores de transmitância quando comparados com o do filme controle (FC), o do filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) e o do microcompósito contendo 5% de celulose microcristalina comercial (MCC). Assim, a 600 nm (luz visível) os nanocompósitos apresentaram valores de transmitância entre 28 e 56% e o filme controle e o PEBD apresentaram valores de transmitância de 61% e 79%, respectivamente. A 380 nm (radiação UV), os nanocompósitos apresentaram valores de transmitância de 61% e 79%, respectivamente. A 380 nm (radiação UV), os nanocompósitos apresentaram valores de transmitância do PEBD, do FC e do microcompósito foram de 67, 55 e 44%, respectivamente. Estes resultados evidenciaram que a incorporação de nanofibras de biri aumentou a propriedade de barreira à luz dos nanocompósitos.



Figura 4.25. Transmissão de luz dos filmes controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com ácido peracético (F1 a F8) em comparação com um filme de polietileno de baixa densidade comercial (PEBD)



Figura 4.26. Transmissão de luz dos filmes controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com peróxido de hidrôgenio (F9 a F12) em comparação com um filme de polietileno de baixa densidade comercial (PEBD)

- A transmitância dos nanocompósitos diminuiu quando as nanofibras sofreram tratamento mecânico a alta pressão e foram previamente tratadas com ácido peracético (0,25%) ou peróxido de hidrogênio (4%) como evidenciado para os nanocompósitos F3, F4, F11 e F12.
- Os menores valores de transmitância foram apresentados pelos nanocompósitos F3 e F4, os quais contêm nanofibras tratadas com ácido peracético (0,25%) e submetidas a tratamento mecânico a alta pressão.
- Uma redução significativa nos valores de transmitância foi observada quando as nanofibras foram obtidas empregando peróxido de hidrogênio e tratamento mecânico a alta pressão. Este resultado pode ser evidenciado comparando os nanocompósitos F11 com F7 e F12 com F8.

Adicionalmente, na região de radiação UV foi observado que:

- Os menores valores de transmitância foram apresentados pelos nanocompósitos F1 F4, os quais contêm nanofibras tratadas com baixa concentração de ácido peracético (0,25%), independentemente do tratamento ácido e do tratamento mecânico.
- O emprego H₂SO₄ durante 2 horas para a obtenção de nanofibras pode ser associado com a obtenção de menores valores de transmitância nos nanocompósitos reforçados com essas nanofibras (F2 e F4), em comparação aos nanocompósitos reforçados com nanofibras tratadas com HCl durante 2 horas (F1 e F3).

Na região de luz visível também foram evidenciados os seguintes resultados:

- Apesar da cor amarelada apresentada pelos nanocompósitos que contém nanofibras tratadas com alta concentração de ácido peracético (F5 F8), os valores de transmitância destes filmes (46 56%) foram similares aos do microcompósito contendo 5% de MCC (52,6%) cuja cor foi mais clara devido à cor branca da MCC.
- O emprego de menor tempo de tratamento (1 hora) com H₂SO₄ para a obtenção de nanofibras pode ser associado com a obtenção de menores valores de transmitância nos nanocompósitos reforçados com essas nanofibras, em comparação às nanofibras tratadas com o mesmo ácido durante 2 horas, como foi observado ao comparar os nanocompósitos

F7 e F8, F9 e F10 e, F11 com F12. Isto pode ser atribuído ao fato de que um maior tempo de tratamento ácido contribuiu para a remoção de componentes amorfos das fibras e em consequência partículas mais finas e cristalinas foram obtidas. Estas quando incorporadas nos nanocompósitos, tenderam a aumentar os valores de transmitância dos mesmos.

4.3.2.10. Propriedades térmicas

Na Figura 4.27 (a-c) são apresentados os termogramas dos filmes condicionados a 58% de umidade relativa.



Figura 4.27. Termogramas do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a álta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F1) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄ e, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão

A temperatura de transição vítrea (Tg) é considerada como o ponto de inflexação no qual o incremento de calor permite que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquiram mobilidade, ou seja, adquiram possibilidade de mudança de conformação. Neste estudo, todos os filmes apresentaram uma Tg na faixa de 29 - 37 °C (Tabela 4.11), associada à fase rica em amido (CAO et al., 2008b).

Os nanocompósitos F1, F2, F3, F5, F6, F7, F9 e F11 apresentaram maiores valores de Tg quando comparados com o filme sem incorporação de nanofibras (FC). Vários autores (PSOMIADOU et al., 1996; ANGLÈS e DUFRESNE, 2000; BORGES et al., 2001; ALEMDAR e SAIN, 2008b; CAO et al., 2008b) tem reportado o incremento da Tg em filmes elaborados a partir de biopolímeros com incorporação de nanofibras de celulose, como resultado de alguns fatores que podem ocorrer de maneira simultânea:

- Interações celulose-água envolvem a redistribuição das moléculas de água dentro da matriz polimérica, diminuindo o efeito plastificante da água (ANGLÈS e DUFRESNE, 2000; SONG e ZHENG, 2009).
- (2) Fortes interações entre os componentes da matriz e as nanofibras de celulose, principalmente entre os grupos hidroxila do amido e da celulose, que resultam em uma diminuição da mobilidade da matriz (LU et al., 2005; CAO et al., 2008a). Segundo Anglès e Dufresne (2000), as moléculas de amilopectina e a celulose apresentam uma forte afinidade devido à alta densidade de grupos hidroxila de ambos componentes. Este efeito de acoplamento poderia resultar em um restrita mobilidade molecular das moléculas de amilopectina em contato com a superfície reativa da celulose, o que pode ser suficiente para afetar a flexibilidade global da matriz de amido. O modelo proposto por Theocaris e Spathis (1982) também atribui o aumento da Tg às fortes ligações formadas entre a matriz polimérica e as partículas do material de reforço, as quais determinam as propriedades da interface formada entre estes dois componentes e, consequentemente, as propriedades do compósito.
- (3) Na presença de nanofibras de celulose, o glicerol pode apresentar um particionamento seletivo dentro do material. Isto sugere que o glicerol pode apresentar maior afinidade com a superfície das nanofibras de celulose do que com a matriz de amido. Desta maneira, a migração do plastificante (glicerol) dos domínios ricos em amido para a interface nanofibras-matriz pode levar à diminuição do efeito plastificante do glicerol na matriz de

amido. Este fenômeno pode resultar em um incremento da Tg (SAKELLARIOU et al., 1994; ANGLÈS e DUFRESNE, 2000).

- (4) As nanofibras de celulose promovem um incremento da cristalinidade e consequentemente uma diminuição da mobilidade da matriz polimérica (MATHEW e DUFRESNE, 2002).
- (5) A cristalização do sistema amido-água-glicerol na presença de celulose, resulta em uma mobilidade restrita das cadeias da amilopectina amorfa (ANGLÈS e DUFRESNE, 2000).

Filmes	Tg*
FC	$30,6 \pm 0,1^{a,b}$
F1	$37,2 \pm 1,2^{c,d,e,f}$
F2	$34,3 \pm 1,8$ f
F3	$33,3 \pm 0,6^{b,c,d,e,f}$
F4	$31,6 \pm 1,0^{a,b,c,d,e}$
F5	$31,5 \pm 0,1^{a,b,c,d,e,f}$
F6	$32,5 \pm 0,0^{c,d,e,f}$
F7	$32,1 \pm 0,6^{a,b,c,d}$
F8	$29,7 \pm 0,2^{a,b,c}$
F9	$33,3 \pm 0,7^{b,c,d,e,f}$
F10	$30,8 \pm 1,2^{a}$
F11	$33,7 \pm 1,6^{d,e,f}$
F12	$31,9 \pm 1,8$ ^f

Tabela 4.11. Valores de Tg apresentados pelos nanocompósitos em comparação ao filme controle

(ΓC	1
(гυ	`)

* Valor da média \pm DP (n = 3)

Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa entre os filmes (p<0,05)

Os nanocompósitos F4, F10 e F12 não apresentaram diferença no valor de Tg em relação ao controle. Alguns estudos têm reportado que os valores de Tg não foram modificados pela incorporação de nanofibras de celulose independentemente da natureza da matriz polimérica. Este resultado parece ser surpreendente levando em consideração a elevada área específica das nanopartículas (SIQUEIRA et al., 2009). Entretanto, o nanocompósito F8 teve menor valor de Tg

 $(29,7 \pm 0,2 \,^{\circ}\text{C})$ em comparação ao filme controle $(30,6 \pm 0,1^{\circ}\text{C})$. Este resultado poderia ser atribuído ao efeito plastificante da água, dado o maior teor de umidade final $(16,1 \pm 0,1\%)$, quando comparado com o do controle $(15,6 \pm 0,1\%)$. Anglès e Dufresne (2000) também reportaram a diminuição da Tg com o incremento do teor de umidade, em nanocompósitos de amilopectina com baixa concentração de *whiskers* de tunicados (3,2%). As moléculas de água absorvidas pela matriz polimérica reduzem as forças de atração intermolecular, aumentando a mobilidade das cadeias, ou seja, plastificando-as. Esta plastificação molecular reduz o nível energético necessário para dar mobilidade à cadeia toda, por conseguinte, reduzindo a temperatura de transição vítrea (CANEVAROLO, 2002).

4.3.2.11 Cristalinidade dos filmes por Difração de Raios-X (DRX)

Nas Figuras 4.28 a 4.30 são apresentados os difratogramas de raios-X obtidos para os nanocompositos de amido e nanofibras de biri (F1 – F12) e para o filme controle (FC) com o respectivo índice de cristainidade (Ic_r, %). No filme FC foram observaldos três picos de difração 20 em 5,6°; 17,1° e 20,1°, os quais são característicos do padrão de cristalinidade tipo B apresentado pelo amido de biri como reportado no item 2.3.3 (capítulo 2). Essa estrutura cristalina resulta da espontânea recristalização ou retrogradação das moléculas de amido após a fusão ou gelatinização, levando em consideração que o amido de biri apresenta um alto teor de amilose (40,8%). Considerando que a solução filmogênica foi preparada a 90°C durante 15 minutos, ou seja, a uma temperatura muito acima da faixa de temperatura de gelatinização encontrada (60 - 72°C) para suspensões de amido de biri em água (30% p/p), a hipótese de uma incompleta fusão do amido durante o processo (cristalinidade residual) pareceria ser a menos provável para explicar a cristalinidade observada nos filmes de amido de biri (controle).

Com a incorporação de nanofibras de biri na matriz de amido, quatro picos de difração 2θ foram evidenciados em 5,6° ,17°, 20° e 22° com diferentes intensidades de difração, o que pode sugerir que se trata de estruturas semi-cristalinas com diferentes graus de organização molecular. O pico em 20 22° também evidenciado nos difratogramas dos 12 tipos de nanofibras (item 4.3.1.4) foi atribuído à contribuição da estrutura nativa da celulose (celulose I) como reportado por Nishino et al. (2004). Desta maneira, pode se observar que os difratogramas dos nanocompósitos são

sobreposições dos difratogramas dos dois componentes (amido e nanofibras). Resultados similares foram reportados por Cao et al. (2008a) e Grande et al. (2009) e atribuídos à formação de uma rede de nanofibras em presença de amido, na qual o amido amorfo estaria cobrindo as moléculas de celulose cristalina.

A incorporação de nanofibras aumentou o índice de cristalinidade dos filmes entre 9 e 54% em relação à do filme controle, provávelmente devido à contribuição da cristalinidade da celulose como reportado por diferentes autores (AMASH e ZUGENMAIER, 2000; MA et al., 2005; JHON e THOMAS, 2008). Este fato é coerente com os valores de cristalinidade das nanofibras obtidas neste estudo, já que o nanocompósito F2 apresentou o menor valor de cristalinidade (14,4%) e as nanofibras nele incorporadas também apresentaram a mais baixa cristalinidade (57%) em comparação aos outros nanocompósitos cujas nanofibras apresentaram índices de cristalinidade entre 60 e 69%. Guimarães et al. (2010) reportaram valores de cristalinidade entre 20 e 21% para compósitos de amido/fibras de banana e de amido/bagaço de cana, Famá et al. (2009) reportaram valores de cristalinidade de 50% para compósitos de amido de mandioca reforçados com fibras de trigo e Müller et al. (2009b) reportaram valores de cristalinidade de 50% para compósitos de amido de mandioca e fibras de celulose. Fatores como a umidade relativa de armazenamento dos compósitos, composição química, tamanho e cristalinidade das fibras empregadas como reforço afetam a cristalinidade dos compósitos.



Figura 4.28. Difratogramas de raios –X dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄ e, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F5) Pa (1 e 5%) e HCl e, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄



Figura 4.29. Difratograma de raios –X dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão



Figura 4.30. Difratograma de raios –X do filme controle (FC)

4.3.2.12 Microestrutura e dispersão de energía por raios-X (MEV/EDS)

Nas Figuras 4.31 - 4.33 é apresentada a microestrutura de superficie e de fratura do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo diferentes tipos de nanofibras (F1 – F12). Nas microestruturas de superficie, observou-se que os nanocompósitos F1, F4, F7, F8, F11 e F12 apresentaram uma superficie lisa e homogênea, o que pode indicar que as nanofibras incorporadas nessas matrizes apresentaram um alto grau de incorporação, enquanto que as nanofibras tratadas com H₂SO₄ que não foram submetidas ao tratamento mecânico, promoveram a formação de ondas na superfície dos nanocompósitos F2, F6 e F10.

Em todas as micrografías de fratura foi evidenciado que a incorporação de nanofibras promoveu mudanças significativas na microestrutura dos nanocompósitos em comparação à do filme controle. Assim, nos nanocompósitos F1, F2, F6, F9 e F10 evidenciou-se uma tendência à formação de camadas entrecruzadas em sentido perpendicular à superficie dos nanocompósitos, os quais têm em comum a incorporação de nanofibras que não foram submetidas ao tratamento mecânico a alta pressão. Entretanto, as nanofibras que foram submetidas ao tratamento mecânico a alta pressão. Entretanto, as nanofibras que foram submetidas ao tratamento mecânico a alta pressão promoveram a formação de entrecruzamentos irregulares na matriz polimérica dos nanocompósitos F3, F7 e F12, nos quais observou-se um efeito de esfoliação sem orientação definida. Por outro lado, o nanocompósitos F11 apresentou uma microestrutura totalmente diferente às descritas para os outros nanocompósitos, observando-se uma matriz totalmente heterogênea e com bastante entrecruzamentos, o que pode sugerir que a combinação de H_2O_2 , HCI e tratamento

mecânico a alta pressão induziram à formação de uma estrutura emaranhada que incrementou a tortuosidade da matriz polimérica.

Dado que, cada tipo de nanofibra possui características diferenciadas de relação de aspecto, carga superficial e cristalinidade, em função dos tratamento empregados na obtenção, essas características podem ser responsáveis pelo tipo de interações resultantes entre a celulose e os componentes da matriz polimérica (amido, glicerol e água), resultando em microestruturas diferentes e, em alguns casos, com maior proporção de regiões lisas, como observado nos nanocompósitos F4 e F8, os quais tem em comum o emprego de ácido peracético, H_2SO_4 e tratamento mecânico a alta pressão.



Figura 4.31. Microestrutura da superficie e fratura do filme controle (FC) e dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a álta pressão e, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão



Figura 4.32. Microestrutura de superficie e de fratura dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão



Figura 4.33. Microestrutura de superficie e de fratura dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

Para determinar os elementos químicos presentes nos nanocompósitos foi realizada a análise de espectroscopia dispersiva de energía por raios-X (EDS). Em todos os nanocompósitos foram escolhidas duas regiões: 1 referente à matriz polimérica e a região 2 referente a possíveis sais remanescentes da suspensão de nanofibras como mostrado nas Figuras 4.34 e 4.35. Os espectros das região 1 de todos os nanocompósitos mostraram a presença de carbono e oxigênio, o qual já era

esperado, uma vez que a estrutura tanto da matriz polimérica quanto do material de reforço são compostas por esses elementos. Dado que os espectros da região 1 dos nanocompósitos foram similares ao do filme controle, neste estudo apresenta-se somente o espectro da região 1 obtido para o filme controle (FC) e para o nanocompósito F8 (Figura 4.34 a, b). Somente, os espectros da região 2 dos nanocompósitos F4, F8, F9 e F11 mostraram a presença de pequenas quantidades de cálcio, silício, potássio e cobre (Figura 4.35 a-d). A presença de traços desses minerais pode ser atribuída aos tratamentos químicos empregados na obtenção das nanofibras, assim, sais de cálcio podem ser formadas nas etapas de neutralização com reagentes químicos ficando sais remanescentes após lavagens sucessivas do material. Entretanto, remanescentes de cobre e silicio devem-se possivelmente a uma menor eficácia do tratamento quelante prévio às etapas de deslignificação e branqueamento. Mas como evidenciado na Tabela 4.12, a proporção em que esses minerais estão presentes nos nanocompósitos é desprezível. Este resultado é concordante com a presença de pontos pretos que foram observados nas micrografias obtidas por TEM para as nanofibras NF4, NF8, NF9 e NF11 (Figuras 4.4. e 4.5), os quais foram hipoteticamente relacionados a possíveis traços de minerais remanescentes das etapas de deslignificação e branqueamento como discutido no item 4.3.1.2.



Figura 4.34. Espectro de EDS obtido para a região 1 da superficie de fratura do filme controle (a) e do nanocompósito contendo nanofibras tratadas com Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão (F8)



Figura 4.35. Espectro de EDS obtido para a região 2 dos nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (a) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (b) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão, (c) H₂O₂ e HCl e, (d) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão

Nanocompósitos	C (%)	O (%)	Ca (%)	Si (%)	K (%)	Cu (%)
F4	50,32	49,62	0,06			
F8	50,83	48,53	0,57	0,07		
F9	50,78	49,16			0,06	
F11	51,94	48,01				0,06

 Tabela 4.12. Concentração atômica dos elementos químicos identificados na região 2 escolhida na superfície de fratura dos nanocompósitos

(---) não detectado

4.3.2.13 Análise de grupos funcionais

Os espectros de absorção na região do infravermelho (FTIR) do filme controle (FC) e dos nanocompósitos (F1 - F12) são apresentados nas Figuras 4.36 - 4.38. Observou-se que os nanocompósitos apresentaram espectros similares entre si mostrando que diferencas no tipo de agente deslignificante, tipo de ácido e tratamento mecânico não influenciaram a absorção dos grupos funcionais característicos das bandas identificadas nos espectros. A banda em 3285 cm⁻¹ corresponde ao alongamento O-H também foi identificada nos espectros do amido de biri e das nanofibras. O alongamento C-H correspondente á banda em 2917 cm⁻¹ tinha sido encontrado a 2926 cm⁻¹ no espectro do amido. O ombro observado a 2876 cm⁻¹ também é característico do alongamento C-H, presente nos dois tipos de biopolímeros (amido e celulose). A banda em 1612 cm⁻¹ somente foi evidenciada no filme controle, está banda foi atribuída ao alongamento da ligação C=O identificado no espectro do amido. As bandas em 1325 cm⁻¹ podem ser atribuídas à flexão dos grupos CH e COH da celulose nos espectros dos nanocompósitos e no espectro do filme controle, essa banda pode ser associada à presença do grupo amida III que foi identificado no espectro do amido. A banda em 1146 cm⁻¹ no filme controle e em 1144 cm⁻¹ nos nanocompósitos, foi atribuída à presença de grupos C-O e C-C, já que esses grupos foram relacionados com a banda em 1148 cm⁻¹ identificada no espectro do amido.

As bandas na região entre 1091 e 1073 cm⁻¹ observadas em todos os espectros pode ser atribuída ao alongamento da ligação C-OH, a qual foi identificada no espectro do amido em 1076 cm⁻¹ e nos espectros dos nanocompósitos, pode ser atribuída à celulose (ligação C-O-C do anel estrutural de piranose) como reportado em 1082 cm⁻¹ nos espectros das nanofibras. As bandas na região entre 1002 e 917 cm⁻¹ observadas em todos os espectros foram atribuídas à deformação C-OH das moléculas de amido e modos relacionados ao grupo CH₂ também identificados no espectro do amido. Estas bandas também foram identificadas nos espectros das nanofibras e foram atribuídas às vibrações C-O e C-H da celulose. As bandas na região entre 847 e 838 cm⁻¹ foram evidenciadas no espectro do amido em 858 cm⁻¹ e atribuídas ao alongamento simétrico da ligação C-O-C, deformação C-H e CH₂, mas nos espectros das nanofibras também foram evidenciadas entre 888 e 859 cm⁻¹ e associadas à presença de lignina residual.



Figura 4.36. Espectro de FTIR obtido para o filme controle (FC) e os nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F1) Pa (0,25%) e HCl, (F2) Pa (0,25%) e H₂SO₄, (F3) Pa (0,25%), HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F4) Pa (0,25%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão



Figura 4.37. Espectro de FTIR obtido para os nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F5) Pa (1 e 5%) e HCl, (F6) Pa (1 e 5%) e H₂SO₄, (F7) Pa (1 e 5%), HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F8) Pa (1 e 5%), H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão



Figura 4.38. Espectro de FTIR obtido para os nanocompósitos contendo nanofibras tratadas com: (F9) H₂O₂ e HCl, (F10) H₂O₂ e H₂SO₄, (F11) H₂O₂, HCl e homogeneizadas a alta pressão e, (F12) H₂O₂, H₂SO₄ e homogeneizadas a alta pressão

4.4 CONCLUSÕES

As nanofibras obtidas neste estudo apresentaram diâmetros entre 13,8 e 37,2 nm, evidenciando-se que todos os tratamentos desenvolvidos foram eficazes para a obtenção de fibras de tamanho nanométrico a partir de um subproduto agrícola (o farelo de biri).

As concentrações de ácido peracético (Pa) e peróxido de hidrogênio avaliadas durante a etapa de deslignificação e branqueamento foram eficazes para extrair uma grande proporção de componentes amorfos presentes nas fibras, obtendo-se nanofibras com índices de cristalinidade entre 57 e 69,8%. Entretanto, o tratamento empregando peróxido de hidrogênio se mostrou mais eficaz em relação à obtenção de nanofibras com maior brancura. Consequentemente, nanofibras tratadas com H_2O_2 (NF9, NF10, NF11 e NF12) apresentaram uma menor carga superficial eletronegativa quando comparadas com as tratadas com 0,25% de ácido peracético (NF1, NF2, NF3 e NF4). Isto foi atribuído a uma maior remoção da lignina degradada e hemiceluloses durante o branqueamento empregando H_2O_2 .

O emprego de H_2SO_4 durante 1 hora na etapa de tratamento ácido (T3) levou à obtenção dos maiores índices de cristalinidade nas nanofibras NF6 e NF12 (69,8% e 68.9% respectivamente), independentemente do agente deslignificante e de uma etapa final de homogenização a alta pressão.

O tratamento mecânico a alta pressão exerceu um efeito desejável na carga superficial das nanofibras, maximizando as forças repulsivas entre as nanofibras e, em consequência, um melhor grau de interação entre estas nanofibras e a matriz polimérica foi obtido.

Os 12 tipos de nanofibras obtidos apresentaram características diferentes em termos de relação diâmetro/comprimento, índice de cristalinidade e carga superficial que, quando incorporados como material de reforço em uma matriz de amido da mesma fonte vegetal, se mostraram eficazes para melhorar significativamente as propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade dos nanocompósitos resultantes.

Em todos os casos, observou-se que a incorporação de nanofibras afetou as propriedades mecânicas dos nanocompósitos, evidenciando-se uma tendência ao incremento da tensão de ruptura sem afetar significativamente a elongação, mostrando que fatores como a compatibilidade entre os biopolímeros amido e celulose extraídos de uma mesma fonte vegetal, as características, a concentração e o método de incorporação das nanofibras como material de reforço favoreceram sua adesão à matriz polimérica.

Dependendo do gradiente de UR e quando comparados com o filme controle (FC), os 12 tipos de nanofibras empregados como materiais de reforço levaram a uma redução significativa da permeabilidade ao vapor de água dos nanocompósitos: de 34 a 71% quando expostos ao menor gradiente de UR (2-33%), entre 18 e 74% quando expostos a um gradiente intermediário de UR (33 a 64%) e entre 14 e 64%, quando expostos a altas umidades relativas (64- 90%).

A incorporação de nanofibras levou a uma diminuição significativa da solubilidade até em 60% em relação ao filme controle e a menores valores de absorção de umidade (51 - 69%).

Considerando como características desejáveis em um nanocompósito, quando comparado com o filme controle, o aumento da tensão de ruptura sem afetar significativamente a elongação, e a

diminuição significativa da sensibilidade à água, em termos de menor solubilidade e permeabilidade ao vapor de água, foi identificado o nanocompósito F8 como aquele que apresentou as melhores propriedades. As nanofibras incorporadas neste compósito foram tratadas com ácido peracético (1 e 5%), H_2SO_4 e submetidas a 5 passagens em homogeneizador a alta pressão.

A incorporação de nanofibras de biri aumentou a propriedade de barreira à luz dos nanocompósitos. Os menores valores de transmitância na região UV foram apresentados pelos nanocompósitos F1 – F4, os quais contêm nanofibras tratadas com baixa concentração de ácido peracético (0,25%), independentemente do tratamento ácido e do tratamento mecânico.

5. APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS À BASE DE AMIDO DE BIRI (Canna indica L.) EM COGUMELOS FRESCOS (Agaricus bisporus)
O cogumelo (Agaricus bisporus) é um produto altamente perecível, com uma vida útil muito mais curta, quando comparado com as frutas e hortalicas. Isto promove uma situação desafiante em relação ao prolongamento do tempo de armazenamento deste produto. Diante disso, este estudo teve como objetivo a elaboração de coberturas comestíveis à base de amido de biri (Canna indica L.) e glicerol para serem aplicadas em cogumelos frescos provenientes do estado de São Paulo, armazenados sob condições de refrigeração (5°C). Na primeira etapa deste estudo, cinco formulações de cobertura (variando as concentrações de amido e de glicerol) foram elaboradas, aplicadas nos cogumelos frescos e estes avaliados em função da cor, propriedades mecânicas, taxa de respiração, perda de peso e resistência à transferência de vapor de água no 8º dia de vida útil dos cogumelos. Os resultados dessa avaliação levaram à escolha de uma formulação de cobertura que mostrava ser uma alternativa potencial para manter algumas características de qualidade dos cogumelos frescos. Na segunda etapa deste estudo, a formulação escolhida foi validada, avaliando as propriedades mencionadas por um período de 15 dias para cogumelos tratados com essa formulação, tendo como referência de comparação cogumelos sem cobertura (controle). Ambos os tratamentos foram avaliados sob condições de refrigeração. Para isto, nos dias 0, 4, 8, 12 e 15 do período de estudo foram determinadas as mesmas propriedades mencionadas anteriormente. Os resultados deste estudo permitiram concluir que a cobertura elaborada com 4% de amido (b.s) e 25% de glicerol (g / 100 g de amido seco) foi eficaz em manter a cor e firmeza dos cogumelos, uma vez que proporcionou menores valores de ΔE^* (17,2) em relação aos cogumelos controle (28,2), reduziu em 21.7% a perda de peso dos mesmos e incrementou significativamente (p<0.05) a resistência à transferência de vapor de água, quando o produto foi armazenado à temperatura de 5°C, durante 15 dias.

5.1 INTRODUÇÃO

O Basidiomicetes *Agaricus bisporus*, é um fungo comestível da família Agaricaceae, nativo da França. Os fungos desta família têm sido utilizados durante muito tempo pelo seu agradável sabor, seus componentes nutricionais, medicinais e farmacológicos (MANZI et al., 1999; CUNHA e CARVALHO, 2007). Geralmente, os cogumelos estão compostos por 90% de água (base úmida), 10-40% de proteína, 3-28% de carboidratos, 3-32% de fibra, 8-10% de sais e minerais e de 2-8% de gordura (base seca), esta última contendo fosfolípides, esterol, ésteres de esterol mono e

triglicérides e ácidos graxos livres (CUNHA e CARVALHO, 2007). Contém também interessantes níveis de fibra alimentar, antioxidantes, vitamina C, D, B_{12} e ácido fólico (JEONG et al., 2010).

A espécie *Agaricus bisporus* também conhecido como *white mushroom* constitui a maior parte do total de fungos que são consumidos na maioria dos países ocidentais (JEONG et al., 2010). A produção mundial de cogumelos em 2004 foi de 4 milhões de toneladas/ano e estima-se que até o ano de 2012 a produção chegue a 18 milhões de toneladas/ano, gerando cerca de 40 a 50 bilhões de dólares/ano (FAOSTAT, 2009). Os países asiáticos (Japão e China), europeus (França, Holanda, Alemanha) e os Estados Unidos são os principais produtores de fungos comestíveis do mundo (CUNHA e CARVALHO, 2007). A China é o país pioneiro no cultivo de cogumelos comestíveis, representando cerca de 70% da produção mundial, e produzindo comercialmente mais de 60 espécies, sendo que destas, 35 são exportadas para o mercado mundial. A América Latina produz apenas 1,3% do total de cogumelos cultivados no mundo inteiro. Dentre os maiores produtores desta região estão México (58,6%), Chile (17,6%) e Brasil (10,6%). No Brasil, o consumo per capita ainda é baixo (aproximadamente 0,6 kg/ano) quando comparado com países da Europa e da Ásia (onde esse número varia de 3 a 3,5 kg/ano) (EMBRAPA, 2009; de PAULI, 2010).

Segundo Furlani e Godoy (2007), no Brasil há um crescimento no consumo de cogumelos e, consequentemente, na produção e comercialização de tal produto devido a uma maior divulgação de seu valor nutritivo e medicinal e por seu preço ter se tornado um pouco mais acessível à população. No entanto, o País não possui estatísticas oficiais sobre a produção de cogumelos, mas sabe-se que a maior região produtora está localizada no Alto Tietê, em São Paulo, na região de Mogi das Cruzes (FURLANI e GODOY, 2005; de PAULI, 2010). Anualmente, esta região comercializa mais de 4 mil toneladas, representando cerca de 80% da produção nacional. Estima-se então que a produção brasileira, deve girar, em torno de 5 mil toneladas anuais, o que representa aproximadamente 0,15% da produção mundial (SAMPAIO e QUEIROZ, 2006). As maiores barreiras encontradas na comercialização de cogumelos no Brasil estão ligadas à crença popular quanto à sua natureza venenosa, preço, hábito alimentar e ao cultivo com baixa produtividade (SHIBATA e DEMIATE, 2003).

O cogumelo (*Agaricus bisporus*) é um dos produtos alimentícios mais perecíveis, e em geral, sua vida útil é de 1–3 dias, em temperatura ambiente (ZIVANOVIC et al., 2000; MAHAJAN et al., 2008a). Os cogumelos são produtos altamente perecíveis devido à sua alta taxa de respiração (200-

500 mg /kg h a 20°C), ao alto teor de umidade que os fazem propensos ao ataque microbiano e a que a fina e porosa estrutura epidérmica não fornece uma proteção suficiente aos possíveis danos físicos. Os principais processos que contribuem para a perda de qualidade dos cogumelos são descoloração, escurecimento, perda de peso e alterações na textura (BURTON e NOBLE, 1993; KIM et al., 2006; AGUIRRE et al., 2008; AGUIRRE et al., 2009). Após a colheita, a cor dos cogumelos muda gradualmente do branco ao marrom, devido ao escurecimento enzimático dado seu alto teor de tirosinase e compostos fenólicos (BRENNAN et al., 2000). Diferentes autores têm reportado que características como a brancura, tamanho, firmeza, estado de maturação, crescimento microbiano, perda de peso e manchas determinam a qualidade do produto fresco. Do ponto de vista do consumidor, os índices de qualidade de cogumelos, em ordem de importância são: frescor, brancura, limpeza e uniformidade (PARDO et al., 2001; AGUIRRE, 2008; MOHAPATRA et al., 2011). Diante disso, existem vários estudos focados na avaliação de alternativas para preservar as características de qualidade de cogumelos frescos, já que a solução para estender o prazo de validade deste produto altamente perecível ainda constitui um desafio científico e econômico (GUILLAUME et al., 2010).

O armazenamento refrigerado e o uso de filme de policloreto de vinila (PVC) prolongam a vida útil dos fungos comestíveis, uma vez que retardam a abertura do chapéu, a descoloração e reduzem a perda de peso (NICHOLS e HAMMOND, 1973). Para o armazenamento em longo prazo usualmente são empregados processos de secagem ou tratamento térmico e enlatamento. Os fungos também podem ser liofilizados, sem a perda da maioria de atributos qualitativos (KOMPANY e RENE, 1995). Porém, esses processos nem sempre são convenientes para todos os tipos de fungos comestíveis, devido ao incremento do custo e à preferência do consumidor pelos produtos frescos (ANANTHESWARAN e ROY, 2002).

A secagem dos fungos por energia térmica é realizada inicialmente a temperaturas de 30 e 35°C, durante um período de 5-7 horas respectivamente, e depois a temperatura é mantida entre 40 e 60°C durante 12 a 18 horas. Nestas condições, características como o sabor e a aparência dos fungos podem ser potencializadas (KIM, 2005). Alguns estudos empregando irradiação em fungos reportaram atraso no fenômeno do escurecimento devido à destruição de microorganismos e à inativação de enzimas (AJHOUNI, 1991; ANANTHESWARAN e ROY, 2002). Este processo tem pouco efeito sobre as propriedades sensoriais do alimento, contudo, os microorganismos podem

desenvolver resistência à irradiação, causando efeitos não desejáveis na textura e valor nutritivo do produto.

Vários estudos têm avaliado os efeitos benéficos da concentração de gases ($O_2 e CO_2$) durante o armazenamento de cogumelos (*Agaricus bisporus* L.) a temperaturas entre 0 e 18 °C (BURTON et al, 1987; LOPEZ BRIONES et al., 1993; ROY et al, 1995; GONZALEZ-FANDOS et al., 2001). Estes autores concordam que a atmosfera ótima recomendada para cogumelos deve conter baixa concentração de O_2 (menor que 10%) e de CO₂ (máximo 5%).

O emprego de baixas concentrações de O_2 tem sido associado com a redução da taxa de respiração, da deterioração causada por microorganismos aeróbicos e da perda de peso, também com o retardamento da abertura do píleo (chapéu) dos cogumelos. Além disso, a baixa concentração de O_2 diminui a atividade da tirosinase, reduzindo desta maneira, o escurecimento enzimático. Apesar de uma baixa concentração de O_2 apresentar muitas vantagens, menos de 2% poderia causar um significativo crescimento de microorganismos anaeróbicos como o *Clostridium botulinum* e o *Staphylococcus aureus* (KIM et al., 2006). Por outro lado, concentrações de CO₂ menores que 5% tem se mostrado eficazes em reduzir o crescimento de *Pseudomonas* spp. (SIMÓN et al., 2005; GONZÁLES-FANDOS et al., 2006), sendo *Pseudomonas tolaasii* a principal responsável pela deterioração da cor ou mancha bacteriana (JOLIVET et al., 1998; SOLER-RIVAS et al., 1999). Outros autores relataram que a presença de CO₂ na atmosfera reduz a abertura do chapéu e a elongação da estipe (pé) dos cogumelos (NUSSINOVITCH e KAMPF, 1993).

O efeito da aplicação de coberturas à base de alginato de sódio nas características de qualidade de cogumelos frescos também tem sido avaliada, encontrando que a aplicação de coberturas levou a uma melhor manutenção da cor e aparência do produto, além de atuar como barreira à perda de umidade. Os estudos evidenciaram como os melhores tratamentos: coberturas contendo 2% de alginato e o armazenamento a 4°C (NUSSINOVITCH E KAMPF, 1993). Posteriormente, coberturas contendo 2% de alginato com adição de ergosterol e Tween foram avaliadas por Hershko e Nussinovitch (1998). Alginato, assim como outros hidrocolóides disponíveis, têm o potencial de reduzir a tensão superficial das soluções, sendo normalmente designados para uso como agente de revestimento. Os autores reportaram que a incorporação de ergosterol, Tween, ou ambos, na solução de alginato produziu uma redução adicional de cerca de

7,8 - 15,8% da tensão superficial, contribuindo para uma melhor adesão da cobertura sobre o tecido de cogumelo.

Guillaume et al. (2010) reportaram a eficácia de papel revestido com solução de glúten de trigo para melhorar a vida de prateleira de cogumelos frescos, em termos de preservação da cor e textura durante 3 dias quando, comparado com um filme de PVC comercial. Este efeito benéfico foi atribuído à composição gasosa do meio (9,5 KPa de CO_2 e 2,5 KPa de O_2) sem condensação. Porém, a principal desvantagem desse tipo de embalagem foi sua alta permeabilidade ao vapor de água, que levou a uma significativa perda de peso (3,8% no terceiro dia). No entanto, essa perda não afetou a qualidade geral de cogumelos dentro do período de armazenamento. Os autores também reportaram que o emprego de atmosfera modificada contendo16 kPa de O_2 e 2 kPa de CO_2 , utilizando filme de PVC esticável, levou à condensação de água no interior da embalagem e nos cogumelos, que foi prejudicial para o frescor e, consequentemente, na vida de prateleira do produto.

As coberturas comestíveis vêm sendo amplamente estudadas, pois permitem um prolongamento da vida útil dos produtos perecíveis. Trata-se de camadas finas aplicadas sobre a superfície do alimento e elaboradas a partir de um biopolímero (polissacarídeo ou proteína com uma solução hidrocolóide ou lipídica) atuando como barreira ao reduzir a troca gasosa (O₂, CO₂ e vapor de água) e permitindo aumentar a vida útil do alimento (CARRASCO et al., 2002). Diferentemente dos filmes, as coberturas comestíveis são aplicadas na forma líquida, geralmente por imersão do produto em uma solução formada pela matriz estrutural (mistura de carboidratos, proteínas lipídios, ou multicomponentes) enquanto que os filmes são primeiramente moldados como folhas sólidas e utilizados como um envoltório sobre o produto alimentício (FALGUERA et al., 2011).

Considerando o estilo de vida do consumidor moderno, unido ao desejo de adquirir alimentos naturais e benéficos para a saúde, poderia se pensar na aplicação de coberturas comestíveis como uma alternativa de conservação para os cogumelos. O presente estudo teve como objetivo a elaboração e aplicação de coberturas comestíveis a base de amido de biri e glicerol em cogumelos frescos (*Agaricus bisporus*), como também um estudo de vida útil baseado nas características de qualidade dos cogumelos (cor, propriedades mecânicas, taxa de respiração, resistência à transferência de vapor de água e perda de peso), as quais foram avaliadas e comparadas com as do produto sem a aplicação de cobertura (controle) ao longo de um período de 15 dias.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Material

5.2.1.1 Cogumelos

Foram utilizados cogumelos de Paris frescos (*Agaricus bisporus*) pertencentes à família dos Basidiomycetes, originários das regiões montanhosas da Mata Atlântica do sul do estado de São Paulo. Os cogumelos foram adquiridos inteiros no mercado local de Campinas (CEASA) no primeiro dia de sua comercialização como apresentado na Figura 5.1. O produto foi selecionado, descartando unidades que apresentaram descoloração ou escurecimento pós-colheita.



Figura 5.1.Cogumelo de Paris (*Agaricus bisporus*), adquirido no primeiro día de sua comercialização no mercado local de Campinas (CEASA, Campinas, Brasil)

5.2.1.2 Cobertura Comestível

As coberturas comestíveis utilizadas no estudo foram elaboradas com amido obtido por Andrade-Mahecha (2009) a partir de rizomas de biri (*Canna indica* L.), cultivados em clima subtropical úmido (Köppen Cwa) na cidade de Conchal (SP, Brasil) e fornecidos pela empresa Corn Products Brasil. A composição centesimal do amido de biri reportada pelo autor é a seguinte: Umidade (9,8 \pm 0,1%), amido (97,7 \pm 0,03%), proteína (0,7 \pm 0,1%), lipídeos (0,2 \pm 0,02%), fibra alimentar total $(0,9 \pm 0,04\%)$ e cinzas $(0,6 \pm 0,02\%)$, em base seca. Além disso, o amido empregado neste estudo possui alto teor de amilose $(37,0 \pm 0,3 \text{ g}$ de amilose/100 g de amido seco). Na preparação das coberturas foi utilizado glicerol como plastificante (Synth, Brasil).

5.2.1.3 Embalagem

Para a conservação do produto utilizaram-se bandejas de poliestireno expandido nas dimensões de 200 x 130 x 30 mm (Figura 5.2), cobertas com filme plástico de policloreto de vinila esticável (PVC) de 20 µm da marca Tripack (Guarulhos, SP), o qual foi perfurado nas quatro extremidades e no centro com uma agulha de 0,45 mm de diâmetro, para evitar modificações na composição de gases no interior da embalagem.



Figura 5.2. Embalagem utilizada para os cogumelos frescos durante o estudo

5.2.2 Métodos

5.2.2.1 Composição centesimal dos cogumelos

Os cogumelos (*Agaricus biporus*) foram caracterizados quanto à composição centesimal, sendo determinado o teor de umidade (AOAC., 2005, método nº 920.151), cinzas (AOAC., método

nº 940.26), proteína (AOAC., 2005, método no. 926.86), lipídios totais (BLIGH & DYER., 1959) e fibra (AOAC., 2005, método no. 930.10). O teor de sólidos totais foi calculado pela diferença entre a matéria analisada e a umidade em base úmida, em porcentagem. O teor de carboidratos foi calculado por diferença entre os sólidos totais e a somatória de proteína, lipídeos, fibra e cinzas. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

5.2.2.2 Seleção e acondicionamento dos cogumelos

Previamente à aplicação das coberturas, os cogumelos foram selecionados procurando utilizar cogumelos de peso $(13,0 \pm 0,7 \text{ g})$ e tamanho similar, descartando aqueles que apresentaram danos físicos causados pelo manuseio pós-colheita (Figura 5.3 a, b). Posteriormente, os cogumelos foram submetidos a uma etapa de limpeza, para remover resíduos de terra e pequenas partículas de pó aderidas no produto. O procedimento foi feito com ajuda de um pincel de cerdas macias para evitar danos sobre o tecido superficial dos cogumelos (Figura 5.3 c), devido a que o uso de água destilada e/ou agentes sanitizantes poderia aumentar a umidade do produto e, consequentemente, causar sua rápida deterioração.



Figura 5.3. Tratamentos prévios à aplicação das coberturas: (a) Seleção (b) cogumelos descartados por apresentar sinais de deterioração pós-colheita e, (c) limpeza dos cogumelos seleccionados

5.2.2.3 Elaboração e aplicação das coberturas comestíveis

As coberturas comestíveis foram elaboradas a partir de suspensões aquosas contendo 3, 4, e 5 g de amido de biri seco /100 g de suspensão. Essas concentrações foram escolhidas com base na baixa permeabilidade ao vapor de água e baixa solubilidade reportada por Andrade-Mahecha (2009), para filmes contendo 3,8 g de amido de biri seco /100 g de suspensão, quando comparados com uma formulação otimizada para filmes de farinha de biri. Cada suspensão foi homogeneizada durante 30 minutos a 540 rpm, utilizando um agitador magnético (Fitasom, Brasil) e aquecida em banho térmico até temperatura de 90°C para obter uma solução de amido de biri gelatinizado (ANDRADE-MAHECHA, 2009). Em seguida, o glicerol foi adicionado como plastificante variando a concentração (15, 25 e 35 g de glicerol / 100 g de amido seco) e mantendo constante a agitação durante 15 minutos (Figura 5.4 a), obtendo-se uma solução filmogênica que na sequência foi colocada em um banho de ultra-som durante 10 minutos, para eliminar possíveis bolhas de ar formadas durante a agitação e, resfriada à temperatura ambiente ($25 \pm 1^{\circ}$ C). Os cogumelos foram imersos nessa solução durante 3 minutos e foi feita a drenagem através de grades de aço inox (Figura 5.4 b, c) previamente desinfetadas em solução de ácido peracético (80 ppm). A secagem das coberturas foi feita com ajuda de uma incubadora BOD (Modelo MA-415UR, Marconi) à temperatura de 23°C e umidade relativa de 55% (Figura 5.4 d). Após a secagem, os cogumelos foram colocados em bandejas de poliestireno expandido, recobertos com filme de PVC e armazenados a 5°C, em uma BOD, até a realização das análises (24 horas após aplicação da cobertura).



Figura 5.4. Elaboração e aplicação de coberturas de amido de biri em cogumelos frescos: (a) Elaboração da cobertura de amido de biri e glicerol, (b) imersão dos cogumelos na solução filmogênica, (c) drenagem para retirar o excesso de solução filmogênica e (d) secagem das coberturas aplicadas 23°C e umidade relativa de 55%

5.2.2.4 Etapa 1 - Tratamentos avaliados

Na elaboração das coberturas de amido de biri foram estudados os fatores: concentração de amido (Ca) e concentração de glicerol (Cg), para o qual foi utilizado um esquema fatorial completo com adição de três repetições no ponto central (RODRÍGUES e LEMMA, 2005), totalizando sete experimentos, como apresentado na Tabela 5.1. Desta maneira foram avaliados cinco tratamentos (formulações de cobertura) com base nos resultados das variáveis: cor, propriedades mecânicas (força máxima de penetração e força máxima de ruptura), perda de peso, taxa de respiração e resistência à transferência de vapor de água, com a finalidade de selecionar, para o estudo de vida útil, o tratamento (formulação de cobertura) que proporcionasse o menor escurecimento dos cogumelos, menor perda de peso e menor perda da firmeza (maiores valores de força de penetração e força máxima de ruptura). Para os cogumelos tratados com as diferentes formulações, todas as propriedades mencionadas foram avaliadas no 8º dia de vida útil, que corresponde ao período estimado pelo fornecedor do produto fresco quando este é armazenado à temperatura de refrigeração. A avaliação da qualidade dos cogumelos com cobertura no 8º dia foi realizada por comparação com as propriedades apresentadas por cogumelos controle (sem cobertura), sendo que para estes últimos, a cor, as propriedades mecânicas e a taxa de respiração foram avaliadas no 1º dia de vida útil, enquanto que a perda de peso e a resistência à transferência de vapor de água foram determinadas no 8º dia de vida útil.

Tratamento	Ca ^a (%)	Cg ^b (%)
1	-1 (3)	-1 (15)
2	1 (5)	-1 (15)
3	-1 (3)	1 (35)
4	1 (5)	1 (35)
5	0 (4)	0 (25)
6	0 (4)	0 (25)
7	0 (4)	0 (25)

 Tabela 5.1. Esquema Fatorial Completo (2²) para a elaboração de coberturas comestíveis a base de amido de biri (*Canna indica* L.)

^a g de amido seco /100 g de solução filmogênica

^b g de glicerol /100 g de amido seco

5.2.2.5 Determinação da cor

A cor dos cogumelos foi determinada em espectrofotômetro de bancada ScanVis, marca Hunter Lab (Riston, Virginia, EUA), com escala CIELab (L*, a*, b*). As coordenadas da escala CIELab (L*, a*, b*) foram medidas utilizando-se como sistema de referência o módulo de Reflectância Especular Excluída (RSEX), com o iluminante D65 e um ângulo de observação de 10° (McGUIRE, 1992). As medições de coloração foram expressas em termos da luminosidade L* (L*=0 preto e L*=100 branco), e da cromaticidade definida por a (+a*=vermelho e -a*=verde) e b* (+b*=amarelo e -b*=azul). Com esses parâmetros, foram avaliadas as coordenadas cilíndricas C* e H*, onde C* define o croma e H*, o tom, a partir das equações 5.1 e 5.2 respectivamente (HUNTERLAB, 1996).

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \qquad [5.1]$$
$$H^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \qquad [5.2]$$

Para as medidas de cor foram usados três cogumelos por tratamento, fazendo três leituras em cada cogumelo, totalizando nove leituras. Visando possíveis variações na cor entre as partes do cogumelo, foram realizadas duas leituras da cor no chapéu ou píleo (Figura 5.5 a) e uma leitura no pé ou estipe (Figura 5.5 b), sendo o resultado final a média de nove leituras.



Figura 5.5. Determinação da cor em cogumelos frescos: (a) Leituras de cor no chapeú ou píleo e (b) leitura da cor no pé ou estipe

A diferença de cor (ΔE^*) foi calculada de acordo com a equação [3.1] (item 3.2.5, Capítulo 3), tomando como parâmetros padrão (Lo*, ao* e bo*), os valores obtidos para os cogumelos controle (sem cobertura) no 1º dia de vida últil.

5.2.2.6 Determinação das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram determinadas através de ensaios de punção (força máxima de penetração) e de compressão uniaxial (força máxima de ruptura), empregando um texturômetro Universal Testing Machine, modelo TA-TX Plus, marca Stable Micro Systems (Surrey, Inglaterra).

A força máxima de penetração (N) foi determinada por ensaios de punção, nos quais foi utilizado um probe cilíndrico de aço inox, com base plana de 6 mm de diâmetro e penetração na amostra de 6 mm de profundidade, a uma velocidade de 2 mm s⁻¹ (ROJAS-GRAÜ et al., 2007a). Para a realização destes ensaios foi necessário eliminar o pé de cada cogumelo, determinando a força máxima de penetração sobre o centro do chapéu ou píleo do cogumelo, como mostrado na Figura 5.6 a. Foram realizadas cinco determinações por tratamento, obtendo-se como resultado final a média de cinco cogumelos.

Nos ensaios de compressão uniaxial foi obtida a força máxima de ruptura (N), utilizando-se uma placa cilíndrica de acrílico de 60 mm de diâmetro, lubrificada, e uma velocidade de compressão de 1 mm s⁻¹ até 80% de deformação da amostra. Devido ao formato dos cogumelos, para este ensaio também foi necessário eliminar o pé de cada cogumelo e obter, da parte central do chapéu ou píleo, um cubo de 1cm x 1cm de amostra que permitisse obter uma mesma área para cada amostra avaliada, como apresentado na Figura 5.6 b. Para este ensaio também foram realizadas cinco determinações por tratamento, obtendo-se como resultado final a média de amostras de cogumelo.



Figura 5.6. Determinação das propriedades mecânicas dos cogumelos: (a) Teste de punção e, (b) Teste de compressão

5.2.2.7 Determinação da taxa respiratória

Para determinação da taxa respiratória, 13 ± 1 g de amostra (peso aproximado de um cogumelo fresco) foram colocados em recipiente de 180 ml hermeticamente fechado, com tampa contendo um septo de silicone, para retirada de alíquotas de gás do espaço livre do frasco com auxílio de uma agulha acoplada ao equipamento O₂/CO₂ Dual Space Analyser, modelo PAC CHECK 325 (Mocon, Minneapolis, EUA), como apresentado na Figura 5.7. A produção de CO₂ e o consumo de O₂ foram medidos após os recipientes permanecerem fechados por 1 hora a 5°C. A taxa de respiração foi calculada de acordo com a equação [5.3], como reportado por alguns autores (CHIUMARELLI, 2008; GARCIA, 2009; BIERHALS, 2010).



Figura 5.7. Medição da produção de CO₂ e o consumo de O₂ para determinação da taxa de respiração de cogumelos com e sem cobertura

$$TR = \frac{[CO_2](V_1 - V_2)}{Mt}$$
 [5.3]

Onde:

TR = Taxa respiratória (ml CO₂ kg⁻¹ h⁻¹);

 $[CO_2]$ = concentração de CO₂;

 V_1 = volume do recipiente (ml);

 V_2 = volume da amostra (ml), obtido a partir da densidade dos cogumelos (6,5 x 10⁻⁴ kg /ml). A densidade foi determinada pesando uma amostra de cogumelos e em seguida, determinando seu volume pelo método de deslocamento em água (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2005).

M = massa da amostra (kg);

t = tempo que a amostra permaneceu no recipiente hermético (1 hora)

5.2.2.8 Determinação da Perda de Peso

A porcentagem de perda de peso (PP) dos cogumelos foi calculada de acordo com a equação [5.4]. As amostras foram pesadas em balança analítica marca Sartorius modelo GMBH (Göttingen, Alemanha). A análise foi conduzida em triplicata e as mesmas amostras foram analisadas durante todo o estudo, como descrito por Garcia (2009).

$$PP(\%) = \left(1 - \frac{Peso\ Final}{Peso\ Inicial}\right) * 100$$
 [5.4]

5.2.2.9 Resistência à transferência de vapor da água

A determinação da resistência ao vapor de água foi realizada conforme descrito por Rojas-Graü et al. (2007b) e Tapia et al. (2008). Cogumelos foram acondicionados por 24 horas em dessecadores contendo solução 0,6M NaCl e mantidos a uma umidade relativa de 98,5% à temperatura ambiente ($23 \pm 1^{\circ}$ C). Em seguida, os cogumelos foram dispostos em suportes de poliestireno, pesados e então transferidos para outro dessecador, contendo solução saturada de MgCl₂.6H₂O para garantir uma umidade relativa de 33%, também na temperatura ambiente ($23 \pm 1^{\circ}$ C). Os cogumelos foram pesados em intervalos de 1 hora de tempo, a fim de se obter a perda de água dos cogumelos em função do tempo por unidade de área (fluxo de vapor de água) descrito pela equação [5.5].

$$FV = \left(\frac{dP}{dt}\right) * \left(\frac{1}{A}\right) \quad [5.5]$$

Onde:

FV = Fluxo de vapor de água (g s⁻¹ cm⁻²) $\frac{dP}{dt} =$ Perda de água em função do tempo (g s⁻¹);

A =área exposta (cm²). Para o cálculo da área da superfície dos cogumelos, empregou-se a equação modelo [5.6] reportada por Mahajan et al. (2008b) para este produto.

$$A_s = d \times (M)^b \qquad [5.6]$$

Onde:

 A_s Corresponde à área da superfície do cogumelo (cm²), M é a massa do cogumelo (mg), b e d são constantes estimadas a partir de dados experimentais, cujos valores são 0,738 e 0,029 respectivamente.

A resistência à transferência de vapor de água (RVA) foi calculada a partir de uma modificação na equação da primeira lei de Fick, proposta por Ben-Yehoshua et al. (1985), levandose em conta as pressões de vapor das superfícies paralelas ao sistema em estudo (equação 5.7).

$$RVA = \frac{\left(p_i - p_a\right)}{Rc * T} * \frac{1}{FV}$$
 [5.7]

Onde:

RVA = Resistência ao vapor de água (s cm⁻¹);

 p_i = pressão parcial de vapor na interface cogumelo-cobertura (mmHg), neste caso, a pressão de vapor da água a 23°C (21,166 mmHg) x *aw* dos cogumelos

 p_a = pressão de vapor da água a 23°C (21,166 mmHg) x UR do ambiente, dada em mmHg;

 R_c : constante universal para vapor de água (3460 cm³ mmHg K⁻¹ g⁻¹)

T: temperatura em Kelvin (K)

FV = Fluxo de vapor de água (g s⁻¹ cm⁻²)

A atividade de água (*aw*) dos cogumelos foi determinada por leitura direta à temperatura de 25°C em um equipamento Aqualab, modelo Series 3TE (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EUA).

5.2.2.10 Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 5% de significância, com o auxílio do programa STATISTICA® 7.0.

5.2.2.11 Etapa 2 – Seleção e validação da formulação de cobertura

A partir dos resultados obtidos da análise estatística selecionou-se o melhor tratamento (formulação de cobertura) baseado na cor, perda de peso e firmeza dos cogumelos, quando comparados com o controle (sem aplicação de cobertura). Com o objetivo de avaliar o efeito da cobertura selecionada nas características de qualidade dos cogumelos, mencionadas anteriormente,

cogumelos com ou sem cobertura, mantidos à temperatura de refrigeração (5°C) e umidade relativa de 65% foram avaliados nos dias 0, 4, 8, 12 e 15 após aplicação da cobertura. A avaliação consistiu na determinação das seguintes propriedades: cor, força máxima de penetração, força máxima de ruptura, taxa de respiração, perda de peso e resistência à transferência de vapor de água. Todas estas análises foram realizadas como descrito nos itens 5.2.2.5 a 5.2.2.9.

5.3 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

5.3.1 Composição centesimal dos cogumelos

A composição centesimal dos cogumelos (Agaricus bisporus) é apresentada na Tabela 5.2. O teor de sólidos totais nos cogumelos encontrou-se na faixa de $12,1 \pm 1,1\%$, confirmando o alto teor de umidade desse produto (SHIBATA e DEMIATE, 2003; TSAI et al ., 2007; FURLANI e GODOY, 2007). Observou-se que carboidratos e proteína foram os maiores constituintes nutricionais, apresentando teores médios de 42,6% e 39,4%, em base seca, respectivamente. Diferentes estudos têm demonstrado que os cogumelos são considerados uma boa fonte de proteínas (MANZI et al., 1999; FURLANI e GODOY, 2005; HENRIQUES et al., 2008). Para a maioria dos alimentos o teor de proteína é calculado utilizando-se um fator de correção a partir do conteúdo de nitrogênio orgânico presente. Segundo Breene (1990), os cogumelos possuem uma significativa quantidade de compostos nitrogenados não protéicos, na forma de quitina, em suas paredes celulares e tais compostos não são digeríveis. Assim, para não superestimar o conteúdo protéico de cogumelos o fator 4,38 é adotado, pois esse valor assume que apenas 70% dos compostos nitrogenados existentes no cogumelo sejam digeríveis pelo organismo humano $(0,70^{*}6,25^{-4},38)$. De acordo com Braga et al. (1998), a idade, o ambiente, o local e a natureza do substrato de cultivo também exercem grande influência no conteúdo protéico dos cogumelos. Shibata e Demiate (2003) determinaram a composição centesimal em diferentes tamanhos de cogumelos, cortando os cogumelos em duas partes: píleo e estirpe, e reportaram que os cogumelos menores (4 cm de comprimento) apresentaram maior teor de proteínas (55,16% no píleo e 31,06% na estirpe). Sobre o teor de fibra bruta, o valor obtido neste estudo ($8,0 \pm 0.5\%$) é concordante com o reportado por Shibata e Demiate (2003) para diferentes linhagens de Agaricus blazei (7, 3 - 9, 6%). Entretanto, outros autores reportaram valores entre 17 e 23% de fibra alimentar (FURLANI e GODOY, 2007; TSAI et al., 2007). Geralmente, os valores de fibra alimentar total obtidos pelo método enzimático gravimétrico são significativamente maiores que os obtidos através do método que emprega tratamento ácido e alcalino (determinação de fibra bruta). Esse último não quantifica grande parte de ligninas e hemiceluloses, além de não contabilizar a totalidade das fibras solúveis (substancias pécticas, gomas e mucilagens), devido à solubilidade desses componentes nas condições drásticas do tratamento alcalino (PAK, 2000; ANDERSSON et al., 2006; IAL, 2008). Os cogumelos também mostraram considerável quantidade de cinzas, média de 8,1% em base seca, dado que concorda com os estudos de alguns autores que reportaram que este conteúdo pode variar de 5,27 a 11,3% (MANZI et. al., 1999; YANG et. al., 2001; SHIBATA e DEMIATE, 2003; de PAULI, 2010). Segundo Sales-Campos et. al. (2009), fatores como a espécie de fungo usada no cultivo e as condições ambientais têm influência direta na composição química dos cogumelos, principalmente nos minerais e na qualidade protéica. Segundo Gençcelep et al. (2009) e De Pauli (2010), a quantidade de minerais em cogumelos está diretamente relacionada a fatores como espécie, condições de cultivo (área, solo e substrato), tempo de crescimento do corpo de frutificação e distância de fontes poluidoras. De Pauli (2010) reportou que para Agaricus bisporus pode ser considerado fonte de potássio e fósforo com teores de 45,720 e 12,430 mg/kg, respectivamente.

Os cogumelos apresentaram um baixo teor de lipídeos, $2,7 \pm 0,3\%$, valor dentro do intervalo de 0,8 a 7,6% conforme reportado por varios autores (SHIBATA e DEMIATE, 2003; FURLANI e GODOY, 2007; TSAI et al., 2007). Estes autores reportaram que o conteúdo de carboidratos e lipídeos aumenta com a maturação, enquanto que o conteúdo de proteína diminui. Os resultados da composição centesimal confirmam que os cogumelos podem ser considerados excelentes alimentos devido aos componentes nutricionais, pois apresentam alto teor de proteínas e carboidratos (principalmente fibra) e baixo teor de gordura, resultando em um baixo valor calórico.

	Conteúdo a (%)
Umidade	87,9 ± 1,1
Sólidos totais	12,1 ± 1,1
Carboidratos	42,6 ± 2,2
Proteína	39,4 ± 2,5
Lipídeos	$2,7 \pm 0,3$
Fibra bruta	8,0 ± 0,5
Cinzas	8,1 ± 0,1

 Tabela 5.2. Composição centesimal dos cogumelos (Agaricus bisporus)

^a Umidade e sólidos totais são apresentados com base no peso fresco; os outros dados são apresentados em base seca

5.3.2 Etapa 1 - Tratamentos avaliados

5.3.2.1. Cor

A cor é um dos fatores mais importantes pela qual se julga a qualidade dos cogumelos frescos e, talvez, o parâmetro de aceitação que tem maior influência entre os consumidores, já que quanto mais brancos, os cogumelos (*Agaricus bisporus*), maior preço terão no mercado (ANANTHESWARAN e ROY, 2002). A Figura 5.8 mostra os valores de luminosidade obtidos no 8º dia de vida útil para cogumelos tratados com diferentes formulações de cobertura em comparação com cogumelos controle (sem cobertura) no 1º dia de vida útil. Observou-se que o tratamento 3, empregando cobertura preparada com a menor concentração de amido (3%) e a maior concentração de glicerol (35%) proporcionou os maiores valores de luminosidade (cogumelos mais claros). Isto pode estar associado com a concentração do plastificante, como verificado por outros autores (CHILLO et al., 2008; AHMADI et al., 2012), já que quando empregada uma menor concentração do mesmo (15%), menores valores de luminosidade foram obtidos (tratamentos 1 e 2). Outros tratamentos (4-7) não mostraram diferença significativa em termos de luminosidade, quando comparados com os cogumelos controle. Estes resultados estariam indicando que a aplicação das coberturas 3, 4 ou 5 levaram à manutenção da brancura característica do produto fresco por um período de 8 dias.



Figura 5.8. Valores de luminosidade (L*) obtidos no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Kim et al. (2006) avaliaram a cor de cogumelos inteiros e em fatias revestidos com CaCl₂ e quitosana e embalados em três tipos de filmes (PVC e duas poliolefinas). Para cogumelos inteiros, os maiores valores de L* foram obtidos quando revestidos com cobertura de quitosana e embalados com filme de PVC ou quando tratados com CaCl₂ independentemente do filme empregado. Mas os autores também evidenciaram que todos os tratamentos levaram à diminuição do parâmetro L* quando comparados com os cogumelos controle. Cogumelos com valores de L* superiores a 80 seriam aceitáveis para atacadistas e aqueles com valores L* menores que 70, seriam rejeitados pelos consumidores.

Lopez Briones et al. (1992) reportaram que o nível de CO_2 pode afetar a descoloração dos cogumelos e reportaram que para manter a vida útil desse produto uma boa combinação gasosa seria aquela contendo menos de 5% de CO_2 e 10% de O_2 . Entretanto, Simón et al. (2005) não evidenciaram efeito significativo do teor de CO_2 sobre o valor de L* de cogumelos fatiados e armazenados a 4°C.

Simón et al. (2010) estudaram o efeito da lavagem com ácido cítrico e da embalagem em atmosfera modificada empregando filme de PVC, na qualidade sensorial e microbiológica de cogumelos em fatias, quando armazenados a 5°C durante 17 dias. Nesse estudo, os cogumelos lavados mostraram maiores valores de L* quando comparados com cogumelos que não foram submetidos à lavagem. Essa diferença foi evidenciada no período entre o dia 13 e o dia 17 de armazenamento. Os autores também reportaram que o filme de PVC não mostrou efeito significativo na luminosidade (L*) dos cogumelos.

Guillaume et al. (2010) reportaram valores de L* de $89 \pm 1,1$ para cogumelos quando empregado papel revestido com cobertura de glúten de trigo como material de embalagem no primeiro dia de armazenamento e de $86 \pm 1,3$ no terceiro dia. Segundo esses autores, este leve escurecimento foi aceitável uma vez que os cogumelos podem ser classificados como: de boa qualidade quando L* é superior a 86 e de menor qualidade para valores de L* entre 80 e 85. Os autores também reportaram o efeito da umidade na percepção da cor, já que o uso de papel revestido com cobertura de glúten de trigo evitou a formação de uma camada de umidade na superfície dos cogumelos (o qual tinha sido observado quando empregado PVC esticável), levando a uma menor absorção de raios de luz por parte da água e consequentemente, a uma melhor percepção da cor.

Considerando a incidência de outros parâmetros envolvidos na escala CIELab como: a* e b*, foi calculado o parâmetro ΔE^* , o qual é uma medida da diferença de cor que cada tratamento apresenta em relação ao controle, e também foram avaliadas as coordenadas cilíndricas C* (croma) e H* (tom) para os diferentes tratamentos, como apresentado nas Figuras 5.9 – 5.11. Observou-se que a cobertura empregando 3% de amido e 15% de glicerol (tratamento 1) apresentou a maior diferença de cor quando comparada com as outras coberturas. Este comportamento é consequência de uma menor luminosidade (L*), menores valores de a* (cogumelos com menor incidência de cor vermelha) e maiores valores de b* (cogumelos mais amarelados) quando comparados com o controle. Visto que é desejável que a aplicação da cobertura nos produtos proporcione uma menor diferença de cor em relação ao produto fresco (ΔE^*), neste estudo observou-se que coberturas contendo concentrações intermediárias de amido e plastificante, proporcionaram menores valores de ΔE^* como foi evidenciado para os tratamentos 5, 6 e 7.



Figura 5.9. Diferença de cor (ΔE*) obtida no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Kim et al. (2006) reportaram que a aplicação de coberturas de quitosana e $CaCl_2$ em cogumelos inteiros e fatiados teve um efeito negativo sobre a cor dos mesmos, em termos de um aumento na diferença de cor (ΔE^*) dos cogumelos tratados quando comparados com cogumelos controle. Entre os diferentes tratamentos avaliados pelos autores para cogumelos inteiros, os menores valores de ΔE^* foram obtidos quando empregada cobertura de quitosana e filme de PVC.

Na Figura 5.10 pode ser observado que os cogumelos revestidos com as coberturas 1, 2 e 4 apresentaram valores de croma levemente maiores aos da amostra controle, indicando uma cor mais intensa que pode ser associada com a diminuição do parâmetro a* (menor incidência da cor vermelho) e com o aumento do parâmetro b* (maior incidência da cor amarelo). Entretanto, cogumelos tratados com coberturas contendo alta concentração de plastificante (25 a 35%) e concentração de amido intermediária (3 e 4%) não apresentaram diferença significativa nos valores de croma quando comparados com cogumelos sem cobertura, como evidenciado para os tratamentos 3 e 5 a 7.



Figura 5.10. Valores de croma (C*) obtidos no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Na Figura 5.11, pode ser observado que cogumelos revestidos com cobertura de amido de biri e glicerol apresentaram diferença significativa com relação ao Tom (H*), em comparação ao controle. Porém, o incremento observado na tonalidade dos cogumelos com cobertura em comparação com os cogumelos controle foi pequeno (máximo de 18%) levando em consideração que o valor médio de tom usado como referência (70,64 \pm 0,24) corresponde ao apresentado pelo produto no 1º dia de vida útil (tonalidade característica do produto fresco). Isto estaria mostrando que a aplicação das diferentes coberturas pode levar a pequenas alterações na tonalidade dos cogumelos mantidos a 5°C por um período de oito dias.

Alguns estudos sobre aplicação de coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca e glicerol, pectina e alginato em frutas frescas como pêra e manga têm evidenciado um aumento nos valores de tom para as frutas revestidas quando comparadas com as não revestidas (OMS-OLIU, 2008; CHIUMARELLI et al., 2011). Segundo Chiumarelli (2008), este fato pode ser atribuído à difusão de água da cobertura para a fruta, uma vez que a água participa de reações enzimáticas e químicas, resultando em aumento da tonalidade da amostra.



Figura 5.11. Valores de tom (H*) obtidos no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

5.3.2.2. Propriedades Mecânicas

Na Figura 5.12 são apresentados os valores de força máxima de penetração para cogumelos com cobertura no 8° dia de vida útil e sem aplicação de cobertura no 1° dia de vida útil. Observou-se que os tratamentos 4, 5, 6 e 7 mantiveram a firmeza dos cogumelos quando comparados com cogumelos sem cobertura, enquanto que, os tratamentos 1, 2 e 3 levaram à obtenção de menores valores de força de penetração. Isto poderia indicar que, neste estudo, baixa concentração de plastificante (15%) ou baixa concentração de biopolímero (3%) podem não ser suficientes para a formação de um revestimento homogêneo na superfície dos cogumelos e que coberturas preparadas combinando concentrações entre 4 e 5% de amido e entre 25 e 35% de glicerol foram mais eficazes em manter a firmeza de cogumelos frescos. Outros estudos têm mostrado resultados satisfatórios na manutenção da qualidade de produtos frescos quando aplicadas coberturas a base de amido de mandioca (CHIUMARELLI e HUBINGER, 2012; GARCIA et al., 2010) e de amido de tapioca (RIBEIRO et al., 2007), contendo concentrações do biopolímero $\leq 3\%$.

Alguns autores reportaram que coberturas elaboradas a base de amido com alto teor de amilose mostram-se eficazes em reduzir a perda de firmeza de morangos (GARCIA et al., 1998). De acordo com isso, o alto teor de amilose apresentado pelo amido de biri ($37,0 \pm 0,3$ g de amilose/100 g de amido seco) pode estar associado à manutenção da firmeza de cogumelos revestidos com as coberturas contendo as maiores concentrações de amido (4 e 5%).



Figura 5.12. Valores de força máxima de penetração obtidos no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Quando a força máxima de ruptura foi avaliada, observou-se que todas as formulações de cobertura foram eficazes para manter a textura dos cogumelos em termos de resistência à compressão, como pode ser evidenciado na Figura 5.13. Isso significa que as diferentes coberturas avaliadas não alteraram a característica natural do produto. Contudo, a maior força de ruptura foi obtida para os cogumelos revestidos com a cobertura contendo a maior concentração de amido e de plastificante (5 e 35% respectivamente). Isto pode estar associado à formação de uma camada mais grossa na superfície dos cogumelos, que limitou a troca de gases entre o produto e o ambiente da embalagem, inibindo, desta maneira, a atividade metabólica do produto fresco. Além disso, as coberturas apresentam resistência ao vapor de água, fato que reduz a desidratação e ajuda manter a

firmeza do produto fresco, como reportado por diferentes autores (NISPEROS-CARRIEDO, 1994; CHIUMARELLI et al., 2011; GARCIA, 2009, entre outros).



Figura 5.13. Valores de força máxima de ruptura obtidos no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Guillaume et al. (2010) avaliaram a textura de cogumelos frescos reportando como valor inicial $4 \pm 0,1$ N. Quando armazenado a 20°C e 80% de umidade relativa, a firmeza do produto diminuiu para 3,5; 2,9 e 2,5 no 3° dia de vida útil, quando armazenado em atmosfera modificada empregando papel revestido com cobertura de glúten de trigo, papel sem revestimento e filme comercial de PVC, respectivamente.

Simón et al. (2010) reportaram que a textura de cogumelos em termos de força máxima de cisalhamento (N) foi afetada pelas condições de embalagem avaliadas, sendo que quando empregado filme de PVC perfurado, cogumelos previamente lavados apresentaram menores forças de cisalhamento em comparação com cogumelos que não foram submetidos à lavagem. Entretanto, quando o filme de PVC não foi perfurado, a lavagem prévia dos cogumelos não mostrou efeito significativo na textura do produto. Os autores também reportaram que o efeito da embalagem de PVC perfurada foi evidenciado quando os cogumelos não foram submetidos à lavagem, uma vez

que maiores valores de força de cisalhamento foram obtidos para cogumelos sem lavar e embalados com o filme de PVC perfurado.

5.3.2.3. Taxa respiratória e composição gasosa

O objetivo da etapa 1 foi identificar no final da vida útil declarada pelo produtor (8 – 9 dias), qual formulação de cobertura deixava os cogumelos com propriedades mais próximas às do produto fresco (recém colhido). Desta maneira, a taxa respiratória (TR) de cogumelos revestidos com as diferentes formulações de cobertura de amido de biri (1 a 7) foi determinada no 8º dia de vida útil e comparada com a taxa respiratória de cogumelos sem cobertura (controle), determinada no 1º dia de vida útil (Figura 5.14). Observou-se que a aplicação das diferentes formulações de cobertura avaliadas incrementou a taxa de respiração dos cogumelos, sendo também evidenciado um incremento na quantidade de CO_2 liberada pelos cogumelos revestidos com cobertura (Figura 5.15). Este resultado leva a pensar que algum dos componentes da cobertura (amido ou glicerol) atuou como substrato para promover o aumento da atividade metabólica dos cogumelos, uma vez que estes apresentam uma estrutura esponjosa cujo tecido possui vários vazios, que podem facilitar a penetração desses componentes nos cogumelos.

Para estimar qual o papel que as coberturas de amido de biri e glicerol desempenham durante o processo de revestimento, uma maior compreensão da ultraestrutura e propriedades da superfície dos cogumelos seriam necessárias. Fockens e Meffert (1972) lançaram a hipótese de que o píleo (chapéu) dos cogumelos é coberto por uma monocamada de moléculas de água. Essa fina camada de água pode incentivar a introdução das soluções de cobertura para o interior dos cogumelos, como reportado por Hershko e Nussinovitch (1998) para coberturas elaboradas a partir de hidrocolóides. Segundo esses autores, como os cogumelos são imersos em um banho de cobertura, depois de um curto tempo, a solução de cobertura pode penetrar na textura esponjosa dos cogumelos através dos vazios abertos que caracterizam sua microestrutura e a maioria da penetração ocorreria a partir do lado do píleo. A quantidade de solução de cobertura que pode penetrar no tecido do cogumelo depende principalmente das propriedades da cobertura como viscosidade, tensão superfícial, padrão de fluxo, natureza hidrofóbica ou hidrofílica, pressão osmótica, e outros fatores relacionados a essas propriedades também se tornam importantes na tentativa de explicar a complexidade de um revestimento na superfície de uma estrutura esponjosa, como a apresentada pelos cogumelos (HERSHKO e NUSSINOVITCH, 1998).

Entre os tratamentos avaliados neste estudo, a maior taxa de respiração foi alcançada pelos cogumelos revestidos com a cobertura contendo a menor concentração de amido e a maior concentração de glicerol (3% e 35% respectivamente), os quais também apresentaram a menor quantidade de O_2 (18,8%) e a maior quantidade de CO_2 (1,58%) durante o teste de respiração.

Também foi observado que um incremento na concentração de glicerol de 15 a 35% (g / 100 g de amido seco) incrementou em 25% a taxa de respiração dos cogumelos, quando revestidos com coberturas contendo 3% de amido de biri (tratamentos 1 e 3) e um incremento de 7% quando revestidos com coberturas contendo 5% desse biopolímero (tratamentos 2 e 4). Enquanto que, um aumento na concentração de amido de 3 a 5% na formulação das coberturas levou à redução da taxa de respiração dos cogumelos em 2,4% quando empregado 15% de glicerol (tratamentos 1 e 2) e em 16,5% quando empregado 35% de glicerol (tratamentos 3 e 4). Os plastificantes como o glicerol, quando incorporados na elaboração de coberturas comestíveis, preenchem os espaços vazios na matriz polimérica, reduzindo os poros e microfissuras na superfície do revestimento. Isto promove uma barreira mais eficaz para as trocas gasosas e, em consequência, uma redução na taxa de respiração do produto revestido pode ser obtida, como reportado por Chiumarelli e Hubinger (2012) e Ribeiro et al. (2007), entre outros. Esses autores mostraram que, concentrações de plastificante de 1,5 e 2,0 g /100 g de solução de cobertura foram eficazes em reduzir significativamente a taxa de respiração de maças e morangos frescos, respectivamente. Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que, formulações de cobertura contendo uma concentração de plastificante menor que 15 g/100 g de amido seco (0,6 g/100 g de solução de cobertura) e de amido de biri maior que 5 g/100 g de solução, poderiam ser avaliadas com o intuito de reduzir a taxa de respiração de cogumelos frescos.



Figura 5.14. Taxas respiratórias (TR) obtidas no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Iqbal et al. (2009) reportaram menores taxas de respiração para cogumelos inteiros em função da temperatura e tempo de armazenamento: 20 ml de CO_2 /kg.h (no 7°dia de armazenamento a 4°C), 70 ml de CO_2 /kg.h (no 4° dia de armazenamento a 12°C) e 110 ml de CO_2 /kg.h (no 2° dia de armazenamento a 20°C), quando comparadas com as obtidas pelos cogumelos revestidos com as diferentes coberturas avaliadas neste estudo. Os autores reportaram que diferentes fatores internos e externos podem afetar a taxa de respiração dos produtos frescos como: o tipo de produto e a variedade, as condições de produção, o estágio de maturidade na colheita, o envelhecimento (tempo), temperatura, composição gasosa, e possíveis danos mecânicos (IQBAL et al., 2009).

Garcia et al. (2010) reportaram que a taxa de respiração de morangos minimamente processados diminuiu à medida que a concentração de fécula de mandioca na cobertura aumentou, sendo constatado que morangos revestidos com coberturas contendo as maiores concentrações de fécula de mandioca avaliadas (2% e 3%), trocaram menos O_2 e CO_2 com o ambiente, em função da formação de uma camada superficial mais grossa e homogênea na superfície das frutas.



Figura 5.15. Composição gasosa obtida durante o teste de respiração no 1º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e no 8º dia de vida útil para cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Como os cogumelos têm uma alta taxa de respiração, a modificação da composição gasosa no interior da embalagem ocorre de acordo com as propriedades de permeabilidade a gás do filme empregado. Classicamente, a modificação da atmosfera interna mostra uma diminuição da pressão parcial de O_2 e um aumento da pressão parcial de CO_2 na fase inicial, mas uma alta taxa de transmissão O_2 do filme empregado como material de embalagem pode impedir o esgotamento de O_2 (BARRON et al., 2002). Neste estudo, para todos os tratamentos avaliados constatou-se um teor de CO_2 entre 1,1 e 1,6% e de O_2 entre 18,8 e 19,5%, evidenciando-se que não houve geração de atmosfera modificada nos tratamentos avaliados.

De acordo com Lopez Briones et al. (1992), uma baixa concentração de CO_2 (até 2,5%) reduz o crescimento da flora mesofílica quando os cogumelos são armazenados a 10°C, enquanto que uma maior concentração de CO_2 é necessária para manter um nível aceitável na textura desse produto. Os autores também reportaram que a 10 °C, um nível de CO_2 superior a 5% pode retardar o escurecimento ou amarelamento. Kim et al. (2006) reportaram que mudanças na concentração de CO_2 para cogumelos inteiros e cortados revestidos de cobertura a base de quitosana e embalados em três tipos de filmes (duas poliolefinas e um PVC) apresentaram dois padrões de mudança na concentração de CO_2 , um estado de transição caracterizado por um pico na concentração de CO_2 nas primeiras 24 horas de armazenamento (exceto para a embalagem de PVC) e um estado de equilíbrio onde a concentração de CO_2 permaneceu relativamente constante. A modificação da atmosfera foi atribuída principalmente ao consumo de O_2 e geração de CO_2 durante a respiração dos cogumelos.

Cliffe-Byrnes e O' Beirne (2008) reportaram que a atividade respiratória de cogumelos fatiados foi inalterada em resposta à aplicação de agentes antimicrobianos (ClO₂ e H₂O₂) e a utilização de embalagens em atmosfera modificada (5% de CO₂). Os autores evidenciaram que quando os cogumelos foram armazenados a 4°C, a composição gasosa foi: 15% de O₂ e 5% de CO₂ para todos os tratamentos, mas quando a temperatura foi aumentada para 8°C, inferiores concentrações de O₂ e superiores concentrações de CO₂ foram obtidas para todos os tratamentos (7 - 9% de O₂ e 8 - 11% de CO₂).

Simón et al. (2010) reportaram que o tratamento combinado de lavagem com ácido cítrico e embalagem em atmosfera modificada: 6,9% de CO_2 e 2% de O_2 (no 1º dia de armazenamento) e 3,8% de CO_2 e 6,3% de O_2 (no 17º dia de armazenamento) resultou em uma redução efetiva da carga microbiana dos cogumelos durante 17 dias de armazenamento a 5°C.

5.3.2.4. Perda de peso

A Figura 5.16 mostra as perdas de peso dos cogumelos tratados com as diferentes formulações de cobertura a base de amido de biri e glicerol e dos cogumelos sem cobertura (controle) no 8° dia de vida útil quando armazenados a 5°C. Observou-se que a perda de peso dos cogumelos revestidos com coberturas elaboradas com baixa concentração de plastificante (15%) independentemente da concentração de amido (3 ou 5%) ou baixa concentração de amido (3%) não mostrou diferença significativa quando comparada com cogumelos sem cobertura (controle) como pode ser evidenciado para os tratamentos 1, 2 e 3. Entretanto, a aplicação de coberturas preparadas combinando concentrações entre 4 e 5% de amido e entre 25 e 35% de glicerol reduziram a perda de peso em 45,8% (tratamento 4) e em 54,6% (média dos tratamentos 5 a 7) em relação à perda de

peso apresentada pelos cogumelos controle. Estes resultados são coincidentes com os maiores valores de força máxima de penetração obtidos para os tratamentos 4 a 7 (item 6.3.2.2), os quais foram atribuídos à formação de um revestimento homogêneo na superfície dos cogumelos, quando foram aplicadas coberturas contendo concentrações intermediárias ou altas de amido e plastificante. Garcia et al. (1998) observaram que a aplicação de coberturas contendo glicerol como plastificante foi mais eficaz na redução da perda de peso que a cobertura contendo apenas amido de milho.

Cogumelos revestidos com cobertura de quitosana apresentaram valores de perda de peso similares aos obtidos neste estudo (3 - 7 g / 100 g) quando armazenados a 12°C durante 6 dias (KIM et al., 2006). Isto pode sugerir que as coberturas de amido de biri correspondentes aos tratamentos 4 a 7 foram eficazes em manter as características de qualidade de cogumelos armazenados a 4°C durante 8 dias. A perda de peso desde a superfície do cogumelo é causada pela perda de água à atmosfera, devido à diferença de pressão de vapor de água entre a superfície do produto e o meio ambiente e à perda de carbono devida à formação de CO₂ durante a respiração do produto. Os cogumelos são altamente perecíveis e têm uma vida muito curta devido a sua alta taxa de respiração, e a falta de uma estrutura epidérmica que atue como proteção ou barreira para evitar a perda excessiva de umidade e o ataque microbiano (KIM et al., 2006).



Figura 5.16. Porcentagem de perda de peso obtida no 8º dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e cogumelos revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Guillaume et al. (2010) reportaram valores de perda de peso de 1,75; 0,96 e 0,18% dia⁻¹ para cogumelos frescos armazenados a 20°C em atmosfera modificada induzida por papel, papel revestido com cobertura de glúten de trigo e filme comercial de PVC respectivamente. Os valores de perda de peso apresentados pelos cogumelos revestidos com as coberturas avaliadas neste estudo foram similares, sendo obtidos valores médios de 0,73% dia⁻¹ quando aplicada a cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol (tratamentos 5-7) e valores de 1,76% dia⁻¹ quando empregada menor concentração de amido (3%) e maior concentração de glicerol (35%) como evidenciado para o tratamento 3. Maiores valores de perda de peso (10% dia⁻¹) foram reportados por Manolopoulou et al. (2007) para cogumelos frescos armazenados a 18°C em bandejas de PVC.

5.3.2.5. Resistência à transferência de vapor de água

Os valores de resistência ao vapor de água dos cogumelos com e sem cobertura estão apresentados na Figura 5.17. Observou-se que cogumelos sem cobertura (controle) apresentaram maiores valores de resistência à transferência de vapor de água $(25,4 \pm 2,2 \text{ s. cm}^{-1})$ em comparação como os reportados por Garcia et al. (2010) para morangos (16,9 s. cm⁻¹) e menores aos reportados por Bierhals (2010) para abacaxi em fatias (36,6 s cm⁻¹). Também foi evidenciado que todas as formulações de cobertura de amido de biri avaliadas foram eficazes em incrementar significativamente (p<0,05) a resistência ao vapor de água dos cogumelos quando armazenados a 5°C.

Os maiores valores de RVA foram obtidos com a aplicação de coberturas preparadas com alta concentração de amido (4 - 5%) e alta concentração de glicerol (25 - 35%), as quais incrementaram em 131,8% (tratamento 4) e em 174,4% (média dos tratamentos 5 a 7) a resistência à transferência de vapor de água em relação à apresentada pelos cogumelos controle. Estes resultados são coincidentes com os maiores valores de força máxima de penetração e os menores valores de perda de peso obtidos para os tratamentos 4 a 7 (itens 5.3.2.2 e 5.3.2.4 respectivamente), os quais foram atribuídos à formação de um revestimento homogêneo na superfície dos cogumelos quando empregadas as concentrações de amido e plastificante mencionadas. Como discutido anteriormente os plastificantes são utilizados para aumentar a flexibilidade de filmes e coberturas, favorecendo a formação de um revestimento homogêneo na superfície do produto. As coberturas preparadas com baixa concentração de amido e/ou de glicerol (tratamentos 1 a 3) também foram eficazes em

aumentar a RVA dos cogumelos, obtendo-se menores mas significativos incrementos desta propriedades (71,3 - 85,4%). Apesar da alta taxa de respiração apresentada pelos cogumelos, características importantes na qualidade do produto fresco como a manutenção da firmeza e menor perda de peso evidenciadas no 8° dia de vida útil para cogumelos revestidos podem ser associadas com o efeito de barreira proporcionado pela aplicação das coberturas avaliadas.



Figura 5.17. Resistência à transferencia de vapor de agua determinada no 8° dia de vida útil para cogumelos sem cobertura (controle) e revestidos com diferentes formulações de cobertura de amido de biri e glicerol, respectivamente: (1) 3% e 15%, (2) 5% e 15%, (3) 3% e 35%, (4) 5% e 35% e (5, 6, 7) repetições no ponto central que correspondem a 4% de amido e 25% de glicerol

Oms-Oliu et al. (2008), reportaram aumentos significativos de 45% e 100% na RVA de pêras frescas revestidas com coberturas a base de alginato e gelana respectivamente, quando adicionadas de óleo de girassol, sendo evidenciado o efeito benéfico do componente hidrofóbico na formulação das coberturas.

5.3.3. Seleção e validação da formulação de cobertura comestível

Com base nos resultados discutidos nos itens 5.3.2.1 a 5.3.2.5, evidenciou-se que a aplicação da cobertura contendo 4% de amido de biri e 25% de glicerol (tratamentos 5 a 7) foi eficaz em diminuir a perda de peso dos cogumelos em 54,6%, mantendo a firmeza dos mesmos, uma vez que manteve-se a força máxima de penetração e aumentou-se em 5% a força máxima de ruptura. Além disso, as propriedades ópticas dos cogumelos não foram afetadas, já que não houve diferença significativa para os parâmetros luminosidade (L*) e croma (C*) e obtiveram-se os menores valores de diferença de cor em relação aos cogumelos sem cobertura (controle). Em relação à taxa de respiração do produto (TR), apesar de todos os tratamentos com cobertura (1 a 7) terem levado a um aumento da TR determinada no oitavo dia após aplicação da cobertura, os menores valores de TR foram apresentados pelos cogumelos revestidos com a cobertura mencionada. Os resultados obtidos para a RVA dos cogumelos também evidenciaram que a formulação de cobertura mencionada ofereceu uma maior barreira à transferência de vapor de água. Diante dos resultados mencionados, as concentrações de 4% de amido de biri e 25% de glicerol foram selecionadas como a melhor formulação de cobertura para ser aplicada em cogumelos frescos e avaliar nos dias 0, 4, 8, 12 e 15 de armazenamento a 5°C todas as propriedades analisadas anteriormente.

5.3.3.1 Cor

A coloração dos cogumelos durante o tempo de armazenamento foi avaliada através da luminosidade (parâmetro L*), diferença de cor (Δ E*), croma (C*) e tom (H*). Cogumelos tratados com cobertura contendo 4% de amido de biri e 25% de glicerol mostraram maiores valores de luminosidade ao longo do período de armazenamento quando comparados aos cogumelos sem cobertura (Figura 5.18). Para ambos os tratamentos foi observada uma diminuição da luminosidade, no caso do controle essa diminuição foi avançando a cada quatro dias, enquanto que para os cogumelos com cobertura, o parâmetro L* manteve-se constante entre o quarto e o oitavo dia da vida útil. Essa diferença pode ter contribuído ao fato de se obter uma luminosidade 23,6% maior para cogumelos com cobertura quando comparados com os cogumelos controle no 15° dia de armazenamento, constatando-se que a aplicação da cobertura levou a uma maior manutenção da luminosidade dos cogumelos durante 15 dias.



Figura 5.18. Valores de luminosidade obtidos para os cogumelos sem aplicação de cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)</p>

Nussinovitch e Kampf (1993) reportaram que coberturas contendo 2% de alginato foram eficazes em manter os valores de luminosidade dos cogumelos ($89,8 \pm 2,2$) no 4° dia e ($87,6 \pm 1,0$) no 6° dia quando comparados com cogumelos sem cobertura, os quais apresentaram uma redução 13,8% da luminosidade entre o 4° e 6° dia de armazenamento a 4°C.

Posteriormente, Hershko e Nussinovitch (1998) avaliaram a aplicação das coberturas de alginato em um período maior de tempo (até 19 dias) e reportaram que nos primeiros cinco dias não houve diferenças significativas nos valores de luminosidade obtidos para cogumelos sem cobertura (controle) e com cobertura, mas a partir do 7º dia, a luminosidade do controle diminuiu em 12,8% entanto que a aplicação da cobertura levou a uma diminuição de 2,8%. Nesse estudo também foi evidenciado que no período entre o 7º e 19º dia, os cogumelos com cobertura apresentaram maiores valores de L* e melhor aparência quando comparados com o controle, sendo que a formulação de cobertura contendo alginato, ergosterol e Tween apresentou os melhores resultados.
Cliffe-Bymes e O'Beirne (2008), reportaram que independentemente do tratamento empregado na lavagem de cogumelos (água ou ClO₂) avaliando diferentes tempos de lavagem e diferentes concentrações de ClO₂, a brancura (valores de L*) das superfícies interna e externa do píleo e a estipe de cogumelos em fatias diminuiu significativamente (p<0,05) quando o produto foi armazenado a 4°C durante 7 dias. O valor de luminosidade reportado no dia 7° do estudo foi de 86,9 para cogumelos submetidos à lavagem com água e de 86,9 a 90,8 para cogumelos submetidos à lavagem com água e de 86,9 a 90,8 para cogumelos no dia 8° para cogumelos com cobertura do presente estudo. Vários estudos têm demonstrado a eficácia de tratamentos de lavagem para inibir o escurecimento e controlar a deterioração causada por bactérias em cogumelos inteiros (CLIFFE-BYMES e O'BEIRNE, 2008; BRENNAN et al., 2000; SIMÓN et al., 2010).

Guillaume et al. (2010) reportaram que cogumelos em atmósfera modificada armazenados a 20 °C sofreram um rápido escurecimento, obtendo-se valores médios de L* de 74, 82 e 86 no 3° dia, quando empregados filme de PVC esticável, papel e compósito de papel revestido com cobertura de gluten de trigo respectivamente. Neste estudo também foi reportado o aparecimento de manchas castanho-escuro na superfície dos cogumelos a partir do 1° dia de armazenagem empregando o filme de PVC. O escurecimento foi atribuído à ação de enzimas enquanto as manchas foram associadas ao possível crescimento de *Pseudomonas*.

Outros estudos têm demonstrado que fatores como a temperatura e a umidade relativa do ar durante a armazenagem de cogumelos também podem afetar o processo de transição de cor branco para marrom. Aguirre et al. (2009) reportaram que as melhores condições para retardar o aparecimento da cor marrom no píleo (chapéu) dos cogumelos foram: a baixa temperatura (4 – 13°C) e alta umidade relativa do ar (próxima da saturação), sob estas condições a brancura dos cogumelos poderia ser mantida até por 4 dias.

Na Figura 5.19 pode-se observar que para ambos os tratamentos (controle e cobertura) houve um incremento de ΔE^* ao longo de 15 dias de armazenagem, mas os valores de ΔE^* foram significativamente menores (p<0,05) para cogumelos com cobertura quando comparados com os cogumelos controle durante o período avaliado, sendo evidenciado que no 15º dia o valor de ΔE^* foi 39% menor para cogumelos com cobertura quando comparados com trole. Estes resultados mostraram que a aplicação da cobertura selecionada favorece a manutenção da cor do produto, lembrando que o valor de ΔE^* é calculado tomando como referência os valores médios de L*, a* e b* do controle no tempo 0 (produto fresco sem tratamento), sendo $\Delta E^*= 0$ para cogumelos controle no tempo 0.



Figura 5.19. Valores de diferença de cor (ΔE*) obtidos para os cogumelos sem aplicação de cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)</p>

No 8° dia de armazenamento foi observado que o 50% das amostras controle (cogumelos sem cobertura) apresentaram alterações na cor pela presença de pontos cor rosa na parte superior do chapéu, o qual não foi observado nos cogumelos tratados com cobertura, evidenciando-se que o revestimento atuou como uma barreira de proteção contra um possível ataque microbiano.

Na Figura 5.20 pode-se observar que para ambos os tratamentos (controle e cobertura) houve um incremento do parâmetro croma (C*) ao longo do periodo de tempo avaliado, este comportamento acompanha os resultados discutidos anteriormente para diferença de cor (ΔE^*). Também foi evidenciado que os valores de C* de cogumelos controle e com cobertura não apresentaram diferença significativa (p<0,05) entre o 4º e 15º dia de armazenagem. O incremento do croma dos cogumelos deve-se ao incremento dos parâmetros a* e b*, indicando uma maior incidência das cores vermelho e amarelo ao longo do tempo respectivamente.

Cogumelos frescos contêm água, sais minerais, vitaminas, compostos fenólicos, e vários tipos de enzimas, incluindo polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD), catalase (CAT), lacase (LAC), fenilalanina amônia liase (PAL), celulase (CEL) e amilase. A atividade dessas enzimas pode provocar uma perda da qualidade sensorial e nutricional dos cogumelos. PAL, LAC, POD, CAT e PPO são enzimas fenólicas oxidativas, que causam o escurecimento em muitas frutas, legumes e outros alimentos e a presença de cada uma delas tem sido reportada em cogumelos (EISSA et al., 2007). A perda da brancura e o início de reações de descoloração durante o armazenamento de cogumelos é uma consequência da oxidação enzimática de substratos fenólicos a quinonas, que leva ao aparecimento de pigmentos escuros (melaninas). Um produto dessa oxidação em cogumelos é o orto-benzoquinona, um pigmento amarelo (JOLIVET et al., 1998).



□ Controle □ Cobertura

Figura 5.20. Valores de croma (C*) obtidos para os cogumelos sem aplicação de cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)

Em relação ao tom (H*) dos cogumelos, observou-se que para ambos os tratamentos (controle e cobertura) houve uma diminuição deste parâmetro a partir do 12° e 8° dia respectivamente (Figura 5.21). Quando ambos os tratamentos foram comparados em cada tempo, observou-se que a aplicação da cobertura levou a valores de H* significativamente maiores (p<0,05) aos dos cogumelos controle. Um comportamento similar foi reportado por Chiumarelli (2008) quando empregada cobertura de fécula de mandioca e glicerol em fatias de manga a partir do 9° dia de estocagem. Esse fato foi atribuído à difusão de água da cobertura para a fruta, uma vez que a água participa de reações enzimáticas que levam ao aumento da tonalidade da amostra.



Figura 5.21. Valores de tom (H*) dos cogumelos sem cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)

5.3.3.2 Propriedades Mecânicas

Na Figura 5.22 estão apresentados os valores de força máxima de penetração dos cogumelos sem e com a aplicação da cobertura selecionada. Foi evidenciada a perda de firmeza dos cogumelos para ambos os tratamentos sem apresentar diferença significativa entre eles até o 8º dia de

armazenagem. Mas ao final da vida útil (a partir do 12° dia) a aplicação da cobertura se mostrou eficaz em reduzir a perda de firmeza dos cogumelos, uma vez que os valores de força máxima de penetração foram 19 e 22% maiores em comparação aos apresentados pelos cogumelos controle no 12° e 15° dia respectivamente.

Zivanovic et al. (2000) estudaram as mudanças na textura de cogumelos *Agaricus bisporus* em função da composição química e a estrutura dos tecidos, reportando que a perda da firmeza dos cogumelos (diminuição na força de penetração) pode ser bem correlacionada com as perdas de proteínas e polissacarídeos na composição do produto. A glicose foi o monômero dominante entre os polissacarídeos da parede, e seu declínio, juntamente com a degradação da proteína coincidiu com o amolecimento da textura durante o 3º e 6º dia de armazenagem a 12°C.

O envelhecimento dos cogumelos resulta em uma textura suave e esponjosa caracterizada por um abrandamento dos tecidos, causada por uma perda de rigor celular e maturação (HAMMOND e WOOD, 1985). Guillaume et al. (2010) reportaram que a perda de firmeza deste produto foi evidenciada para três tipos de material de embalagem utilizados e além disso, correlacionaram o amolecimento dos cogumelos com os teores de CO_2 obtidos no interior de cada embalagem com atmosfera modificada, sendo observado que o nível mais elevado de CO_2 foi obtido quando empregado material compósito de papel e gluten de trigo (o qual levou a uma menor perda de firmeza) e menor nível de CO_2 foi evidenciado quando empregado filme de PVC comercial (que apresentou a maior perda de firmeza). Este efeito protetor do CO_2 já tinha sido constatado por outros pesquisadores (LOPEZ BRIONES et al., 1993; GONZALEZ-FANDOS et al., 2001; SIMÓN et al., 2005).



Figura 5.22. Valores de força máxima de penetração obtidos para os cogumelos sem aplicação de cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)</p>

Quando a força máxima de ruptura dos cogumelos foi avaliada em testes de compressão uniaxial (Figura 5.23), uma diminuição significativa desta propriedade foi observada para ambos os tratamentos (controle e cobertura), sendo que ao 15° dia de armazenagem, obteve-se uma redução de 59% da força máxima de ruptura para cogumelos controle entanto que para cogumelos com cobertura a redução foi de 42% em relação ao valor inicial (dia 0). Esta diferença deve-se ao fato de que os cogumelos com cobertura mostraram amolecimento da sua textura no 8° e 15° dias, enquanto que o amolecimento dos cogumelos controle foi evidenciado a partir do 4° dia, ou seja, durante os primeiros quatro dias, os valores de força máxima de ruptura para ambos os tratamentos não mostraram diferença significativa entre eles (p<0,05), mas a partir do 8° dia a cobertura de amido de biri foi eficaz em reduzir a perda de firmeza dos cogumelos.

A presença de glicerol como plastificante pode ter proporcionado maior elasticidade à cobertura, evitando assim o inicio da ruptura do tecido superficial do píleo (chapéu) à medida que o produto respira e com isso, a perda de unidade e possíveis ataques microbianos que afetam a firmeza dos cogumelos. Além disto, as coberturas apresentam resistência ao vapor de água, fato que reduz a desidratação e ajuda a manter a firmeza dos cogumelos (GARCIA, 2009).

Garcia et al. (1998), também reportaram uma diminuição na força de ruptura para morangos tratados com cobertura de amido de milho, glicerol e sorbitol e morangos sem tratamento (controle) em função do tempo de armazenamento. Contudo, os autores observaram que ambos os tratamentos (glicerol e sorbitol) apresentaram efeitos benéficos na retenção da firmeza dos morangos. O tipo e a concentração do plastificante mostraram efeitos significativos (p<0,05) na firmeza do produto.

Segundo Manolopoulou et al. (2007), o envelhecimento dos cogumelos é caracterizado por uma textura macia e esponjosa. O tecido da pele tendo uma estrutura de hifa (filamentos que formam o micélio dos fungos) não oferece muita resistência a uma força imposta e consequentemente, os valores obtidos para esta propriedade são pequenos em comparação com os de outros tecidos vegetais. A diminuição da firmeza dos cogumelos durante o armazenamento pode ser atribuída à perda de água, alterações na morfologia dos tecidos e autólise celular (MCGARRY e BURTON, 1994). O número de células túrgidas diminui, e a falta de coesão entre as células parece aumentar os espaços (EVERED e BURTON, 1995).



Figura 5.23. Valores de força máxima de ruptura obtidos para os cogumelos sem aplicação de cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)</p>

5.3.3.3 Taxa de respiração (TR) e composição gasosa

Na Figura 5.24 está apresentada a taxa de respiração de cogumelos sem cobertura (controle) e cogumelos tratados com a cobertura selecionada. As maiores taxas de respiração do produto foram evidenciadas no período entre 4° e 12° dia de armazenagem a 5°C para ambos os tratamentos. Também foi observado que durante os oito primeiros dias de vida útil a aplicação da cobertura não alterou significativamente (p<0,05) as taxas de respiração dos cogumelos quando comparadas com as apresentadas pelos cogumelos controle, mas no 12° dia, a TR dos cogumelos com cobertura foi significativamente maior (114,3 \pm 2,0 ml CO₂/kg h) em relação ao controle (95,1 \pm 2,5 ml CO₂/kg h). Na primeira etapa deste estudo foi evidenciado que a aplicação da cobertura não se mostrou eficaz em reduzir a taxa de respiração dos cogumelos, sendo esse fato associado a uma possível ação dos componentes da cobertura (amido ou glicerol) como substrato capaz de promover a atividade metabólica dos cogumelos.



Figura 5.24. Taxa de respiração (ml CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) dos cogumelos sem cobertura (controle) e tratados com cobertura comestível contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)

Para os cogumelos controle, observou-se que o teor de O_2 apresentou uma diminuição significativa no 4° dia de armazenagem (p<0,05) e para o resto do tempo o consumo de O_2 se manteve constante (19,5 – 19,8%) como pode ser evidenciado na Figura 5.25. Para os cogumelos revestidos com cobertura (Figura 5.26), a diminuição no teor de o2 foi estatisticamente significativa no 4° e 12° dia, refletindo o aumento da respiração do produto nesses dias. Quando comparados ambos os tratamentos (controle e cobertura), observou-se que os teores de O_2 ao longo de 15 dias de armazenamento não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). Já em relação ao teor de CO₂, evidenciou-se uma maior liberação deste gás para os cogumelos com cobertura principalmente no 12° dia de armazenagem, resultado associado à maior taxa de respiração obtida para esse dia.



Figura 5.25. Composição gasosa no interior das embalagens contendo cogumelos sem cobertura (controle) armazenados por 15 dias a 5°C



Figura 5.26. Composição gasosa no interior das embalagens contendo cogumelos tratados com a cobertura selecionada (4% de amido de biri e 25% de glicerol) e armazenados por 15 dias a 5°C

5.3.3.4 Perda de peso

As porcentagens de perda de peso de cogumelos com e sem cobertura estão apresentadas na Figura 5.27. Observou-se que a aplicação da cobertura atuou como barreira para reduzir a perda de peso dos cogumelos ao longo do tempo de armazenamento. Esta diferença entre os tratamentos foi significativa (p<0,05) a partir do 8° dia de armazenamento e se manteve até o final do período avaliado, sendo evidenciado que ao 15° dia de armazenamento, cogumelos com cobertura apresentaram uma perda de peso cumulativa de 17,1 ± 0,7% entanto que os controle perderam 21,8 ± 1,3% do seu peso inicial. Isto significa que a aplicação da cobertura elaborada a partir de 4% de amido de biri e 25% de glicerol levou a reduzir em um 22% a perda de peso do produto quando armazenado a 5°C durante 15 dias. Este fato deve-se ao aumento da dificuldade de migração da água para o ambiente provocado pela película formada sobre a superfície do produto.



Figura 5.27. Valores de perda de peso obtidos para cogumelos sem cobertura (controle) e tratados com cobertura contendo 4% de amido e 25% de glicerol. Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula no mesmo tempo de análise são estatisticamente iguais (p<0,05). Médias com a mesma letra maiúscula, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento, são estatisticamente iguais (p<0,05)

A perda de peso linear com o tempo tem sido reportada por diferentes pesquisadores e as taxas encontradas variam com as condições de armazenagem e o material de embalagem: 6%, (p/p) por dia para cogumelos armazenados a 18°C em cestas abertas (BURTON e NOBLE, 1993); 0,56% quando armazenados a 12°C em embalagens de polietileno (ROY et al., 1995) e 0,17 % a temperatura de 10°C em sacolas de polipropileno orientado micro-perfuradas (VAROQUAUX et al., 1999). No presente estudo, os cogumelos revestidos com cobertura de amido de biri e glicerol apresentaram uma perda de peso de 1,1% por dia. A perda de massa dos cogumelos embalados, que inclui matéria seca e umidade, está relacionada com os fenômenos de respiração e transpiração pós-colheita do produto fresco, crescimento microbiano e propriedades de barreira de vapor de água das embalagens (ROY et al, 1995; VAROQUAUX et al., 1999; GUILLAUME et al., 2010).

Nussinovitch e Kampf (1993) reportaram maiores valores de perda de peso $(21,3 \pm 1,7\%)$ para cogumelos com cobertura de alginato após 6 dias de armazenamento a 4°C quando comparados com os obtidos no presente estudo. Além disso, os autores reportaram que não obtiveram diferenças estatísticamente significativas (p<0,05) entre as perdas de peso apresentadas pelos cogumelos quando comparados três tratamentos (sem cobertura, com cobertura contendo 1%

de alginato e com cobertura contendo 2% de alginato), nas condições de tempo e temperatura de armazenamento mencionadas. Com base nos resultados reportados pelos autores, pode se ressaltar que a aplicação de coberturas de alginato em cogumelos levou a maiores valores de perda de peso por dia (~3,6%) quando comparados com os obtidos no presente estudo (1,1%), considerando que em ambos os estudos foi empregada temperatura de refrigeração durante o armazenamento do produto (4 e 5°C respectivamente).

Posteriormente, Hershko e Nussinovitch (1998) avaliaram coberturas de alginato (2%), alginato-ergosterol e alginato-ergosterol-Tween em cogumelos armazenados a 2-3°C e 70% de umidade relativa durante um periodo de 19 dias. Os autores reportaram que cogumelos sem revestimento perderam cerca de 20,1%, 27,4% e 39,2% do seu peso original durante a 3, 5 e 7 dias de armazenamento, respectivamente. Cogumelos revestidos com alginato perderam cerca de 2,2%, 10,8% e 24,3% durante a 3, 5 e 7 dias de armazenamento, respectivamente. Após 19 dias de armazenamento, os cogumelos não revestidos perderam cerca de 83% do seu peso inicial, entanto que as coberturas contendo alginato-ergosterol-Tween mostram-se mais eficientes em comparação com os outros revestimentos avaliados, já que os cogumelos revestidos com essa formulação apresentarm uma perda de peso de 64% no tempo total de armazenamento. Contudo, esses resultados mostram uma perda diária de peso de 3,5%, a qual é maior em comparação com a obtida neste estudo (1,1%).

5.3.3.5 Resistência à transferência de vapor de água (RVA)

Neste estudo, foi evidenciado que a aplicação de coberturas de amido de biri e glicerol em cogumelos frescos incrementaram em torno de 149,6% a resistência ao vapor de água do produto, sendo obtido um valor de $65,4 \pm 4,1$ g cm⁻¹ para cogumelos com cobertura e de $22,2 \pm 2,7$ g cm⁻¹ para cogumelos controle avaliados ao final da vida útil (15° dia). Este resultado poderia explicar a eficácia da cobertura selecionada na manutenção das características de qualidade avaliadas ao final da vida útil dos cogumelos, as quais foram discutidas anteriormente: menor perda de peso, firmeza em termos de força máxima de penetração e força máxima de ruptura.

Vários autores tem reportado a ação benéfica do uso de plastificantes como o glicerol para aumentar a resistência ao vapor de água de coberturas a base de polissacarídeos como fécula de milho e batata (GARCIA et al., 1998), alginato e gelana (ROJAS-GRAÜ et al., 2007b). Devido ao aumento na mobilidade das cadeias poliméricas, os plastificantes podem reduzir a formação de poros e rachaduras na cobertura, melhorando a uniformidade do revestimento e aumentando, consequentemente, a RVA (DONHOWE e FENNEMA 1993; GARCIA et al., 1998).

Bierhals (2010) avaliando a resistência ao vapor de água de fatias de abacaxi revestidas com coberturas a base de fécula de mandioca fécula (3%) reportou que o produto apresentou RVA levemente superior ao controle, no entanto, sem diferenças estatisticamente significativas. Contrário a esse resultado, as coberturas de alginato de sódio nas concentrações de 1 e 2%, levaram a aumento de 6 e 17% na RVA do produto respectivamente.

5.4 CONCLUSÕES

Quando empregada baixa concentração de glicerol (15%) menores valores de taxa de respiração foram evidenciados. Porém, menores valores de luminosidade e força máxima de penetração foram obtidos. Além disso, a perda de peso dos cogumelos revestidos com coberturas contendo essa concentração de plastificante, não mostrou diferença significativa em relação aos cogumelos controle, independentemente da concentração de amido (3 ou 5%) empregada, como evidenciado para os tratamentos 1, 2 e 3, os quais também apresentaram, entre todas as formulações avaliadas, os menores incrementos na resistência à transferência de vapor de água (~71,3%) quando comparados com os tratamentos 4 a 7 (132 - 174%).

Em geral, as formulações de cobertura de amido de biri aplicadas incrementaram a taxa de respiração dos cogumelos, sendo também evidenciado um incremento na quantidade de CO_2 liberada pelos cogumelos. Entre os tratamentos avaliados, a maior taxa de respiração (138,0 ± 2,5 ml de CO_2/kg h) foi alcançada pelos cogumelos quando aplicadas coberturas contendo baixa concentração de amido (3%) e alta concentração de glicerol (35%) correspondentes ao tratamento 3. Este resultado sugere que o emprego de 4-5% de amido de biri, concentrações inferiores a 15% de

plastificante e a incorporação de um composto antioxidante podem ser avaliadas em estudos futuros focados em reduzir a taxa de respiração e manter a brancura de cogumelos frescos.

Coberturas preparadas combinando concentrações entre 4 e 5% de amido e entre 25 e 35% de glicerol foram mais eficazes em manter a firmeza de cogumelos frescos, uma vez que levaram a reduzir em 54,6% a perda de peso dos mesmos, mostrando também os menores valores de ΔE^* em relação aos cogumelos controle. Desta maneira, coberturas comestíveis contendo 4% de amido de biri e 25% de glicerol mostraram ser a melhor formulação para manter durante 15 dias as principais características de qualidade de cogumelos frescos como brancura, firmeza e baixa perda de peso quando armazenados a 5°C.

Considerando que o tempo de vida útil de cogumelos frescos armazenados a diferentes temperaturas e empregando diferentes materiais de embalagem varia entre 4 e 12 dias, de acordo com a literatura consultada, neste estudo foi evidenciado que a aplicação de coberturas a base de amido de biri (4%) e glicerol (25%) apresenta-se como uma alternativa potencial para prolongar a vida útil deste produto até por 15 dias quando armazenados à temperatura de 5°C. Estes resultados devem ser complementados com futuros estudos sobre a qualidade microbiológica dos cogumelos tratados.

CONCLUSÕES GERAIS

A realização deste estudo demonstrou a potencialidade dos rizomas de biri (*Canna indica* L.) como fonte de amido e farelo que podem ser utilizados na elaboração de filmes biodegradáveis e coberturas comestíveis, uma vez que o amido apresentou um alto teor de pureza com elevado teor de amilose, o qual é desejável para a obtenção de estruturas poliméricas com boa resistência mecânica. O farelo, que atualmente é um subproduto da obtenção de amido em alguns países da Ásia e América Latina, apresentou um interessante teor de celulose quando comparado com outros materiais lignocelulósicos como o farelo de mandioca, o que levou à sua escolha como matéria prima para a obtenção de nanofíbras de celulose. Ambas as aplicações desses materiais conduziram ao aproveitamento integral dos rizomas de biri, cujas condições de cultura (clima, altitude, perenidade, solo e ciclo) os tornam facilmente adaptáveis em países tropicais como o Brasil, e potencialmente utilizáveis em diversas aplicações na indústria de alimentos (como revestimentos comestíveis para frutas, hortaliças ou fungos comestíveis) e/ou na elaboração de embalagens biodegradáveis.

A elaboração de microcompósitos de amido de biri e celulose microcristalina, assim como os resultados da caracterização dos mesmos permitiu a seleção de um método eficaz para a incorporação do material de reforço na matriz de amido, como também facilitou a escolha da concentração de material de reforço que promovia a melhora das propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e da solubilidade dos filmes de amido. Estes resultados foram valiosos, uma vez que a concentração e o método de incorporação de materiais de reforço no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis constituem o objeto de contínuas pesquisas com interesse crescente na utilização de materiais lignocelulósicos provenientes de resíduos agrícolas.

Neste trabalho foram obtidas fibras de tamanho nanométrico a partir do farelo de biri. Os processos desenvolvidos para a obtenção dessas nanofibras se mostraram eficazes na remoção de componentes amorfos presentes no farelo, aumentando a cristalinidade do material e levando também à obtenção de cargas superficiais eletronegativas nas nanofibras. Essas características de tamanho, cristalinidade e carga superficial são de extrema importância para conseguir uma boa dispersão e adesão do reforço (nanofibras) na matriz polimérica.

As três etapas estudadas como variáveis de processo na obtenção das nanofibras de biri demonstraram influenciar as características físico-químicas das nanofibras obtidas: o tipo de agente oxidante empregado na etapa de deslignificação afetou principalmente a cor e a carga superficial das nanopartículas, o tipo de ácido empregado influenciou a cristalinidade e o tratamento mecânico mostrou um efeito favorável para aumentar a carga eletronegativa das nanofibras. Estes resultados são promissores para o estudo de materiais lignocelulósicos que podem ser aproveitados a partir de fontes similares ao biri, como algumas raízes e tubérculos ainda não explorados neste campo.

Diferentemente dos resultados apresentados por vários autores na área de nanomateriais obtidos a partir de biopolímeros, a incorporação de nanofibras de biri na matriz de amido da mesma fonte vegetal levou ao incremento da tensão de ruptura dos nanocompósitos sem afetar significativamente a elongação à ruptura dos mesmos, favorecendo a obtenção de nanocompósitos com melhor resistência mecânica quando comparados com filmes de amido de biri.

As propriedades que melhor evidenciaram o efeito benéfico das nanofibras na matriz de amido foram: a permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e absorção de umidade, uma vez que a incorporação de 5% de nanofibras de biri levou a uma diminuição significativa das três propriedades. Estes resultados foram associados às características físico-químicas das nanofibras obtidas, concentração na matriz polimérica, eficácia do método de incorporação das mesmas e, sobretudo, a boa compatibilidade entre biopolímeros de uma mesma fonte para a elaboração de nanocompósitos.

Finalmente, demonstrou-se o potencial de utilização do amido de biri na elaboração e aplicação de coberturas comestíveis, uma vez que foi possível identificar e validar uma formulação de cobertura capaz de manter algumas características de qualidade, por um período de 15 dias, de um produto altamente perecível como cogumelos frescos. Cronologicamente esse estudo foi realizado antes do estudo de obtenção de nanofibras, portanto os resultados obtidos ao longo desta pesquisa permitiram identificar a potencialidade de aplicação de coberturas à base de amido e nanofibras em outros produtos frescos, visto que a compatibilidade desses biopolímeros e a metodologia desenvolvida para o preparo da solução filmogênica poderiam conferir uma excelente barreira ao vapor de água do produto.

240

SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

O uso de materias biodegradáveis é o desafio do futuro. Entre eles, microfibras e nanofibras de celulose têm demonstrado um potencial interessante como reforço em compósitos. A partir dos resultados obtidos com a realização do presente trabalho foram identificadas as seguintes linhas de ação para futuras pesquisas nesta área:

Avaliação das propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos em função da concentração de nanofibras, abordando também o estudo de isotermas de sorção.

Determinação da permeabilidade ao oxigênio dos microcompósitos e nanocompósitos a fim de identificar possíveis aplicações como materiais de embalagem e/ou coberturas comestíveis.

Estudo de degradação em solo e de estabilidade dos microcompósitos e nanocompósitos durante seu armazenamento e/ou utilização, submetendo-os a diferentes condições de radiação UV, luz solar, oxigênio e umidade.

Exploração de tratamentos enzimáticos do farelo de biri para a obtenção de nanofibras e determinação de suas propriedades, comparando-as com as propriedades das nanofibras obtidas no presente estudo. Nesta abordagem, avaliar a eficiência na produção das nanofibras por tratamento enzimático e possíveis vantagens como reduzir os resíduos gerados pelo tratamento químico e o uso de energia, ganhariam maior interesse na utilização dessas nanofibras.

Estimativa da vida útil de produtos frescos quando revestidos com cobertura à base de amido de biri, incorporando menor concentração de plastificante, nanofibras de biri e um composto antioxidante, incluindo análises microbiológicas no estudo.

REFERÊNCIAS

- ABE, K.; YANO, H. Comparison of the characteristic of cellulose microfibril aggregates of wood, rice straw and potato tuber. **Cellulose.** v.16, p.1017-1023, 2009.
- AGUIRRE, L.; FRIAS, J. M.; BARRY-RYAN, C.; GROGAN, H. Assessing the effect of product variability on the management of the quality of mushrooms (*Agaricus bisporus*). Postharvest Biology and Technology, v.49, p.247-254, 2008.
- AGUIRRE, L.; FRIAS, J. M.; BARRY-RYAN, C.; GROGAN, H. Modelling browning and brown spotting of mushrooms (Agaricus bisporus) stored in controlled environmental conditions using image analysis. Journal of Food Engineering, v.91, p.280-286, 2009.
- AHMADI, R.; KALBASI-ASHTARI, A.; OROMIEHIE, A.; YARMAND, M-S.; JAHANDIDEH, F. Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata Forsk*). Journal of Food Engineering, v.109, p.745-751, 2012.
- AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review. **LWT-Food Science and Technology**, v.43, p.837-842, 2010.
- AJLOUNI, S. O. Quality characteristics of two type hybrids of the cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the improvement of their shelf life using stipe trimming and gamma irradiation. Pennsylvania, 1991. 142p. Tese de Doutorado, Pennsylvania State University.
- AKERHOLM, M.; HINTERSTOISSER, B.; SALMÉN, L. Characterization of the crystalline structure of cellulose using static and dynamic FT-IR spectroscopy. Carbohydrate Research, v.339, p.569-578, 2004.
- ALBERT, S.; MITTAL, G. S. Comparative evaluation of edible coatings to reduce fat uptake in a deepfat fried cereal product. **Food Research International**, v.35, p.445-458, 2002.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues Wheat straw and soy hulls. **Bioresource Technology**, v.99, p.1664-1671, 2008a.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. **Composite Science and Technology**, v.68, p.557-565, 2008b.
- ALONSO, A. A.; MORAES-DALLAQUA, M. A. Morfoanatomia do sistema caulinar de *Canna indica* L. Kerr-Gawler (*Cannaceae*). **Revista Brasil Botânica**, v.27, p.229-239, 2004.
- ALRIOLS, M. G.; TEJADO, A.; BLANCO, M.; MONDRAGON, I.; LABIDI, J. Agricultural palm oil tree residues as raw material for cellulose, lignin and hemicelluloses production by ethylene glycol pulping process. **Chemical Engineering Journal,** v.148, p.106-114, 2009.

- ALVAREZ, V. A.; VÁSQUEZ, A. Influence of fiber chemical modification procedure on the mechanical properties and water absorption of MaterBi-Y/sisal fiber composites. Composites: Part A, v.37, p.1672-1680, 2006.
- ALVAREZ, V. A.; RUSECKAITE, R. A.; VAZQUEZ, A. Degradation of sisal fibre/mater Bi-Y biocomposites buried in soil. **Polymer Degradation and Stability**, v.91, p.3156-3162, 2006.
- ALVES, R. M. V.; JAIME, S. B. M.; GONÇALVES, M. P.; SUZUKI, P. W. Embalagens plásticas para produtos farmacêuticos: avaliação das propriedades de barreira à luz. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v.29, p.169-180, 2008.
- AMASH, A.; ZUGENMAIER, P. Morphology and properties of isotropic and oriented samples of cellulose fibres-polypropylene composites. **Polymer**, v.41, p.1589-1596, 2000.
- ANANTHESWARAN, R. C.; ROY, S. Factors affecting shelf life of fresh mushrooms. In: SANCHEZ-VAZQUEZ J. E.; ROYSE, D. (Eds.). Manual for the cultivation of Pleurotus. Mexico: ECOSUR, 2002. p.239.
- ANDERSSON, R.; WESTERLUND, E.; AMAN, P. Cell-Wall Polysaccharides: Structural, Chemical, and Analytical Aspects. In: ELIASSON, A-C. (Ed.). Carbohydrates in Foods. Boca Raton: CRC Press, 2006. p.129-166.
- ANDRADE-MAHECHA, M. M. Elaboração e caracterização de biofilmes de farinha de biri (*Canna indica L.*). 2009. 158p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- ANGLES, M. N.; DUFRENSE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural analysis. **Macromolecules**, v.33, p.8344-8353, 2000.
- ANGLES, M. N.; DUFRENSE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites materials. 2. Mechanical behavior. **Macromolecules**, v.34, p.2921-2931. 2001.
- AOAC, Official Methods of Analysis (18th edn). Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC (2005).
- ARAKI, J.; WADA, M.; KUGA, S.; OKANO, T. Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v.142, p.75-82, 1998.
- ARAUJO, J. R.; WALDMAN, W. R.; DE PAOLI, M. A. Thermal properties of high density polyethylene composites with natural fibres: Coupling agent effect. Polymer Degradation and Stability, v.93, p.1770-1775, 2008.
- ARAUJO, Patrícia Cecília. Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) da variedade "Real". 2008.303 p. Tese (Doutorado

em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

- ARAUJO-FARRO, P. C.; PODADERA, G.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. Carbohydrate Polymers, v.81, p.839-848, 2010.
- ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. **Carbohydrate Polymers**, v.38, p.47-58, 1999.
- ARYEE, F. N. A.; ODURO, I.; ELLIS, W. O.; AFUAKWA, J. J. The physicochemical properties of flour samples from the roots of 31 varieties of cassava. **Food Control**, v.17, p.916-922, 2006.
- ASTM. (1995). Designation E 96-95: Standard method for water vapor transmission of materials. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- ASTM. (1999). Designation D 644-99: Standard test method for moisture content of paper and paperboard by oven drying. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- ASTM. (2002). Designation D 882-02: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- ATARÉS, L.; BONILLA, J.; CHIRALT, A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v.100, p.678-687, 2010.
- AVÉROUS, L., FRINGANT, C., MORO, L. Plasticized starch-cellulose interactions in polysaccharide composites. **Polymers**, v.42, p. 6565-6572, 2001.
- AZEREDO, H. M. C.; MATTOSO, L. H., C.; WOOD, F.; WILLIAMS, T. G.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; McHUGH, T. H. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. Journal of Food Science, v.74, p.31-35, 2009.
- AZIZI SAMIR, M. A. S.; ALLON, F.; DUFRENSE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite Field. **Biomacromolecules.** v.6, p.612-626, 2005.
- BANWELL, C. N. (1983). Fundamentals of Molecular Spectroscopy. London: McGraw-Hill, 1983. 382p.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; JULIANO, P.; PELEG, M. Engineering Properties of Foods. In: Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford ,UK, 2005. Disponível em: http://www.eolss.net/Sample-Chapters/C10/E5-10-01.pdf> Acesso em: 12 abr. 2010.

- BARRON, C.; VAROQUAUX, P.; GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GOUBLE, B. Modified atmosphere packaging of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus* L.) with hydrophilic films. Journal of Food Science, v.67, p.251-255, 2002.
- BECK-CANDANEDO, S.; ROMAN, M.; GRAY, D. G. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. **Biomacromolecules**, v.6, p.1048-1054, 2005.
- BEN-YEHOSHUA, S.; BURG, S. P.; YOUNG, R. Resistance of citrus fruit to mass transport of water vapor and other gases. **Plant Physiology**, v.79, p.1048, 1985.
- BERGLUND, L. Cellulose-Based Nanocomposites. In: MOHANTY A. K. M. M.; DRZAL, L. (Editor). Natural fibers, biopolymers, and biocomposites. Taylor & Francis, 2005. p.807-832.
- BERGO, P.V.A.; CARVALHO, R.A.; SOBRAL, P.J.A.; DOS SANTOS, R.M.C.; DA SILVA, F.B.R.; PRISON, J.M.; SOLORZA-FERIA, J.; HABITANTE, A.M.Q.B. Physical properties of edible films base on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. Packaging Technology and Science, v.21. p.85-89, 2008.
- BERKÜN, D.; BALKÖSE, D.; TIHMINLIOĞLU, F.; ALTINKAYA. S. A. Sorption and diffusion of water vapour on edible films. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.94, p.683-686, 2008.
- BHARDWAJ, N. K.; DUONG, T. D.; HOANG, V.; NGUYEN, K. L. Determination of fiber charge components of Lo-Solids unbleached kraft pulps. Journal of Colloid and Interface Science, v.274, p.543-549, 2004a.
- BHARDWAJ, N. K.; DUONG, T. D.; NGUYEN, K. L. Pulp charge determination by different methods: effect of beating/refining. Colloids and Surfaces A: Physiochemical and Engineering Aspects, v.236, p.41-46, 2004b.
- BHARDWAJ, N. K.; KUMAR, S.; BAJPAI, P. K. Effects of processing on zeta potential and cationic demand of kraft pulps. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v.246, p. 121-125, 2004c.
- BIERHALS, V. S. Estudo de vida útil de abacaxis (Ananas Comosus L. Merril CV 'Pérola') minimamente processados em rodelas com coberturas comestíveis. 2010. 161p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- BIERHALS, V. S.; CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Effect of Cassava Starch Coating on Quality and Shelf Life of Fresh-Cut Pineapple (*Ananas Comosus* L. Merril cv "Pérola"). Journal of Food Science, v.76, p. 62-72, 2011.

- BILBA, K.; OUENSANGA, A. Fourier transform infrared spectroscopic study degradation of sugar cane bagasse. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, v.38, p.61-73, 1996.
- BILBAO-SAINZ, C.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WOOD, D.; WILLIAMS, T. G.;, McHUGH, T. H. Composite Edible Films Based on Hydroxypropyl Methylcellulose Reinforced with Microcrystalline Cellulose Nanoparticles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.58, p.3753-3760, 2010.
- BISANDA, E. T. N.; ANSELL, M. P. Properties os sisal-CNSL composites. Journal of Material Science, v.27, p.1690-1700, 1992.
- BLEDZKI, A. K.; MAMUN, A. A.; LUCKA-GABOR, M.; GUTOWSKI,V. S. The effects of acetylation on properties of flax fibre and its polypropylene composites. eXPRESS Polymer Letters, v.2, p.413-422, 2008.
- BLIGH, E. G; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, v.37, p.911-917, 1959.
- BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. **Cellulose**, v.13, p.171-180, 2006.
- BONDESON, D.; OKSMAN, K. Dispersion and characteristics of surfactant modified cellulose whiskers nanocomposites. **Composites Interfaces**, v.14, p.617-630, 2007.
- BORGES, J. P.; GODINHO, M. H.; MARTINS, A. F, TRINDADE, A. C.; BELGACEM, M. N. Cellulose based composite films. **Mechanics of Composites Materials**, v.37, p.257-64, 2001.
- BRAGA, G. C.; EIRA, A. F. L.; CELSO, G. P. Manual de cultivo de *Agaricus blazei* Murril " cogumelo do sol". Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1998. 44p.
- BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Química Nova**, v.24, p.819-829, 2001.
- BRAUN, B.; DORGAN, J. R.; CHANDLER, J. P. Cellulosic nanowhiskers. Theory and application of light scattering from polydisperse spheroids in the Rayleigh–Gans–Debye Regime. Biomacromolecules, v.9, p.1255-1263, 2008.
- BREENE, W. M. Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. Journal of Food Protection, v.53, p.883-894, 1990.
- BRENNAN, M.; LE PORT, G.; GORMLEY, R. Postharvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. LWT – Food Science and Technology, v.33, p.285-289, 2000.
- BRUNNSCHWEILER, J.; LUETHI, D.; HANDSCHIN, S.; FARAH, Z.; ESCHER, F.; CONDE-PERIT,
 B. Isolation, physicochemical characterization and application of yam (*Dioscorea spp.*) starch as thickening and gelling agent. Starch/Stark, v.57, p.107-117, 2005.

- BURTON, K. S.; FROST, C. E.; NICHOLS, R. A combination plastic permeable film system for controlling postharvest mushroom quality. **Biotechnology Letters**, v.9, p.529-534, 1987.
- BURTON, K.S.; NOBLE, R. The influence of flush number, bruising and storage temperature on mushrooms quality. **Postharvest Biology and Technology**, v.3, p.39-47, 1993.
- CAEL, J. J.; KOENIG, J. L.; BLACKWELL, J. Infrared and Raman Spectroscopy of carbohydrates. Part VI: Normal coordinate analysis of V-amylose, **Biopolymers**, v.14, p.1885-1903, 1975.
- CAICEDO, G.; RENGIFO, G.; WUICHES, L. R. El cultivo de la achira: Una alternativa de produccion, diversificacion y mejoramiento de ingresos para el pequeño productor. **CORPOICA-PRONATA (Colômbia)**, 2003.
- CANEVAROLO, S.V. Jr. Ciência dos Polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Paulo: Artliber Editora, 2002. p. 174.
- CANTIANI, R. L.; KNIPPER, M. P.; VASLIN, S. S. Use of Cellulose Microfibrils in Dry Form in Food Formulations. Patent No.: 6,485,767 B1, Boulogne-Billancourt (França), 26 nov. 2002.
- CAO, X.; CHEN,Y.; CHANG, P. R.; STUMBORG, M.; HUNEAULT, M. A. Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. Journal of Applied Polymer Science, v.109, p.3804-3810, 2008a.
- CAO, X.; CHEN, Y,; CHANG, P. R.; MUIR, A. D.; FALK, G. Starch-based nanocomposites reinforced with flax cellulose nanocrystals. **eXPRESS Polymer Letters**, v.2, n.7, p.502–510, 2008b.
- CARRASCO, E. U.; TUDESCA, M. V.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. C. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum Annuum* L) durante el almacenamiento. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v.52, p.84-90, 2002.
- CASTRO, C. F. Inter-relações das famílias das Zingiberales. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental. v.1, p.2-11, 1995.
- CASTRO, C.; PALENCIA, A.; GUTIÉRREZ, I.; VARGAS, G.; GAÑÁN, P. Determination of optimal alkaline treatment conditions for fique fiber bundles as reinforcement of composites materials.
 Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia, v.30, p.136-142, 2007.
- CHANG, P. R.; JIAN, R.; ZHENG, P.; YU J.; MA, X. Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. Carbohydrate Polymers, v.79, p.301-305, 2010.
- CHANSRI, R; PUTTANLEK, C.; RUNGSADTHONG, V.; UTTAPAP, D. Characteristics of clear noodles prepared from edible Canna Starches. Journal of food Science, v.70, p.337-342, 2005.
- CHAKRABORTY, A.; SAIN, M.; KORTSCHOT, M. Reinforcing potential of wood pulp-derived microfibers in a PVA matriz. **Holzforschung**, v.60, p.53-58, 2006.

- CHEETHAM, N. W. H.; TAO, L. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. **Carbohydrate Polymers**, v.36, p.277–284, 1998.
- CHEN, S.-L.; WANG, S.; LUCIA, L. A. New insights into fundamental nature of lignocellulosic fiber surface charge. Journal of Colloid and Interface Science, v.275, p.392-397, 2004.
- CHEN, Y.; LIU, C.; CHANG, P.; CAO, X.; ANDERSON, D. P. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: Effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers,** v.76, p. 607-615, 2009a.
- CHEN,Y.; LIU,C.; CHANG, P. R.; ANDERSON, D. P.; HUNEAULT, M. A. Pea starch-based composite films with pea hull fibers and Pea hull fiber-derived nanowhiskers. Journal Engineering and Science, DOI 10.1002/pen.21290, 2009b.
- CHERIAN, B. M.; POTHAN, L. A.; NGUYEN-CHUNG, T.; MENNIG, G.; KOTTAISAMY, M.; THOMAS, S. A novel method for the synthesis of cellulose nanofibril whiskers from banana fibers and characterization. Journal Agricultural and Food Chemestry, v.56, p.5617-5627, 2008.
- CHILLO, S.; FLORES, S.; MASTROMATTEO, M.; CONTE, A.; GERSCHENSON, L.; DEL NOBILE, M. A. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. Journal of Food Engineering, v.88, p.159-168, 2008.
- CHIUMARELLI, M. Avaliação da vida útil de manga (mangifera indica cv 'tommy atkins') minimamente processada pré-tratada com ácido cítrico e coberturas comestíveis. 2008. 102
 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- CHIUMARELLI, M.; PEREIRA, L. M.; FERRARI, C. C.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. Cassava Starch Coating and Citric Acid to Preserve Quality Parameters of Fresh-Cut "Tommy Atkins" Mango. Journal of Food Science, v.75, 2010.
- CHIUMARELLI, M.; FERRARI, C.; SARANTÓPOULOS, C. I.G.L.; HUBINGER, M. D. Fresh cut 'Tommy Atkins' mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. Innovative Food Science & Emerging Technologies, v.12, p.381-387, 2011.
- CHIUMARELLI,M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch – Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. Food Hydrocolloids, v.28, p.59-67, 2012.

- CHUAYJULJIT, S.; SU-UTHAI, S.; TUNWATTANASEREE, C.; CHARUCHINDA, S. Preparation of microcrystalline cellulose from waste-cotton fabric for biodegradability enhancement of natural rubber sheets. Journal of Reinforced Plastics and Composites. v. 28, p. 1245-1254, 2009.
- CHUAYJULJIT, S.; SU-UTHAI,S.; CHARUCHINDA, S. Poly (vinyl chloride) film filled with microcrystalline cellulose prepared from cotton fabric waste: properties and biodegradability study. Waste Management & Research, v.28, p.109-117, 2010.
- CISNEROS, F. H.; ZEVILLANOS, R.; CISNEROS-ZEVILLANOS, L. Characterization of Starch from two Ecotypes of Andean Achira Roots (Canna edulis). Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.57, p.7363-7368, 2009.
- CLIFFE-BYRNES, V.; O'BEIRNE, D. Effects of washing treatment on microbial and sensory quality of modified atmosphere (MA) packaged fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus*). Postharvest Biology and Technology, v.48, p.283-294, 2008.
- CLOWES F. A. L.; JUNIPER, B. E. Plant cell. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 1968, 546p.
- COLTRO, L. Embalagens plásticas transparentes: com ou sem barreira à luz?. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens,** v.14, p.1-5, 2002.
- CORAL, D. F.; PINEDA-GOMEZ, P.; ROSALES-RIVERA, A.; RODRIGUEZ-GARCIA, M. E. Determination of the gelatinization temperature of starch presented in maize flours. Journal of Physics: Conference Series, v.167, 012057. doi:10.1088/1742-6596/167/1/012057, 2009.
- CRANK, J. (1975). The Mathematics of Diffusion. London: Oxford University Press. p. 4.
- DE AZEREDO H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. Food Research International, v.42, p.1240-1253, 2009.
- CUNHA, V.; CARVALHO, M. R. Consumo de cogumelos na nutrição humana: Uma revisão da literatura. **Comunicação em Ciências da Saúde,** v.18, p.315-322, 2007.
- CURVELO, A. A. S., CARVALHO, A. J. F., AGNELLI, J. A. M. Thermoplastic starch-cellulosic fibers composites: preliminary results. **Carbohydrate Polymers**, v.45, p.183-188, 2001.
- DA LUZ, S. M.; GONÇALVES, A.; DEL'ARCO, A. P. J. Microestrutura e Propriedades Mecânicas de Compósitos de Polipropileno Reforçado com Celulose de Bagaço e Palha de Cana. Revista Matéria, v.11, p.101-110, 2006.
- DAMASCENO, S.; OLIVEIRA, P. V. S.; MORO, E.; MACEDO JR, E. K.; LOPES, M. C.; VICENTINI, N. M. Efeito da aplicação de película de fécula de mandioca na conservação póscolheita de tomate. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.23, p.377-380, 2003.

- DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.42, p. 2871-2875, 1994.
- DEEPA, B.; ABRAHAM, ELDHO, CHERIAN, B. M.; BISMARCK, A.; BLAKER, J. J.; POTHAN, L. A., LEAO, A. L.; DE SOUZA, S. F.; KOTTAISAMY, M. Structure, morphology and thermal characteristics of banana nano fibers obtained by steam explosion. Bioresource Technology, v.102, p.1988–1997, 2011.
- DEL NOBILE, M. A.; FAVA, P.; PIERGIOVANNI, L. Water transport properties of cellophane flexible films intended for food packaging applications. **Journal of Food Engineering,** v.53, p.295-300, 2002.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v.39, p.945-954, 2009.
- de PAULI, P. A. Avaliação da composição química, compostos bioativos e atividade antioxidante em cogumelos comestíveis. Araraquara, 2010. 73p. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- DIAS, A. B. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz. 2008. 103p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) -Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- DIAS, A. B.; MÜLLER, C. M. O., LAROTONDA, F. D. S.; LAURINDO, J. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. Journal of Cereal Science, v.51, p.213-219, 2010.
- DIEMAIR W, Laboratoriumsbuch fur Lebensmittelchemiker, 8 aufl. Verlag Von Theodor Steinkopff, Drisden (1963).
- DINAND, E.; CHANZY, H.; VIGNON, M. R. Parenchymal cell cellulose from sugar beet pulp: Preparation and properties. **Cellulose**, v.3, p.183-188, 1996.
- DOGAN, N.; MCHUGH, T. H. Effects of Microcrystalline Cellulose on Functional Properties of Hydroxy PropylMethyl Cellulose Microcomposite Films. Journal of Food Science, v.72, p.16-22, 2007.
- DONG, X. M.; REVOL, J-F.; GRAY, D. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose. Cellulose, v.5, p.19-32, 1998.
- DONHOWE, Y. G.; FENNEMA, O. R. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. Journal of Food Processing and Preservation, v.17, p.247-257, 1993.
- DUCHEMIN, B.; STAIGER, M. P. Treatment of Harakeke fiber for biocomposites. Journal of Applied Polymer Science. v.112, p.2710-2715, 2009.

- DUFRESNE, A.; CAVAILLE, J.; VIGNON, M. Mechanical behavior of sheets prepared from sugar beet cellulose microfibrils. Journal of Applied Polymer Science, v.64, p.1185-1194, 1997.
- DUFRESNE, A.; VIGNON, M. R. Improvement of starch film performances using cellulose microfribils. **Macromolecules.** v.31, p.2693-2696, 1998.
- DUFRESNE, A.; DUPEYRE, D.; VIGNON, M. R. Cellulose microfibrils from potato tuber cells: Processing and characterization of starch–cellulose microfibril composites. Journal of Applied Polymer Science, v.76, p.2080-2092, 2000.
- DUFRESNE, A.; PAILLET, M.; PUTAUX, J. L.; CANET, R.; CARMONA, F.; DELHAES, P.; CUI, S. Processing and characterization of carbon nanotube/poly (styrene-co-butyl acrylate) nanocomposites. Journal of Materials Science, v.37, p.3015-3023, 2002.
- DUFRESNE, A. Comparing the mechanical properties of high performances polymer nanocomposites from biological sources. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v.6, p.322-330, 2006.
- EICHHORN, S. J.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; MARCOVICH, N. E.; CAPADONA, J. R.;
 ROWAN, S. J.; WEDER, C.; THIELEMANS, W.; ROMAN, M.; RENNECKAR, S.; GINDL,
 W.; VEIGEL, S.; KECKES, J.; YANO, H.; ABE, K.; NOGI, M.; NAKAGAITO, A. N.;
 MANGALAM, A.; SIMONSEN, J.; BENIGHT, A. S.; BISMARCK, A.; BERGLUND, L. A.;
 PEIJS, T. Review: current international research into cellulose nanofibras and nanocomposites.
 Journal of Materials Science, v.45, p.1-33, 2010.
- EISSA, H. A. A. Effect of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut mushroom. Journal of Food Quality, v.30, p.623-645, 2007.
- EISSA, H. A. A. Effect of chitosan coating on shelf-life and quality of fresh-cut mushroom. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, v.58, p.95-105, 2008.
- ELAZZOUZI-HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J.-L.; HEUX, L.; DUBREUIL, F.; ROCHAS, C. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. **Biomacromolecules**, v.9, p.57-65, 2008.
- EMBRAPA. RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos. (2009). Disponível em </br>

- EVERED, C. E.; BURTON, K. S. Cryo-SEM study of changes in tissue anatomy of harvested sporophores of Agaricus bisporus. **Mushroom Science**, v.14, p.717-721, 1995.
- FABIAN, H.; SCHULTZ, C. P. Fourier transform infrared spectroscopy in peptide and protein analysis. In: Encyclopedia of Analytical Chemistry, Ed.: Meyers, R.A., John Wiley & Sons Ltd., Chichester, pp. 5779-5803, 2000.

- FAGURY, R. V. G. Avaliação de fibras naturais para a fabricação de compósitos: Açaí, coco e juta.
 80p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) Universidade Federal do Para, Belém, 2005.
- FAKHOURI F. M.; FONTES, L. C.; GONÇALVES, P.V.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. Ciência e Tecnologia Alimentaria, Campinas, v.27, p.369-375, 2007.
- FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. Trends in Food Science and Technology, v.22, p.292-303, 2011.
- FAMÁ, L.; GERCHENSON, L.; GOYANES, S. Starch-vegetable fibre composites to proyect food products. Carbohydrate Polymers, v.75, p.230-235, 2009.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em <http://faostat.fao.org>. Acesso em 23 de Agosto de 2009.
- FAVIER, V.; CHANZY, H.; CAVAILLE, J. Y. Polymer Nanocomposites Reinforced by Cellulose Whiskers. Macromolecules, v.28, p.6365-6367, 1995.
- FILSON, P. B.; DAWSON-ANDOH, B. E. Sono-chemical preparation of cellulose nanocrystals from lignocellulose derived materials. Bioresource Technology, v.100, p.2259–2264, 2009.
- FLORES, S.; CONTE, A.; CAMPOS, C.; GERSCHENSON, L.; DEL NOBILE, M. Mass transport properties of tapioca-based active edible films. Journal of Food Engineering, v.81, p.580-586, 2007.
- FOELKEL, C. Diferenciando Polpas de Mercado e Papéis de Eucalipto através da Gestão de Finos
 Celulósicos da Polpa, 2009. Disponível em: http://www.eucalyptus.com.br/eucaliptos/PT17_Finoscelulosicos.pdf. Accesso em: 26 Agos. 2011.
- FOCKENS, F. H.; MEFFERT, H. F. T. Biophysical properties of horticultural products as related to loss of moisture during cooling. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.23, p.285-298, 1972.
- FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMIENTO, S. B. S. Propriedades gerais do amido. Campinas: Fundação Cargill, 2001. 224p. (Série: culturas de tuberosas amiláceas latinoamericanas. V.1).
- FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; PASCOAL NETO, C.; GANDINI, A.; MARTIN, L.; MONDRAGON, I. Composites based on acylated cellulose fibers and lowdensity polyethylene:

effect of the fiber content, degree of substitution and fatty acid chain length on final properties. **Composites Science and Technology,** v.68, p.3358-3364, 2008.

- FUNKE, U.; BERGTHALLER, W.; LINDHAUER, M. G. Processing and characterization of biodegradable products based on starch. Polymer Degradation and Stability, v.59, p.293-296, 1998.
- FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. Revista Instituto Adolfo Lutz, v.64, p.149-154, 2005.
- FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27, p.154-157, 2007.
- GAÑÁN, P.; CRUZ, J.; GARBIZU, S.; ARBELAIZ, A.; MONDRAGON, I. Stem and bunch banana fibers from cultivation wastes: Effect of treatments on physico-chemical behavior. Journal of Applied Polymer Science, v.94, p.1489-1495, 2004.
- GAÑÁN, P.; MONDRAGÓN, I. Effect of fiber treatments on mechanical behavior of short fique fiberreinforced polyacetal composites. **Journal of Composite Materials**, v.39, p.633-646, 2005.
- GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria* x *Ananassa*) quality and stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.3758-3767, 1998.
- GARCIA, N. L.; FAMÁ, L.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; GOYANES, S. A comparison between the physico-chemical properties of tuber and cereal starches. Food Research International, v.42, p.976-982, 2009.
- GARCIA, L. C. Aplicação de coberturas comestíveis em morangos minimamente processados.
 2008. 120 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- GARCIA, L. C.; PEREIRA, L. M. SARANTÓPOULOS, C. I. G. DE LUCA. HUBINGER, M. D. Selection of an Edible Starch Coating for Minimally Processed Strawberry. Food and Bioprocess Technology, v.3, p.834-842, 2010.
- GARDNER, D. J.; OPORTO, G. S. MILLS, R.; AZIZI SAMIR, M. A. S. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. Journal of Adhesion Science and Technology. v.22, p.545-567, 2008.
- GENÇCELEP, H.; UZUN, Y.; TUNÇTÜRK, Y.; DEMIREL, K. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. **Food Chemistry**, v.113, p.1033-1036, 2009.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANDA, M. A.; FRONING, G. W. Mechanical properties of egg albumen films. Journal of Food Science, v.61, p.585-589, 1996.

- GEORGE, J.; SREEKALA, M. S.; THOMAS, S. A review on interface modification and characterization of natural fiber reinforced plastic composites. Polymer Engineering and Science, v.41, p.1471-1485, 2001.
- GHALI, L.; MSAHLI, S.; ZIDI, M.; SAKLI, F. Effect of pre-treatment of luffa fibres on the structural properties. **Materials Letters**, v.63, p.61-63, 2009.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. Journal of Food Science, v.57, p.190-195, 1992.
- GONZALEZ-FANDOS, E.; GIMENEZ, M.; OLARTE, C.; SANZ, S.; SIMON, A. Effect of packaging conditions on the growth of micro-organisms and the quality characteristics of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) stored at inadequate temperatures. Journal of Applied Microbiology, v.89, p.624-632, 2001.
- GONZALEZ-FANDOS, E.; SIMÓN, A.; TOBAR, V. Quality and Shelf life of packaged fresh sliced mushrooms stored at two different temperatures. Agricultural and Food Science, v.15, p.414-422, 2006.
- GRANDE, C. J.; TORRES, F. G.; GOMEZ, C. M.; TRONCOSO, O. P.; CANET-FERRER, J.; MARTÍNEZ-PASTOR, J. Development of self-assembled bacterial cellulose–starch nanocomposites. Materials Science and Engineering C, v.29, p.1098-1104, 2009.
- GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. Food Additives and Contaminants, v.14, p.741-751, 1997.
- GUILLAUME, C.; SCHWAB, I.; GASTALDI, E.; GONTARD, N. Biobased packaging for improving preservation of fresh common mushrooms (*Agaricus bisporus* L.). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.11, p.690-696, 2010.
- GUIMARÃES, J. L.; WYPYCH F.; SAUL, C. K.; RAMOS, L. P; SATYANARAYANA, K. G. Studies of the processing and characterization of corn starch and its composites with banana and sugarcane fibers from Brazil. **Carbohydrate Polymers**, v.80, p.130-138, 2010.
- GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v.49, p.425-437, 2002.
- HABIBI, Y.; FOULON, L.; AGUIÉ-BÉGHIN, V.; MOLINARI M.; DOUILLARD, R. Langmuir-Blodgett films of cellulose nanocrystals:Preparation and characterization. Journal of Colloid and Interface Science, v.316, p.388-397, 2007.
- HAIR, J. F. Jr.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. Análise Multivariada de dados.
 5^a Ed. Porto Alegre: ARTMED editora S.A., 2005. 593p.

- HAMMOND, J. B. W.; WOOD, D. A. (1985). In: P. B. FLEGG, D. M. SPENCER, & D. A. WOOD (Eds.), **The biology and the technology of the cultivated mushrooms** (pp. 63–80). New York: John Wiley and Sons.
- HAUGAARD, V. K.; MORTENSEN, G. Biobased food packaging. In: MATTSON, B.; SONESSON,U. Enviromentally-friendly Food Processing. New York (USA): CRC Press, 2003. Cap.11.
- HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P. Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morangos (*Fragaria ananassa Duch*) cv IAC Campinas. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.19, p.231-233, 1999.
- HENRIQUES, G. S.; SIMEONE, M. L. F.; AMAZONAS, M. A. L. A. Avaliação in vivo da qualidade protéica do champignon do Brasil (*Agaricus brasiliensis Wasser et al.*) Revista de Nutrição, v.21, p.535-543, 2008.
- HERMANN, M. Arracacha and achira processing and product development. CIP Centro International de la Papa, Progress report 6310, Quito Ecuador, Mimeograph 8p. 1994.
- HERMANN, M.; QUYNH, N. K.; PETERS, D. Reappraisal of edible Canna as a high-value starch crop in Vietnam. Lima: Centro Internacional de la Papa, p.415-424, 1997-1998.
- HERNÁNDEZ, O.; EMALDI, U.; TOVAR, J. In vitro digestibility of edible films from various starch sources. **Carbohydrate Polymers**, v.71, p.648-655, 2008.
- HERSHKO, V.; NUSSINOVITCH, A. Relationships between Hydrocolloid Coating and Mushroom Structure. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.46, p.2988-2997, 1998.
- HEUX, L.; DINAND, E.; VIGNON, M.R. Structural aspects in ultrathin cellulose microfibrils followed by 13C CP-MAS NMR. **Carbohydrate Polymers**, v.40, p.115-124, 1999.
- HINTERSTOISSER, B.; SALMÉN, L. Application of dynamic 2D FTIR to cellulose. Vibrational Spectroscopy, v.22, p.111-118, 2000.
- HON, D. N. S. Cellulose: A random walk along its historical path. Cellulose, v.1, n.1, p.1-25, 1994.
- HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v.45, p.253-67, 2001.
- HORVATH, A. E.; LINDSTRÖM, T. Indirect polyelectrolyte titration of cellulosic fibers-Surface and bulk charges of cellulosic fibers. Nordic Pulp and Paper Research Journal, v.22, p.87-92, 2007.
- HUBBE, M. A.; ROJAS, O. J.; LUCIA, L. A.; SAIN, M. Cellulosic nanocomposites: A review. **Bioresources**, v.3, p.929-980, 2008.
- HUNG, P. V.; MORITA, N. Physicochemical properties and enzymatic digestibility of starch from edible canna (*Canna edulis*) grown in Vietnam. **Carbohydrate Polymers**, v.61, p.314-321, 2005.

- International Organization for Standardization. Norme internacionale: Riz détermination de la teneur en amilose, 1987, 4p. (ISO 6647).
- HUNTERLAB. Aplication note: CIEL* a* b* color scale. Virginia, v. 8, 1996.
- IAL INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Metodos fisico-quimicos para analise de alimentos. Procedimentos e determinações gerais. São Paulo, 2008, 1020p.
- IPT/SENAI. Celulose e Papel. Tecnología de fabricação da pasta celulósica. São Paulo, 2a edição, v.I, 1988.559p.
- IQBAL T.; RODRIGUES, F. A. S.; MAHAJAN, P. V.; KERRY, J. P. Effect of time, temperature, and slicing on respiration rate of mushrooms. **Journal of Food Science**, v.74, p.298-303, 2009.
- IWAMOTO, S.; ABE, K.; YANO, H. The Effect of Hemicelluloses on Wood Pulp Nanofibrillation and Nanofiber Network Characteristics. Biomacromolecules, v.9, p.1022–1026, 2008.
- IWATAKE A.; NOGI M.; YANO, H. Cellulose nanofiber reinforced polylactic acid. Composites Science and Technology, v.68, p.2103-2116, 2008.
- JÄÄSKELÄINEN, A.-S.; POPPIUS-LEVLIN, K. Carbohydrates in peroxyacetic acid bleaching. Int. Pulp Bleaching Conf., Helsinki, Finland, June 1-5, Book 2, p.423-428, 1998.
- JANARDHNAN, S.; SAIN, M. M. Isolation of cellulose microfibrils- An enzymatic approach. **BioResources**, v.1, p.176-188, 2006.
- JAYARAMAN, K. Manufacturing sisal-polypropylene composites with minimum fibre degradation. **Composites Science and Technology,** v.63, p.367-374, 2003.
- JEONG, S. C.; JEONG, Y. T.; YANG, B. K.; ISLAM, R.; KOYYALAMUDI, S. R.; PANG, G.; CHO, K. Y.; SONG. C. H. White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hyper-cholesterolemic rats. Nutrition Research, v.30, p.49-56, 2010.
- JIN, A. X.; REN, J. L.; PENG, F.; XU, F.; ZHOU, G. Y.; SUN, R. C.; KENNEDY, J. F. Comparative characterization of degraded and non-degradative hemicelluloses from barley straw and maize stems: Composition, structure, and thermal properties. Carbohydrate Polymers, v.78, p.609-619, 2009.
- JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. Carbohydrate Polymers, v.71, p.343–364, 2008.
- JOLIVET S.; ARPIN, N.; WICHERS, H. J.; PELLON, G. *Agaricus bisporus* browning: A review. Mycological Research, v.102, p.1459-1483, 1998.

- JOLY, C.; GAUTHIER, R.; ESCOUBES, M. Partial masking of cellulosic fiber hydrophilicity for composite applications. Water sorption by chemically modified fibers. Journal of Applied Polymer Science, v.61, p.57-69, 1996.
- JORDAN, J.; JACOB, K. I.; TANNENBAUM, R.; SHARAF, M. A.; JASIUK, I. Experimental trends in polymer nanocomposites: a review. Materials Science & Engineering A, v.393, p.1–11, 2005.
- KEENAN, T. M.; TANENBAUM, S. W.; NAKAS, J. P. Biodegradables polymers from renewable forest resources. In: SMITH, R. Biodegradable polymers for industrial applications. Boca Raton (USA): CRC Press, 2005. p.219-250.
- KIM, B. S. Almacenamiento y procesado de los hongos. In: Manual del cultivador de Hongos 1.
 Korea: Mushworld, 2005. Disponível em: http://www.hongoscomestibles-latinoamerica.com/P/P/oyster%20bien/capitulo%209%20pag.%20208-213.pdf>. Acesso em: 29 fev. 2012.
- KIM, K. M.; KO, J. A.; LEE, J. S. PARK, H. J.; HANNA, M. A. Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of coated, whole and sliced mushrooms. LWT- Food Science and Technology, v.39, p.364-371, 2006.
- KIM, Y.; JUNG, R.; KIM, H. S.; JIN, H. J. Transparent nanocomposites prepared by incorporating microbial nanofibrils into poly(L-lactic acid). **Current Applied Physics**, v.9, p.69-71, 2009.
- KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, p.3912-3918, 2002.
- KOMPANY, E.; RENÉ, F. A note on the freeze-drying conditions for improved aroma retention in cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*). LWT – Food Science and Technology, v.28, p.238-240, 1995.
- KONDO, T. Hydrogen Bonds in Cellulose and Cellulose Derivates. In: Dumitriu, S. (Ed.).
 Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility, CRC Press, 2004. Disponível em: http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9781420030822.ch3.
- KORHONEN, H. Technology options for new nutritional concepts. International Journal of Dairy Technology, v.55, p.79-88, 2005.
- KRAMER, M. E. Structure and Function of Starch-Based Edible Films and Coatings. In: EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. (Eds). Edible Films and Coatings for Food Applications. New York: Springer, 2009. p.115.
- KRIMM, S.; BANDEKAR J. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides, and proteins. Advances in Protein Chemistry, v.38, p.181-364, 1986.

- KROCHTA, J. M.; MULDER-JHONSTON, L. C. Biodegradable polymers from agriculture products, in: Agricultural Materials as Renewable Resources (Eds. G. Fuller, T. A. Mc Keon, D. D. Bills) American Chemical Society, Washington, 1996.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JHONSTON, L. C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technology, v.51, n.2, p.61-74, 1997.
- KRUEGER, B. R.; KNUTSON, C. A.; INGLETT, G. E.; WALKER, C. E. A differential scanning calorimetry study on the effect of annealing on gelatinization behaviour of corn starch. Journal of Food Science, v.52, p.715–718, 1987.
- KVIEN, I.; TANEM, B. S.; OKSMAN, K. Characterization of Cellulose Whiskers and Their Nanocomposites by Atomic Force and Electron Microscopy. Biomacromolecules, v.6, p.3160-3165, 2005.
- LARES, M.; PÉREZ, E. Determination of the Mineral Fraction and Rheological Properties of Microwave Modified Starch from Canna Edulis. Plant Foods for Human Nutrition, v.61, p.109-113, 2006.
- LEITNER, J.; HINTERSTOISSER, B.; WASTYN, M.; KECKES, J.; GINDL, W. Sugar beet cellulose nanofibril-reinforced composites. **Cellulose**, v.14, p.419–425, 2007.
- LEONEL, M.; SARMENTO, S.; CEREDA, M. P.; GUERREIRO, L. Extração e Caracterização do amido de Biri (*Canna edulis*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p.27-32, 2002.
- LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v.27, p.579-588, 2007.
- LEVIS, S. R.; DEASY, P. B. Production and evaluation of size reduced grades of microcrystalline cellulose. International Journal of Pharmaceutics, v.213, p.13-24, 2001.
- LIANG, C. Y.; MARCHESSAULT, R. H. Infrared spectra of crystalline polyssacharides. II. Native celluloses in the region from 640 to 1700 cm⁻¹. **Journal of Polymer Science**, v.39, p.269-278, 1959.
- LI, X. F.; DING, E. Y.; LI, G. K. A method of preparing spherical nano-crystal cellulose with mixed crystalline forms of cellulose I and II. Chinese Journal of Polymer Science, v.19, p.291-296, 2001.
- LIM, L-T.; TUNG, M.A. Vapor pressure of allyl isothiocyanate and its transport in PVDC/PVC copolymer packaging film. Journal of Food Science, v.62, p.1061-1066, 1997.
- LJUNGBERG, N., BONINI, C., BORTOLUSSI, F., BOISSON, C., HEUX, L., & CAVAILLE, J. Y. New nanocomposite materials reinforced with cellulose whiskers in atactic popypropylene: effect of surface and dispersion characteristics. **Biomacromolecules**, v.6, p.2732-2739, 2005.

- LOPEZ BRIONES, G.; VAROQUAUX, P.; CHAMBROY, Y.; BOUQUANT, J.; BUREAU, G.; PASCAT, B. Storage of common mushroom under controlled atmospheres. International Journal of Food Science and Technology, v.27, p.493-505, 1992.
- LOPEZ BRIONES, G.; VAROQUAUX, P.; BUREAU, G.; PASCAT, B. Modified atmosphere packaging of common mushroom. International Journal of Food Science and Technology, v.28, p.57-68, 1993.
- LOUIS, G. L.; ANDREWS, B. A. K. Cotton/Milkweed blends: A novel textile product. Textile Research Journal, v.57, p.339-345, 1987.
- LOURDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydrate polymers,** v.27, p.261-270, 1995.
- LOUREIRO, P. E. G.; DOMINGUES, E. F.; EVTUGUIN, D. V.; CARVALHO, M. G. V. S. ECF bleaching with a final hydrogen peroxide stage: Impact of the chemical composition of *Eucalyptus globulus* kraft pulps. **BioResources**, v. 5, n.4, p.2567-2580, 2010.
- LU, Y.; WENG, L.; CAO, X. Biocomposites of plasticizes starch reinforced with cellulose crystallites from cottonseed linter. **Macromolecular Bioscience**, v.5, p.1101-1107, 2005.
- LU, Y., WENG, L., CAO, X. Morphological, thermal and mechanical properties of ramie crystallitesreinforced plasticized starch biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v.63, p.198-204, 2006.
- LUO, H.L.; LIAN, J. J.; WAN, Y. Z.; HUANG, Y.; WANG, Y. L.; JIANG, H. J. Moisture absorption in VARTMed three-dimensional braided carbon–epoxy composites with different interface conditions. Materials Science and Engineering A, v.425, p.70-77, 2006.
- MA, X.; YU, J.; KENNEDY, J. F. Studies on the properties of natural fibers-reinforced thermoplastics starch composites. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.19-24, 2005.
- MAAS-VAN DE KAMER, H. MAAS, P. J. M. The Cannaceae of the world. **Blumea**, v.53, p.247-318, 2008.
- MAHAJAN, P. V.; RODRIGUES, F. A. S.; MOTEL, A.; LEONHARD A. Development of a moisture absorber for packaging of fresh mushrooms (*Agaricus bisporous*). Postharvest Biology and Technology, v.48, p.408-414, 2008a.
- MAHAJAN P. V.; OLIVEIRA, F. A. R.; MACEDO I. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. Journal of Food Engineering, v.84, p.281-288, 2008b.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. Semina: Ciências Agrárias, v.31, p.137-156, 2010.
- MANOLOPOULOU, E.; PHILIPPOUSSIS, A.; LAMBRINOS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Evaluation of productivity and postharvest quality during storage of five *Agaricus bisporus* strains. Journal of Food Quality, v.30, p.646-663, 2007.
- MANZI, P.; GAMBELLI, L.; MARCONI, S.; VIVANTI, V.; PIZZOFERRATO, L. Nutrients in edible mushrooms: an interspecies comparative study. **Food Chemistry**, v.65, p.477-482, 1999.
- MARCOVICH, N. E.; REBOREDO, M. M.; ARANGUREN, M. I. FTIR spectroscopy applied to woodflour. **Composite Interfaces**, v.4, p.119-132, 1996.
- MARTELLI, S. M.; MOORE, G.; PAES, S. S.; GANDOLFO, C.; LAURINDO, J. B. Infuence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. LWT – Food Science and Technology, v.39, p.292-301, 2006.
- MARTIN, A. R.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C.; SILVA, O. R. R. F. Caracterização Química e Estrutural de Fibra de Sisal da Variedade *Agave sisalana*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.19, p.40-46, 2009.
- MATHEW A. P.; DUFRESNE, A. Morphological investigation of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. **Biomacromolecules**, v.3, p.609-617, 2002.
- MCGARRY, A.; BURTON, K.S. Mechanical properties of the mushroom *Agaricus bisporus*. **Mycological Research**, v.98, p.241-245, 1994.
- McGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. HortScience, v.27, p.1254-1255, 1992.
- MEGIATTO JUNIOR, J. D. Fibras de Sisal: Estudo de propriedades e modificação química visando aplicações em compósitos de matriz fenólica. 2006. 267p. Tese Doutorado em Ciências (Físicoquímica) – Instituto de Química, Universidade São Carlos, São Carlos, 2006.
- MEGIATTO, J. D. JR.; RAMIRES, E. C.; FROLLINI, E. Phenolic matrices and sisal fibers modified with hydroxy terminated polybutadiene rubber: Impact strength, water absorption, and morphological aspects of thermosets and composites. Industrial Crops and Products, v.31, p.178-184, 2010.
- MELLEMA, M. Mechanism and reduction of fat uptake in deepfat fried foods. Trends in Food Science and Technology, v.14, p.364-373, 2003.
- MICHALOWSKI, R. J.; CHRISTIANSEN, S. H.; MYERS, J.; WILSON, D. A. The Dow Chemical Company (United States). Bleaching of cellulosic pulps using hydrogen Peroxid. Patent number: 4,732,650, 22 mar.1988.
- MILLER, K. S., & KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. **Trends in Food Science and Technology,** v.8, p.228-237, 1997.

- MISHRA, S.; MOHANTY, A. K.; DRZAL, L. T.; MISRA, M.; HINRICHSEN, G. A review on Pineapple leaf fibers, sisal fibers and their composites. **Macromolecules Materials and Engineering**, v.289, p.955-974, 2004.
- MITCHELL, A. J. FTIR spectroscopic studies of the reactions of wood and lignin model compounds with inorganic agents. **Wood Science Technology**, v.27, p.69–80, 1993.
- MOHAMAD IBRAHIM, M. N.; AHMED-HARAS, M. R.; SIPAUT, C. S.; ABOUL-ENEIN, H. Y.; MOHAMED, A. A. Preparation and characterization of a newly water soluble lignin graft copolymer from oil palm lignocellulosic waste. Carbohydrate Polymers, v.80, p.1102–1110, 2010.
- MOHAN, D.; PITTMAN, C. U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review. Energy & Fuels, v.20, p.848-889, 2006.
- MOHAPATRA, D.; BIRA, Z. M.; FRIAS, J. M.; KERRY, J. P.; RODRIGUES, F. A. Probabilistic shelf life assessment of white button mushrooms through sensorial properties analysis. LWT - Food Science and Technology, v.44, p.1443-1448, 2011.
- MOORE, G. R. P.; MARTELLI, S. M.; GANDOLFO, C.; SOBRAL, P. J. A.; LAURINDO, J. B. Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.975-982, 2006.
- MORÁN, J.; ALVAREZ, V. A.; CYRAS, V. P.; VÁSQUEZ, A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. **Cellulose**, v.15, p.149-159, 2008.
- MOREIRA, M. R. Natureza das interações celulose-água. 2009. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- MORENO, G. Proyecto de producción del cultivo de Sagú (Canna edulis., Familia Cannáceas) en el Municipio Jaúregui, Estado Táchira. Proyecto para FUNDACITE-TÁCHIRA (Venezuela). p. 2-17, 2006.
- MORILLON, V.; DEBEAUFORT, F.; BOND, G.; CAPELLE, M.; VOLLEY, A. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.42, p.67-89, 2002.
- MOORTHY, S. N.; LARSSON, H.; ELIASSON, A. Rheological characteristics of different tropical root starches. **Starch/Stärke**, v.60, p.233-247, 2008.
- MORRISON, W. R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. **Cereal Food World,** v.40, p.437-446, 1995.
- MOUSAVIOUN, P.; DOHERTY, W.O.S. Chemical and thermal properties of fractionated bagasse soda lignin. Industrial Crops and Products, v.31, p.52-58, 2010.

- MÜLLER, C. M. O. Estudo dos processos de transferência de massa e propriedades mecânicas de biofilmes de amido de mandioca reforçados com fibras de celulose. 2007. 151p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.
- MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.1328-1333, 2009a.
- MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-based films at different relative humidity values. Carbohydrate Polymers, v.77, p.293-299, 2009b.
- MUSSATTO, S. I.; ROCHA, G. J. M.; ROBERTO, I. C. Hydrogen peroxide bleaching of cellulose pulps obtained from brewer's spent grain. **Cellulose**, v.15, p.641–649, 2008.
- NADA, A. M. A.; EL-KADY, M.; EL-SAYED, E. S.; AMINE, F. M. Preparation and characterizacion of microcrystalline cellulose (MCC). **BioResources**, v.4, p.1359-1371, 2009.
- NARAYAN, R.; PETTIGREW, C. A. 1999. ASTM Standards: help and a new industry. ASTM J.S.N. Feb. 1999: 1-7.
- NETO, M. M. J. Estatística multivariada. Revista de Filosofia e Ensino. 9 maio 2004. Disponível em: http://criticanarede.com/cien_estatistica.html. Acesso em: 05 nov. 2004.
- NEWMAN, R. H.; STAIGER, M. P. Cellulose nanocomposites. In: PICKERING, K. L. (Ed.). **Properties and performance of natural-fibre composites.** CRC Press, USA, 2008. p. 209-217.
- NICHOLS, R.; HAMMOND, J. B. W. Storage of mushrooms in pre-packs: The effect of changes in carbon dioxide and oxygen on quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.24, p.1371-1381, 1973.
- NIELSEN, L. E. Models for the permeability of filled polymer systems. Journal of Macromolecular Science Part A, v.1, p.929-942, 1967.
- NISHINO, T.; MATSUDA, I.; HIRAO, K. All-cellulose Composite. Macromolecules, v.37, p.7683-7687, 2004.
- NISIZAWA, K. Mode of action of cellulases. Journal of Fermentation Technology, v.51, p.267-304, 1973.
- NUSSINOVITCH, A.; KAMPF, N. Shelf-life extention and conserved texture of alginate-coated mushrooms (*Agaricus bisporus*). Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v.26, p.469-475, 1993.
- NUWAMANYA, E.; BAGUMA, Y.; EMMAMBUX, N.; RUBAIHAYO, P. Crystalline and pasting properties of cassava starch are influenced by its molecular properties. African Journal of Food Science, v.4, p.8-15, 2010.

- OMS-OLIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. **Postharvest Biology and Technology,** v.50, p.87-94, 2008.
- OVIEDO, C.; RODRÍGUEZ, J. EDTA: The chelating agent under environmental scrutiny. **Química** Nova, v.26, p.901-905, 2003.
- OSUNDAHUNSI, O. F.; FAGBEMI, T. N.; KESSELMAN, E.; SHIMONI, E. Comparison of the Physicochemical Properties and Pasting Characteristics of Flour and Starch from Red and White Sweet Potato Cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.51, p.2232-2236, 2003.
- PAK D, N. Fibra dietetica en verduras cultivadas en Chile. Archivo Latinoamericano de Nutricion, v.50, p.97-101, 2000.
- PALA DIAS DE SOUZA, H. M. Aplicação de celulases e xilanases na reciclagem de fibras de papel.
 2002. 370p. Tese de doutorado (Doutor em Engenharia Química) Departamento de Engenharia
 Biológica, Universidade do Minho, Braga, 2002.
- PANDOCHI, L. Estudo do Comportamento Coloidal de Suspensão de Fibra de Celulose, Carbonato de Cálcio, Amido Catiônico: Variação da Força iônica e do pH. 2009. 57p. Dissertação (Mestre em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.
- PARALIKAR, S. A.; SIMONSEN, J.; LOMBARDI, JOHN. Poly(vinyl alcohol)/cellulose nanocrystal barrier membranes. Journal of Membrane Science, v.320, p.248-258, 2008.
- PARDO, A.; DE JUAN, J. A.; PARDO, J. E. Fisiología post-cosecha, calidad y conservación del champiñón cultivado Agaricus bisporus (Lange) imbach. Acta Alimentaria, v.322, p.107-117. 2001.
- 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, p. 1-10, 2010.
- PÉREZ, E.; LARES, M. Chemical composition mineral profile, and fuctional properties of Canna (*Canna edulis*) and Arrowroot (*Maranta spp*) starches. Plant Foods for Human Nutrition, v.60, p.113-116, 2005.
- PERONI, F. G. H.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and roots starches. Food Science Technology International, v.12, p.505-513, 2006.
- PETERSSON, L.; OKSMAN, K. (2006). Preparation and properties of biopolymer based nanocomposite films using microcrystalline cellulose. In: K. Oksman & M. Sain (Eds.), Cellulose

nanocomposites, processing, characterization and properties. ACS symposium series 938 (pp. 132–150). Oxford: Oxford University Press.

- PICARD, E.; GÉRARD, J.- F.; ESPUCHE, E. Water transport properties of polyamide 6 based nanocomposites prepared by melt blending: On the importance of the clay dispersion state on the water transport properties at high water activity. Journal of Membrane Science, v.313, p. 284-295, 2008.
- PIETAK, A.; KORTE, S.; TAN, E.; DOWNARD, A.; STAIGER, M. P. Atomic force microscopy characterization of the surface wettability of natural fibres. Applied Surface Science, v.253, p.3627-3635, 2007.
- PINNAVAIA, T. J.; BEALL, G. W. (Eds.). (2000). Polymer clay nanocomposites. England: Wiley, J. & Sons (ltd.).
- PIRES DE BARROS, D. Aplicação do Àcido Periacètico no Branqueamento da Polpa de Eucalipto e o Impacto na sua Qualidade. 2008. 165p. Disertação (Mestrado em Agroquímica) – Programa de Póst-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.
- PIYACHOMKWAN, K.; CHOTINEERANAT, S.; KIJKHUNASATIAN, C.; TONWITOWAT, R.; PRAMMANEE, S.; OATES, C. G.; SRIROTH, K. Edible canna (*Canna edulis*) as a complementary starch source to cassava for the starch industry. **Industrial Crops and Products**, v.16, p.11-21, 2002.
- PRINYAWIWATKUL, W.; MCWATTERS, K. H.; BEUCHAT, L. R.; PHILLIPS, R. D. Functional characteristics of cowpea (*Vigna unguiculata*) flour and starch as affected by soaking, boiling, and fungal fermentation before milling. Food Chemistry, v.58, p.361-372, 1997.
- POTŮČEK, F.; MILICHOVSKÝ, M. Kraft Pulp Bleaching with Hydrogen Peroxide and Peracetic Acid. Chemical Papers, v.54, n.6a, p.406-411, 2000.
- PSOMIADOU, E.; ARVANITOYANNIS, I.; YAMAMOTO, N. Edible films made from natural resources; microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols— Part 2. Carbohydrate Polymers, v.31, p.193-204, 1996.
- PUNCHA-ARNON, S., PUTTANLEK, C., RUNGSARDTHONG, V., PATHIPANAWAT, W., UTTAPAP, D. Changes in physicochemical properties and morphology of canna starches during rhizomal development. Carbohydrate Polymers, v.70, p.206-217, 2007.
- PUNCHA-ARNON, S., PATHIPANAWAT, W., PUTTANLEK, C., RUNGSARDTHONG, V., UTTAPAP, D. Effects of relative granule size and gelatinization temperature on paste and gel properties of starch blends. Food Research International, v.41, p.552-561, 2008.

- RAMALHO, J. B. V. S.; OLIVEIRA, M. C. K. Metodologia para determinação da distribuição do diâmetro de gotas em emulsões de petróleo do tipo água-óleo por difração a laser. Boletim Técnico Petrobrás, v.42, p.72-76, 1999.
- RAMIAH, M. V.; GORING, D. A. I. The thermal expansion of cellulose, hemicellulose, and lignin. Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia, v.11, p.27-48, 1965.
- REDDY, N., YANG. Y. Properties of natural cellulose fibers from hop stems. **Carbohydrate Polymers**, v.77, p.898-902, 2009.
- REDDY, K, O.; REDDY, G. S.; MAHESWARI, C. U.; RAJULU, A. V.; RAO, K. M. Structural characterization of coconut tree leaf sheath fiber reinforcement. Journal of Forestry Research, v.21, p.53-58, 2010.
- RÉFEGA, R. J. M. Nanopartículas para Aplicação Biomédica. 2010. 71p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Materiais) – Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.
- REGAZZI, A. J. INF 766 Análise multivariada. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Departamento de Informática, 2001. 166p. Apostila de disciplina.
- REN, J-L.; SUN, R-CG.; PENG, F. Carboxymethylation of hemicelluloses isolated from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v.93, p.786-793, 2008.
- REVOL, J. F.; GODBOUT, L.; DONG, X. M.; GRAY, D. G.; CHANZY, H.; MARET, G. Chiral nematic suspensions of cellulose crystallites; phase separation and magnetic field orientation. Liquid Crystals, v.16, p.127-134, 1994.
- RIBEIRO, C.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; MIRANDA, C. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. Postharvest Biology and Technology, v.44, p.63–70, 2007.
- RODRÍGUEZ, G. A. B.; GARCÍA, H. R. B.; CAMACHO, J. H. T.; ARIAS, F. L. G. El almidón de Achira o Sagú (Canna edulis Ker): Manual Técnico para su elaboración. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuária (CORPOICA), p. 1-33, 2003. Disponível em: http://www.agronet.gov.co. Acesso em: 13 Set. 2011.
- RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimizacao de Processos**. Campinas: Casa do Pao Editora, 2005. 326p.
- ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; MARTIN-BELLOSO, O. Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. 2006. 310p. Tese de Doutorado – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Lleyda, Lleyda, 2006.

- ROJAS-GRAÜ, M. A. et al. Apple puree-alginate edible coatings as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh cut apples. **Postharvest Biology and Technology,** v.45, p.254-264, 2007a.
- ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; RODRÍGUEZ, F. J.; CARMONA, A. J.; MARTÍN-BELLOSO,
 O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on freshcut Fuji apples. Food Hydrocolloids, v.21, p.118-127, 2007b.
- ROJAS-GRAU, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: A review. Trends in Food Science and Technology, v.20, p.438-447, 2009.
- ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. Carbohydrate Polymers, v.81, p.83-92, 2010.
- ROWELL, R. M.; YOUNG, R. A.; ROWELL, J. K. Paper and Composites from Agro-Based Resources, Lewis Publishers, New York (1997).
- ROY, S.; ANANTHESWARAN, R. C.; BEELMAN, R. B. Fresh mushroom quality as affected by modified atmosphere packaging. Journal of Food Science, v.60, p.334-340, 1995.
- RUSLI, R.; EICHHORN, S. J. Determination of the stiffness of cellulose nanowhiskers and the fibermatrix interface in a nanocomposite using Raman spectroscopy. **Applied Physics Letters**, v.93, p.033111-3, 2008.
- SAIN, M. M.; BHATNAGAR, A. Manufacturing process of cellulose nanofibers from renewable feed stocks. Patente No.: US 2008/0146701 A1, Toronto (Canadá), 19 jun. 2008.
- SAITO, I. M.; CABELLO, C.; FUKUSHIMA, R. S. Análise da fibra residual do farelo de mandioca após tratamento hidrotérmico. **Revista Raízes e Amidos Tropicais,** v.2, p.1-11, 2006.
- SAKELLARIOU, P.; HASSAN, A.; ROWE, R. C. Interactions and partitioning of diluents/plasticizers in hydroxypropyl methylcellulose and polyvinyl alcohol homopolymers and blends. Part III: Polyetlylene glycol 400. Colloid and Polymer Science, v.272, p.48, 1994.
- SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAUJO, L. M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica. Ciência e Tecnologia Alimentaria, v.29, p.868-872, 2009.
- SALVADOR, A.; SANZ, T.; FISZMAN, S. M. Effect of the addition of different ingredients on the characteristics of a batter coating for fried seafood prepared without a pre-frying step. Food Hydrocolloids, v.19, p.703-708, 2005.

- SAMIR M.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. **Biomacromolecules**, v.6, p.612-626, 2005.
- SAMPAIO, S. M.; QUEIROZ, M. R. Influência do processo de secagem na qualidade do cogumelo Shiitake. Engenharia Agrícola, v.26, p.570-577, 2006.
- SANCHEZ-GARCIA, M. D.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. Carbohydrate Polymers, v.71, p.235-244, 2008.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. Journal of Food Engineering, v.98, p.443-452, 2010.
- SANTACRUZ, S.; KOCH, K.; SVENSSON, E.; RUALES, J.; ELIASSON, A. Three underutilised sources of starch from the Andean region in Ecuador. Part I. Physico-chemical characterisation. Carbohydrate Polymers, v.49, p.63-70, 2002.
- SANTACRUZ, S.; RUALES, J.; ELIASSON, A. C. Three under-utilised sources of starch from the Andean region in Ecuador. Part II. Rheological characterisation. Carbohydrate Polymers. v.51, p.85-92, 2003.
- SANTANA, R. C.; PERRECHIL, F. A.; SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Emulsifying properties of collagen fibers: Effect of pH, protein concentration and homogenization pressure. Food Hydrocolloids, v.25, p.604-612, 2011.
- SANTHA, N.; SUDHA, K. G.; VIJAYAKUMARI, K. P.; NAYAR, V. U.; MOORTHY, S. N. Raman and infrared spectra of starch samples of sweet potato and cassava. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences; Chemical Science,** v.102, p.705-712, 1990.
- SANTIAGO, B. H.; SELVAM, P. V. P. Tratamento superficial da fibra do coco: estudo de caso baseado numa alternativa econômica para fabricação de materiais compósitos. Revista Analytica, n.26, Dezembro 2006/Janeiro 2007.
- SAO, K. P.; SAMANTARAY, B. K.; BHATTACHERJEE, S. X-ray study of crystallinity and disorder in ramie fiber. Journal of Applied Polymer Science, v.52, p.1687-1694, 1994.
- SARANTÓPOULOS, C. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. Embalagens Plásticas Flexíveis – Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

- SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of starches from waxy and non-waxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v.77, p.58-63, 2000.
- SAVASTANO, Jr. H. Materiais à base de cimento reforçados com fibra vegetal: Reciclagem de resíduos para a cosntrução de baixo custo. 2000. 144p. Tese (Concurso de Livre-Docência) Departamento de Engenharia de Construção Civil – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- SAXENA, A.; ELDER, T. J.; PAN, S.; RAGAUSKAS, A. J. Novel nanocellulosic xylan composite film. Article in press, **Composites Part B: Engineering**, v.40, p.727-730, 2009.
- SEDAN, D.; PAGNOUX. C.; CHOTARD, T.; SMITH, A.; LEJOLLY, D.; GLOAGUEN, V.; KRAUSZ, P. Effect of calcium rich and alkaline solutions on the chemical behaviour of hemp fibres. Journal of Materials Science, v.42, p.9336–9342, 2007.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERREZ, S. S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova,** v.26, p.726-737, 2003.
- 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, p.786-794, 1959.
- SCHROERS, M,; KOKIL, A.; WEDER, C. Solid polymer electrolytes based on nanocomposites of ethylene oxide–epichlorohydrin copolymers and cellulose whiskers, Journal of Applied Polymer Science, v.93, p.2883-2888, 2004.
- SHELLHAMMER, T. H.; KROCHTA, J. M. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. **Journal of Food Science**, v.62, p.390-394, 1997.
- SHIBATA, C. K. R.; DEMIANE, I. M. Cultivo e analise da composição química do cogumelo do sol (*Agaricus blazei Murril*). **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde,** v.9, p.21-32, 2003.
- SHUJUN, W.; JINGLIN, Y.; WENYUAN, G. Use of X-ray Diffractometry (XRD) for Identification of Fritillaria According to Geographical Origin. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, v.1, p.207-211, 2005.
- SILVA, G. G.; DE SOUZA, D. A.; MACHADO, J. C.; HOURSTON, D. J. Mechanical and Thermal Characterization of Native Brazilian Coir Fiber. Journal of Applied Polymer Science, v.76, p.1197–1206, 2000.
- SILVA, D. J.; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. O papel, v.70, p.34-52, 2009.

- 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, p.661-671, 2009.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; NORRIL, T. C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Guanabara. 203p, 1987.
- SIMÓN, A.; GONZALEZ-FANDOS, E.; TOBAR, V. The sensory and microbiological quality of fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus* L) packaged in modified atmospheres. International Journal of Food Science and Technology, v.40, p.943-952, 2005.
- SIMÓN, A.; GONZÁLEZ-FANDOS, E.; VÁZQUEZ, M. Effect of washing with citric acid and packaging in modified atmosphere on the sensory and microbiological quality of sliced mushrooms (*Agaricus bisporus* L.). Food Control, v.21, p.851-856, 2010.
- SINGH, B. R. Infrared Analysis of Peptides and Proteins Principles and Applications. Washington, D. C.: American Chemical Society, 2000. 200p.
- SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.81, p.219–231, 2003.
- SJÖSTRÖM, E. The origin of charge on cellulosic fibres. Nordic Pulp and Paper Research Journal, v.4, p.90-93, 1989.
- SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRENSE, A. Cellulose whiskers versus microfibrils: influence of the nature of the nanoparticle and its surface funtionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites. **Biomacromolecules**, v.10, p.425-432, 2009.
- SIRO, I.; PLACKETT, D. Microfibrilated cellulose and new nanocomposite materials: a review. Cellulose, v.17, p.459-494, 2010.
- SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência Engenharia**, v.8, p.60-67, 1999.
- SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura sobre certas propriedades de biofilmes à base de proteínas miofibrilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.1251-1259, 2000.
- SOBRAL, P. J. A.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; HABITANTE, A. M. Q. B. Grass transition of the Nile tipalia myofibrillar protein films plasticized by glicerin and water. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.67, p.499-504, 2002.
- SOLER-RIVAS, C.; ARPIN, N.; OLIVIER, J. M.; WICHERS, H. J. Wlip, a lipodepsipeptide of *Pseudomonas* 'reactants', as inhibitor of the brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. Journal of Applied Microbiology, v.86, p.635–641, 1999.
- SONG, Y.; ZHENG, Q. Structure and properties of methylcellulose microfiber reinforced wheat gluten based green composites. **Industrial Crops and Products**, v.29, p.446-454, 2009.

- SOTHORNVIT, R., PITAK, N. Oxygen permeability and mechanical properties o banana films. Food Research International, v.40, p.365-370, 2007.
- SOUZA, M. M. L.; BORSALI, R. Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, properties, and applications. Macromolecular Rapid Communications, v.25, p.771-787, 2004.

SPRINGER, E. L.; MCSWEENY, J. D.; Tappi Pulp. Conf., Boston, 1992.

- SRICHUWONG, S.; SUNARTI, T. C.; MISHIMA, T.; ISONO, N.; HISAMATSU, M. Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. Carbohydrate Polymers, v.60, p.529-538, 2005.
- STELTE, W.; SANADI, A. R. Preparation and characterization of cellulose nanofibers from two comercial hardwood and softwood pulps. Industry Engineering Chemestry, v.48, p.11211-11219, 2009.
- ŠTURCOVÁ, A.; DAVIES, G. R.; EICHHORN, S. J. Elastic Modulus and Stress-Transfer Properties of Tunicate Cellulose Whiskers. Biomacromolecules, v.6, p.1055-1061, 2005.
- SUN, R.; HUGHES, S. Fractional extraction and physic-chemical characterization of hemicelluloses and cellulose from sugar beet pulp. **Carbohydrate Polymers**, v.36, p.293-299. 1998.
- SUN, R. C.; SUNG, X. F.; LIU, G. Q.; FOWLER, P.; TOMKINSON, J. Structural and physicochemical characterization of hemicelluloses isolated by alkaline peroxide from barley straw. Polymer International, v.51, p.117-124, 2002.
- SUN, X. F.; XU, F.; SUN, R. C.; FOWLER, P.; BAIRD, M. S. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. **Carbohydrate Research**, v.340, p.97-106, 2005.
- SUN, X-F.; JING, Z,; FOWLER, P.; WU, Y.; RAJARATNAM, M. Structural characterization and isolation of lignin and hemicelluloses from barley straw. Industrial Crops and Products, v.33, p.588-598, 2011.
- SVAGAN, A. J.; SAMIR, M.; BERGLUND, L. A. Biomimetic polysaccharide nanocomposites of high cellulose content and high toughness. Biomacromolecules, v.8, p.2556-2563, 2007.
- TANADA-PALMU, P.S., GROSSO, C.R. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Postharvest Biology and Technology**. v.36, p.199-208, 2005.
- TANEM, B. S.; KVIEN, I.; VAN HELVOORT, A. T. J.; OKSMAN, K. Morphology of cellulose and its nanocomposites. In: Oksman K, Sain M (eds) Cellulose Nanocomposites: Processing, Characterization, and Properties, American Chemical Society, Washington DC, 2006. p.48-62

- TAPIA-BLÁCIDO, D.; SOBRAL, P. J. A; MENEGALLI, F. C. Effects of drying temperature and relative humidity on the mechanical properties of Amaranth flour films plasticized with glycerol. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v.22, p.249-256, 2005.
- TAPIA-BLÁCIDO, D. Filmes a base de derivados do amaranto para uso em alimentos. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- TAPIA-BLÁCIDO, D.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C.; SOBRAL, P. J. A.; AÑÓN, M. C. Contribution of Starch, Protein, and Lipid Fractions to the Physical, Thermal, and Structural Properties of Amaranth (*Amarantus caudatus*) Flour Films. Journal of Food Science, v.72, p.293-300, 2007.
- TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; CARMONA, A.; RODRÍGUEZ, F. J.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Use of alginate and gellan- based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. Food Hydrocolloids, v.22, p.1493-1503, 2008.
- TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; MENEGALLI, F. C.; SOBRAL, P. J. A. Potential of Amaranthus cruentus BRS Alegria in the production of flour, starch and protein concentrate: chemical, thermal and rheological characterization. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.90, p.1185-1193, 2010.
- TASHIRO, K.; KOBAYASHI, M. Theoretical evaluation of three-dimensional elastic constants of native and regenerated celluloses: role of hydrogen bonds. **Polymer**, v.32, p.1516-1526, 1991.
- TEIXEIRA, E. M.; PASQUINI, D.; CURVELO, A. A. S.; CORRADINI, E.; BELGACEM, M. N.; DUFRESNE, A. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. Carbohydrate Polymers, v.78, p.422-431, 2009.
- TERECH, P.; CHAZEAU, L.; CAVAILLE, J. Y. A small-angle scattering study of cellulose whiskers in aqueous suspensions. **Macromolecules**, v.32, p.1872-1875, 1999.
- TERINTE, N.; IBBETT, R.; SCHUSTER, K. C. Overview on native cellulose and microcrystalline cellulose I structure studied by X-ray diffraction (WAXD): comparison between measurement techniques. Lenzinger Berichte, v.89, p.118-131, 2011.
- TESTER, R. F.; KARKALAS, J. Swelling and gelatinization of oat starches. **Cereal Chemistry**, v.78, p.271-273, 1996.
- THARANATHAN, R.; KITTUR, F. Chitin-The undisputed biomolecule of great potential. Critical Reviews Food Science and Nutrition, v.43, p.61-87, 2003.
- THEOCARIS, P. S.; SPATHIS, G. D. Glass-transition behavior of particle composites modeled on the concept of interphase. Journal of Applied Polymer Science, v.27, p.3019-3025, 1982.

- THITIPRAPHUNKUL, K.; UTTAPAP, D.; PIYACHOMKWAN, K.; TAKEDA, Y. A comparative study of edible canna (Canna edulis) starch from different cultivars. Part I. Chemical composition and physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v.53, p.317-324, 2003.
- THYGESEN, A.; ODDERSHEDE, J.; LILHOLT, H.; THOMPSEN, A. B; STAHL, K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. Cellulose. v.12, p. 563-576. 2005.
- TOMCZAK, F.; SATYANARAYANA, K. G.; SYDENSTRICKER, T. H. D. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil: Part III – Morphology and properties of Brazilian Curauá fibers. Composites: Part A, v.38, p.2227-2236, 2007.
- TORRES A.E., ARIAS, E.Y., HERRERA, S., PEREZ, C. Formación de una película comestible de alginato de sodio y aceite escencial de orégano y caracterización de las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. **Alimentos Ciencia e Ingeniería**. v.16, p.103-105, 2007.
- TSAI, S-Y.; WU, T-P.; HUANG, S-J, MAU, J-L. Nonvolatile taste components of *Agaricus bisporus* harvested at different stages of maturity. **Food Chemistry**, v.103, p.1457-1464, 2007.
- TURBAK, A. F.; SNYDER, F. W.; SANDBERG, K. R. Microfibrillated cellulose, new cellulose product: Properties, uses, and commercial potential. Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium, v.37, p.815-827, 1983.
- VAN DEN BERG, O.; CAPADONA, J. R.; WEDER, C. Preparation of Homogeneous Dispersions of Tunicate Cellulose Whiskers in Organic Solvents. **Biomacromolecules**, v.8, p.1353-1357, 2007.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. Journal of Dairy Science, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca: Comstock Publishing Associates and Cornell University Press, p.476, 1994.
- VAN SOEST, J. J. G.; TOURNOIS, H.; DE WIT, D.; VLIEGENTHART, J. F. G. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fouriertransform IR spectroscopy. Carbohydrate Research, v.279, p.201-214, 1995.
- VAN SOEST J. J. G.; HULLEMAN, S. H. D.; DE WIT, D.; VLIEGENTHART, J. F. G. Changes in the mechanical properties of thermoplastic potato starch in relation with changes in B-type cristallinity. Carbohydrate Polymers, v.29, p.225-232, 1996.
- VAROQUAUX, P.; GOUBLE, B.; BARRON, C.; YILDIZ, F. Respiratory parameters and sugar catabolism of mushroom (*Agaricus bisporus* Lange). Postharvest Biology and Technology, v.16, p.51-61, 1999.

- VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M.; CEREDA, M. P.; ALVES, A. J.; SCAMPARINI, A. R. P. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. Food Hydrocolloids, v.19, p.341-349, 2005.
- VICENTINI, N. M.; CASTRO, T. M. R.; CEREDA, M. P. Influência de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão (Capsicum annuum L.). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.19, p.127-130, 1999.
- VICENTINI, N.M.; DUPUY, N; LEITZELMAN, M; CEREDA, M.P.; SOBRAL, P.J.A. Prediction of Cassava Starch Edible Film Properties by Chemometric Analysis of Infrared Spectra. Spectroscopy Letters, v.38, p.749-767, 2005.
- VICINI, L.; SOUZA, A. M. Análise Multivariada da Teoria à Prática. Caderno Didáctico Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 215p. 2005.
- VIIKARI, L.; PERE, J.; SUUMÄKKI, A. O. Xylanses in bleaching: from an idea to the industry. FEMS Microbiology Reviews, v.13, p.335-350, 1994.
- WAN, Y. Z.; LUO, H.; HE, F.; LIANG, H.; HUANG, Y.; LI, X. L. Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites. Composites Science and Technology, v.69, p.1212-1217, 2009.
- WANG, B.; SAIN, M.; OKSMAN, K. Study of Structural Morphology of Hemp Fiber from the Micro to the Nanoscale. **Applied Composite Materials**, v.14, p.89-103, 2007.
- WANG, B.; SAIN, M. Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. **Composites Science and Technology**, v.67, p.2521-2527, 2007.
- WANG, N.; DING, E.; CHENG, R. Preparation and Liquid Crystalline Properties of Spherical Cellulose Nanocrystals. Langmuir, v.24, p.5-8, 2008.
- WATCHARATEWINKUL, Y.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; UTTAPAP, D. Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics. Carbohydrate Polymers, v.75, p.505-511, 2009.
- WITTAYA, T. Microcomposites of rice starch film reinforced with microcristalline cellulose from palm pressed fiber. International Food Research Journal. v.16, p.493-500, 2009.
- WOLLERDORFER, M.; BADER, H. Influence of natural fibers on the mechanical properties of biodegradable films. **Industrial Crops and Products,** v.8, p.105-112, 1998.
- XU, F.; SUN, J-X.; SUN, R.; FOWLER, P.; BAIRD, M. Comparative study of organosolv lignins from wheat straw. **Industrial Crops and Products**, v.23, p.180-193, 2006.
- XU, F.; SUN, J. X.; GENG, Z. C.; LIU, C. F.; REN, J. L.; SUN, R. C. Comparative study of water-soluble and alkali-soluble hemicelluloses from perennial ryegrass leaves (*Lolium peree*).
 Carbohydrate Polymers, v.67, p.56-65, 2007.

- YANG, J. H.; LIN, H. C.; MAU, J. L. Non-volatile taste components of several commercial mushrooms. Food Chemistry, v.72, p.465-471, 2001.
- YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. Progress in Polymer Science, v.31, p.576-602, 2006.
- YU, S.; MA, Y.; MENAGER, L.; SUN, D. Physicochemical Properties of Starch and Flour from Different Rice Cultivars. Food and Bioprocess Technology, 2010, DOI 10.1007/s11947-010-0330-8.
- ZHANG, J.; ELDER, T. J.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A. J. Facile synthesis of spherical cellulose nanoparticles. **Carbohydrate Polymers.** v.69, p.607-611. 2007.
- ZHAO, X.; LIU, D. Chemical and thermal characteristics of lignins isolated from Siam weed stem by acetic acid and formic acid delignification. Industrial Crops and Products, v.32, p.284-291, 2010.
- ZIAIE-SHIRKOLAEE, Y. Comparative study on hydrogen peroxide bleaching of soda-organosolv and kraft rice straw pulps. **Indian Journal of Chemical and Technology,** v.16, p.181-187, 2009.
- ZIMMERMANN, T.; POHLER, E.; GEIGER, T. Cellulose fibrils for polymer reinforcement. Advanced Engineering Materials, v.6, p.754-761, 2004.
- ZIVANOVIC, S,; BUESCHER, R.W.; KIM, K. S. Textural changes in mushrooms (Agaricus bisporus) associated with tissue ultrastructure and composition. Journal of Food Science, v.65, p.1404-1408, 2000.
- ZULUAGA, R.; PUTAUX, J. L.; CRUZ, J.; VÉLEZ, J.; MONDRAGON, I.; GAÑÁN, P. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. Carbohydrate Polymers, v.76, p.51-59, 2009.

APÊNDICES

- APÊNDICE I: Teor de umidade, densidade e propriedades mecânicas dos nanocompósitos em comparação ao filme controle
- APÊNDICE II: Absorção de umidade, difusão, % de umidade final absorvida, permeabilidade ao vapor de água em diferentes umidades relativas e solubilidade dos nanocompósitos em comparação ao filme controle
- APÊNDICE III: Propriedades ópticas dos nanocompósitos em comparação ao filme controle
- APÊNDICE IV: Análise estatística multivariada por aglomeração hierárquica

Exp.	Umidade (%)		Densidade	Propriedades mecâncas		
	após secagem	após acondicion.	(g/cm^3)	Tensão (MPa)	Elongação (%)	M. Young (MPa)
FC*	$11,6 \pm 0,3^{b}$	$15,6 \pm 0,1^{a}$	$1,5 \pm 0,1^{a}$	$8,3 \pm 0,6^{e}$	$19,8 \pm 7,2^{a,b,c,d}$	$782,8 \pm 70,2^{d,e}$
F1	$9,7 \pm 0,4^{d,e}$	$14,3 \pm 0,3^{b}$	$1,4 \pm 0,0^{a}$	$14,0 \pm 1,0^{a,b}$	$14,3 \pm 2,1^{b,c,d,e,f}$	$1099,9 \pm 71,0^{b,c}$
F2	$8,2 \pm 0,3^{\rm f}$	$13.6 \pm 0.1^{c,d,e}$	$1,5 \pm 0,1^{a}$	$14,1 \pm 0,7^{a,b}$	$12,3 \pm 5,0^{c,d,e,f}$	1211,8 ± 106,2 ^b
F3	$8,5 \pm 0,2^{\rm f}$	$14,1 \pm 0,2^{b,c,d}$	$1,4 \pm 0,0^{a}$	$9,7 \pm 0,6^{d,e}$	$15,5 \pm 3,1^{b,c.d,e}$	744,1 ± 137,8 ^{d,e}
F4	$9,8 \pm 0,4^{d,e}$	$13,7 \pm 0,3^{b,c,d,e}$	$1,5 \pm 0,0^{a}$	$9,6 \pm 0,5^{d,e}$	$20,7 \pm 3,5^{a,b,c}$	$676,4 \pm 93,8$ ^e
F5	$11,8 \pm 0,2^{b}$	$15,4 \pm 0,3^{a}$	$1,3 \pm 0,0^{a}$	$9,8 \pm 0,6^{d,e}$	$16,1 \pm 2,8^{b,c,d,e}$	$725,8 \pm 74,4^{d,e}$
F6	$10,2 \pm 0,1^{c,d}$	$15,4 \pm 0,3^{a}$	$1,3 \pm 0,0^{a}$	$15,0 \pm 0,5$ ^a	$7,9 \pm 0,5^{e,f}$	$1488,7 \pm 84,9$ ^a
F7	$8,9 \pm 0,2^{e,f}$	$14,3 \pm 0,4^{b,c}$	$1,5 \pm 0,0^{a}$	$11,0 \pm 1,7^{c,d}$	$16,9 \pm 2,8^{b,c,d}$	$825,9 \pm 12,0^{d,e}$
F8	$11,1 \pm 0,9$ bc	$16,1 \pm 0,1^{a}$	$1,4 \pm 0,1^{a}$	$10,3 \pm 0,2^{c,d,e}$	$21,7 \pm 5,3^{a,b}$	$771,8 \pm 104,9^{d,e}$
F9	$10,0 \pm 0,5^{d,e}$	$12,1 \pm 0,2^{\rm f}$	$1,4 \pm 0,1^{a}$	$10,7 \pm 1,3^{c,d}$	$6,4 \pm 0,2^{\rm f}$	945,7 ± 181,0 ^{c,d}
F10	$13,0 \pm 0,1^{a}$	$12,3 \pm 0,2^{\rm f}$	$1,5 \pm 0,1^{a}$	$12,4 \pm 0,8^{b,c}$	$11,4 \pm 2,7^{d,e,f}$	$1170,3 \pm 28,1^{b,c}$
F11	$8,6 \pm 0,2^{\rm f}$	$13,5 \pm 0,2^{d,e}$	$1,5 \pm 0,0^{a}$	$11,8 \pm 0,2^{c,d}$	$17,4 \pm 2,4^{b,c,d}$	$820,1 \pm 95,2^{d,e}$
F12	7,9 \pm 0,05 $^{\mathrm{f}}$	$13,1\pm0,01^{e}$	$1,5 \pm 0,1^{a}$	$9,7 \pm 0,1^{d,e}$	$27,2 \pm 4,0^{a}$	$394,6 \pm 54,2^{\rm f}$

APÊNDICE I. Teor de umidade, densidade e propriedades mecânicas dos nanocompósitos em comparação ao filme controle

*Filme controle (sem incorporação de nanofibras)

Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre os filmes (p<0,05)

Exp.	Absorção de	Difusividade	Umidade final	PVA (10 ⁻¹¹ g / m.s.Pa)			Solubilidade
	umidade (%)	$(10^{-14} \text{ m}^2/\text{s})$	absorvida (%)	2 - 33%	33 - 64%	64 -90%	(%)
FC*	$75,8 \pm 3,3$ ^a	11,4 ± 0,07 ^a	$35,0 \pm 2,2^{b}$	$4,1 \pm 0,04$ ^b	$11,1 \pm 0,0$ ^c	$31,2 \pm 3,6^{b,c,d}$	$31,0 \pm 1,2^{a}$
F1	$61,6 \pm 1,2^{c,d,e}$	$10,0 \pm 0,4^{a,b,c}$	$32,7 \pm 0,2^{b,c}$	$2,3 \pm 0,7^{c,d}$	$8,92 \pm 0,9^{\ d}$	$35,4 \pm 0,0^{a}$	$20,0 \pm 1,8^{b,c,d}$
F2	$60,4 \pm 0,3^{c,d,e,f}$	10,9 ± 0,6 ^{a,b}	$30,3 \pm 0,9^{b,c,d}$	$2,1 \pm 0,3^{c,d}$	7,8 \pm 0,2 $^{\rm e}$	$32,7 \pm 1,4^{a,b}$	$19,9 \pm 0,7^{c,d}$
F3	$59,6 \pm 2,6^{d,e,f}$	9,5 ± 1,2 ^{a,b,c,d}	$27,9 \pm 3,4^{c,d}$	$2,5 \pm 0,2^{c,d}$	$9,1 \pm 1,0^{d}$	$31,7 \pm 0,0^{b,c}$	$20,8 \pm 2,4^{b,c}$
F4	$58,6 \pm 1,7^{d,e,f}$	$10,5 \pm 0,5^{a,b}$	$25,3 \pm 2,5$ ^d	$1,8 \pm 0,1^{d,e}$	$8,2 \pm 0,0^{d,e}$	$31,0 \pm 2,8^{b,c,d}$	$20,3 \pm 2,3^{b,c,d}$
F5	$55,5 \pm 2,1^{e,f,g}$	$7,1 \pm 0,5^{d}$	$31,9 \pm 2,5^{b,c,d}$	$6,1 \pm 0,0^{a}$	$16,5 \pm 0,3$ ^a	$15,0 \pm 0,3^{h}$	$20,7 \pm 0,9^{b,c,d}$
F6	$69,3 \pm 1,3^{a,b}$	$8,4 \pm 1,5^{b,c,d}$	$42,2 \pm 2,0^{a}$	$2{,}7\pm0{,}8\ ^{\rm c}$	$9,1 \pm 1,0^{d}$	$26,7 \pm 0,3$ f	$28,3 \pm 1,4$ ^a
F7	$54,6 \pm 1,5^{f,g}$	$10,6 \pm 0,6^{a,b}$	$31,6 \pm 0,5^{b,c,d}$	$2,5 \pm 0,2^{c,d}$	$4,8\pm0,3~^{\rm f}$	$28,9 \pm 1,8^{d,e,f}$	$20,8 \pm 0,6^{b,c}$
F8	$56,4 \pm 1,5^{d,e,f,g}$	$7,8 \pm 0,7^{c,d}$	$28,8 \pm 2,6^{b,c,d}$	$1,2 \pm 0,2^{e}$	$2{,}9\pm0{,}0^{\text{ g}}$	$20{,}7\pm0{,}3~^{\mathrm{g}}$	$12,2 \pm 0,1^{e}$
F9	$62,6 \pm 3,4^{c,d}$	9,1 ± 0,4 a,b,c,d	$31,0 \pm 3,4^{b,c,d}$	$2,0 \pm 0,1^{c,d,e}$	$5{,}7\pm0{,}6^{\rm ~f}$	$20,9 \pm 1,5$ ^g	$19,1 \pm 1,6^{c,d}$
F10	$51,1 \pm 2,1$ ^g	$7,9 \pm 1,2^{c,d}$	$32,1 \pm 1,7^{b,c}$	$4,7 \pm 0,8^{b}$	$14,5\pm0,5\ ^{b}$	$11,3 \pm 0,1^{i}$	$23{,}8\pm0{,}2^{\text{ b}}$
F11	$61,9 \pm 3,2^{c,d,e}$	$9,2 \pm 0,2^{a,b,c,d}$	$34,8 \pm 4,0$ ^b	$2,0 \pm 0,4^{c,d,e}$	$5,1\pm0,6$ f	$29,6 \pm 2,5$ ^{c,d,e}	$16,8 \pm 0,3$ ^d
F12	$66,7 \pm 3,1^{b,c}$	$9,2 \pm 0,0^{b,c,d}$	$34,6 \pm 1,5^{b}$	$3,9 \pm 0,0^{b}$	$12,1\pm0,5^{\rm c}$	$28,0 \pm 2,1^{e,f}$	$21,5 \pm 1,2^{b,c}$

APÊNDICE II. Absorção de umidade, difusão, % de umidade final absorvida, permeabilidade ao vapor de água em diferentes umidades relativas e solubilidade dos nanocompósitos em comparação ao filme controle

*Filme controle (sem incorporação de nanofibras)

Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre os filmes (p<0,05)

Even	Cor					Opacidade
Exp. –	L*	a*	b*	ΔE_{1}^{*}	ΔE_{2}^{*}	(%)
FC	$95,0 \pm 0,2^{a}$	$0,01 \pm 0,01$ ^g	$0,8 \pm 0,0^{\rm g}$	-	$1,5 \pm 0,1$ ^g	$14,7 \pm 1,1^{h}$
F1	$93,1 \pm 0,5^{c,d}$	$0{,}09\pm0{,}01^{\rm ~f}$	$3,2 \pm 0,2^{e}$	$3,1 \pm 0,4^{e}$	$4,4 \pm 0,4^{e}$	$38,1 \pm 2,5^{d,e}$
F2	$91,7 \pm 0,3^{e}$	$0,2 \pm 0,01$ ^c	$6,7 \pm 0,1^{b}$	$6,8 \pm 0,1^{b}$	$7{,}9\pm0{,}1^{b}$	$32,5 \pm 0,8^{\rm f,g}$
F3	$92,7\pm0,3^{\text{d}}$	$0,08 \pm 0,03$ f	$3,2 \pm 0,1^{e}$	$3,4 \pm 0,3^{d,e}$	$4,7 \pm 0,3^{d,e}$	$62,2 \pm 1,0^{a}$
F4	$91,2 \pm 0,2^{e}$	$0,2 \pm 0,01^{c,d}$	7,4 \pm 0,2 $^{\mathrm{a}}$	$7,6 \pm 0,1^{a}$	8,8 ± 0,1 ^a	$50,9 \pm 1,3^{b}$
F5	$91,1\pm0,1^{e}$	$0,5\pm0,02$ ^a	$7,2 \pm 0,2^{a,b}$	7,5 \pm 0,2 ^a	$8,7 \pm 0,2^{a,b}$	$36,7 \pm 1,3^{d,e,f}$
F6	$91,8 \pm 0,1^{e}$	$0{,}3\pm0{,}02~^{\mathrm{b}}$	$5,7 \pm 0,1$ ^c	$5,9\pm0,2$ ^c	$7,1 \pm 0,2$ ^c	$34,3 \pm 0,4^{e,f}$
F7	$93,2 \pm 0,3^{c,d}$	$0,1 \pm 0,01$ ^{e,f}	$3,5 \pm 0,2^{e}$	$3,3 \pm 0,01^{e}$	$4,5 \pm 0,1^{e}$	$28,6 \pm 2,0$ ^g
F8	$92,7\pm0,7~^{d}$	$0,1 \pm 0,02^{d,e}$	$4,1 \pm 0,0^{d}$	$4,0 \pm 0,4^{d}$	$5,3 \pm 0,5^{d}$	$43,2 \pm 1,1$ ^c
F9	$94,7 \pm 0,3^{a,b}$	-0,05 \pm 0,01 ^h	$1,2 \pm 0,2^{f,g}$	$0,5 \pm 0,4$ ^g	$1,9 \pm 0,4^{\text{g}}$	$40,2 \pm 2,3^{c,d}$
F10	94,7 \pm 0,2 ^{a,b}	-0,04 \pm 0,00 $^{\rm h}$	$1,3\pm0,1^{\rm ~f}$	$0,6 \pm 0,1^{\rm f,g}$	$1,9 \pm 0,2^{\rm f,g}$	$40,9 \pm 1,9^{c,d}$
F11	$93,8 \pm 0,0^{b,c}$	-0,05 \pm 0,00 $^{\rm h}$	$1,2 \pm 0,0^{f,g}$	$1,2 \pm 0,0^{\rm f}$	$2{,}7\pm0{,}0^{\rm ~f}$	$40,6 \pm 1,1^{c,d}$
F12	$94,6\pm0,1^{a,b}$	-0,06 \pm 0,01 ^h	$1,1 \pm 0,0^{f,g}$	$0,5 \pm 0,1^{\text{g}}$	$1,9 \pm 0,1^{g}$	48,4 \pm 0,6 ^b

APÊNDICE III. Propriedades ópticas dos nanocompósitos em comparação ao filme controle

FC: Filme controle (sem incorporação de nanofibras)

 ΔE_1^* calculado usando como padrão os valores L*, a* e b* do filme controle (FC)

 ΔE_2 *calculado usando como padrão um filme de polietileno de baixa densidade (L*=96,35±0,02; a*=0,06±0,00 e b*=0,28±0,01) Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre os filmes (p<0,05)

APÊNDICE IV. Análise estatística multivariada por aglomeração hierárquica

Os métodos estatísticos, para analisar variáveis, estão dispostos em dois grupos: um que trata da estatística, que olha as variáveis de maneira isolada – a estatística univariada, e outro que olha as variáveis de forma conjunta – a estatística multivariada. A denominação "Análise Multivariada" corresponde a um grande número de métodos e técnicas que utilizam, simultaneamente, todas as variáveis na interpretação teórica do conjunto de dados obtidos (NETO, 2004).

Quando o interesse é verificar como as amostras se relacionam, ou seja, o quanto estas são semelhantes, segundo as variáveis utilizadas no trabalho, destacam-se dois métodos que podem ser utilizados: a análise de agrupamento hierárquico e a análise fatorial com análise de componentes principais. No presente estudo foi escolhida a análise de agrupamento (*AA*) dado que para a análise de componentes principais precisa-se de várias repetições para cada experimento, o qual era limitado em função do número de processos desenvolvidos neste estudo (12) para a obtenção de nanofibras.

A *AA* constitui uma metodologia numérica multivariada, com o objetivo de propor uma estrutura classificatória, ou de reconhecimento da existência de grupos, objetivando, mais especificamente, dividir o conjunto de observações em um número de grupos homogêneos, segundo algum critério de homogeneidade (REGAZZI, 2001). A partir desta análise pode se obter um dendograma ou fenograma, também chamado de gráfico em árvore, que é de grande utilidade para a classificação, comparação e discussão de agrupamentos. Há duas formas de se representar um dendograma: horizontal e verticalmente. No dendograma horizontal, as linhas verticais, ou o eixo y, representam os grupos unidos por ordem decrescente de semelhança, e a posição da reta, na escala ou o eixo x, indica as distâncias entre os grupos que foram formados. O dendograma é lido de cima para baixo, quando for feito na forma horizontal. O primeiro passo, para realizar a *AA*, consiste em formular o problema de aglomeração, definindo as variáveis sobre as quais se baseará o agrupamento. Logo após, faz-se a coleta dos dados, que serão reunidos numa tabela com m colunas (variáveis) e n linhas (objetos). Como o objetivo da análise de agrupamento é reunir objetos semelhantes, torna-se necessário alguma medida para avaliar o quão semelhantes, ou diferentes, são os objetos. Geralmente, costuma-se avaliar a semelhança em termos de distância entre pares de

objetos. Os objetos que possuem a menor distância entre si são mais semelhantes, um do outro, do que os objetos com a maior distância. Essa medida de semelhança é fornecida pela distância euclidiana. Segundo Regazzi (2001), embora a distância euclidiana seja uma medida de dissimilaridade, às vezes ela é referida como uma medida de semelhança, pois quanto maior seu valor, menos parecidos são os indivíduos ou unidades amostrais. Assim, a distância euclidiana é, sem dúvida, a medida de distância mais utilizada para a análise de agrupamentos.