

# **Purificação de arabinosilanos e desenvolvimento de películas bioativas para embalagens na indústria alimentar**

**Maria Manuel Marques Botelho Bandeira Serra**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Alimentar**

Orientadores: Vitor Manuel Delgado Alves  
Carla Maria Carvalho Gil Brazinha de Barros Ferreira

## **Juri:**

Presidente: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia

Vogais: Doutora Carla Alexandra Moreira Portugal, Investigadora Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa;  
Doutora Carla Maria Carvalho Gil Brazinha de Barros Ferreira, Investigadora de Pós-doutoramento da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

**2020**

## AGRADECIMENTOS

Finalizada esta etapa tão importante da minha vida, não poderia deixar de expressar o meu mais profundo agradecimento a todos os que de forma direta e indireta contribuíram para que tal acontecesse.

Aos meus orientadores **Professor Doutor Vitor Alves** e à **Doutora Carla Maria Brazinha** que de forma incansável sempre me apoiaram e motivaram a chegar mais longe.

Aos professores do Instituto Superior de Agronomia que contribuíram para a minha formação.

Aos meus colegas no Instituto Superior de Agronomia em especial à **Joana Infante, Joana Nunes e Joana Duarte**.

Aos meus colegas da FCT/UNL **Joana Monte, Rita Valério e Mafalda Cadima** que me acolheram e orientaram durante a realização desta dissertação de uma forma extraordinária.

Aos meus colegas de infância, que mesmo afastados do meu ambiente de trabalho sempre me apoiaram incondicionalmente, esses a quem chamo de família **Maria Mineiro, Tiago Lopes, Inês Almeida e Laura Martins**.

À minha família toda sobretudo ao meu pai **Pedro** e à minha mãe **Manuela** por todo o apoio prestado e por todo o esforço de uma vida de trabalho para que este dia se tornasse uma realidade; e ao meu irmão **Ricardo** que, por ser o meu irmão mais velho e um exemplo para mim, sempre me guiou.

Ao **Pedro**. Mesmo a 2000 km. Por tudo.

## RESUMO

Neste trabalho foi estudada a purificação de arabinosilanos, previamente extraídos de fibra do milho, usando dois módulos de membranas: um módulo de fibras ocas operando com controlo de fluxo de permeado a  $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ , com o qual se estudou o efeito da temperatura de operação ( $30^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$  e  $50^\circ\text{C}$ ) e um método de relaxamento da membrana a  $40^\circ\text{C}$ ; e um módulo de membranas planas com controlo da pressão transmembranar a  $0,70 \pm 0,04 \text{ bar}$  a  $40^\circ\text{C}$ . Os processos mostraram um bom desempenho quando a temperatura de operação foi  $40^\circ\text{C}$  e  $50^\circ\text{C}$ , apresentando uma percentagem de remoção de solutos de referência média de  $93,25 \pm 1,26 \%$  em equivalentes de NaCl e  $87,58 \pm 2,83 \%$  em equivalentes de ácido ferúlico (AF). Assim sendo, utilizou-se todo o material purificado a estas temperaturas para a preparação das películas com a exceção dos ensaios a  $30^\circ\text{C}$  que não acompanharam em questões de remoção os ensaios das restantes temperaturas. Produziu-se um lote de biopolímeros purificados a estas temperaturas, que foi usado para a preparação das películas. A formulação otimizada para a sua produção consistiu numa solução de arabinosilanos ( $1,3 \%$  m/m) com glicerol como plastificante ( $30 \%$  m/m sólidos). A sua atividade antioxidante foi aumentada com adição de AF ( $10 \%$  m/m). Os dois tipos de películas (inicial e enriquecida com AF) apresentaram propriedades mecânicas e de cor semelhantes. Porém a película enriquecida AF demonstrou uma maior permeabilidade a vapor de água. Os arabinosilanos purificados por diafiltração apresentaram boas propriedades para produzir películas biodegradáveis e bioativas para produtos alimentares.

**Palavras-chave:** Arabinosilanos, Purificação, Diafiltração, Fibra de milho, Ácido Ferúlico, Películas bioativas.

## ABSTRACT

In this work the purification of arabinoxylans, previously extracted from corn fiber, was studied using two types of membrane modules: a hollow fiber module operating with permeate flow control at  $18.75 \text{ Lh}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ , with which it was studied the effect of the operating temperature ( $30^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$  and  $50^\circ\text{C}$ ) and a membrane relaxation method at  $40^\circ\text{C}$ ; and a flat-and-frame membrane module with a transmembrane pressure of  $0.70 \pm 0.04 \text{ bar}$  at  $40^\circ\text{C}$ . The processes showed a good performance when the operating temperature was  $40$  and  $50^\circ\text{C}$ , with an average solute removal percentage of  $93.25 \pm 1.26 \%$  in NaCl equivalents and  $87.58 \pm 2.83 \%$  in ferulic acid (AF) equivalents. Therefore, all the material purified at these temperatures was used for the preparation of the films, with the exception of the tests at  $30^\circ\text{C}$ , which did not follow the remaining temperatures tests in removal questions. A batch of purified biopolymers was produced at these temperatures, which was used for the film's preparation. The formulation optimized for their production consisted of a solution of arabinoxylans ( $1.3 \%$  w/w) with glycerol as plasticizer ( $30 \%$  w/w solids). Its antioxidant activity was increased with the addition of FA ( $10 \%$  w/w solids). The two types of films (initial and enriched with AF) had similar mechanical and color properties. However, the enriched AF film showed greater permeability to water vapor. Arabinoxylans purified by diafiltration showed good properties to produce bioactive biodegradable films for food packaging.

**Keywords:** Arabinoxylans, Purification, Diafiltration, Corn fiber, Ferulic Acid, Bioactive films.

## EXTENDED ABSTRACT

Arabinoxylans are polysaccharides that can be found in by-products resulting from the processing of cereals such wheat, rye, rice and corn, and are often used for animal feed. This work aimed to purify an extracted fraction of this polysaccharide from corn fiber, for the production of bioactive films.

To study the purification of this polysaccharide, two membrane modules were operated; and hollow fiber module with permeate flow control at  $18.75 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$  and a flat membrane module with transmembrane pressure control at  $0.70 \pm 0.04 \text{ bar}$ . First, the effect of temperature on the first module was studied, operating at  $30^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$  and  $50^\circ\text{C}$ , as well as a method of membrane relaxation for the purification of polysaccharides on the same module at  $40^\circ\text{C}$ , no differences were visible. Additionally, at  $40^\circ\text{C}$ , the purification of arabinoxylans in a flat-and-frame membrane and hollow fiber modules was compared, presenting non-significant differences. It was concluded that all the purified material would be used, except that of the test at the lowest temperature ( $30^\circ\text{C}$ ) for the preparation of the films since all of these tests achieved similar membrane removal values expressed in terms of NaCl with percentages of initial removal of  $79.14 \pm 2.73 \%$  reaching a value of  $93.25 \pm 1.26 \%$  at the end of the purification and ferulic acid (FA) with an initial removal percentage of  $47.05 \pm 2.83$  and at the end of the purification a value of  $87.58 \pm 2.83$  at temperatures of  $40^\circ\text{C}$  and  $50^\circ\text{C}$  fulfilling the objective of this work. For the production of the films, some preliminary tests were made to study the effect of the glycerol concentration (15, 30 and 47 % w/w dry solids) as a plasticizer, as well as the attempt to cross-link the films with the Polyethylene Glycol Ether Diglycidyl Ether, PEDGE (4, 8 and 15 % w/w) and citric acid (20 and 50 % w/w), without success. The effect of incorporating ferulic acid (10 % w/w), a compound with antioxidant and antimicrobial properties, was also studied in the previously optimized film that only contained glycerol (30 % w/w) as a plasticizer.

The original film, with only 30 % w/w of plasticizer, and the bioactive film enriched in ferulic acid, were characterized in terms of their appearance. No differences in terms of thickness and color were observed. The microstructure of the films was observed by the scanning microscopy technique, verifying that they present small irregularities which may correspond to very small pores, a characteristic that was in line with the inexistence of barrier to oxygen and carbon dioxide under the conditions tested. There were no substantial differences in mechanical properties (tensile and perforation tests). Though, it was found that the film enriched with the antioxidant presented higher permeability to water vapor. The films were also subjected to the measurement of antioxidant activity, concluding that the DPPH method is not the most suitable method, because the values of the original film are outside the method's limit of detection. The FRAP method, on the other hand, was considered a good method, and the film enriched with the antioxidant showed a greater antioxidant activity than the original film.

From the results obtained, purified arabinoxylans have great potential for the production of biodegradable films designed for several applications, namely food packaging.

## ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>   | <b>3</b>  |
| <b>2.1. Embalagens para alimentos e sustentabilidade</b>                            | <b>3</b>  |
| 2.1.1. Embalagens de polímeros convencionais  | 3         |
| 2.1.2. Materiais alternativos para embalagens                                       | 6         |
| <b>2.2. Os Arabinosilanos como materiais alternativos</b>                           | <b>8</b>  |
| 2.2.1. Estrutura química  | 8         |
| 2.2.2. Fontes de arabinosilanos   | 9         |
| 2.2.3. Extração e purificação dos arabinosilanos                                    | 11        |
| 2.2.5. Aplicações dos arabinosilanos  | 12        |
| <b>2.3. Processos de separação por membranas: definições e princípios básicos</b>   | <b>13</b> |
| <b>2.4. Películas biodegradáveis e bioativas</b>                                    | <b>21</b> |
| Produção e caracterização de películas biodegradáveis e bioativas de arabinosilanos | 22        |
| <b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>   | <b>23</b> |
| <b>3.1. Extrato rico em arabinosilanos e medição da sua viscosidade</b>             | <b>23</b> |
| <b>3.2. Processamento com membranas</b>   | <b>23</b> |
| 3.2.1. Diafiltração num módulo de membranas planas                                  | 23        |
| 3.2.2. Diafiltração num módulo de fibras ocas                                       | 24        |
| <b>3.3. Produção de películas</b>   | <b>26</b> |
| 3.3.1. Preparação das soluções filmogénicas para ensaios preliminares               | 26        |
| 3.3.2. Seleção da concentração dos componentes das soluções filmogénicas            | 27        |
| 3.3.3. Preparação das películas com as soluções filmogénicas otimizadas             | 28        |
| <b>3.4. Caracterização das películas de Arabinosilanos</b>                          | <b>28</b> |
| 3.4.1. Aparência, cor e espessura das películas                                     | 28        |
| Medição da espessura  | 28        |
| Medição da cor  | 28        |
| Avaliação da morfologia da superfície das películas                                 | 29        |
| 3.4.2. Propriedades de barreira   | 30        |
| Permeabilidade ao vapor de água   | 30        |
| Permeabilidade ao oxigénio e ao dióxido de carbono                                  | 32        |
| 3.4.3. Propriedades mecânicas   | 33        |
| Testes de tensão axial  | 33        |
| Testes de perfuração  | 34        |
| 3.4.4. Atividade antioxidante   | 35        |
| Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH                     | 35        |
| Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (método FRAP)          | 36        |
| <b>3.5. Métodos analíticos</b>  | <b>36</b> |
| <b>3.6. Análise estatística</b>   | <b>36</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                         | <b>37</b> |
| <b>4.1. Viscosidade do extrato rico em arabinosídeos</b> | <b>37</b> |
| <b>4.2. Purificação do extrato rico em arabinosídeos</b> | <b>38</b> |
| <b>4.3. Películas à base de Arabinosídeos</b>            | <b>49</b> |
| 4.3.1. Aparência das películas de ensaios preliminares   | 49        |
| 4.3.2. Aparência das películas otimizadas                | 52        |
| Medição instrumental da cor                              | 52        |
| 4.3.3. Morfologia  | 53        |
| 4.3.4. Propriedades de barreira                          | 55        |
| Permeabilidade ao vapor de água                          | 55        |
| Permeabilidade ao oxigénio e ao dióxido de carbono       | 56        |
| 4.3.5. Propriedades mecânicas                            | 57        |
| Testes de tensão axial                                   | 57        |
| Testes de perfuração                                     | 60        |
| 4.3.6. Atividade antioxidante                            | 62        |
| Método DPPH  | 62        |
| Método FRAP  | 62        |
| <b>5. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS</b>               | <b>64</b> |
| <b>6. BIBLIOGRAFIA</b>                                   | <b>66</b> |
| <b>ANEXOS</b>  | <b>71</b> |
| Anexo A - retas de calibração                            | 72        |

## Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1 - POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS (ADAPTADO DE FERREIRA ET AL., 2016) .....  | 7  |
| FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DE UMA FRAÇÃO DE ARABINOXILANOS FERULADOS IDENTIFICADOS EM CEREAIS (ADAPTADO DE MORALES-ORTEGA ET AL., (2013)) .....  | 9  |
| FIGURA 3 - ANATOMIA DO GRÃO DE MILHO (ADAPTADO DE (STRAZZI, 2015)) .....   | 9  |
| FIGURA 4- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM PROCESSO DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS (FONTE: CARVALHO, (2008)).....   | 13 |
| FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS (FONTE: CABRAL, (2015)) .....   | 14 |
| FIGURA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE PROCESSOS CLÁSSICOS DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS, EM FUNÇÃO DAS DIMENSÕES DAS ESPÉCIES A SEREM SEPARADAS (FONTE: (MULDER, 1996)).....  | 14 |
| FIGURA 7 - COMPARAÇÃO ESQUEMÁTICA ENTRE A FILTRAÇÃO FRONTAL (A) E A FILTRAÇÃO TANGENCIAL (B) (FONTE: (CABRAL, 2015)) .....   | 20 |
| FIGURA 8 - PRINCIPAIS MODOS DE OPERAÇÃO DOS PROCESSOS DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS (A) RECIRCULAÇÃO TOTAL; (B) CONCENTRAÇÃO; (C) DIAFILTRAÇÃO (FONTE: CABRAL, (2015)) .....  | 20 |
| FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA UNIDADE DE MEMBRANAS PLANAS HYDROSTART DE SARTORIUS .....  | 23 |
| FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA UNIDADE DA MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE.....  | 24 |
| FIGURA 11 - MÉTODO UTILIZADO PARA PRODUIR PELÍCULAS DE ARABINOXILANOS (ADAPTADO DE C. ANDERSON & SIMSEK, 2019B) .....  | 27 |
| FIGURA 12 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MÉTODO CIELAB .....   | 29 |
| FIGURA 13 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA MONTAGEM UTILIZADA PARA MEDIR A PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DAS PELÍCULAS EM ESTUDO .....   | 30 |
| FIGURA 14 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE TRANSPORTE DO VAPOR DE ÁGUA .....   | 31 |
| FIGURA 15 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO EQUIPAMENTO UTILIZADO PARA MEDIR A PERMEABILIDADE AO DIÓXIDO DE CARBONO, CO <sub>2</sub> E OXIGÊNIO, O <sub>2</sub> .....   | 32 |
| FIGURA 16 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO ENSAIO DE PERFURAÇÃO DA PELÍCULA.....   | 35 |
| FIGURA 17 - VISCOSIDADE DO EXTRATO RICO EM ARABINOXILANOS A DIFERENTES GRAUS DE DILUIÇÃO: (A) À TEMPERATURA DE 20°C E (B) À TEMPERATURA DE 40°C.....   | 38 |
| FIGURA 18 - EXPERIÊNCIA DE ULTRAFILTRAÇÃO EM MODO DE DIAFILTRAÇÃO A 30 °C, 40 °C E 50 °C SEM PROCEDIMENTO DE RELAXAMENTO USANDO UMA MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE 100 KDA PARA O EXTRATO DE ARABINOXILANOS COMO ALIMENTAÇÃO: (A) REJEIÇÃO APARENTE, $rNaCl$ (%) EM EQUIVALENTES NaCl; (B) REMOÇÃO APARENTE, $RNaCl$ (%) CALCULADA EM EQUIVALENTES DE CLORETO DE SÓDIO.....                          | 40 |
| FIGURA 19 - EXPERIÊNCIA DE ULTRAFILTRAÇÃO EM MODO DE DIAFILTRAÇÃO A 30 °C, 40 °C E 50 °C SEM PROCEDIMENTO DE RELAXAMENTO USANDO UMA MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE 100 KDA PARA O EXTRATO DE ARABINOXILANOS COMO ALIMENTAÇÃO: (A) REJEIÇÃO APARENTE, $rAF$ (%) EM EQUIVALENTES AF; (B) REMOÇÃO APARENTE, $RAF$ (%) CALCULADA EM EQUIVALENTES DE AF .....   | 42 |
| FIGURA 20 - EXPERIÊNCIA DE ULTRAFILTRAÇÃO EM MODO DE DIAFILTRAÇÃO A 40 °C COM E SEM PROCEDIMENTO DE RELAXAMENTO USANDO UMA MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE 100 KDA PARA O EXTRATO DE ARABINOXILANOS COMO ALIMENTAÇÃO: (A) REJEIÇÃO APARENTE, $rNaCl$ (%) EM EQUIVALENTES NaCl; (B) REMOÇÃO APARENTE, $RNaCl$ (%) CALCULADA EM EQUIVALENTES DE CLORETO DE SÓDIO.....                                   | 44 |
| FIGURA 21 - EXPERIÊNCIA DE ULTRAFILTRAÇÃO EM MODO DE DIAFILTRAÇÃO A 40 °C COM E SEM PROCEDIMENTO DE RELAXAMENTO USANDO UMA MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE 100 KDA PARA O EXTRATO DE ARABINOXILANOS COMO ALIMENTAÇÃO: (A) REJEIÇÃO APARENTE, $rAF$ (%) EM EQUIVALENTES AF; (B) REMOÇÃO APARENTE, $RAF$ (%) CALCULADA EM EQUIVALENTES DE AF.....   | 45 |
| FIGURA 22 - EXPERIÊNCIA DE ULTRAFILTRAÇÃO EM MODO DE DIAFILTRAÇÃO A 40 °C ENTRE O MÓDULO DE MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE E UM MÓDULO DE FIBRAS PLANAS DA HYDROSTART, SARTÓRIUS AMBAS COM 100 KDA PARA O EXTRATO DE ARABINOXILANOS COMO ALIMENTAÇÃO: (A) REJEIÇÃO APARENTE, $rNaCl$ (%) EM EQUIVALENTES NaCl; (B) REMOÇÃO APARENTE, $RNaCl$ (%) CALCULADA EM EQUIVALENTES DE CLORETO DE SÓDIO ..... | 47 |
| FIGURA 23 - COMPARAÇÃO DA ULTRAFILTRAÇÃO EM MODO DE DIAFILTRAÇÃO A 40 °C ENTRE O MÓDULO DE MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE E UM MÓDULO DE FIBRAS PLANAS DA HYDROSTART, SARTÓRIUS AMBAS COM 100 KDA PARA O EXTRATO DE ARABINOXILANOS COMO ALIMENTAÇÃO, REJEIÇÕES APARENTES PARA FENÓLICOS TOTAIS, $Ri$ (%) CALCULADOS EM EQUIVALENTES DE ÁCIDO FERÚLICO.....   | 48 |

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 24 - REPRESENTAÇÃO DA COR DAS PELÍCULAS NO GRÁFICO DE CORES DO MÉTODO CIELAB.....  | 53 |
| FIGURA 25 - MICROESTRUTURA DA SUPERFÍCIE DAS PELÍCULAS DE ARABINOXILANOS ORIGINAIS OBTIDA PELA TÉCNICA SEM COM DIFERENTES AMPLIAÇÕES: A) 500x; B) 2000x; C) 5000x .....   | 54 |
| FIGURA 26 - MICROESTRUTURA DA SUPERFÍCIE DAS PELÍCULAS DE ARABINOXILANOS ENRIQUECIDAS COM ÁCIDO FERÚLICO, OBTIDAS PELA TÉCNICA SEM COM DIFERENTES AMPLIAÇÕES: A) 500x; B) 2000x; C) 5000x.....  | 54 |
| FIGURA 27 - CURVAS DE TENSÃO-DEFORMAÇÃO PARA PELÍCULA ORIGINAL E PARA A PELÍCULA ENRIQUECIDA COM ÁCIDO FERÚLICO..   | 57 |
| FIGURA 28 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS VALORES DE (A) TENSÃO DE RUTURA, (B) DEFORMAÇÃO NA ROTURA E O (C) MÓDULO DE YOUNG PARA AS DIFERENTES PELÍCULAS. ....  | 58 |
| FIGURA 29 - CURVA TIPO DO TESTE DE PERFURAÇÃO PARA PELÍCULA ORIGINAL E PELÍCULA ENRIQUECIDA COM ÁCIDO FERÚLICO .....  | 60 |
| FIGURA 30 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS VALORES DE (A) TENSÃO DE PERFURAÇÃO, (B) DEFORMAÇÃO E O (C) MÓDULO DE YOUNG PARA AS DIFERENTES PELÍCULAS. LETRAS DIFERENTES SIGNIFICAM VALORES SIGNIFICAMENTE DIFERENTES (TUCKEY HSD, $\alpha=0,05$ ) ..... | 61 |

## Índice de quadros

|   |    |
|---|----|
| QUADRO 1 - COMPOSIÇÃO (G KG <sup>-1</sup> ) DO FARELO DE MILHO E DA FIBRA DE MILHO (ADAPTADO DE ROSE ET AL., (2009)).....   | 10 |
| QUADRO 2 - ESQUEMA DAS CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DA UNIDADE DE MEMBRANA HYDROSTART DE SARTORIUS.....  | 24 |
| QUADRO 3 - ESQUEMA DAS CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DA UNIDADE DA MEMBRANA DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE.....  | 25 |
| QUADRO 4 - ENSAIOS PRELIMINARES DA PRODUÇÃO DE PELÍCULAS DE ARABINOXILANOS.....   | 27 |
| QUADRO 5 - EFEITO DA TEMPERATURA NA PURIFICAÇÃO DOS ARABINOXILANOS POR DIAFILTRAÇÃO NO MÓDULO DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE OPERANDO SEM O MÉTODO DE RELAXAMENTO E SOB CONDIÇÕES DE FLUXO DE PERMEADO CONTROLADO A 18,75 L.H <sup>-1</sup> .M <sup>-2</sup> : PERDA DA PERMEABILIDADE HIDRÁULICA (%); PRESSÃO TRANSMEMBRANAR (BAR); NÚMERO DE REYNOLDS (-) E A PERMEABILIDADE MÉDIA (L.H <sup>-1</sup> .M <sup>-2</sup> .BAR <sup>-1</sup> ).....   | 39 |
| QUADRO 6 - EFEITO DO RELAXAMENTO MEMBRANAR NA PURIFICAÇÃO DOS ARABINOXILANOS POR DIAFILTRAÇÃO NO MÓDULO DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE OPERANDO SEM O MÉTODO DE RELAXAMENTO E SOB CONDIÇÕES DE FLUXO DE PERMEADO CONTROLADO A 18,75 L.H <sup>-1</sup> .M <sup>-2</sup> : PERDA DA PERMEABILIDADE HIDRÁULICA (%); PRESSÃO TRANSMEMBRANAR (BAR); NÚMERO DE REYNOLDS (-) E A PERMEABILIDADE MÉDIA (L.H <sup>-1</sup> .M <sup>-2</sup> .BAR <sup>-1</sup> ).....   | 43 |
| QUADRO 7 - EFEITO DO MÓDULO NA PURIFICAÇÃO DOS ARABINOXILANOS POR DIAFILTRAÇÃO NO MÓDULO DE FIBRAS OCAS DE GE HEALTHCARE OPERANDO E SOB CONDIÇÕES DE FLUXO DE PERMEADO CONTROLADO A 18,75 L.H <sup>-1</sup> .M <sup>-2</sup> SEM O MÉTODO DE RELAXAMENTO E O MÓDULO DE MEMBRANAS PLANAS HYDROSTART DE SARTORIUS SOB CONTROLO DA PRESSÃO TRANSMEMBRANAR: PERDA DA PERMEABILIDADE HIDRÁULICA (%); PRESSÃO TRANSMEMBRANAR (BAR); NÚMERO DE REYNOLDS (-) E A PERMEABILIDADE MÉDIA (L.H <sup>-1</sup> .M <sup>-2</sup> .BAR <sup>-1</sup> )..... | 46 |
| QUADRO 8 - APARÊNCIA DAS PELÍCULAS DOS ENSAIOS PRELIMINARES.....  | 49 |
| QUADRO 9 - APARÊNCIA DAS PELÍCULAS OTIMIZADAS.....  | 52 |
| QUADRO 10 - VALORES DE A*, B* E L (%), BEM COMO C* E H (°). LETRAS DIFERENTES SIGNIFICAM VALORES SIGNIFICAMENTE DIFERENTES (TUCKEY HSD, $\alpha = 0,05$ ).....  | 52 |
| QUADRO 11 - PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DAS PELÍCULAS EM ESTUDO EM COMPARAÇÃO COM AS DE OUTROS AUTORES...   | 55 |
| QUADRO 12 - VALORES DE TENSÃO DE RUTURA, DEFORMAÇÃO NA ROTURA E DE MÓDULO DE YOUNG PARA AS DIFERENTES PELÍCULAS. LETRAS DIFERENTES SIGNIFICAM VALORES SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (TUCKEY HSD, $\alpha = 0,05$ ).....   | 58 |
| QUADRO 13 - REPRESENTAÇÃO DOS VALORES DE TENSÃO DE PERFURAÇÃO, DEFORMAÇÃO E O MÓDULO DE YOUNG PARA AS DIFERENTES PELÍCULAS. LETRAS DIFERENTES SIGNIFICAM VALORES SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (TUCKEY HSD, $\alpha=0,05$ ).....  | 61 |
| QUADRO 14 - VALORES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE OBTIDOS PELO MÉTODO DPPH. LETRAS DIFERENTES SIGNIFICAM VALORES SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (TUCKEY HSD, $\alpha=0,05$ ).....  | 62 |
| QUADRO 15 - VALORES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE OBTIDOS PELO MÉTODO FRAP. LETRAS DIFERENTES SIGNIFICAM VALORES SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (TUCKEY HSD, $\alpha=0,05$ ).....  | 62 |

## Índice de abreviaturas

AC - ácido cítrico  
AF - ácido ferúlico  
Ax - Arabinosilanos  
AXEA - Arabinosilanos extraíveis com água  
AXNEA - Arabinosilanos não extraíveis com água  
AXOS - Oligossacáridos de arabinosilanos  
EPS - Poliestireno expandido  
HDPE - Polietileno de alta densidade  
HPLC - Cromatografia líquida de alto desempenho  
HR - Humidade relativa  
LDPE - Polietileno de baixa densidade  
MF - Microfiltração  
 $M_w$  - Peso molecular  
MWCO - Limite de peso molecular nominal  
NF - Nanofiltração  
OI - Osmose inversa  
PA - Poliamida  
PC - Policarbonato  
PCL – Policaprolactona  
PE - Polietileno  
PEDGE - Polietileno glicol éter diglicídico  
PES - Polietersulfona  
PET - Polietileno tereftalato  
PHAs - Polihidroxicanoatos  
PHB - Polihidroxiacetato  
PHV - Polihidroxiacetato  
PLA - Poliacido láctico  
PP - Polipropileno  
PS - Poliestireno  
PSA - Polissulfona assimétrica  
PSM - Processos de separação por membranas  
PSU - Polissulfona  
PTFE - Politetrafluoretileno  
PVC - Policloreto de vinilo

PVDF - Fluoreto de polivinilideno

SEM - Microscopia eletrónica de varrimento

UF - Ultrafiltração

XOS - Xilooligossacáridos

## 1. Introdução

Os polímeros sintéticos (vulgarmente denominados por plásticos) são bastante utilizados em diferentes indústrias tais como as de embalagens, construção, transportes, eletrónica e outras (Geyer, Jambeck, & Law, 2017). O consumo de polímeros sintéticos a nível global para embalagens tem crescido muito nos últimos anos, correspondendo a consumos de mais de 200 milhões de toneladas anuais, com um crescimento de aproximadamente 5 % ao ano (Siracusa, Rocculi, Romani, & Rosa, 2008). No entanto, o aumento do uso destes materiais tem provocado sérios problemas ecológicos devido à sua não biodegradabilidade (Seyedi *et al*, 2014).

Devido às grandes preocupações com a poluição ambiental e à exaustão de recursos naturais causados pelos materiais plásticos não biodegradáveis à base de petróleo, tem-se verificado uma crescente procura por polímeros sustentáveis para o ambiente. Materiais poliméricos provenientes de recursos biológicos renováveis tais como plantas, animais, algas e organismos microbianos, têm ganho cada vez mais atenção por parte dos investigadores. Estes materiais são designados de biopolímeros, tendo-se revelado uma alternativa com elevado potencial como alternativas sustentáveis, sobretudo pela sua disponibilidade em fontes renováveis e biodegradabilidade (Adsul, Tuli, Annamalai, Depan, & Shankar, 2016).

Os biopolímeros podem ser obtidos por extração a partir de biomassa de origem vegetal, animal ou algas. Como exemplos tem-se o quitosano, de origem animal; o amido, a celulose e os arabinosilanos, que são polissacáridos sintetizados por plantas; ou a caseína e a gelatina que são proteínas de origem animal. Os bioplímeros também podem ser produzidos por bactérias, como é o caso da família dos polihidroxicanoatos (Pérez-Arauz *et al.*, 2019). Podem ser ainda produzidos por síntese química a partir de monómeros de origem biológica renovável, como o políácido láctico (Khosravi-Darania & Bucci, 2015).

Películas biodegradáveis e bioativas têm um grande potencial para aplicação em embalagens mais sustentáveis para alimentos. O grande desafio reside na produção de estruturas (películas, p.e.) biopoliméricas que satisfaçam vários requisitos tais como baixa permeabilidade aos gases, controlada permeabilidade ao vapor de água, uma boa aparência, propriedades antioxidantes, entre outros.

No que diz respeito a fontes naturais de biopolímeros, a indústria do processamento do milho é um exemplo, uma vez que gera subprodutos com pouco valor associado à partida, mas com uma composição química que os torna interessantes em termos de valorização. É o caso da fibra do milho,

que é fundamentalmente usada em rações de baixo valor associado. Porém, é uma fonte importante de arabinosilanos e outros compostos de valor acrescentado (ácido ferúlico p.e.). A extração destes polímeros já está bastante estudada, no entanto, é necessário estudar novas técnicas para a sua purificação, preferencialmente de forma sustentável. Os objetivos principais deste trabalho consistiram no estudo da purificação de um extrato rico em arabinosilanos usando processos com membranas, e a aplicação dos arabinosilanos purificados na produção de películas biodegradáveis e bioativas.

## 2.Revisão bibliográfica

### 2.1. Embalagens para alimentos e sustentabilidade

#### 2.1.1. Embalagens de polímeros convencionais

Os polímeros sintéticos são bastante utilizados em diferentes indústrias tais como as de embalagens, construção, transporte, eletrónica e outras. A indústria das embalagens é o setor que mais utiliza materiais poliméricos (42 %) seguindo-se o da construção civil (18,8 %), que utiliza por exemplo 69 % de todo o policloreto de vinilo (PVC) produzido (Geyer et al., 2017).

Os materiais poliméricos mais utilizados na produção de embalagens são o Polietileno (PE), o Polipropileno (PP), o Polietileno Tereftalato (PET), o Polivinilcloro (PVC), o Poliestireno (PS) e a Poliamida (PA). Estes materiais correspondem a cerca de 90 % de todos os plásticos produzidos; tal é possível devido à sua grande disponibilidade no mercado a um custo relativamente baixo e ao seu bom desempenho mecânico e boas propriedades térmicas e de barreira (Geyer et al., 2017; Siracusa et al., 2008). O grande sucesso dos plásticos na indústria das embalagens é alcançado quando estas características referidas se combinam com a leveza e o seu uso permite aumentar o tempo de prateleira dos produtos alimentares livres de contaminação (“Life cycle of a plastic product,” 2019).

Os combustíveis fósseis, tais como o petróleo e gás natural, são as principais fontes de matérias primas para a produção dos plásticos. Cerca de 4 % da produção mundial dessas matérias primas é utilizada para a produção de plásticos, e outros 4 % são gastos para fornecer energia para o seu fabrico (Hopewell, Dvorak, & Kosior, 2009). O processo de obtenção dos plásticos começa com a separação e tratamento de componentes do petróleo bruto e do gás natural, correspondendo ao *cracking* (fracionamento). Esta etapa processual resulta da conversão destes componentes em monómeros de hidrocarbonetos, tais como o etileno e o propileno. Outros tratamentos levam a uma gama mais ampla de monómeros, como estireno e cloreto de vinila, entre outros. O processo de polimerização consiste na ligação de milhares de moléculas com a mesma estrutura (monómeros) para produzirem uma macromolécula (polímero), com cadeias lineares ou ramificadas, resultando em plásticos com uma ampla gama de propriedades. O grau de ramificação afeta diversas propriedades tais como a densidade, cristalinidade, barreiras a gases e ao vapor de água e processabilidade (Kirwan, Plant, & Strawbridge, 2011; “Life cycle of a plastic product,” 2019). Os fatores que controlam a polimerização são a temperatura, pressão, tempo de reação, concentração e natureza química dos diferentes monómeros. Por vezes é utilizado um catalisador de forma a controlar o tipo de reação bem como a velocidade da mesma (Shrivastava, 2018). A introdução de catalisadores como por exemplo o metaloceno ( $C_5H_5$ )<sub>2</sub>M, permitiu a produção de plásticos de alto desempenho, tendo um alto impacto nas propriedades de

plásticos como o PE, PP e outros como o PS. Em certos casos, o resultado são polímeros novos com novas aplicações, como por exemplo, películas de PE microperfuradas para embalagem de produtos frescos (Kirwan *et al.*, 2011).

O polietileno (PE) é estruturalmente o plástico mais simples, que contribui com a maior percentagem de consumo (50% ), sendo que os restantes completam o remanescente valor de mercado (*British Plastics Federation*, 2016). Este é um polímero de polimerização por adição, em que o crescimento da cadeia polimérica ocorre exclusivamente por reações de adição de monómeros (moléculas de etileno) na cadeia polimérica, a altas temperaturas e pressões (Shrivastava, 2018). Dependendo das condições da polimerização, podem ser produzidos diferentes tipos de PE, como por exemplo o polietileno de alta densidade (HDPE), mais resistente e frequentemente utilizado em materiais que requerem pouca flexibilidade, e o polietileno de baixa densidade (LDPE) que, devido à sua resistência, flexibilidade e transparência, é muito utilizado em películas finas e maleáveis e em garrafas de água. Os polietilenos são seláveis por calor e podem ser transformados em películas fortes e resistentes com boas barreiras ao vapor de água. Não são particularmente bons como barreiras a gases como o dióxido de carbono e o oxigénio quando comparados com outros plásticos, embora as propriedades de barreira melhorem com a densidade (Kirwan *et al.*, 2011).

O propileno (PP) é um polímero de adição de propileno formado sob calor e pressão, utilizando um catalisador Ziegler-Natta para produzir o polímero com grupos metil ( $\text{CH}_2$ ). O polímero resultante tem densidade baixa e um ponto de fusão mais alto de todos os termoplásticos, ou seja, temperaturas a qual o polímero é submetido até ser de moldagem fácil. O PP tem um custo relativamente baixo e é bastante versátil, podendo ser aplicado em embalagens de alimentos com formas mais rígidas tanto como em películas flexíveis (Kirwan *et al.*, 2011).

O poliéster é um polímero de condensação, em que no processo de polimerização a reação entre as unidades repetitivas e o crescimento resultam na libertação de uma pequena molécula como água ou ácido clorídrico, como subproduto (Shrivastava, 2018). Este polímero é formado a partir de monómeros de ésteres resultantes da reação de um grupo carboxilo com um álcool. Existem vários tipos de poliésteres dependendo dos monómeros utilizados. A polimerização que ocorre entre um ácido tereftálico com etilenoglicol origina o polietileno tereftalato (PET) (Kirwan *et al.*, 2011). O PET é resistente e possui boas propriedades de barreira a gases e vapor de água, tornando-o ideal para bebidas carbonatadas e recipientes de alimentos que estejam sujeitos a aquecimentos com temperaturas altas. Pode-se também encontrar este poliéster em fibras para roupas (*"Life cycle of a plastic product,"* 2019).

O polivinilcloreto (PVC) é um polímero de adição formado a partir de monómeros de cloreto de vinilo. A molécula de cloreto de vinilo é obtida pela alteração de um dos átomos de hidrogénio no etileno por um átomo de cloro (Kirwan *et al.*, 2011). Este polímero tem excelentes capacidades de transparência, resistência e estabilidade a longo prazo e pode ser mais rígido para os mercados de construção ou mais flexível (“*Life cycle of a plastic product*,” 2019).

O poliestireno (PS) é um polímero de adição de estireno. Este plástico pode ser encontrado em forma rígida ou de espuma. O poliestireno expandido (EPS) é muito utilizado em bandejas de alimentos frescos e em recipientes como caixas de ovo (“*Life cycle of a plastic product*,” 2019).

A poliamida (PA) é um polímero de condensação entre uma diamina e um cloreto de diácido ou um composto com um grupo funcional amina. A mais conhecida à base de petróleo, e inicialmente utilizada apenas na indústria têxtil, é a poliamida 6,6 (*nylon 66*). Só mais tarde começou a ser utilizado na indústria da embalagem, por ter propriedades mecânicas semelhantes às dos plásticos atualmente utilizados neste setor (“*Life cycle of a plastic product*,” 2019; Malte & Bernhard, 2016). Recentemente têm-se vindo a produzir biopoliamidas de fontes naturais, sintetizando o ácido 11-aminoundecanóico proveniente do óleo de ricínio. Este bioplástico, Poliamida 11 (PA11), deriva completamente de fontes renováveis, tornando-o muito atraente do ponto de vista ambiental, ainda que não biodegradável. Esta poliamida apresenta melhor estabilidade dimensional mas menor rigidez que a PA convencional. Devido à sua resistência química é muito utilizada em equipamentos da indústria química e alimentar (Malte & Bernhard, 2016).

O consumo de polímeros sintéticos a nível global para embalagens tem crescido muito nos últimos anos, correspondendo a consumos de mais de 200 milhões de toneladas anuais, com um crescimento de aproximadamente 5 % ao ano (Siracusa *et al.*, 2008). No entanto, o aumento do uso destes materiais tem provocado sérios problemas ecológicos devido à sua não biodegradabilidade. Os plásticos têm na sua estrutura moléculas de polímeros muito grandes e ligações carbono-hidrogénio muito estáveis, o que dificulta a sua decomposição por parte dos microrganismos (Seyedi *et al.*, 2014), explicando assim a sua acumulação nos aterros e no meio ambiente desde os anos 50, quando começou a produção em massa dos plásticos (Barnes, Galgani, Thompson, & Barlaz, 2009).

Num estudo feito em 2015 a nível global por Geyer *et al.*, (2017), estima que 2500 toneladas de plásticos - ou 30 % de todos os plásticos já produzidos - estão atualmente em uso desde a sua produção. O mesmo estudo indica que entre 1950 e 2015 foram originados 6300 toneladas de resíduos plásticos, dos quais 9 % foram incinerados, apenas 12 % reciclados e os restantes 79 % estão a ser acumulados em aterros

e nos ambientes naturais, sendo geralmente este os três destinos dos resíduos plásticos. A reciclagem mecânica é uma solução favorável para o ambiente no que diz respeito ao problema de descarte dos resíduos plásticos, quando comparada à produção de novos plásticos. A substituição de compósitos de plástico virgem por compósitos de plástico reciclado alcançou os maiores benefícios ambientais, pois a produção de plásticos a partir de compósito reciclado reduz o impacto ambiental em quatro vezes do que a produção de plásticos novos (Gu, Guo, Zhang, Summers, & Hall, 2017). Segundo Lazarevic, Aoustin, Buclet, & Brandt, (2010) o aterro de resíduos plásticos, em comparação com a incineração, provou ser a opção menos preferida para todas as categorias de impacto. Os processos de reciclagem não serão suficientes para eliminar todos os resíduos plásticos, até porque nem todos os resíduos plásticos são recicláveis, e a maioria dos polímeros fabricados hoje persistirão por, pelo menos, décadas ou séculos até se degradarem. A degradabilidade destes resíduos não foi muito estudada, mas Swift & Wiles, (2004) discute a relação entre a degradabilidade dos plásticos e fatores ambientais, tais como os níveis de exposição à luz, aos raios ultravioleta, ao oxigênio e à temperatura.

### 2.1.2. Materiais alternativos para embalagens

Devido às grandes preocupações com a poluição ambiental e à exaustão de recursos naturais causados pelos materiais plásticos não biodegradáveis à base de petróleo, tem-se verificado uma crescente procura por polímeros sustentáveis para o ambiente. Os biopolímeros, materiais poliméricos provenientes de recursos biológicos renováveis tais como plantas, animais e organismos microbianos, têm ganho cada vez mais atenção por parte dos investigadores (Adsul et al., 2016), tendo-se revelado uma alternativa viável para a produção de materiais sustentáveis sobretudo pela sua biodisponibilidade e biodegradabilidade.

Biopolímeros e materiais biodegradáveis são conceitos que têm de ser considerados independentemente. De acordo a *European Bioplastics*, (2016), um material plástico é definido como biopolímero ou bioplástico se for de base biológica, biodegradável ou ambas. Já um material biodegradável é definido como “material capaz de sofrer decomposição em dióxido de carbono, metano, água, compostos inorgânicos ou biomassa, em que o mecanismo predominante é a ação enzimática de microrganismos, que pode ser medido por testes padronizados, em um período de tempo especificado, refletindo a condição de descarte disponível” (Ferreira, Alves, & Coelho, 2016).

Um exemplo é a policaprolactona (PCL) que é um material biodegradável mas não é considerado biopolímero porque não é produzido a partir de fontes não renováveis (Guarino, Gentile, Sorrentino, & Ambrosio, 2017). A PCL é um poliéster alifático e foi sempre utilizada em várias aplicações devido às suas excelentes propriedades físicas (Ray & Bousmina, 2005), e atualmente tem sido dada muita

atenção ao uso de PCL em combinação com biopolímeros de forma a tornar as suas características mais *biofriendly* (Guarino et al., 2017).

Os biopolímeros são geralmente classificados de acordo com a fonte de obtenção como esquematizado na **Figura 1**.

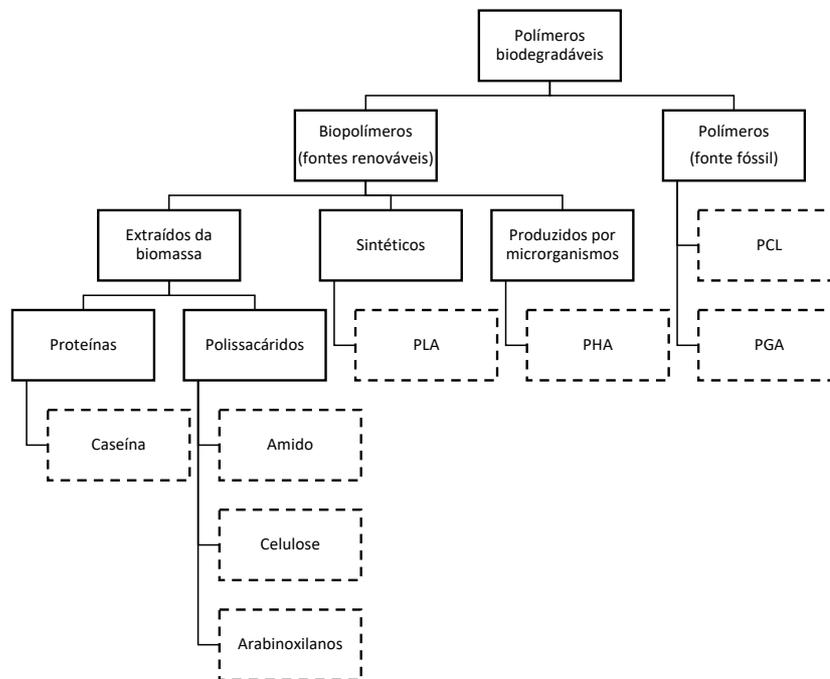


Figura 1 - Polímeros biodegradáveis (adaptado de Ferreira et al., 2016)

Consistem em: (i) polímeros diretamente extraídos de biomassa de origem vegetal, animal e de algas, tais como o amido a celulose e os arabinóxilanos, que são polissacáridos sintetizados por plantas; ou de proteínas tais como a caseína (Cacique, Rios, Barbosa, & Wentz, 2017); (ii) polímeros produzidos por bactérias, tais como a família dos Polihidroxicanoatos (PHAs) (Ray & Bousmina, 2005), que são biopolímeros microbianos biodegradáveis que têm sido muito estudados e propostos para materiais de embalagens, incluindo garrafas, revestimentos e materiais de espuma (Pérez-Arauz et al., 2019) e (iii) polímeros produzidos por síntese química a partir de monómeros de origem biológica renovável, como o poliácido láctico (PLA), que é um bioplástico constituído por monómeros de ácido láctico, e que tem vindo a ser muito utilizado em embalagens para produtos com pouco tempo de prateleira (Khosravi-Darania & Bucci, 2015).

Todos estes polímeros referidos acima têm grande potencial para serem comercializados como bioplásticos, sendo que as suas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira, estão a ser otimizadas para que se possa diversificar a sua utilização ao nível da vasta gama dos plásticos convencionais (European Bioplastics, 2016).

Diversos biopolímeros são produzidos a partir de matérias-primas valiosas naturais, como por exemplo o amido extraído do milho, arroz e trigo. Não há dúvida que a utilização destas matérias-primas, que entram na base da alimentação humana, para a produção de amido para embalagens, pode torná-las escassas e o custo destas poderá aumentar.

De um outro ponto de vista, os bioplásticos obtidos de subprodutos alimentares têm a vantagem de não competir com fontes de alimento. Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, (2011) o desperdício alimentar ronda os 1,3 biliões de toneladas por ano. Espera-se assim que se reduza o volume de resíduos bem como o custo de produção de bioplásticos (em comparação com a produção de plásticos convencionais) (Gironi & Piemonte, 2011). Um exemplo destes materiais alternativos para produção de bioplásticos são os arabinoxilanos, polímeros extraídos da casca do milho, subproduto do processamento do milho. Podem ser utilizados para produzir películas biodegradáveis (C. Anderson & Simsek, 2019b), tendo sido confirmada a sua biodegradabilidade (C. Anderson & Simsek, 2019a). Estes polímeros serão objeto de estudo neste trabalho.

## 2.2. Os Arabinoxilanos como materiais alternativos

### 2.2.1. Estrutura química

Os arabinoxilanos são polissacáridos não amiláceos e são uma componente importante na fibra alimentar uma vez que fazem parte da constituição da parede celular dos cereais, fortalecendo-a juntamente com a celulose e lignina (Heikkinen, 2016). O peso molecular ( $M_w$ ) varia, dependendo da sua origem. De acordo com um estudo feito por Kale, Hamaker, & Campanella, (2013), o peso molecular médio ponderado de arabinoxilanos de farelo de milho, determinado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), varia entre 300000 e 500000 Da.

Devido à sua estrutura complexa, esta fração hemicelulósica pode ser referida como heteroxilanos ou, como a estrutura é composta principalmente por unidades xilose e arabinose, como arabinoxilanos (Péroval, Debeaufort, Despré, & Voilley, 2002; Rose, Inglett, & Liu, 2009). Eles são formados, como é possível observar na **figura 2**, por uma cadeia linear de xiloses ligadas por ligações  $\beta$ -(1→4) às quais os resíduos de arabinose são ligados por ligações  $\alpha$ -(1→3) e  $\alpha$ -(1→2), ou ambas. Na sua composição apresentam moléculas de ácido ferúlico (AF), ligadas por uma ligação éster, (Morales-Ortega *et al.*, 2013), que têm poder antioxidante e antimicrobiano, com potencial para ser utilizado em alimentos e cosmética devido à sua baixa toxicidade (Rose *et al.*, 2009). É utilizado para a produção de vanilina e conservantes, como agente de reticulação e preparação de géis alimentares e películas comestíveis (Ou & Kwok, 2004)

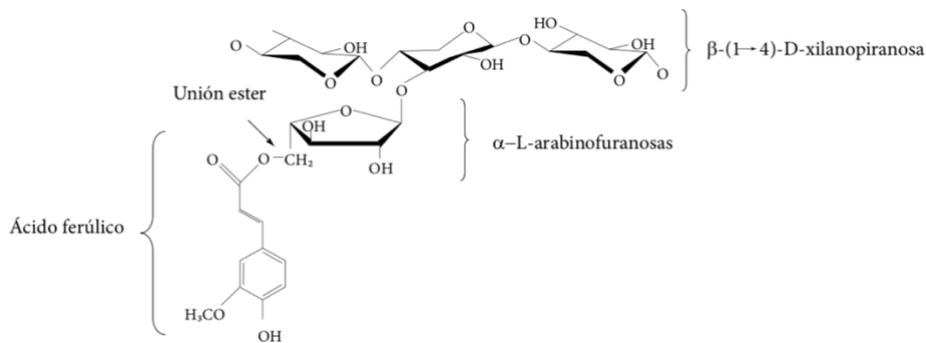


Figura 2 - Estrutura química de uma fração de arabinoxilanos ferulados identificados em cereais (Adaptado de Morales-Ortega et al., (2013))

### 2.2.2. Fontes de arabinoxilanos

Os AX foram reportados pela primeira vez por Hoffmann & Gortner (1927) e desde então têm sido estudados devido ao seu interesse químico e tecnológico. Estes polissacáridos foram identificados nos cereais mais importantes, como o trigo (*Triticum aestivum* L.), centeio (*Secale cereale* L. M. Bieb.), aveia (*A. sativa*), arroz (*Oryza sativa* L.), sorgo (*Sorghum vulgare*) e milho (*Zea mays* L.) (Morales-Ortega et al., 2013). São encontrados também em alguns subprodutos agrícolas resultantes do processamento de cereais tais como o farelo, cascas e palha (Saeed, Pasha, Anjum, & Sultan, 2011).

O milho é uma cultura de interesse como fonte de arabinoxilanos, no qual podem ser encontrados na camada exterior do grão, ou pericarpo, que é descartado como farelo do milho após o processamento do grão em farinha; e na casca do grão ou fibra do milho (figura 3). Estes subprodutos têm menor valor económico e geralmente vão para ração animal. O processamento do milho gera produtos como a farinha proveniente do endosperma, e óleo através do germen, e pode ser realizado por duas técnicas de moagem: moagem a seco e moagem húmida.

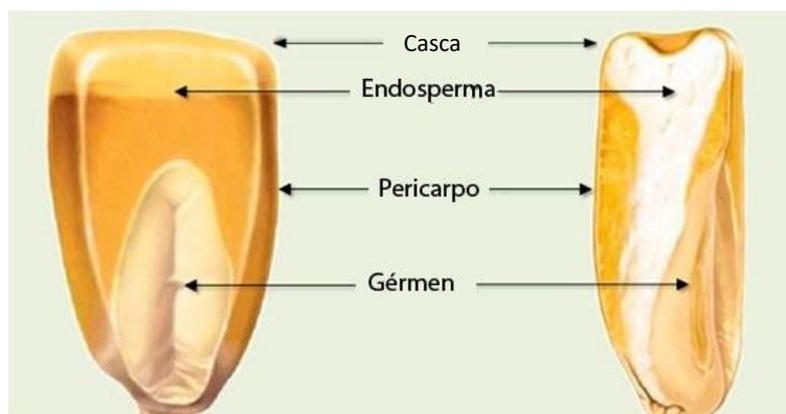


Figura 3 - Anatomia do grão de milho (adaptado de (Strazzi, 2015))

A moagem a seco envolve a moagem tradicional de grãos limpos para separar os componentes endosperma, gérmen e farelo. O principal objetivo desta técnica é a separação do endosperma para ser vendido como grão de milho ou como farinhas, enquanto que o gérmen é utilizado para produção de óleo. O farelo de milho tem baixo valor de mercado, e é frequentemente vendido como subproduto para ração animal (B. Anderson & Almeida, 2019).

A moagem húmida consiste primeiramente em demolhar o grão em água e dióxido de enxofre. Durante o processo os grãos são amolecidos e assim é facilitada a separação dos componentes endosperma, gérmen e fibra; para a produção de amido e separação do glúten no endosperma, óleo através do gérmen e a fibra do milho composta por polissacáridos não digeríveis pelo homem (Rausch, Hummel, Johnson, & May, (2019)). Os mesmos autores apresentam a variedade de produtos e subprodutos resultantes da moagem húmida do milho bem como as suas utilizações.

Através do **quadro 1** adaptada de Rose *et al.*, (2009), verifica-se que o farelo de milho tem uma composição semelhante à fibra de milho, sendo que onde há maior variação é na quantidade de amido, na de fibra solúvel e nas quantidades de fenólicos totais.

Quadro 1 - Composição (g kg<sup>-1</sup>) do farelo de milho e da fibra de milho (adaptado de Rose *et al.*, (2009)).

| CONSTITUINTE              | FARELO DE MILHO | FIBRA DE MILHO |
|---------------------------|-----------------|----------------|
| PROTEÍNA <sup>a</sup>     | 50—115          | 100—130        |
| AMIDO                     | 40—112          | 150—200        |
| ÓLEO                      | 13,2—19         | 17,2—36,8      |
| FITOESTERÓIS <sup>b</sup> | 0,2             | 0,61—1,28      |
| CINZA                     | 6—10            | 6—20           |
| FIBRA ALIMENTAR TOTAL     | 732—860         | 526—732        |
| FIBRA SOLÚVEL             | 2—26            | ND—3           |
| FIBRA INSOLÚVEL           | 706—863         | 526—732        |
| ARABINOSE <sup>c</sup>    | 128—178         | 113—117        |
| XILOSE                    | 217—243         | 176—213        |
| MANOSE                    | 3               | ND—8,4         |
| GALACTOSE                 | 44—51           | 35,9           |
| GLUCOSE <sup>d</sup>      | 182—248         | 300—372        |
| ÁCIDO URÔNICO             | 39—42           | 30—40          |
| LIGNINA                   | 7—10            | 78             |
| FENÓLICOS TOTAIS          | 55              | NR             |
| ÁCIDO FERULICO            | 28—31           | 1,02—18,5      |
| ÁCIDO DIFERULICO          | 6,8—32          | NR             |
| ÁCIDO P-CUMÁRICO          | 3—4             | 2              |

NR, não registado; ND, não detetado; <sup>a</sup> Nitrogénio x 6,25; <sup>b</sup> O recuo indica que este componente faz parte do constituinte anterior; <sup>c</sup> Açúcares neutros e ácidos urónicos relatados na forma de polissacáridos; <sup>d</sup> Glicose sem amido

### 2.2.3. Extração e purificação dos arabinoxilanos

Dependendo da solubilidade, os arabinoxilanos são classificados como: extraíveis com água (AXEA, arabinoxilanos extraídos com água) e não extraíveis com água (AXNEA, arabinoxilanos não extraíveis com água). Estes últimos requerem tratamentos químicos, enzimáticos ou mecânicos para a sua extração (Morales-Ortega *et al.*, 2013). A estrutura dos AXNEA é semelhante à dos ASEA, mas possuem maior peso molecular e maior diversidade de grupos nas cadeias laterais para além da arabinose (Saulnier, Sado, Branlard, Charmet, & Guillon, 2007). Segundo Izydorczyk & Biliaderis, (2007) a abordagem mais comum para isolar arabinoxilanos de vários materiais envolve a extração aquosa ou alcalina desses polímeros, a partir de grãos integrais ou tecidos vegetais específicos.

A fibra de milho, após moagem húmida, contém cerca de 50 % de humidade e o teor de amido varia de 15 a 30 %. Vários autores fazem um tratamento de remoção do amido para evitar que haja extração do amido juntamente com o xilano (Wang, Cheng, & Feng, 2008); (Hespell, 1998) e (Jeon, Singkhornart, & Ryu, 2014). Há poucos relatos sobre o uso de processos de extração com água para enriquecer os arabinoxilanos da fibra de milho, mas Jeon *et al.*, (2014) relata a sua extração através de um processo de centrifugação seguido de uma secagem e armazenamento. Wang *et al.*, (2008) afirma que a extração aquosa na fibra de milho é eficiente, resultando num resíduo sólido rico em arabinoxilanos.

Na parede celular intacta dos grãos de cereais, a maioria dos arabinoxilanos estão reticulados com outros componentes (por exemplo, pontes de ácido diferúlico entre cadeias de arabinoxilanos) da parede celular, que não é solúvel num ambiente aquoso. Como resultado dessas ligações cruzadas, uma grande parte dos AX nos grãos de cereais não podem ser facilmente extraídos com água, e requerem tratamentos tais como extração química (soluções alcalinas ou ácidas), enzimática ou mecânica-química (ultrassons, micro-ondas, tratamentos de vapor, extrusores e tratamentos em reatores) (Zhang, Smith, & Li, 2014). Os procedimentos de extração dos AX da fibra do milho têm sido intensivamente estudados. Doner & Hicks, (1997) testou condições de extração alcalina com peróxido de hidrogénio de modo a isolar a hemicelulose da fibra de milho sem amido na sua composição. Um ano depois Hespell, (1998) também testou vários procedimentos com hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ), hidróxido de amónio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) e hidróxido de potássio (KOH). A extração alcalina faz com que as ligações de hidrogénio e a matriz da parede celular se desintegram, de forma a que se libertem vários polissacáridos da parede celular, sendo esta a técnica mais utilizada (Zhang *et al.*, 2014). Um outro método de isolamento é por extração enzimática, Wang *et al.*, (2008) descreve o processo de enriquecimento dos AX da fibra do milho, afirmando que é um bom método.

Não estão relatados resultados de purificação de arabinosilanos provenientes da fibra do milho; apenas do farelo do milho onde Bataillon, Mathaly, Nunes Cardinali, & Duchiron, (1998) relatam que, após a extração dos arabinosilanos, purificaram o resultante por microfiltração tangencial com um rendimento de purificação de 16 % à escala de laboratório, seguindo-se um processo de secagem por atomização. O autores Shiiba, Yamada, Hara, Okada, & Nagao, (1993) purificaram arabinosilanos provenientes do farelo do milho por diafiltração a 50°C com uma membrana de polissulfona com um limite de peso molecular nominal de 20000 Da. C. Anderson & Simsek, (2019b) produziram películas de arabinosilanos do farelo de trigo e do farelo do milho. De forma a extrair os arabinosilanos, foi feita uma extração alcalina e de seguida uma diálise de forma purificar o extrato, com uma membrana com um limite de peso molecular nominal de 12 kDa.

#### 2.2.5. Aplicações dos arabinosilanos

Os arabinosilanos provém de matérias-primas sustentáveis e têm uma boa capacidade de formação de películas e portanto podem ser utilizados com mais eficiência em embalagens e revestimentos biodegradáveis (Heikkinen, 2016; Saeed, Pasha, Anjum, & Sultan, 2011). Alguns autores como (C. Anderson & Simsek, 2019) demonstram a sua produção bem como as características das películas produzidas a partir de vários subprodutos da indústria alimentar.

A crescente incidência de doenças crónicas e obesidade e a relação entre a ingestão de fibras alimentares e os vários benefícios para a saúde, fizeram com que o consumidor procure alimentos ricos em fibras. Os efeitos benéficos dos alimentos com adição de microrganismos vivos (pré-bióticos) na saúde e nutrição têm sido cada vez mais reconhecidos pelos profissionais de saúde. Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) pré-bióticos são “Micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro”.

O valor nutricional dos arabinosilanos não foi investigado tão intensamente quanto outros polissacáridos; no entanto alguns autores como Hopkins *et al.*, 2003; Lopez *et al.*, (1999) revelam que uma dieta rica em AX reduz acentuadamente a absorção de colesterol e que aumenta a absorção cecal de cálcio e magnésio, concluindo que os AX podem ter um grande impacto na fermentação intestinal, na utilização de minerais e no metabolismo do colesterol.

As evidências disponíveis de uma extensa gama de estudos em Broekaert *et al.*, (2011) demonstram que os xilooligosacarídeos (XOS) e arabinosilano-oligosacarídeos (AXOS), produtos da hidrólise enzimática dos AX após a ingestão do mesmo, possuem características pré-bióticas no cólon de humanos e animais através da estimulação seletiva da microbiota intestinal benéfica. Esses efeitos pré-

bióticos são acompanhados pela normalização das fezes e atenuação dos aumentos nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose, desencadeados por condições alimentares adversas.

### 2.3. Processos de separação por membranas: definições e princípios básicos

Neste trabalho estudar-se-ão processos com membranas para a purificação de arabinosídeos. Os primeiros passos na evolução dos processos de separação por membranas (PSM) foram dados a nível laboratorial, onde a sua utilização se restringia a medições analíticas (Baker, 2004). As primeiras grandes aplicações de membranas em PSM surgem no período da 2ª grande guerra mundial, acompanhando a evolução da ciência de polímeros com o desenvolvimento da primeira poliamida sintética - o Nylon - por Carothers (Glaser, 1999). Desde aí, os PSM estão associados a grandes descobertas científicas, tais como a invenção da hemodiálise por Wilhelm Kolff, que consiste na aplicação de uma membrana para filtração e depuração do sangue, que tem salvo milhares de vidas (Baker, 2004). Todos estes avanços contribuíram para demonstrar o potencial da ciência de membranas na tecnologia em processos de filtração.

Uma membrana, ilustrada na **figura 4**, pode ser definida como uma barreira permeável e seletiva, que restringe a transferência de massa entre duas fases, ou seja, restringe parcialmente ou totalmente o transporte de uma ou mais espécies químicas presentes nas fases. O transporte tem lugar na presença de uma força motriz entre a alimentação e o permeado. Nos processos de filtração com membranas, tais como microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose inversa (OI), a força motriz é igual a uma diferença de pressão hidráulica. No caso do processo de diálise, a força motriz é uma diferença de concentração dos solutos (Mulder, 1996).

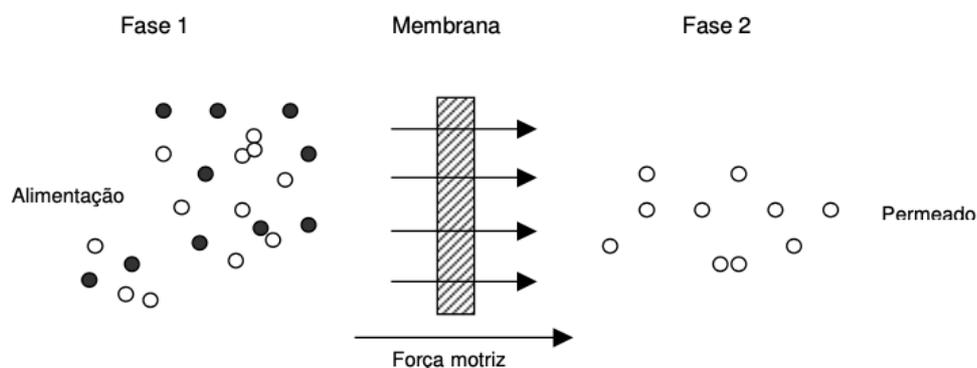


Figura 4- Representação esquemática de um processo de separação com membranas (fonte: Carvalho, (2008))

O processo de separação por membranas representado na **figura 5** é caracterizado por uma corrente de alimentação que é dividida em duas após a passagem na membrana: o permeado e o retido. O permeado é a parte da alimentação que se transfere através da membrana. O retido é a fração da

alimentação rejeitada pela membrana, e que circula continuamente entre o módulo e o tanque de alimentação, no caso em que se aplica o modo de operação com circulação total de retido.

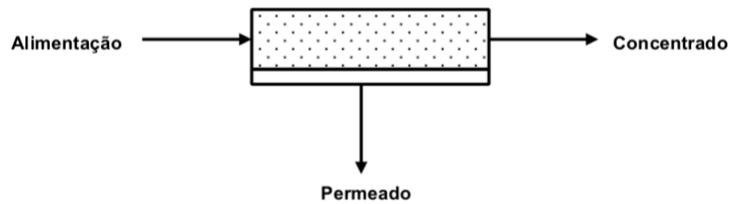


Figura 5 - Representação esquemática de um processo de separação por membranas (fonte: Cabral, (2015))

A figura 6 apresenta a faixa de atuação dos diferentes processos de membranas com separação por diferença de pressão, sendo que as diferenças entre estes processos de separação (MF, UF, NF e OI) centram-se na dimensão das partículas e das moléculas que ficam retidas bem como a intensidade da força motriz para promover a separação (Galvão & Gomes, 2015).

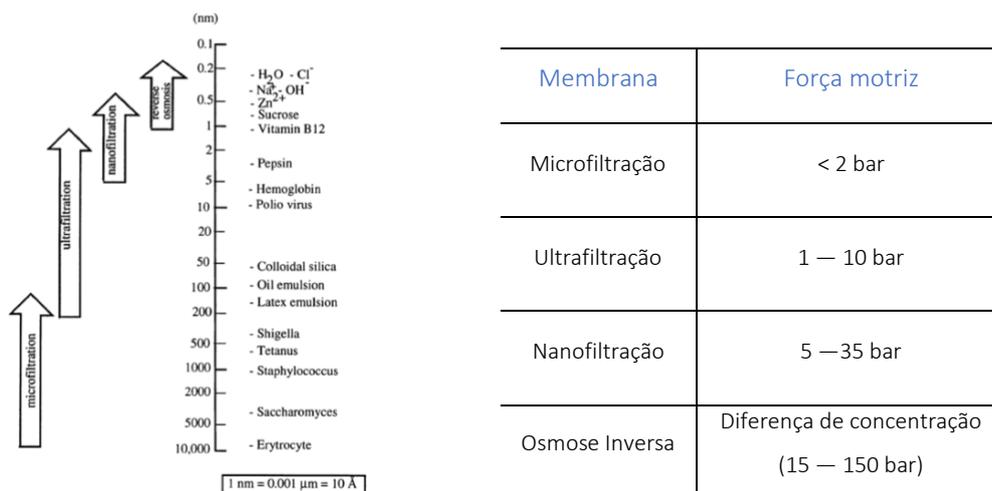


Figura 6 - Comparação entre processos clássicos de separação com membranas, em função das dimensões das espécies a serem separadas (fonte: (Mulder, 1996))

### Microfiltração

O tamanho dos poros das membranas utilizadas em microfiltração variam entre 10 – 0,05  $\mu\text{m}$  (Mulder, 1996). As membranas de MF removem partículas em suspensão e coloidais de 10 - 0,1  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Mulder, 1996) e devido ao facto de ser um processo de separação por membranas menos seletivo, com poros de maiores dimensões, esta opera em pressões inferiores a 2 bar (Galvão & Gomes, 2015), e assim a resistência que esta membrana oferece à transferência de permeado é mais baixa que nos restantes (Mulder, 1996).

## Ultrafiltração

A ultrafiltração e a microfiltração são processos semelhantes no modo de separação, sendo que nos processos de UF utilizam-se membranas com poros com um diâmetro médio significativamente menor, na faixa de 0,1 – 0,001  $\mu\text{m}$ , permitindo a remoção de macromoléculas na ordem dos 0,05 - 0,01  $\mu\text{m}$ , e que são caracterizadas por um *cut-off* molecular (MWCO) que varia entre 10 000 – 100 000 Da (Mulder, 1996). Este acaba por indicar o tamanho relativo dos poros das membranas mas que corresponde na realidade ao peso molecular do soluto que apresenta uma rejeição acima de 90% por parte da membrana (“Portal de Engenharia Química - Membranas,” 2014). Tal como a MF, a UF opera também em pressões relativamente baixas, entre 1 – 10 bar (Galvão & Gomes, 2015).

As membranas de MF e UF podem ser consideradas membranas porosas, em que a rejeição é determinada principalmente pelo tamanho e forma dos solutos em relação ao tamanho dos poros na membrana e onde o fluxo do permeado é diretamente proporcional à pressão aplicada (Habert, Borges, & Nobrega, 2006). A MF e UF são semelhantes no mesmo princípio de separação, no entrando, a grande diferença é a estrutura assimétrica da membrana que apresenta uma camada superior muito mais seletiva no caso da UF, e conseqüentemente uma maior resistência hidráulica (Mulder, 1996).

As membranas de MF e UF podem ser fabricadas em materiais orgânicos e inorgânicos, sendo que as membranas poliméricas se podem dividir em hidrofóbicas e hidrofílicas. Na MF são utilizadas membranas poliméricas hidrofóbicas que são tipicamente fabricadas de propileno (PP), polietileno (PE), politetrafluoretileno (PTFE) e fluoreto de polivinilideno (PVDF); bem como membranas poliméricas hidrofílicas que são usualmente fabricadas em policarbonato (PC), polisulfona (PSU), polietersulfona (PES) e poliamida (PA); e as membranas cerâmicas geralmente fabricadas por zirconia ( $\text{ZrO}_2$ ), titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) (Mulder, 1996). As membranas para UF são geralmente preparadas a partir de materiais poliméricos, como por exemplo polietersulfona (PES) e fluoreto de polivinilideno (PVDF)

## Nanofiltração

Em termos de seletividade a nanofiltração encontra-se na região de transição entre a UF e a OI com membranas com um tamanho de poro médio  $< 0,002 \mu\text{m}$  com um *cut-off* molecular (MWCO) na faixa entre 200 – 1000 Da. Comparativamente com os processos de OI, a pressão aplicada a processos de NF é muito menor, entre 5 – 35 bar (Galvão & Gomes, 2015). A NF é utilizada, entre outros casos, quando não é necessária uma rejeição de iões monovalentes ( $\text{Na}^+$ , p.e.), característica típica da osmose inversa (Scott, 1995).

## Osmose Inversa

A osmose inversa tal como a NF é um processo de remoção de solutos de baixo peso molecular de um solvente; tipicamente a água. Como o nome indica, é o processo reverso do processo normal da osmose, em que um solvente é separado de um soluto de baixo peso molecular, ou a solução concentrada, por uma membrana permeável ao solvente e impermeável ao soluto (Scott, 1995). A osmose inversa, também chamada de hiperfiltração, apresenta as rejeições mais elevadas de entre todos os processos de membranas, rejeitando praticamente todos os solutos (Cabral, 2015).

As membranas utilizadas nestes processos estão entre as membranas porosas utilizadas na NF e as membranas não porosas densas (utilizadas em separação por pervaporação) (Mulder, 1996). Assim sendo, e devido à maior resistência da membrana, têm de ser utilizadas pressões mais elevadas na faixa dos 15 – 150 bar (Galvão & Gomes, 2015).

As membranas de NF e OI não são normalmente caracterizadas como porosas, e alguns autores como Mulder, (1996) classificam-nas como não porosas ou densas, por não possuírem uma estrutura de poros observável, embora se assuma que esta existe na faixa manométrica.

## Tipos de módulos com membranas

As membranas são acondicionadas dentro de módulos, que são definidos como parte de um sistema de membranas, utilizadas em diversas configurações: tipo planar, tubular, fibras ocas e em espiral.

No módulo de membranas planas (*plate-and-frame*), as membranas estão dispostas paralelamente separadas por espaçadores. Já nos módulos tubulares, estas são constituídas por tubos de material polimérico ou cerâmico inseridos dentro de módulos de geometria cilíndrica (Baker, 2004). O módulo tubular é utilizado em processos de ultrafiltração e microfiltração quando há possibilidade de operar com velocidades de escoamento elevadas. A membrana é suportada interna ou externamente num suporte poroso feito com um material cerâmico, polimérico, de carbono ou aço inoxidável (Pertile, 2013).

As fibras ocas (*hollow fibers*) são utilizadas na forma de cartuchos contendo centenas de fibras com um pequeno diâmetro interno que varia entre 50 a 3000  $\mu\text{m}$ . Se o diâmetro interno variar entre 50 a 200  $\mu\text{m}$  estas são chamadas de fibras ocas finas ou *hollow fine fibers* (Baker, 2004). A vantagem destas membranas de fibras ocas é que podem formar módulos compactos com áreas superficiais por unidade de volume muito altas. São bastante utilizadas em microfiltração e ultrafiltração (Baker, 2004).

A configuração em espiral é uma das mais comuns nas indústrias que operam com processos de separação, nomeadamente microfiltração e ultrafiltração (Baker, 2004). Neste módulo são utilizados

espaçadores entre as membranas; enquanto que um recolhe o permeado, o outro serve para o escoamento da solução da alimentação. O conjunto de espaçadores-membranas é enrolado em torno de um tubo perfurado para recolher o permeado (Pertile, 2013).

### Princípios dos processos de separação com membranas

O desempenho e a eficiência de uma membrana são normalmente determinados por dois parâmetros: a permeabilidade e a seletividade.

A permeabilidade ( $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2} \cdot bar^{-1}$ ) de uma membrana representa a facilidade com que as substâncias se transferem através da mesma. Esta é definida através da **equação 1**:

$$P = \frac{\text{fluxo do permeado}}{\text{pressão transmembranar}} \quad (1)$$

Onde a  $P$  ( $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2} \cdot bar^{-1}$ ) corresponde à permeabilidade através da pressão transmembranar (bar) e fluxo do permeado ( $L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ ) que são calculados experimentalmente.

O fluxo volumétrico é definido como o volume de solução que atravessa a membrana por unidade de área e por unidade de tempo,  $Jv$  ( $L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ ) representado na **equação 2**:

$$Jv = \frac{Q}{A} \quad (2)$$

onde,  $Q$  ( $L \cdot h^{-1}$ ) corresponde ao caudal de permeado e  $A$  ( $m^2$ ) à área da membrana.

A seletividade da membrana de um componente em relação a outro pode ser calculada pela razão das permeabilidades desses componentes. A seletividade está relacionada com o coeficiente de rejeição  $r_i$  (%) de cada componente, ou seja, pode-se considerar que uma elevada seletividade está relacionada com uma elevada rejeição de um dos componentes. Esta rejeição define-se de acordo com a **equação 3**:

$$r_i = 1 - \frac{C_{i,perm}}{C_{i,alim}} \quad (3)$$

Onde  $C_{i,perm}$  ( $g \cdot L^{-1}$ ) e  $C_{i,alim}$  ( $g \cdot L^{-1}$ ) são respetivamente a concentração (instantânea, não cumulativa) do composto  $i$  em estudo no permeado e na alimentação, respetivamente.

Os valores de rejeição e variam entre 100 % (rejeição completa do soluto) e 0 % (soluto e solvente transferem-se de forma idêntica através da membrana) (Scott, 1995). Os valores de rejeições podem variar na presença de interações soluto-membrana, nomeadamente, repulsões eletrostáticas e de fenómenos de colmatação da membrana, com consequentes dificuldades na transferência de massa dos solutos perto da membrana. Os fenómenos de colmatação da membrana podem ser diminuídos com uma adequada hidrodinâmica da corrente de alimentação.

A remoção de sais e solutos de referência, tais como o cloreto de sódio (NaCl) e o ácido ferúlico respetivamente, foi calculada experimentalmente no presente trabalho. Através dos valores de rejeição foi possível estimar a remoção utilizando o processo de diafiltração. O autor Almanasrah *et al.*, (2015) partiu de um balanço de massa para chegar à **equação 4**:

$$t - t_0 = - \frac{V_{alimentação}}{J_v \cdot A_{memb} \cdot (1 - R_i)} \cdot \ln \left( \frac{C_{alimentação}(t)}{C_{alimentação}(t=0)} \right) \quad (4)$$

Onde o tempo  $t$  (min) é o tempo de operação; o tempo zero  $t_0$  (min) o início do ensaio, o volume da alimentação  $V_{alimentação}$  (L); o fluxo volumétrico  $J_v$  ( $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ ); a área da membrana  $A_{memb}$  ( $m^2$ ); a rejeição  $r_i$  (%) e a concentração da alimentação  $C_{alimentação}$  ( $g \cdot L^{-1}$ ).

O volume do permeado  $V_p$  (L) é igual ao volume de água adicionado à alimentação,  $V_w$  (L), e podem ser calculados de acordo com a **equação 5**:

$$V_p = J_v \cdot A_{memb} \cdot (t - t_0) \quad (5)$$

Combinando as equações anteriores, os valores de concentração de cada componente  $i$  na alimentação (retentado)  $C_{i,alim}$  ( $g \cdot L^{-1}$ ), podem ser estimados na **equação 6**:

$$C_{i,alim}(t) = C_{i,alim}(t=0) \cdot \exp [-D \cdot (1 - r_i)] \quad (6)$$

É possível calcular o diavolume  $D$  (-) pela **equação 7**:

$$D = \frac{V_w}{V_{alim}} \quad (7)$$

A equação foi adaptada, porque segundo o autor, o uso destas equações são necessárias as seguintes condições: volume de alimentação constante e rejeição constante. Assim sendo, denominamos de

tempo um  $t_1$  (min) o tempo a partir do qual a percentagem de rejeição se torna constante, uma vez que não se cumpria o requisito de rejeição constante, e apenas o de volume de alimentação.

$$V_p(t - t_1) = V_p(t - t_0) - V_p(t_1 - t_0) \quad (8)$$

Se dividirmos pelo  $V_{feed}$ , obtém-se a **equação 9**:

$$\frac{V_p(t-t_1)}{V_{feed}} = \frac{V_p(t-t_0)}{V_{feed}} - \frac{V_p(t_1-t_0)}{V_{feed}} \Leftrightarrow D - a \quad (9)$$

Onde  $a$  corresponde ao valor fixo de diavolume a partir do qual a rejeição se torna constante. Assim chegamos à **equação 10** final:

$$C_{i,alim}(t) = C_{i,alim}(t_1) \cdot \exp [-(D - a) \cdot (1 - r_i)] \quad (10)$$

O número de *Reynolds* (-) definido pela **equação 11** caracteriza o regime de escoamento. No geral para  $Re < 2100$  o fluxo é laminar; e para  $Re > 4000$  o fluxo é turbulento.

$$Re = \frac{\rho v D}{\mu} \quad (11)$$

onde,  $\rho$  ( $\text{kg.m}^{-3}$ ) representa a massa específica do fluído;  $v$  ( $\text{m.s}^{-1}$ ) a velocidade média do fluído;  $D$  (m) o diâmetro hidráulico e  $\mu$  (Pa.s) a viscosidade dinâmica do fluído.

O diâmetro hidráulico aparente é calculado através da largura  $l$  (m) e da altura  $a$  (m) **equação 12** (Cheryan, 1998; Mulder, 1996):

$$d_h = \frac{2 \cdot l \cdot a}{l + a} \quad (12)$$

Para configurações tubulares, o diâmetro hidráulico corresponde ao diâmetro da secção circular constante por onde circula o fluído.

### Modo de operação em processos de separação de membranas

Na maioria dos processos de filtração por membranas usa-se o escoamento tangencial (*cross flow*), uma particularidade que se distingue da filtração convencional, onde se promove a separação por escoamento frontal como representado na **figura 7**.

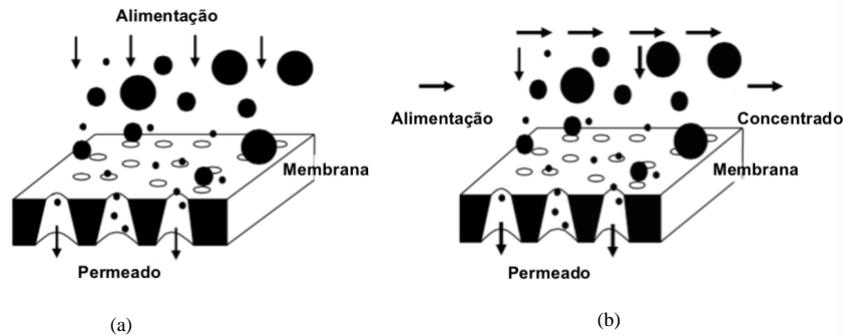


Figura 7 - Comparação esquemática entre a filtração frontal (a) e a filtração tangencial (b) (fonte: Cabral, 2015))

A operação em *cross flow* dificulta a acumulação de moléculas na superfície da membrana que podem causar colmatação (*fouling*) e a polarização de concentração. Estes fenómenos resultam numa redução do desempenho, tais como a queda de fluxo ao longo do tempo, e um aumento da resistência entre o fluido-membrana devido à formação de barreiras devido a depósito de partículas ou bloqueio de poros, adsorção de solutos e formação de uma camada de gel/bolo de filtração (Scott, 1995).

Este sistema tem vantagens no tempo de vida útil da membrana, uma vez que pode ser regenerada repetidamente com agentes de limpeza fortes (Scott, 1995).

Na **figura 8** encontram-se os principais modos de operação dos processos de separação com membranas: (a) recirculação total, (b) concentração e (c) diafiltração. No modo de recirculação total o concentrado e o permeado são devolvidos ao tanque de alimentação. Este modo é principalmente utilizado à escala laboratorial de forma a permitir avaliar a influência das condições experimentais, tais como a pressão transmembranar aplicada e a velocidade de circulação.

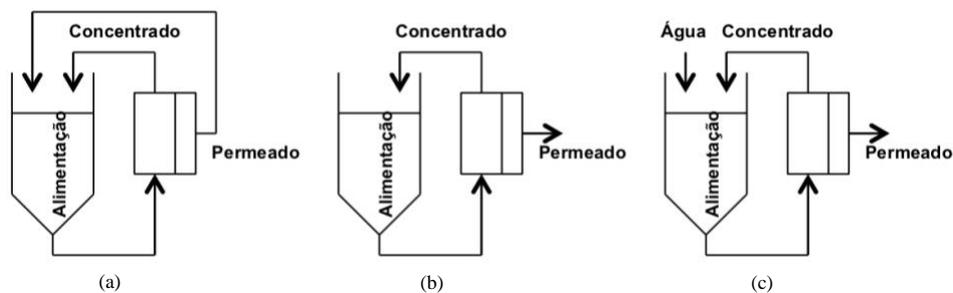


Figura 8 - Principais modos de operação dos processos de separação com membranas (a) recirculação total; (b) concentração; (c) diafiltração (fonte: Cabral, (2015))

O modo de concentração consiste na passagem da alimentação pela membrana, sendo o permeado continuamente recolhido e o retido recirculado para o tanque de alimentação, enquanto que a concentração dos solutos rejeitados pela membrana aumenta até uma concentração desejada.

O modo de operação por diafiltração consiste em adicionar um solvente puro como a água para suprir o volume removido pelo permeado de forma a manter o volume do tanque de alimentação constante. Cada volume de água adicionado é denominado de diavolume. A diafiltração é utilizada na purificação de compostos, pois promove a separação dos compostos de diferentes dimensões, purificando assim a alimentação (Cabral, 2015; Cheryan, 1998).

#### 2.4. Películas biodegradáveis e bioativas

Películas biodegradáveis e bioativas tem um elevado potencial para contribuir de forma positiva para a produção de embalagens sustentáveis. Alguns materiais, tais como os polissacáridos, são bons candidatos para a sua produção. Na indústria alimentar são necessários polímeros que satisfaçam vários requisitos tais como baixa permeabilidade aos gases, uma boa aparência, propriedades antioxidantes, entre outros (Sganzerla *et al.*, 2019).

As embalagens ativas têm vantagens em relação às embalagens passivas, pois promovem uma interação do produto com o meio ambiente prolongando o tempo de prateleira do mesmo ou até mesmo melhorar as suas capacidades sensoriais ou de segurança. A embalagem ativa pode ser definida como um sistema no qual constituintes secundários foram intencionalmente incluídos na formulação ou no espaço livre da embalagem para melhorar o seu desempenho (Luchese, Brum, Piovesana, Caetano, & Flôres, 2017). Estas exercem várias funções técnicas tais como absorção de oxigénio, etileno, humidade e odores, enquanto que outras emitem dióxido de carbono, agentes antimicrobianos, aromas e antioxidantes (Barros, 2013). A oxidação corresponde a um dos mecanismos mais frequentes de deterioração e redução da vida útil dos alimentos (Vermeiren, Devlieghere, Van Beest, De Kruijf, & Debevere, 1999).

O ácido ferúlico é um exemplo de um composto natural com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, encontrado na matriz celular de plantas (Ou & Kwok, 2004) podendo atuar também como agente de reticulação entre polissacáridos tais como os arabinoxilanos (Izydorczyk & Biliaderis, 2007).

### Produção e caracterização de películas biodegradáveis e bioativas de arabinosilanos

A produção de películas de polissacáridos tais como os arabinosilanos, é geralmente realizada pelo método de *casting* como está descrito por C. Anderson & Simsek, (2019b). Estes autores produziram películas de arabinosilanos de diferentes fontes tais como o farelo do milho, farelo do trigo e dreche com a adição de glicerol ou sorbitol como plastificantes em três concentrações diferentes (10, 25 ou 50 %). Uma vez produzidas, as películas foram armazenadas a uma humidade relativa de 49 %. Após o período de estabilização determinaram as propriedades topográficas e perfis mecânicos das mesmas. A adição de plastificantes é necessária para melhorar as propriedades da película. Os plastificantes que têm sido mais utilizados em películas de arabinosilanos são o glicerol e o sorbitol (Aghazadeh et al., 2018; C. Anderson & Simsek, 2019b; Mikkonen et al., 2009).

Neste trabalho pretendeu-se produzir películas de arabinosilanos purificados usando processos com membranas, e efetuar a sua caracterização em relação à sua aparência, propriedades higroscópicas, propriedades mecânicas, propriedades de barreira e atividade antioxidante.

### 3. Materiais e métodos

#### 3.1. Extrato rico em arabinosídeos e medição da sua viscosidade

O extrato proveniente da fibra do milho, fornecido pela Faculdade de Ciências e Tecnologia (FCT-UNL) foi produzido através de um processo de extração alcalina seguido de um processo de ultrafiltração de modo a concentrar os arabinosídeos numa razão de 1:5.

Com o objetivo de purificar o extrato, e tendo previamente decidido que tipo de membranas e módulos de membranas se iriam usar, teve de se ter em consideração a viscosidade do mesmo. Foram feitas medições usando um reómetro *HAAKE MARS (Modular Advanced Rheometer System)* com um sensor cone-prato (C35 29), acoplado a um sistema *peltier* para controlo de temperatura, para diferentes diluições do extrato inicial (1:1; 1:5; 1:6; 1:11; 1:16; 1:26; 1:36 e 1:46), às temperaturas de 20°C e 40°C.

#### 3.2. Processamento com membranas

##### 3.2.1. Diafiltração num módulo de membranas planas

A instalação de ultrafiltração operada em modo de diafiltração está representada **figura 9**. É compreendida por um reservatório de alimentação, duas membranas, duas bombas peristálticas (uma para a entrada de água e uma para a saída do tanque de alimentação), manómetros (pi), um reservatório de permeado e um de água para a entrada do volume de água correspondente.

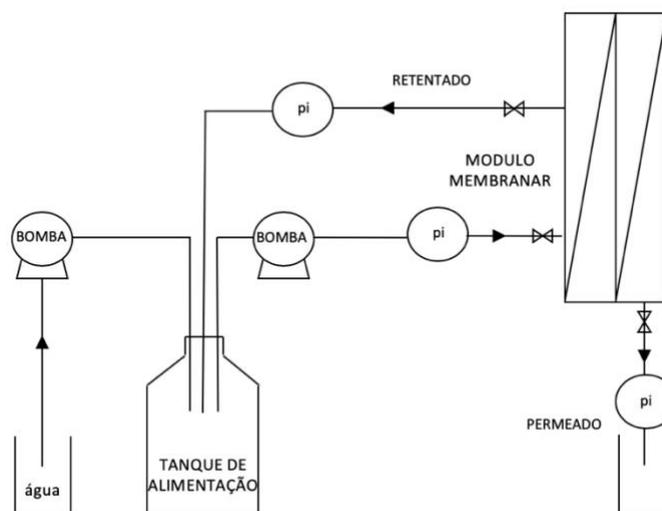


Figura 9 - Representação esquemática da unidade de membranas planas Hydrostart de Sartorius

A purificação foi realizada com uma unidade de membrana da *Sartorius* (Göttinger, Alemanha) com duas membranas *Hydrosart* de ultrafiltração (modelo: 3051446801E-Sw) de celulose, colocadas em paralelo, com um limite de peso molecular nominal, MWCO de 100 kDa e com uma área de 0,1 m<sup>2</sup> cada, perfazendo um total de 0,2 m<sup>2</sup> no módulo.

A lavagem e desinfecção da membrana foi feita com uma solução de hidróxido de sódio, NaOH, 1M a 40°C durante 40 minutos, como recomendado no manual da membrana. A conservação da mesma foi feita com recurso a uma solução de hidróxido de sódio 0,1M.

### Condições de operação

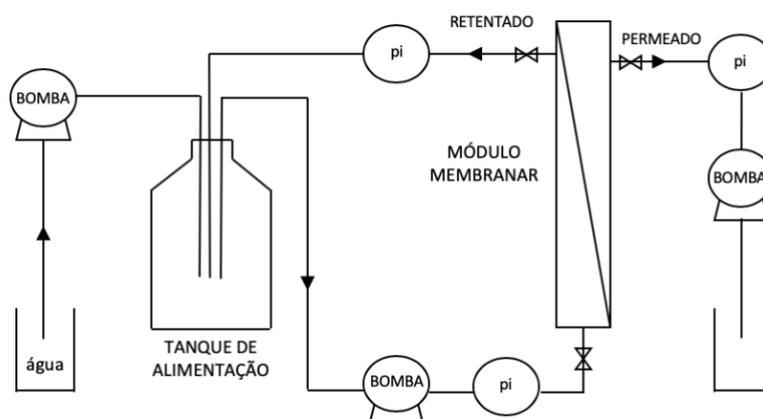
Os testes feitos à escala laboratorial, esquematizados no **quadro 2**, foram realizados sob condições controladas de pressão transmembranar de  $0,70 \pm 0,04$  bar, medida e controlada através dos manómetros instalados no módulo como representa a **figura 9**. A temperatura do reservatório de alimentação foi mantida a  $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  para os diferentes ensaios. Estes decorreram no modo de diafiltração em contínuo.

*Quadro 2 - Esquema das condições de operação da unidade de membrana Hydrostart de Sartorius*

| Membrana                    | Modo de operação   | Pressão transmembranar (bar) | Temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) | Área total ( $\text{m}^2$ ) |
|-----------------------------|--|------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| Hydrosart<br>3051446801E-Sw | Ultrafiltração (UF) operado em modo de diafiltração (DF) | $0,70 \pm 0,04$              | $40 \pm 2$                       | 0,2                         |

### 3.2.2. Diafiltração num módulo de fibras ocas

O equipamento de filtração é compreendido por um reservatório de alimentação, uma unidade de membrana, duas bombas peristálticas (uma de entrada de água e uma de saída do tanque de alimentação) (bomba), uma bomba de diafragma (bomba de permeado) (bomba), manómetros (pi), um reservatório de permeado e um de água para a diálise como representado na **figura 10**.



*Figura 10 - Representação esquemática da unidade da membrana de fibras ocas de GE Healthcare*

A purificação foi realizada com um módulo de fibras ocas da *GE Healthcare* (Chicago, EUA). As membranas (modelo UFP-100-C-6A) são de polissulfona (PS) e assimétricas (operando de dentro para

fora), com um limite de peso molecular nominal MWCO de 100 kDa. O módulo de membranas contém 520 fibras de 0,5 mm de diâmetro interno, 0,64 m de comprimento e uma área total de 0,48 m<sup>2</sup>.

A lavagem da membrana foi feita em três etapas, de modo a recuperar a permeabilidade hidráulica inicial. Primeiramente foi utilizada uma solução alcalina com uma concentração de 0,5 % (m/m) de *Ultrasil 110* (Ecolab, Canadá) durante 30 minutos. De seguida utilizou-se uma solução ácida de *Ultrasil 75* (Ecolab, Canadá) com uma concentração de 0,03 % (m/m). A última etapa consistiu na circulação de etanol 97 % (Labchem, Pensilvânia) diluído para uma concentração de 70 % (m/m), durante 20 minutos, conforme indicado no manual de operação da membrana. Entre as diferentes passagens a membrana foi lavada com água desionizada até estabilizar o pH a 7 e até se atingir uma condutividade negligenciável.

#### Condições de operação:

Os testes feitos à escala laboratorial foram realizados sob condições de fluxo controlado através de uma bomba implementada no circuito do permeado. Estes decorreram por ultrafiltração em modo de diafiltração em contínuo a um fluxo de 18,75 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> com um volume de alimentação constante. A temperatura do reservatório de alimentação foi controlada a 30 °C ± 2 °C, 40 °C ± 2 °C e a 50 °C ± 4 °C para os diferentes ensaios como esquematizado no **quadro 3**.

Foi testado um método de operação de relaxamento membranar a uma temperatura de 40 °C ± 2 °C, que consiste na permeação durante o diavolume, *D* (-) e a paragem da bomba de permeado durante 1 minuto, e assim sucessivamente até terminar o ensaio.

*Quadro 3 - Esquema das condições de operação da unidade da membrana de fibras ocas de GE Healthcare*

| Membrana     | Modo de operação  | Pressão<br>entrada (bar) | T (°C) | Área total<br>(m <sup>2</sup> ) |
|--------------|---|--------------------------|--------|---------------------------------|
| UFP-100-C-6A | Ultrafiltração (UF) operado em modo de diafiltração<br>(DF)                                   | 0,5 ± 0,05               | 30 ± 2 | 0,48                            |
| UFP-100-C-6A | Ultrafiltração (UF) operado em modo de diafiltração<br>(DF)                                   | 0,4 ± 0,05               | 40 ± 2 | 0,48                            |
| UFP-100-C-6A | Ultrafiltração (UF) operado em modo de diafiltração<br>(DF) e método de relaxamento membranar | 0,4 ± 0,05               | 40 ± 2 | 0,48                            |
| UFP-100-C-6A | Ultrafiltração (UF) operado em modo de diafiltração<br>(DF)                                   | 0,35 ± 0,05              | 50 ± 4 | 0,48                            |

No fim de cada diavolume dos 35 realizados em ambos os módulos, foram retiradas amostras de 2,5 ml ± 0,1 ml da alimentação, do retentado e do permeado instantâneo e cumulativo de forma a que fosse

possível verificar a evolução da concentração de sais de referência bem como a quantificação dos compostos fenólicos totais ao longo do ensaio.

Foi medida também a permeabilidade da membrana antes e logo após cada ensaio de forma a observar a perda da permeabilidade hidráulica, bem como a recuperação da permeabilidade da membrana após a lavagem.

### 3.3. Produção de películas

#### 3.3.1. Preparação das soluções filmogénicas para ensaios preliminares

O método de preparação de películas foi adaptado de (C. Anderson & Simsek, 2019b) e está representado na **figura 11**. A solução proveniente da purificação com uma concentração inicial de sólidos totais de 0,2 % (m/m solução) foi concentrada até obter uma concentração final de 1,3 % (m/m solução), num rotavapor (*Buchi Rotavapor R-200 system*, EUA). A temperatura do banho foi de 40 °C e a pressão final atingida foi de 17 mbar.

Numa placa de aquecimento (*Velp scientifica*, Itália) com uma agitação de 200 rpm, o extrato concentrado foi aquecido durante 15 minutos a 90 °C, adicionando-se posteriormente o plastificante e os diferentes reticulantes, nas percentagens presentes no **quadro 4**, e aqueceu-se novamente a solução durante 10 minutos a 90 °C na mesma placa de aquecimento. Pelo método de casting, a solução foi colocada numa placa de *petri* de poliestireno com 55 mm de diâmetro e altura de 12 mm (Firilabo, Portugal) e deixou-se a secar numa estufa KB 115 (BINDER, Espanha) a 60°C durante 15 horas. As placas foram retiradas e deixadas a estabilizar durante 15 horas num exsiccador com uma solução de nitrato de magnésio com uma humidade relativa (HR) de 52,9 %.

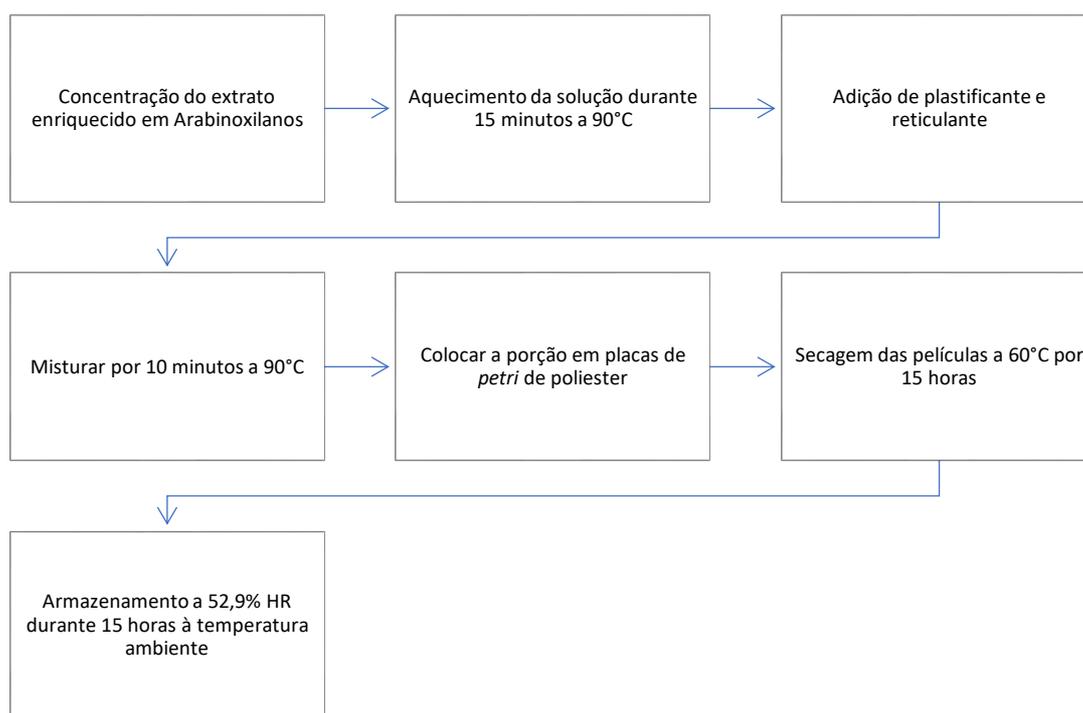


Figura 11 - Método utilizado para produzir películas de arabinosilanos (adaptado de C. Anderson & Simsek, 2019b)

### 3.3.2. Seleção da concentração dos componentes das soluções filmogénicas

O plastificante escolhido para incorporação foi o glicerol (*Fisher chemical*, UK), (C. Anderson & Simsek, 2019b) e os reticulantes o Polietileno Glicol Éter Diglicidílico, PEDGE (Moonsri, Watanesk, Watanesk, Niamsup, & Deming, 2008) e o ácido cítrico, AC (*Labchem*, EUA) (H. R. Park, Chough, Yun, & Yoon, 2005). Adicionalmente, incorporou-se ácido ferúlico (AF) (*Sigma-aldrich*, EUA) para melhorar as propriedades bioativas (atividade antioxidante).

Os componentes foram testados em diferentes concentrações como é possível verificar no **quadro 4**.

Quadro 4 - Ensaio preliminares da produção de películas de arabinosilanos

| Ensaio | Concentração Arabinosilanos (m/m polímero) | Concentração Glicerol (m/m polímero) | Concentração PEDGE (m/m polímero) | Concentração Ácido Cítrico (m/m polímero) | Concentração Ácido ferúlico (m/m polímero) |
|--------|--|--------------------------------------|-----------------------------------|---|--|
| 1      | 1,3%                                       | -                                    | -                                 | -   | -  |
| 2      | 1,3%                                       | 47 %                                 | -                                 | -   | -  |
| 3      | 1,3%                                       | 30 %                                 | -                                 | -   | -  |
| 4      | 1,3%                                       | 15 %                                 | -                                 | -   | -  |
| 5      | 1,3%                                       | 30 %                                 | 4 %                               | -   | -  |
| 6      | 1,3%                                       | 30 %                                 | 8 %                               | -   | -  |
| 7      | 1,3%                                       | 30 %                                 | 15 %                              | -   | -  |
| 8      | 1,3%                                       | 30 %                                 | -                                 | 20 %                                      | -  |
| 9      | 1,3%                                       | 30 %                                 | -                                 | 50 %                                      | -  |
| 10     | 1,3%                                       | 30 %                                 | -                                 | -   | 10 %                                       |

### 3.3.3. Preparação das películas com as soluções filmogénicas otimizadas

De acordo com procedimento descrito na **figura 11**, foram preparadas as soluções filmogénicas otimizadas, consistindo apenas na adição do plastificante, o glicerol, que foi adicionado com uma concentração de 30 % em relação à massa de sólidos solúveis totais. Na mesma formulação de base, foi incorporado o ácido ferúlico de modo a perfazer uma concentração de 10 % em relação à massa total de sólidos solúveis. Pelo método de casting a solução foi colocada numa placa de *petri* de poliestireno com 90 mm de diâmetro e altura de 12 mm (Frilabo, Portugal) e deixada secar numa estufa KB 115 (BINDER, Espanha) a 60°C durante 15 horas. As placas foram retiradas e deixadas a estabilizar durante 15 horas num exsicador com uma solução de nitrato de magnésio com uma humidade relativa, HR de 52,9 %. As películas foram cortadas nas dimensões necessárias para os testes seguintes.

## 3.4. Caracterização das películas de Arabinosilanos

### 3.4.1. Aparência, cor e espessura das películas

Numa primeira fase as películas foram analisadas visualmente para verificar a sua integridade física e aparência.

#### Medição da espessura

A espessura das películas foi medida em duplicado antes dos testes para cada uma das réplicas com um micrómetro digital (*Digimatic Micrometer*, Mitutoyo, Japão).

#### Medição da cor

A medição da cor das películas foi feita em triplicado com recurso a um colorímetro *Chroma Meter CR-400* (Konica Minolta, Japão) de forma a obter os parâmetros de cor de acordo com o sistema CIELab. Antes de se efetuarem as leituras, o colorímetro foi calibrado com um padrão branco ( $L^* = 94,62$ ;  $a^* = -0,53$  e  $b^* = 3,64$ ). As leituras foram feitas contra este padrão.

O modelo utilizado, CIELab expressa a cor de acordo com três parâmetros,  $L^*$  que quando positivo representa o branco e quando negativo o preto;  $a^*$  quando positivo o vermelho e quando negativo o verde e por fim o  $b^*$  quando positivo azul e negativo amarelo que estão representadas na **figura 12** a partir de um gráfico de coordenadas x,y e z relativas aos parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$  respetivamente.

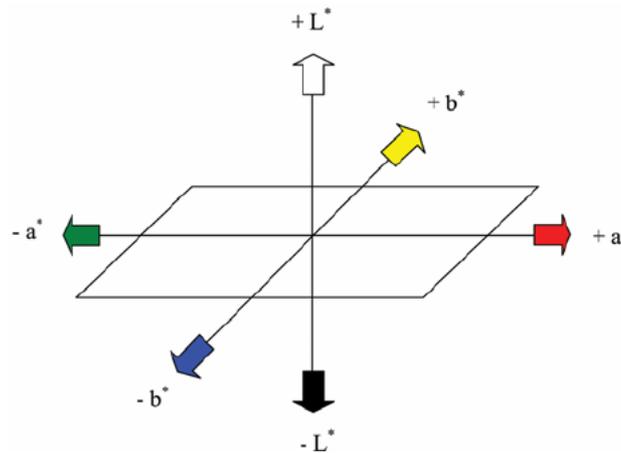


Figura 12 - Representação esquemática do método CIELAB

O espaço de cor  $L^*c^*h$ , semelhante ao  $L^*a^*b^*$ , é também bastante utilizado porque o seu sistema correlaciona melhor com a forma como o olho humano percebe as cores. Este sistema utiliza o mesmo diagrama de espaço de cor  $L^*a^*b^*$ , mas usa coordenadas cilíndricas em vez de coordenadas retangulares. Neste novo espaço,  $L^*$  indica a luminosidade,  $c^*$  a saturação e  $h^\circ$  é o ângulo da tonalidade. O valor de saturação,  $c^*$  foi calculado através da seguinte **equação 13**:

$$c^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (13)$$

Onde  $a^*$  e  $b^*$  são valores obtidos experimentalmente.

E o valor de tonalidade,  $h^\circ$  foi calculado através da seguinte **equação 14**:

$$h^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) * 180/\pi, \text{ se } a^* > 0 \text{ e } b^* > 0 \quad (14)$$

Onde  $a^*$  e  $b^*$  são valores obtidos experimentalmente.

A partir destes dados foi possível localizar a coloração das duas membranas em estudo no gráfico de cores.

#### [Avaliação da morfologia da superfície das películas](#)

A microestrutura das películas foi observada usando a técnica de Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM) (Jeol JSM-7001F *scanning electron microscope*) a 10 Kv. As películas foram cobertas com ouro e paládio, Au/Pd e observadas com aplicações de 500 ; 2000 e 5000 vezes.

### 3.4.2. Propriedades de barreira

#### Permeabilidade ao vapor de água

A **figura 12** representa esquematicamente a montagem experimental utilizada para medir a permeabilidade ao vapor de água.

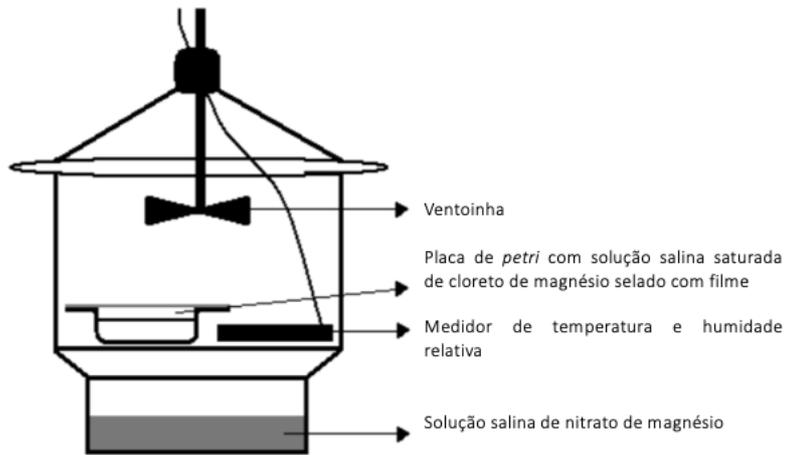


Figura 13 - Representação esquemática da montagem utilizada para medir a permeabilidade ao vapor de água das películas em estudo

Preparou-se duplicados das películas em estudo, num formato circular, com cerca de 60 mm de diâmetro. Após o período de estabilização, num exsicador com uma solução saturada de nitrato de magnésio a uma umidade relativa de 52,9 %, as amostras foram seladas no topo de caixas de vidro usando silicone para facilitar a aderência. No interior da caixa de vidro colocou-se 9 mL de uma solução salina saturada de cloreto de magnésio,  $MgCl_2$ , ( $a_w = 0,328$ ).

As caixas de vidro foram colocadas num exsicador com uma solução salina de nitrato de magnésio  $Mg(NO_3)_2$ , ( $a_w = 0,529$ ), e equipado com uma ventoinha de modo a promover a circulação de ar e minimizar a resistência à transferência de massa acima da película. As condições de umidade relativa e de temperatura dentro do exsicador foram monitorizadas utilizando um termohigrómetro (*Hanna Instruments*, USA) (Alves, Costa, & Coelho, 2010). O fluxo de vapor de água foi determinado através da pesagem das caixas com intervalos de 2 horas durante 12 horas. Os valores de umidade relativa e temperatura foram também registados no momento da pesagem.

A permeabilidade ao vapor de água foi calculada pela **equação 15**:

$$WPA = \frac{Nwf \times \delta}{\Delta p} \quad (15)$$

Onde  $WPA$  ( $\text{mol.m (m}^2\text{s.Pa)}^{-1}$ ) é permeabilidade ao vapor de água,  $Nwf$  ( $\text{mol (m}^2\text{s)}^{-1}$ ) o fluxo molar de vapor de água através do filme medido experimentalmente;  $\delta$  (m) a espessura do filme, e  $\Delta p$  (Pa) a

força motriz efetiva expressa como diferença de pressão de vapor de água entre ambos os lados do filme.

O percurso do vapor de água ao longo deste ensaio encontra-se ilustrado na **figura 14**.

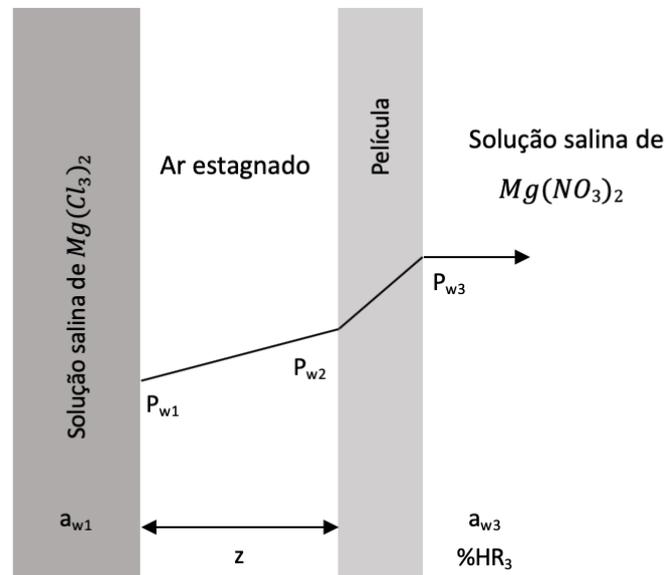


Figura 14 - Representação esquemática do processo de transporte do vapor de água

Para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água tornou-se imperativo o cálculo da pressão parcial de vapor de água em contacto com o filme  $p_{w2}$ , bem como a pressão parcial de vapor de água que se encontra no exsicador fora da caixa  $p_{w3}$  (Alves *et al.*, 2010).

Tendo em conta que no estado estacionário o fluxo de água medido é igual ao fluxo de água através do ar estagnado, é possível calcular  $p_{w2}$  através da **equação 16**:

$$N_w = \frac{p_{atm}}{RTz} D_{w-air} \ln \left( \frac{p_{atm} - p_{w2}}{p_{atm} - p_{w1}} \right) \quad (16)$$

Onde,  $N_w$  ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) é o fluxo de água;  $p_{atm}$  (Pa) a pressão atmosférica,  $R$  ( $\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) constante dos gases perfeitos,  $T$  (K) temperatura;  $D_{w-air}$  ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) o coeficiente de difusão do vapor de água em ar;  $p_{w1}$  (Pa) a pressão parcial de vapor de água em contato com a solução salina no interior da placa e  $z$  a distância entre a película e a solução.

A pressão parcial de vapor de água em contacto com a solução salina saturada de cloreto de magnésio,  $p_{w1}$  é determinada como apresentado na **equação 17**.

$$p_{w1} = a_w \cdot p_w^* \quad (17)$$

Onde,  $a_w(-)$  atividade da água e  $p_w^*$  (Pa) pressão de vapor de água pura.

A pressão de vapor de água pura,  $p_w^*$  é dada pela **equação 18**.

$$p_w^* = \exp\left[23,2 - \frac{3816,4}{T-46,1}\right] \quad (18)$$

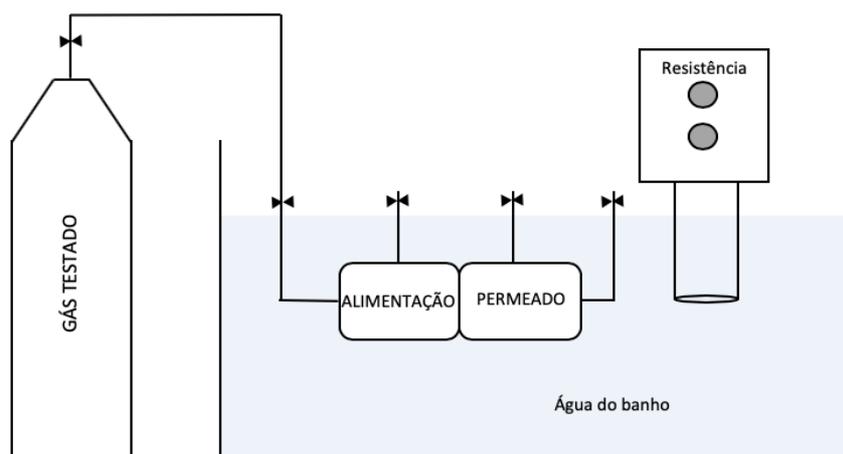
Onde,  $P_w^*$  (Pa) pressão de vapor de água pura e  $T$  (K) a temperatura.

A pressão parcial no exsecador,  $p_{w3}$  é calculada a partir da humidade relativa média medida durante o ensaio, através da **equação 19**.

$$\%HR = \frac{p_{w3}}{p_w^*} \cdot 100 \quad (19)$$

#### Permeabilidade ao oxigénio e ao dióxido de carbono

Este teste foi realizado utilizando uma instalação experimental para a determinação da permeabilidade ao gás composta por dois compartimentos cilíndricos idênticos como é possível verificar na **figura 15**. Foram utilizadas amostras circulares com 3 cm de diâmetro, que tinham sido armazenadas por 15 horas num exsecador com humidade relativa de 52,9 % conforme descrito na seção 3.



*Figura 15 - Representação esquemática do equipamento utilizado para medir a permeabilidade ao dióxido de carbono, CO<sub>2</sub> e oxigénio, O<sub>2</sub>*

Após o período de estabilização, a película foi colocada entre os dois compartimentos da célula de permeabilidade ao gás. As experiências foram conduzidas com o equipamento colocado num banho de água a 30 °C, a fim de garantir uma temperatura constante. As películas foram analisadas em duplicado. Ambas as câmaras foram pressurizadas com o gás de teste a uma pressão de 0,7 bar. Após atingir esta pressão deixou-se o equipamento estabilizar e homogeneizar o gás dentro da câmara. O teste começou quando a válvula do permeado foi aberta. Posteriormente, monitorizou-se a transferência de gás medindo a pressão nas duas câmaras ao longo do tempo usando dois transdutores de pressão (Druck PDCR 910, Inglaterra).

### 3.4.3. Propriedades mecânicas

#### Testes de tensão axial

Foram preparadas 5 replicas com as dimensões de 25 mm x 60 mm a partir de películas estabilizadas como descrito na etapa de preparação das películas, e analisadas num texturómetro (TA-XT2, *Stable Micro System*, UK) com uma célula de carga de 5 kg. As amostras foram fixadas pelas extremidades numa sonda de gancho de tração e estendidas até à rotura a uma velocidade constante de 1 mm.s<sup>-1</sup>.

Uma vez concluído o ensaio é possível verificar graficamente a relação entre a força exercida em função da distância e do tempo, o que permite calcular a tensão na rotura ( $\sigma$ ), a deformação na rotura (%) e o módulo de *Young* (E). A tensão de rotura é a força exercida sobre a área de secção reta da película, no momento em que esta se quebra, e pode ser calculada pela **equação 20**:

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (20)$$

Onde,  $\sigma$  (N.m<sup>-2</sup>) é a tensão na rotura,  $F$  (N) a força na rotura, e  $S$  (m<sup>2</sup>) a área da secção reta inicial da película.

A deformação na rotura é expressa como a variação do comprimento da amostra em relação ao seu comprimento inicial. Esta determina-se segundo a **equação 21**:

$$\varepsilon = \frac{If - Ii}{Ii} \quad (21)$$

Onde  $\varepsilon$  (-) é a deformação na rotura;  $If$  (mm) alongamento final e  $Ii$  (mm) comprimento inicial.

O módulo de *Young* (**equação 22**) indica-nos a resistência da película à deformação, e valores muito elevados significam que é necessária uma tensão elevada para provocar uma determinada deformação,

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (22)$$

Onde  $E$  (N.m<sup>-2</sup>) é o Módulo de *Young*;  $\sigma$  (N.m<sup>-2</sup>) a tensão na rotura  $\varepsilon$  (-) a deformação na rotura.

O módulo de *Young* foi obtido a partir do declive da zona linear das curvas de tensão em função da deformação.

### Testes de perfuração

Após o período de estabilização descrito na etapa de preparação das películas foram preparadas 5 réplicas com as dimensões de 30 mm x 30 mm e analisadas no mesmo texturómetro dos testes de extensão (TA-XT2, *Stable Micro System*, UK). As amostras foram fixadas numa plataforma com um orifício com 10 mm de diâmetro e pressionadas com uma sonda cilíndrica de 2 mm de diâmetro na zona central com uma velocidade constante de 1 mm·s<sup>-1</sup> até perfurar a película.

A partir deste teste obtém-se a força exercida para perfurar a película em função da distância percorrida e do tempo. Pela leitura dos gráficos, foi possível determinar a força de perfuração e, a partir desta, a tensão de perfuração,  $\sigma_p$  através da **equação 23**:

$$\sigma_p = \frac{F_p}{S} \quad (23)$$

Onde  $\sigma_p$  (N.m<sup>-2</sup>) é a tensão na perfuração;  $F_p$  (N) força na perfuração e  $S$  (m<sup>2</sup>) a área da secção reta da sonda.

A deformação na perfuração é dada pela **equação 24**.

$$\varepsilon = \frac{L-L_i}{L_i} \quad (24)$$

Onde  $\varepsilon$  (-) é a deformação na rotura;  $L$  (mm) alongamento na perfuração e  $L_i$  (mm) o alongamento inicial.

O cálculo do alongamento na perfuração está exemplificado na **figura 16**, onde o alongamento na perfuração constitui a hipotenusa calculada usando o alongamento inicial ( $L_i$ ) com o final ( $L_f$ ).

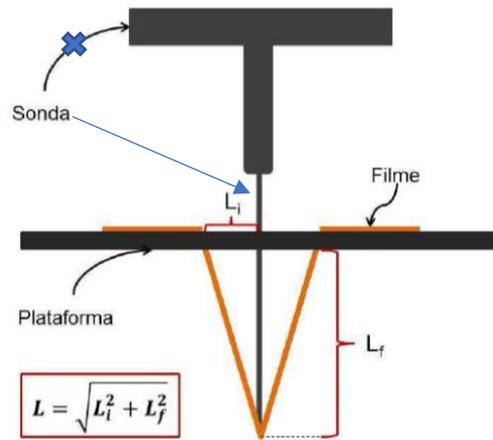


Figura 16 - Representação esquemática do ensaio de perfuração da película

#### 3.4.4. Atividade antioxidante

##### Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

Preparou-se uma solução de stock de DPPH (*Sigma Aldrich*, EUA) em metanol (*Honeywell*, Alemanha) com uma concentração de  $240 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  e armazenou-se a  $-20^\circ \text{C}$ . A solução diária foi preparada diluindo 10 mL de solução de stock em 40 mL de metanol. Posteriormente efetuou-se a leitura da absorvância a 515 nm no espectrofotômetro UV/VIS 916 (*GBC scientific equipment*, EUA), de modo a ajustar a mesma até obter uma absorvância inferior a 1,1.

Para a determinação da atividade antioxidante das películas, colocou-se num tubo de ensaio uma massa de película de  $1,30 \pm 0,14 \text{ mg}$ , ao qual se adicionou 3900  $\mu\text{L}$  de solução diária, agitando-se num agitador de tubos tipo *vortex* RSLAB-6PRO (RSLAB, França) e deixando-se durante 40 minutos à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após esse período, mediu-se a absorvância a 515 nm, dos triplicados de cada amostra. O *Radical Scavenging Activity*, RSA (%) foi calculado através da **equação 25**:

$$RSA (\%) = \frac{A_{DPPH} - A_{Amostra}}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (25)$$

Onde  $A_{DPPH}$  é a absorvância da solução diária e  $A_{Amostra}$  a absorvância após reação com a amostra de película em estudo.

Para a determinação do valor de *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*, TEAC foi feita uma curva de calibração com diferentes concentrações do reagente trolox (*sigma aldrich*, EUA) que se encontra no **Anexo A.3**.

### Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (método FRAP)

Preparou-se uma solução de reagente FRAP com 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de solução TPTZ (Thermo Fisher scientific, UK) 10 mM e 2,5 mL de solução de cloreto férrico (sigma aldrich, UE). Em seguida adicionou-se, num tubo de ensaio um pedaço de película 1,63 ± 0,14 mg a 270 µL de água nanopura, 60 µL de metanol e 2,7 mL de solução de reagente FRAP. Homogeneizou-se a solução num vortex RSLAB-6PRO (RSLAB, França) e deixou-se a incubar durante 30 minutos, a 37°C com agitação e na ausência de luz num banho com agitação (*Thermo scientific*, EUA). Foram analisados os triplicados das amostras.

Utilizando-se o procedimento acima descrito, efetuou-se uma curva de calibração apresentada no **Anexo A.3.** com diferentes concentrações de reagente Trolox (*Sigma Aldrich*, EUA).

### 3.5. Métodos analíticos

#### Quantificação de sais de referência pelo método direto

A condutividade das amostras foi medida num condutivímetro sension+ EC71 GLP (HACH, EUA) em equivalentes de cloreto de cálcio. A reta de calibração encontra-se no **Anexo A.1.** utilizando diferentes concentrações de cloreto de sódio.

#### Quantificação dos compostos fenólicos totais pelo método direto

Mediu-se a absorvância das amostras numa cuvete de quartzo num espectrofotómetro UV/VIS 916 (GBC *scientific equipment*, EUA) dos compostos fenólicos totais (em equivalentes de ácido ferúlico) a 280 nm. A reta de calibração encontra-se no **Anexo A.2.** utilizando diferentes concentrações de ácido ferúlico.

#### Quantificação da matéria seca total

A quantificação da matéria seca total do extrato purificado foi feita por pesagem, após secagem numa estufa (KB 115, BINDER, Espanha) a 100 °C durante 18 h.

### 3.6. Análise estatística

O tratamento estatístico dos resultados foi feito com recurso ao software Statistica v7.0.6.1.0 EM. A análise ANOVA foi realizada partindo de pressupostos básicos: as mostras são independentes e aleatórias, e as populações têm distribuição normal e as variâncias populacionais são iguais.

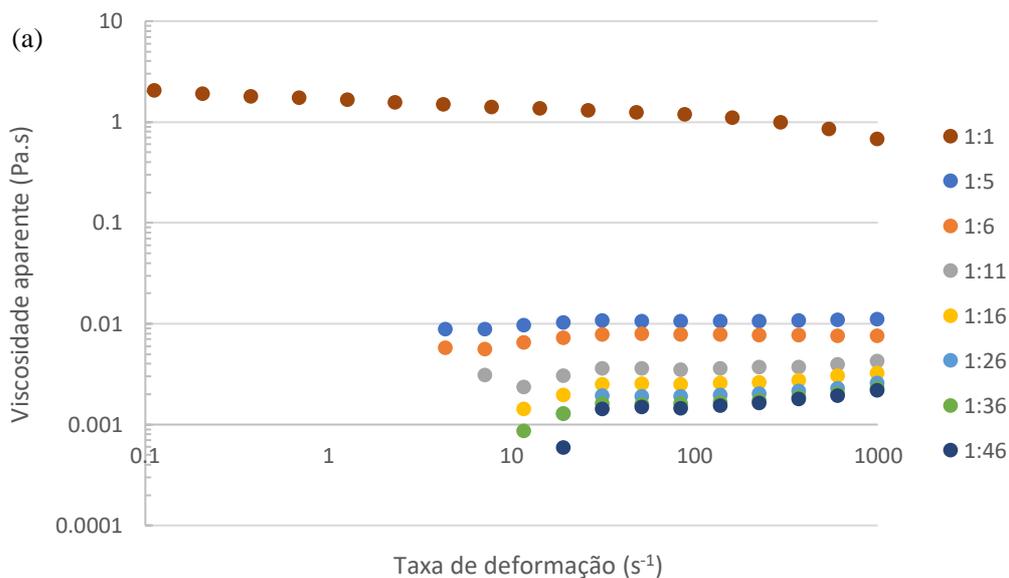
Para a caracterização das películas realizaram-se testes post-hoc de Tukey (*p-value* < 0,05) para comparação de médias, nos diferentes parâmetros estudados tais como medição de cor, propriedades mecânicas, e atividade antioxidante.

#### 4. Resultados e discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos experimentalmente pela operação da purificação com membranas de ultrafiltração em modo de diafiltração, como também a preparação e caracterização das películas feitas à base de arabinosídeos.

##### 4.1. Viscosidade do extrato rico em arabinosídeos

A viscosidade do extrato, submetido a vários graus de diluição, foi medida como objetivo de escolher o grau de diluição com um valor de viscosidade semelhante ao da água ( $1,002 \times 10^{-3}$  Pa.s a  $20^\circ\text{C}$  e  $0,653 \times 10^{-3}$  Pa.s a  $40^\circ\text{C}$ ) (ToolBox, 2004). O principal objetivo em diluir o extrato foi de facilitar o processamento nos módulos de membranas, ainda que à partida se soubesse que se iria operar em ultrafiltração em modo de diafiltração, e portanto a diluição do extrato seria promovida com a remoção de pequenos contaminantes durante os primeiros diavolumes. A **figura 17** apresenta os valores de viscosidade aparente medidos experimentalmente em função da taxa de deformação para as temperaturas de  $20^\circ\text{C}$  e  $40^\circ\text{C}$ .



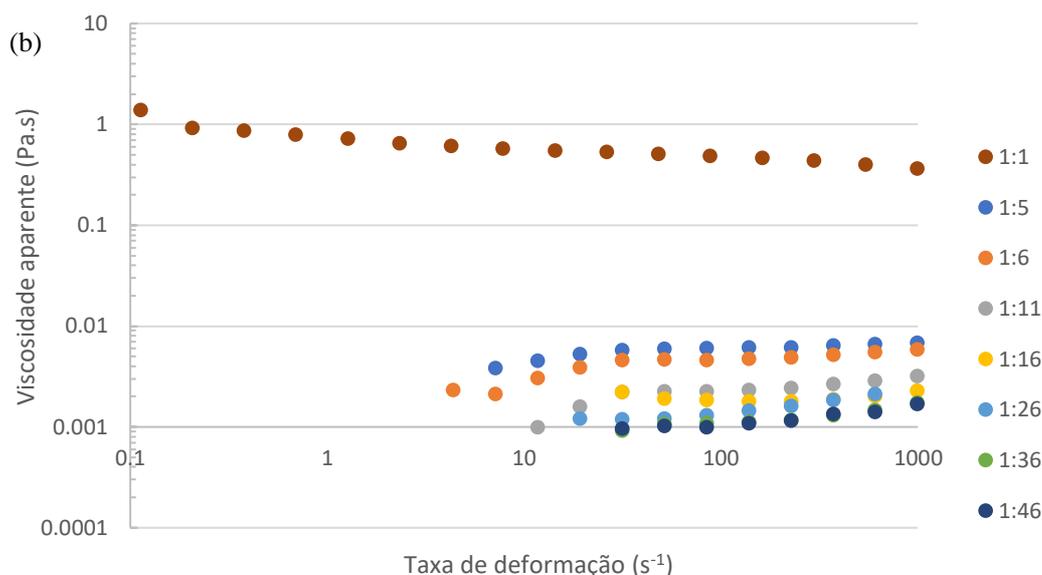


Figura 17 - Viscosidade do extrato rico em arabinosídeos a diferentes graus de diluição: (a) à temperatura de 20°C e (b) à temperatura de 40°C

Após a análise dos dados apresentados foi escolhida a diluição de 1:16 (m/m) apresentado valores de viscosidade de  $2,000 \times 10^{-3}$  Pa.s a 20°C e  $1,825 \times 10^{-3}$  Pa.s a 40°C, valores estes que estão na mesma ordem de grandeza do valor de referência da água.

#### 4.2. Purificação do extrato rico em arabinosídeos

Nesta etapa pretendeu-se estudar o efeito da temperatura (30, 40 e 50 °C) na purificação dos polímeros e o efeito do relaxamento membranar no módulo de fibras ocas; bem como o efeito da purificação num diferente módulo de operação: módulo de membranas planas. Para tal foram realizados ensaios de ultrafiltração em modo de diafiltração avaliando-se o efeito de cada condição operacional revelante no desempenho da purificação 1. a perda da permeabilidade hidráulica durante o ensaio (desejavelmente baixa); 2. a pressão transmembranar que está relacionada com fenómenos de incrustação da membrana; 3. a permeabilidade média do ensaio (desejavelmente alta) e 4. a rejeição e remoção de pequenos contaminantes, em equivalentes de ácido ferúlico e em equivalentes de cloreto de sódio NaCl (desejável baixo e alto, respetivamente).

De forma a estudar o efeito da temperatura na purificação da matéria-prima no módulo de fibras ocas foram realizados ensaios sob condições controladas de fluxo de permeado a  $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ , sem qualquer procedimento de relaxamento. O **quadro 5** mostra a temperatura, a perda da permeabilidade hidráulica da membrana, a pressão transmembranar bem como o número de *Reynolds* e a permeabilidade média durante o ensaio, parâmetros estes fundamentais para a escolha da temperatura mais favorável para a purificação.

Quadro 5 - Efeito da temperatura na purificação dos arabinosídeos por diafiltração no módulo de fibras ocas de GE Healthcare operando sem o método de relaxamento e sob condições de fluxo de permeado controlado a  $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ : perda da permeabilidade hidráulica (%); pressão transmembranar (bar); número de Reynolds (-) e a permeabilidade média ( $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ )

| Condições  | Perda da permeabilidade hidráulica (%) <sup>1</sup> | Pressão transmembranar (bar) | Numero de Reynolds (-) | Permeabilidade média ( $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ ) |
|--|---|------------------------------|------------------------|--|
| Temperatura: $30 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ ;<br>Fluxo de permeado: $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ | $84 \pm 1$  | $0.44 \pm 0.01$              | 154                    | $42,42 \pm 0,02$   |
| Temperatura: $40 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ ;<br>Fluxo de permeado: $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ | $82 \pm 2$  | $0.46 \pm 0.03$              | 184                    | $43,81 \pm 0,01$   |
| Temperatura: $50 \text{ °C} \pm 4 \text{ °C}$ ;<br>Fluxo de permeado: $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ | $81 \pm 5$  | $0.41 \pm 0.01$              | 217                    | $45,73 \pm 0,04$   |

<sup>1</sup> durante cada ensaio realizado

Através do **quadro 5** é possível verificar que a perda da permeabilidade hidráulica foi relativamente alta, mas semelhante nos ensaios. A  $50 \text{ °C}$  o número de *Reynolds* teve um valor mais elevado, como esperado, por apresentar uma menor viscosidade e contribuindo assim para melhores condições hidrodinâmicas da alimentação e portanto um melhor transporte de massa através da membrana. Além disso a esta temperatura e operando sob condições controladas de fluxo de permeado, um valor de pressão transmembranar ligeiramente mais baixo está relacionado a fenômenos de incrustação de membrana mais baixos, e que juntamente com um valor mais alto de número de *Reynolds* levaram a uma permeabilidade média ligeiramente mais alta.

A **figura 18** apresenta os valores em  $\text{NaCl}_{\text{eq}}$  em relação ao volume de diafiltração (-) **(a)** dos coeficientes de rejeição aparente,  $r_i$  (%) calculados a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneos recolhidos experimentalmente, conforme descrito anteriormente nos materiais e métodos; e **(b)** remoção aparente,  $R_i$  (%) calculada a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de rejeição se apresentou estável, neste caso a 91 % para o ensaio a  $50 \text{ °C}$ ; 93 % para o ensaio a  $40 \text{ °C}$  e 96 % para o ensaio a  $30 \text{ °C}$ . A remoção experimental e estimada estão apresentadas no gráfico sendo que a ultima foi estimada através da **equação 10** na secção 2.

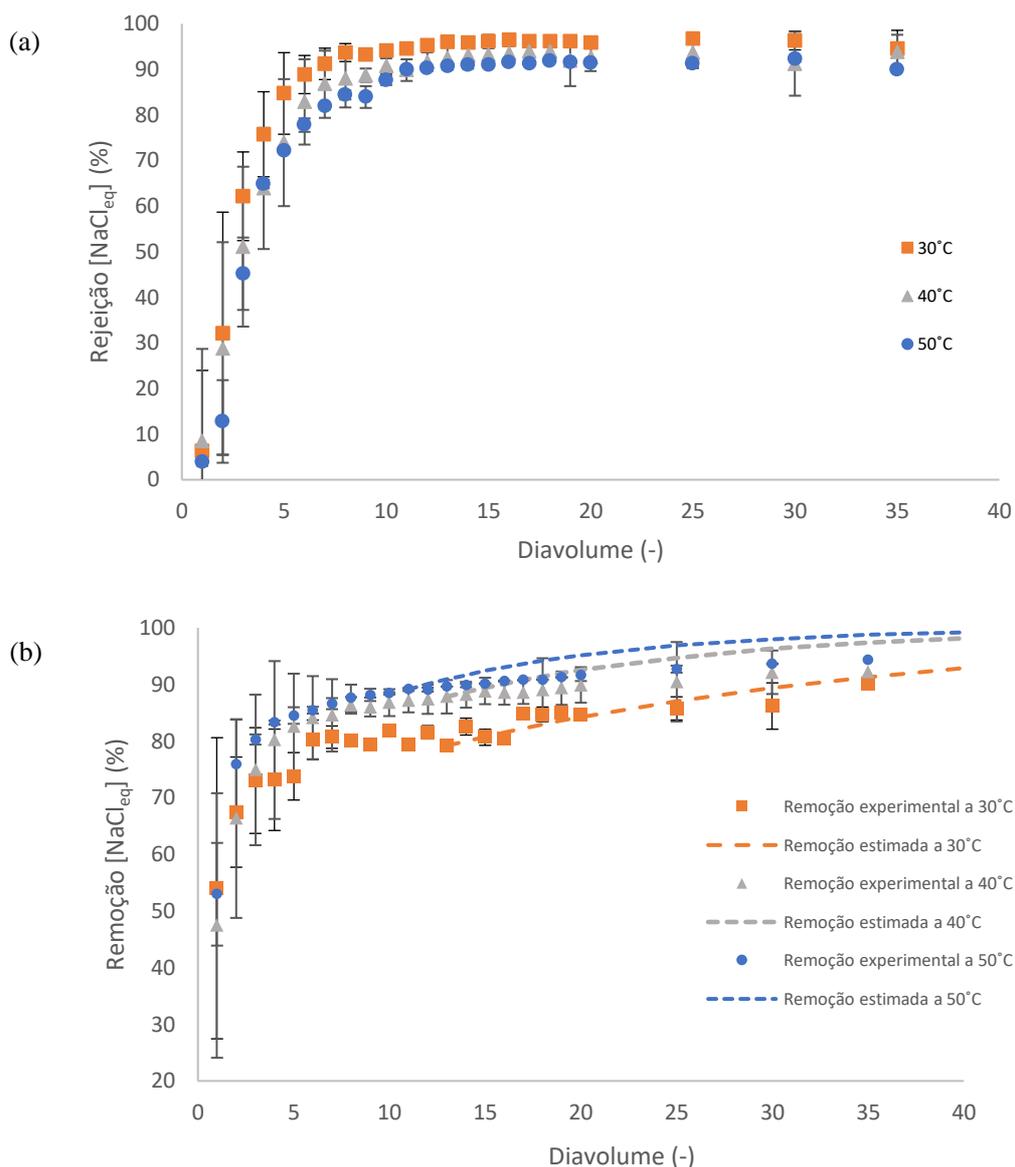


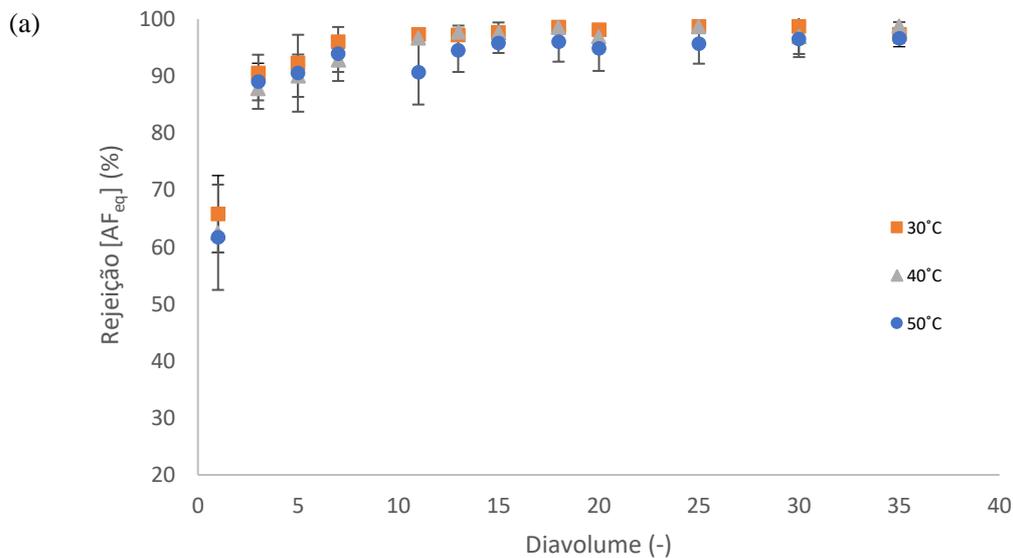
Figura 18 - Experiência de ultrafiltração em modo de diafiltração a 30 °C, 40 °C e 50 °C sem procedimento de relaxamento usando uma membrana de fibras ocas de GE Healthcare 100 KDa para o extrato de arabinosilanos como alimentação: (a) rejeição aparente,  $r_{NaCl}$  (%) em equivalentes NaCl; (b) remoção aparente,  $R_{NaCl}$  (%) calculada em equivalentes de cloreto de sódio

Como mostra a **figura 18 (a)** as rejeições aparentes dos contaminantes foram mais baixas em valores de volume de diafiltração menores, correspondendo à rejeição de contaminantes pequenos que permeiam com mais facilidade. Em volumes maiores de diafiltração a rejeição aparente aumentou até atingir valores próximos de 100 %, correspondendo provavelmente aos contaminantes de maior tamanho que permaneceram no retentado e aos contaminantes de menor tamanho que não permeiam devido a alguma incrustação da membrana. Considerando os erros associados não se pode considerar que haja diferenças significativas entre os modos de operação a diferentes temperaturas, sobretudo a 30 °C e a 40 °C.

Essa tendência de rejeição aparente de contaminantes contra o volume de diafiltração foi observada em cada ensaio de purificação realizado neste trabalho, com contaminantes (em equivalentes de NaCl,  $\text{NaCl}_{\text{eq}}$  e em equivalentes de ácido ferúlico,  $\text{AF}_{\text{eq}}$ ) presentes na matéria-prima .

É através da **figura 18 (b)** na remoção de compostos em equivalentes de cloreto de sódio, experimental e a estimada, que verificamos que quando a temperatura aumenta, a remoção também é mais alta. Não se considera que tenha havido diferenças na percentagem de remoção em equivalentes de NaCl significativas entre as temperaturas de 40 °C e 50°C, apenas a temperatura de 30 °C demonstra pequenas diferenças em relação às outras.

A **figura 19** apresenta os valores em equivalentes de ácido ferúlico,  $\text{AF}_{\text{eq}}$  em relação ao volume de diafiltração (-) **(a)** dos coeficientes de rejeição aparente,  $r_i$  (%) e **(b)** remoção aparente,  $R_i$  (%) calculada a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de rejeição se apresentou estável, neste caso a 98 % para as diferentes temperaturas. A remoção experimental e estimada estão apresentadas no **gráfico 19 (b)**.



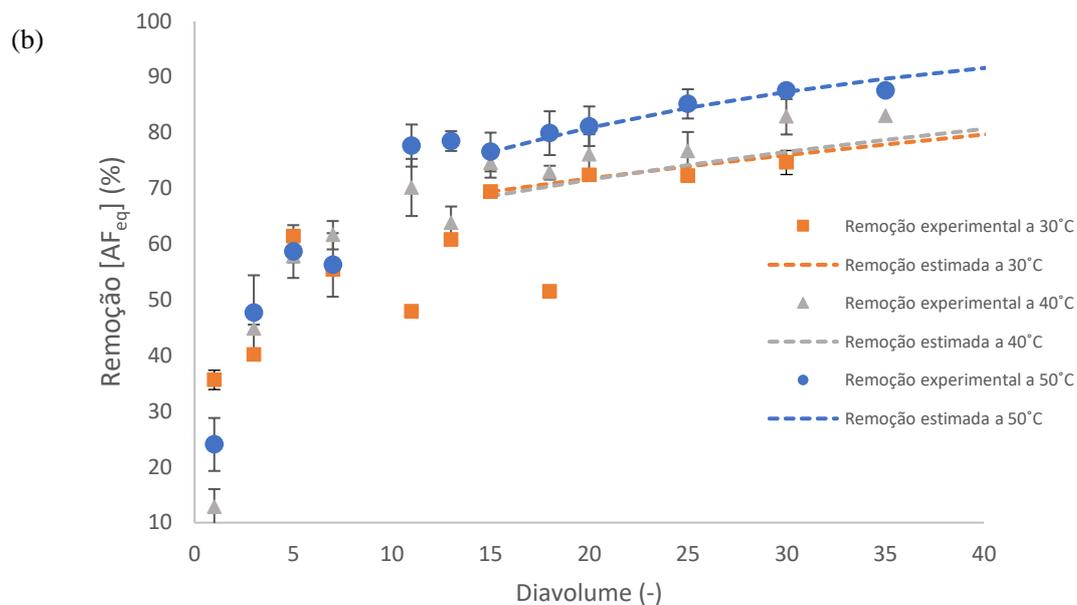


Figura 19 - Experiência de ultrafiltração em modo de diafiltração a 30 °C, 40 °C e 50 °C sem procedimento de relaxamento usando uma membrana de fibras ocas de GE Healthcare 100 KDa para o extrato de arabinosilanos como alimentação: (a) rejeição aparente,  $r_{AF}$  (%) em equivalentes AF; (b) remoção aparente,  $R_{AF}$  (%) calculada em equivalentes de AF

Na **figura 19 (b)** verifica-se que os valores de remoção experimental e estimada são concordantes nas temperaturas de 30°C e 50°C. Ainda assim é possível constatar que a temperatura mais alta fez uma ligeira diferença em questões de remoção de compostos em equivalentes de ácido ferúlico, ainda que não se possa considerar que haja diferenças significativas. Já os valores de rejeição na **figura 19 (a)** são bastante semelhantes para as temperaturas em estudo.

Após a análise dos resultados do estudo do efeito da temperatura considera-se que usando módulo de fibras ocas, os ensaios a 40 °C e 50 °C não demonstram grandes diferenças entre si, contudo apresentam melhores resultados que à temperatura de 30 °C. O melhor ensaio em todos os aspetos foi à temperatura de 50°C, em que se obteve uma percentagem menor de perda de permeabilidade hidráulica, ou seja, assume-se que tenha ocorrido uma menor colmatção na membrana, que pode ser atribuída ao número de *Reynolds* significativamente superior ao das outras temperaturas. Através da remoção dos compostos em equivalentes de cloreto de sódio e do soluto de referência em equivalentes de ácido ferúlico verificam-se melhorias na remoção quando a temperatura de processamento aumenta. Contudo purificações a estas temperaturas têm várias desvantagens, tais como elevado consumo energético quando em escala industrial, e temperatura difícil de controlar para que não ultrapasse os limites dos equipamentos. Para tal, foi escolhida a temperatura de operação a 40 °C sendo que apresenta valores muito próximos do ensaio de temperaturas mais elevadas, nomeadamente as rejeições e remoção de solutos em equivalentes de cloreto de sódio e ácido ferúlico.

De forma a tentar reduzir a colmatação da membrana e permitir uma maior permeação, foi estudado o efeito de uma técnica de relaxamento membranar utilizando as mesmas condições utilizadas no ensaio a 40 °C, considerado anteriormente o que reunia as condições ideais à purificação do polímero. Esta técnica permite que haja uma recirculação completa do sistema durante um minuto entre cada diavolume, ou seja, o ensaio inicia-se com a bomba de permeado ligada permitindo a permeação, e ao fim de cada diavolume a bomba é desligada durante um minuto. Os dados do **quadro 6** permitem analisar as diferenças entre o ensaio com relaxamento membranar e o de permeação contínua da mostrando os resultados de perda da permeabilidade hidráulica da membrana, a pressão transmembranar bem como o número de *Reynolds* e a permeabilidade média durante o ensaio.

*Quadro 6 - Efeito do relaxamento membranar na purificação dos arabinoxilanos por diafiltração no módulo de fibras ocas de GE Healthcare operando sem o método de relaxamento e sob condições de fluxo de permeado controlado a 18,75 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>: perda da permeabilidade hidráulica (%); pressão transmembranar (bar); número de Reynolds (-) e a permeabilidade média (L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.bar<sup>-1</sup>)*

| Condições  | Perda da permeabilidade hidráulica (%) <sup>1</sup> | Pressão transmembranar (bar) | Numero de Reynolds (-) | Permeabilidade média (L.h <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> .bar <sup>-1</sup> ) |
|--|---|------------------------------|------------------------|---|
| <b>Módulo fibras ocas</b>  |   |                              |                        |   |
| Temperatura: 40 °C ± 2 °C;<br>Fluxo de permeado: 18,75 L.h <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> ;<br>Sem relaxamento membranar | 82 ± 2  | 0,46 ± 0,03                  | 184                    | 43,81 ± 0,01  |
| <b>Módulo fibras ocas</b>  |   |                              |                        |   |
| Temperatura: 40 °C ± 2 °C;<br>Fluxo de permeado: 18,75 L.h <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> ;<br>com relaxamento membranar | 73 ± 2  | 0,40 ± 0,03                  | 184                    | 52,68 ± 0,01  |

<sup>1</sup> durante cada ensaio realizado

Através do **quadro 6** é possível constatar que a técnica de relaxamento membranar teve uma perda de permeabilidade hidráulica e uma pressão transmembranar mais baixa com um número de *Reynolds* igual. Na técnica de relaxamento membranar a permeabilidade, que é um indicador importante para a escolha do método, é ligeiramente maior, valor esperado uma vez que esta técnica permite que entre cada diavolume haja uma redução da colmatação de solutos na membrana.

A **figura 20** apresenta os valores em NaCl<sub>eq</sub> em relação ao volume de diafiltração (-) **(a)** dos coeficientes de rejeição aparente,  $r_i$  (%) e **(b)** remoção aparente,  $R_i$  (%) calculada a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de

rejeição se apresentou estável este caso a 93 % para ambos os métodos apresentados. Apresenta-se também os valores de remoção estimados usando a **equação 10** descrita na secção 2.

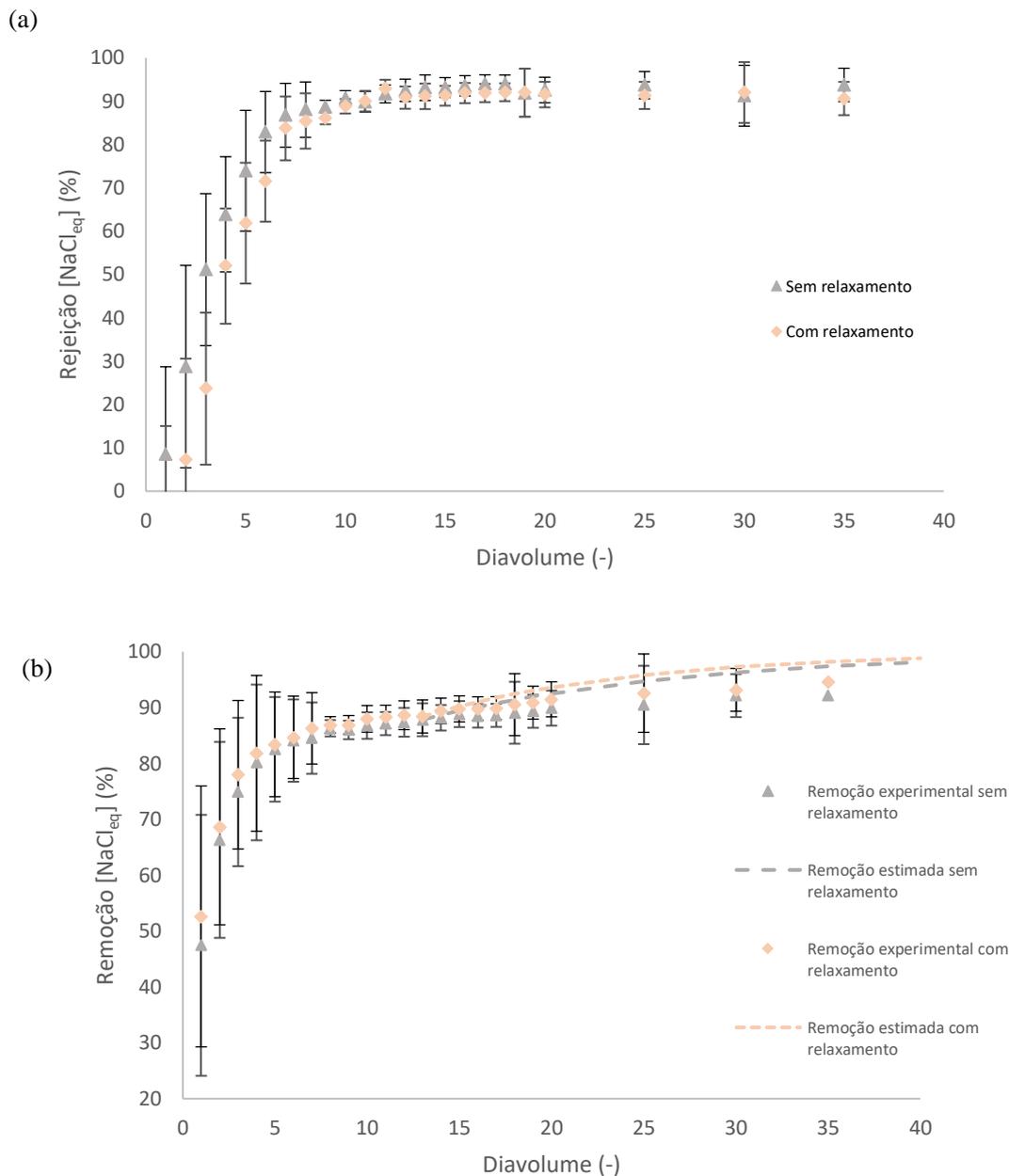


Figura 20 - Experiência de ultrafiltração em modo de diafiltração a 40 °C com e sem procedimento de relaxamento usando uma membrana de fibras ocas de GE Healthcare 100 KDa para o extrato de arabinosídeos como alimentação: (a) rejeição aparente,  $r_{NaCl}$  (%) em equivalentes NaCl; (b) remoção aparente,  $R_{NaCl}$  (%) calculada em equivalentes de cloreto de sódio

Através do estudo da permeação de sais de referência (cloreto de sódio) na **figura 20** e considerando os erros associados não se pode considerar que haja diferenças significativas entre os modos de operação à mesma temperatura.

A **figura 21** apresenta os valores em equivalentes de ácido ferúlico,  $AF_{eq}$  em relação ao volume de diafiltração (-) **(a)** dos coeficientes de rejeição aparente,  $r_i$  (%) e **(b)** remoção aparente,  $R_i$  (%) calculada a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de rejeição se apresentou estável, neste caso a 98% para o método sem relaxamento e 97% para o método de relaxamento membranar. A remoção experimental e estimada estão apresentadas no **gráfico 21 (b)**.

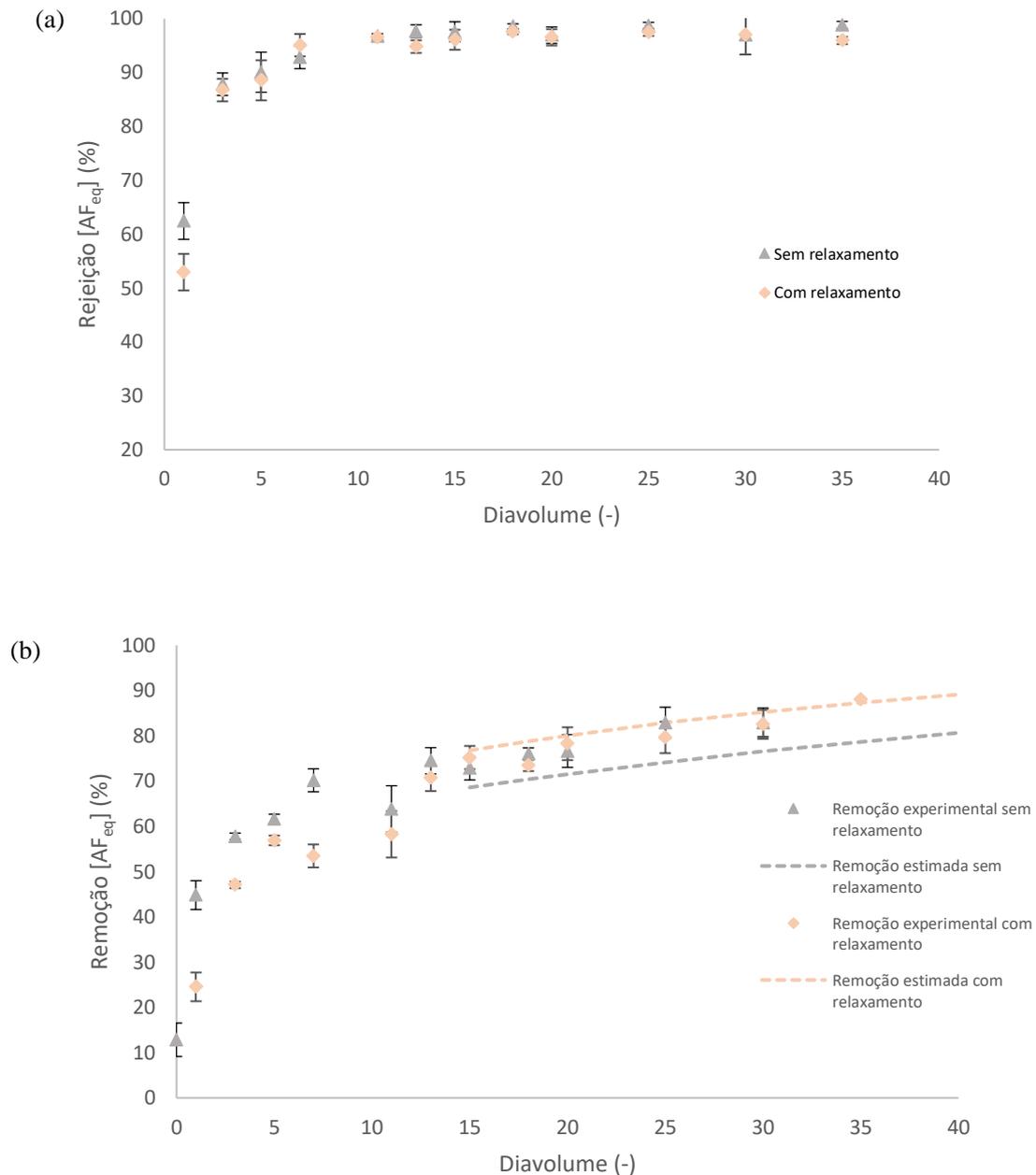


Figura 21 - Experiência de ultrafiltração em modo de diafiltração a 40 °C com e sem procedimento de relaxamento usando uma membrana de fibras ocas de GE Healthcare 100 KDa para o extrato de arabinoxilanos como alimentação: (a) rejeição aparente,  $r_{AF}$  (%) em equivalentes AF; (b) remoção aparente,  $R_{AF}$  (%) calculada em equivalentes de AF

Os valores de rejeição na **figura 21 (a)** foram bastante semelhantes, bem como a rejeição em equivalentes de AF na **figura 21 (b)**. Através destes resultados conclui-se que não há evidências de que o método testado (com relaxamento) apresente melhorias.

Em suma, o método de relaxamento membranar não demonstra vantagens na remoção de compostos, e sendo este o principal objetivo, este método não será utilizado para a purificação do polímero. Ainda por mais este procedimento é bastante mais complexo a nível de operação e mais dispendioso.

Tendo-se estudado o efeito da temperatura na purificação do polímero, passou-se ao estudo do efeito dos módulos com formas diferentes de operação: membrana de fibras ocas foi operada com fluxo controlado de permeado, e o módulo de membranas planas com controlo de pressão transmembranar. As restantes condições foram mantidas, tais como a temperatura e o número de diavolumes durante a purificação. Os resultados obtidos para ambos os módulos são apresentados no **quadro 7**.

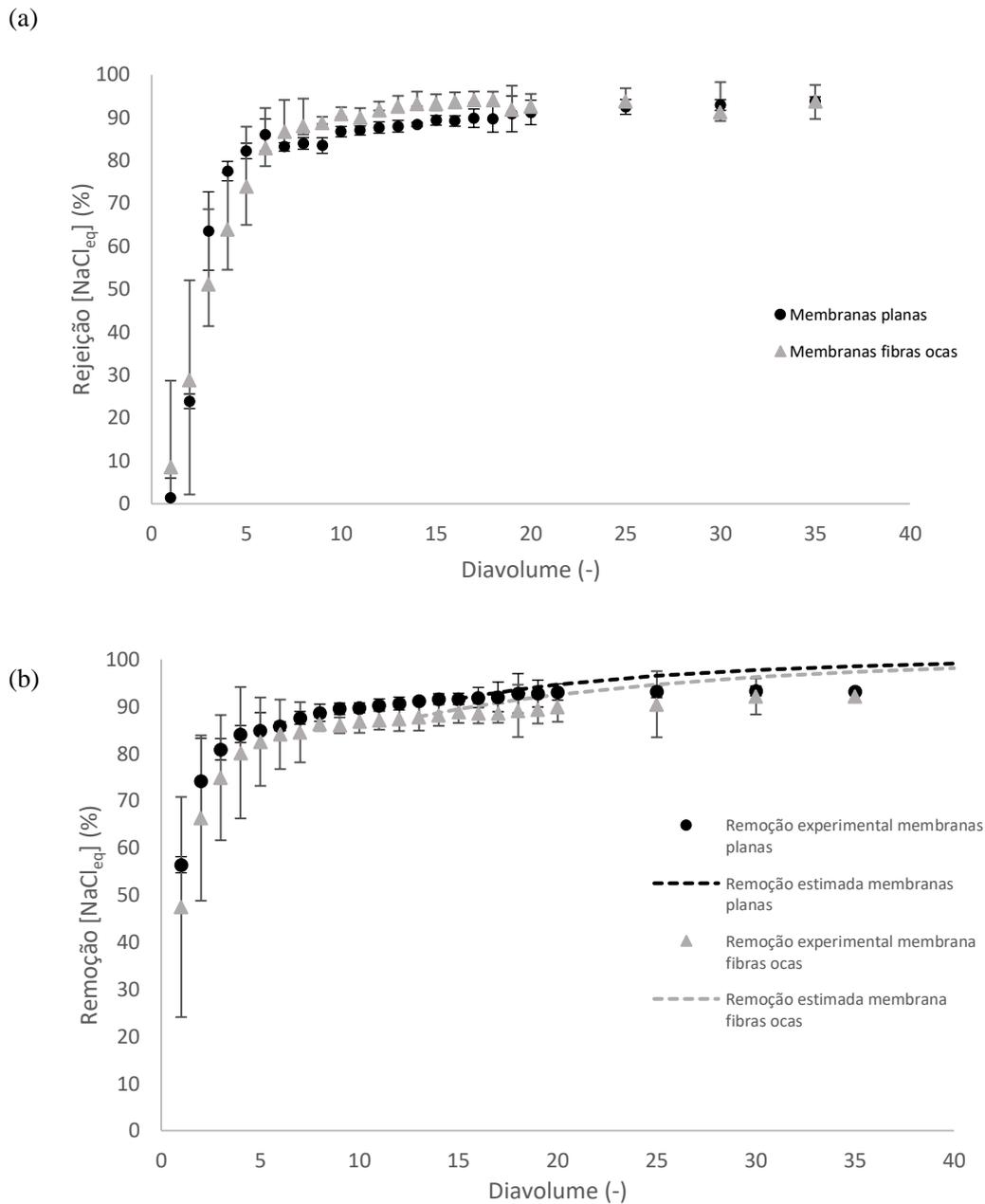
*Quadro 7 - Efeito do módulo na purificação dos arabinosídeos por diafiltração no módulo de fibras ocas de GE Healthcare operando e sob condições de fluxo de permeado controlado a  $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  sem o método de relaxamento e o módulo de membranas planas hydrostart de Sartorius sob controlo da pressão transmembranar: perda da permeabilidade hidráulica (%); pressão transmembranar (bar); número de Reynolds (-) e a permeabilidade média ( $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ )*

| Condições   | Perda da permeabilidade hidráulica (%) <sup>1</sup> | Pressão transmembranar (bar) | Numero de Reynolds (-) | Permeabilidade média ( $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ ) |
|---|---|------------------------------|------------------------|--|
| <b>Módulo fibras ocas</b>                                   |   |                              |                        |  |
| Temperatura: $40 \text{ °C} \pm 2$                          | $82 \pm 2$  | $0,46 \pm 0,03$              | 184                    | $43,81 \pm 0,01$   |
| Fluxo de permeado: $18,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ; |   |                              |                        |  |
| <b>Módulo membranas planas</b>                              |   |                              |                        |  |
| Temperatura: $40 \text{ °C} \pm 4$                          | $25 \pm 9$  | $0,70 \pm 0,04$              | 180                    | $78,85 \pm 0,05$   |

<sup>1</sup> durante cada ensaio realizado

Os valores de perda da permeabilidade hidráulica observados no **quadro 7** mostram que à mesma temperatura o módulo de fibras ocas tem valores muito superiores em relação ao ensaio com o módulo de membranas planas ainda que com o um número de *Reynolds* semelhante. Como visto anteriormente os resultados de perda da permeabilidade hidráulica no módulo das fibras ocas têm sido sempre elevados mesmo com pequenas alterações na temperatura e até no modo de operação. Analisando os resultados do ensaio das membranas planas é possível observar uma baixa perda de permeabilidade e uma pressão transmembranar ligeiramente superior ao do ensaio no outro módulo, sugerindo que não há grande colmatção de solutos na membrana.

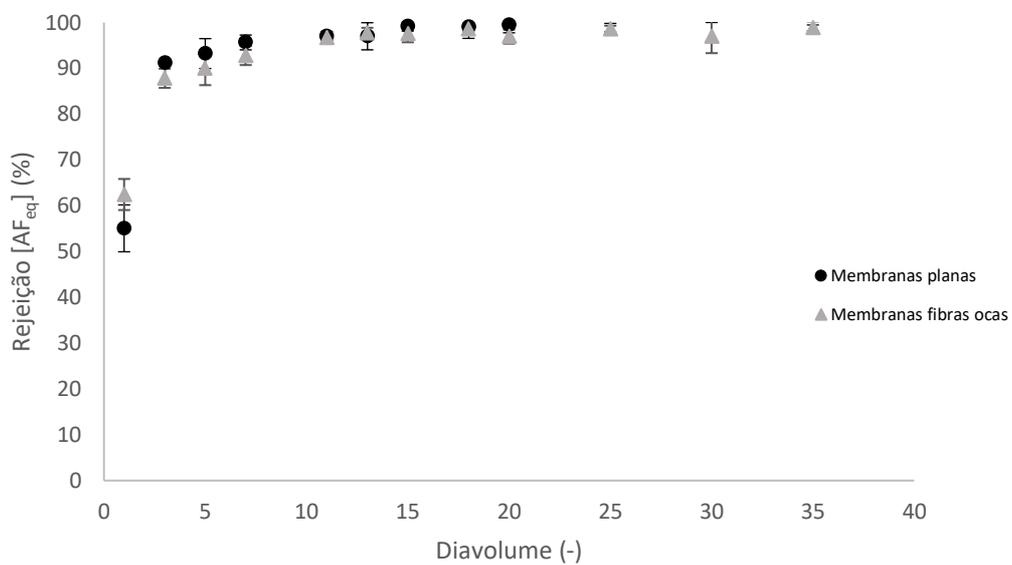
A **figura 20** apresenta os valores em  $\text{NaCl}_{\text{eq}}$  em relação ao volume de diafiltração (-) **(a)** dos coeficientes de rejeição aparente,  $r_i$  (%) e **(b)** remoção aparente,  $R_i$  (%) calculada a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de rejeição se apresentou estável este caso a 93 % para ambos os métodos apresentados. Apresenta-se também os valores de remoção estimados usando a **equação 10** descrita na secção 2.



*Figura 22 - Experiência de ultrafiltração em modo de diafiltração a 40 °C entre o módulo de membrana de fibras ocas de GE Healthcare e um módulo de fibras planas da Hydrostart, Sartorius ambas com 100 KDa para o extrato de arabinoxilanos como alimentação: (a) rejeição aparente,  $r_{\text{NaCl}}$  (%) em equivalentes NaCl; (b) remoção aparente,  $R_{\text{NaCl}}$  (%) calculada em equivalentes de cloreto de sódio*

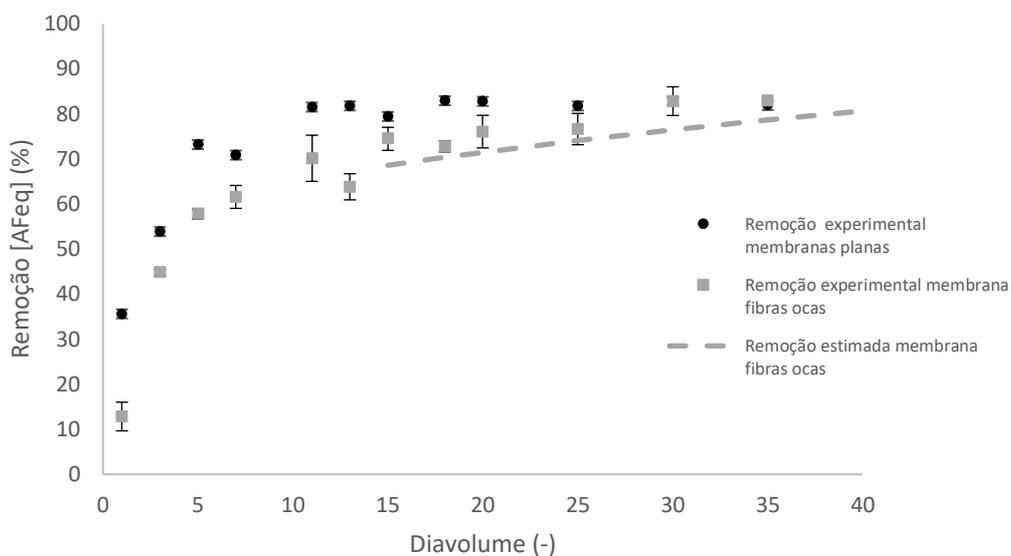
Através do estudo da permeação de sais de referência (cloreto de sódio) como mostra na **figura 22**, e considerando os erros associados não se pode considerar que haja diferenças significativas entre os módulos.

A **figura 23** apresenta os valores em equivalentes de ácido ferúlico,  $AF_{eq}$  em relação ao volume de diafiltração (-) **(a)** dos coeficientes de rejeição aparente,  $r_i$  (%) e **(b)** remoção aparente,  $R_i$  (%) calculada a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de rejeição se apresentou estável, neste caso a 93 % para o módulo das fibras ocas e a 91 % para o módulo de membranas planas



*Figura 23 - Comparação da ultrafiltração em modo de diafiltração a 40 °C entre o módulo de membrana de fibras ocas de GE Healthcare e um módulo de fibras planas da Hydrostart, Sartorius ambas com 100 KDa para o extrato de arabinoxilanos como alimentação, rejeições aparentes para fenólicos totais,  $R_i$  (%) calculados em equivalentes de ácido ferúlico*

Não foi possível mostrar resultados da remoção aparente para fenólicos totais com ambos os módulos membranares, porque como já foi explicado acima, este modelo de remoção estimada é calculado a partir das correspondentes concentrações da alimentação e do permeado instantâneo num intervalo onde a uma percentagem de rejeição se apresentou estável, o que neste caso, e observando a **figura 23**, o valor de rejeição seria de 100 %.



Uma vez que o objetivo da purificação seria a eliminação de compostos calculados em equivalentes de um sal de referência e de compostos fenólicos como o cloreto de sódio e o ácido ferúlico respectivamente, e através dos resultados das figuras acima verificou-se que estes foram removidos a percentagens semelhantes, excluindo apenas um ensaio no módulo de fibras ocas à temperatura de 30°C que se destacou ligeiramente em valores mais baixos.

Assim sendo, utilizou-se todo o material purificado exceto o do ensaio à temperatura mais baixa para a preparação das películas.

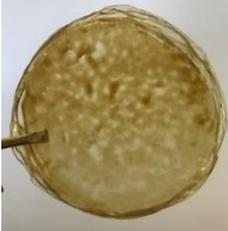
#### 4.3. Películas à base de Arabinosilanos

##### 4.3.1. Aparência das películas de ensaios preliminares

A aparência das películas obtidas em ensaios preliminares é apresentada no **quadro 8**.

*Quadro 8 - Aparência das películas dos ensaios preliminares*

| Composição das películas                     | Imagem   |
|--|--|
| Película arabinosilanos sem plastificante    |  |
| Película arabinosilanos<br>Com 15 % glicerol | -  |

|  |  |
|--|--|
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol</p>                           |    |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 47 % glicerol</p>                           |    |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol<br/>e 4 % PEDGE</p>           |    |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol<br/>e 8 % PEDGE</p>           |    |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol<br/>e 15 % PEDGE</p>          |   |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol<br/>e 20 % ácido cítrico</p>  |  |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol<br/>e 50 % ácido cítrico</p>  |  |
| <p>Película arabinosilanos<br/>com 30 % glicerol<br/>e 10 % ácido ferúlico</p> |  |

O método de produção das películas de arabinosídeos está descrito na secção 3. Todas as películas têm um diâmetro de 55 mm. Antes de se começar os ensaios preliminares, e de forma a conhecer a componente base para a formação da película, produziu-se uma película apenas com arabinosídeos. Esta apresentava alguma transparência como é possível verificar na primeira imagem do **quadro 8**, mas por ser muito quebradiça surgiu a necessidade de utilizar um plastificante, de forma a melhorar as suas propriedades mecânicas.

O plastificante escolhido, o glicerol, foi testado em diferentes percentagens em relação à quantidade de arabinosídeos presentes no extrato. A escolha foi feita com base na flexibilidade, sendo que a formulação com maior percentagem de glicerol era bastante maleável e era possível sentir o excesso de glicerol na formulação porque a película colava-se quer na placa de *petri* quer nas mãos. O oposto surgiu na película com a menor percentagem de plastificante, esta rasgava-se quando se tentava manipular. A percentagem de plastificante escolhido foi a de 30 %. As películas obtidas desta forma foram caracterizadas em termos de propriedades de barreira, cor, mecânicas e poder antioxidante.

O PEDGE e o ácido cítrico foram testados como agentes reticulantes a diferentes percentagens obtendo-se películas pouco homogêneas como é possível verificar nas figuras do **quadro 8** acima.

O PEDGE foi testado em diferentes percentagens (4, 8 e 15 % (m/m)) obtendo-se películas bastante irregulares. Este foi utilizado como agente de reticulação em polímeros de quitosano para a formação de películas por Chuc-Gamboa et al., (2019) com várias percentagens e onde concluiu que a cristalinidade das películas diminuíam com o aumento da concentração do reticulante. Moonsri et al., (2008) preparou películas de fenofoína reticuladas com PEDGE a diferentes concentrações testando as suas propriedades mecânicas e aparência.

O ácido cítrico foi testado (20 e 50 % (m/m)) devido à sua frequente utilização como aditivo alimentar multifuncional nos processos de produção de diferentes alimentos, e por apresentar um efeito antibacteriano, reforça a ação antioxidante (H. R. Park et al., 2005). Este aditivo foi testado por H. R. Park et al., (2005) que concluiu que o mesmo aplicado em películas melhoraria as suas propriedades mecânicas, e por Garcia et al., (2011) provando que promovia um pequeno melhoramento na resistência das películas. As irregularidades apresentadas nas películas podem dever-se ao excesso de plastificante, isto é, H. R. Park et al., (2005) concluiu também no seu estudo que o ácido cítrico pode vir a ser utilizado como plastificante podendo vir a intensificar a função do plastificante já utilizado, o glicerol.

Uma vez que o ácido ferúlico tem um poder antioxidante e antimicrobiano, com potencial para ser utilizado em alimentos e cosmética devido à sua baixa toxicidade (Rose *et al.*, 2009), testou-se a

incorporação de 10 % de ácido ferúlico na película já com o 30 % de glicerol como plastificante. A película obtida aparenta uma cor homogênea e apresenta flexibilidade, tal como a película original com apenas a adição do plastificante. Assim, estas películas foram as escolhidas para prosseguir com a caracterização.

#### 4.3.2. Aparência das películas otimizadas

No **quadro 9** apresenta-se imagens das películas com e sem o ácido ferulico adicionado.

*Quadro 9 - Aparência das películas otimizadas*



As películas foram produzidas de acordo com os procedimentos descritos na secção 3, e apresentam um diâmetro de 90 mm. A película original apresenta uma espessura de  $0,098 \pm 0,028$  mm e a enriquecida com AF apresenta uma espessura de  $0,1 \pm 0,026$  mm. Quanto à aparência das películas, estas não apresentam diferenças observáveis a olho nu.

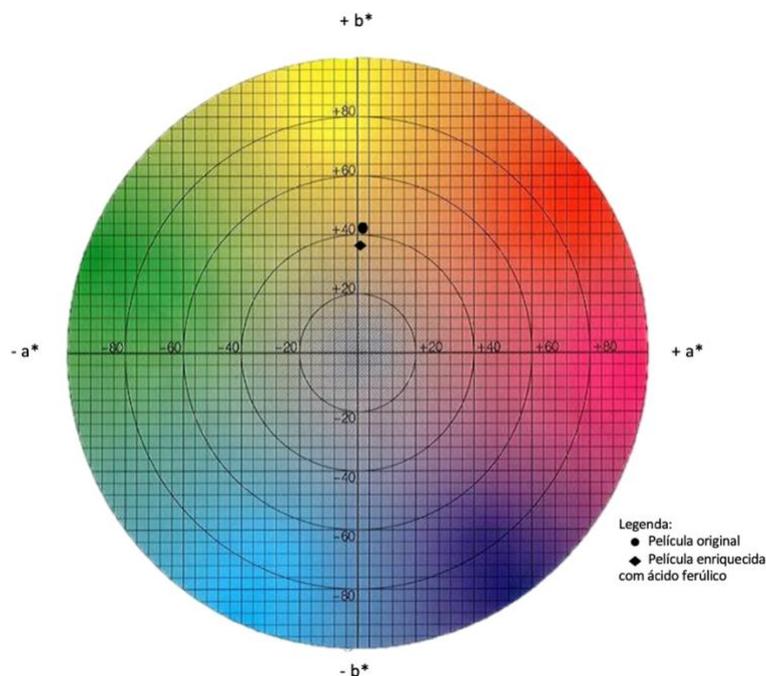
#### Medição instrumental da cor

A cor foi medida de acordo com os métodos apresentados na secção 3. O **quadro 10** apresenta os valores médios de  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L$  (%), bem como os de  $c^*$  e  $h$  (°).

*Quadro 10 - Valores de  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L$  (%), bem como  $c^*$  e  $h$  (°). Letras diferentes significam valores significativamente diferentes (Tuckey HSD,  $\alpha = 0,05$ )*

|                             | $a^*$                 | $b^*$                  | $L$ (%)                | $c^*$                  | $H$ (°)                |
|-----------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Arabinosilanos              |                       |                        |                        |                        |                        |
| + 30 % (m/m) glicerol       | $2,5 \pm 1,05^{(a)}$  | $42,54 \pm 3,35^{(a)}$ | $73,55 \pm 2,98^{(a)}$ | $42,61 \pm 3,40^{(a)}$ | $86,64 \pm 1,28^{(a)}$ |
| Arabinosilanos              |                       |                        |                        |                        |                        |
| + 30 % (m/m) glicerol       | $1,78 \pm 0,04^{(a)}$ | $37,83 \pm 0,51^{(a)}$ | $76,27 \pm 0,31^{(a)}$ | $37,87 \pm 0,51^{(a)}$ | $87,28 \pm 0,04^{(a)}$ |
| + 10 % (m/m) ácido ferúlico |                       |                        |                        |                        |                        |

A **figura 24** apresenta uma representação de um gráfico de cores do método CIELAB, no qual estão apresentados os pontos referentes à coloração das películas.



*Figura 24 - Representação da cor das películas no gráfico de cores do método CIELAB*

Os valores do **quadro 10** não mostram diferenças significativas entre as películas, verificado através da **figura 24** através da representação por pontos no gráfico de cores do método CIELAB. Os valores demonstram que as películas apresentam uma cor amarelada ainda que próximas do eixo do x pelo que tendem a uma coloração acinzentada e através do valor elevado do parâmetro  $L^*$  que apresentam alguma luminosidade.

#### 4.3.3. Morfologia

A partir da técnica de microscopia eletrônica de varrimento foi possível observar a microestrutura das películas de arabinosilanos com a sua formulação base (apenas adicionado glicerol a 30 %) e a película enriquecida com ácido ferúlico a 10 % utilizando três ampliações diferentes: 500x; 2000x e 1000x.

Na **figura 25** é possível observar imagens com as diferentes ampliações da microestrutura da superfície da película original.

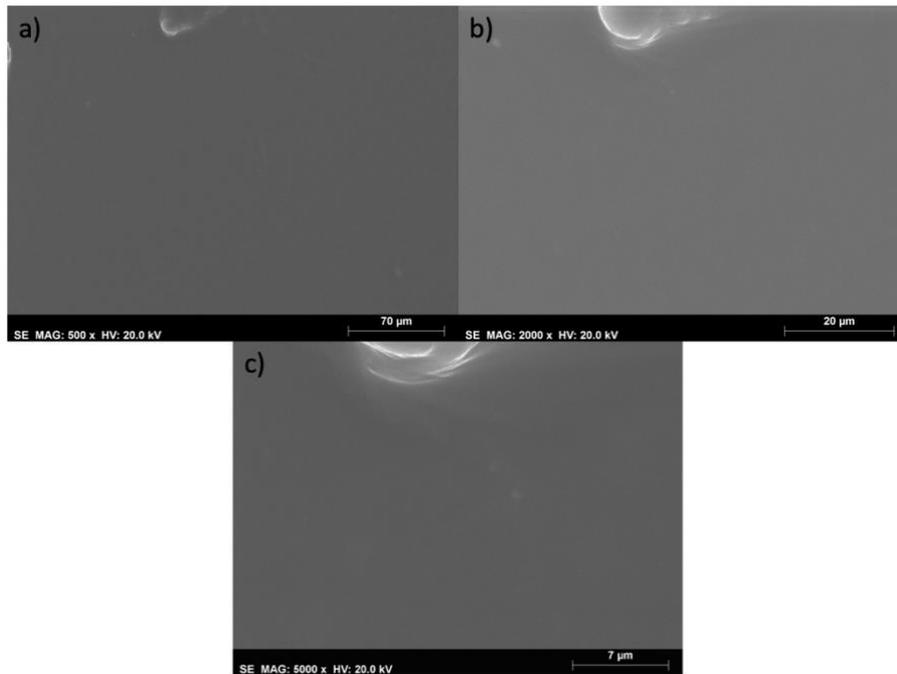


Figura 25 - Microestrutura da superfície das películas de arabinoxilanos originais obtida pela técnica SEM com diferentes ampliações: a) 500x; b) 2000x; c) 5000x

Na **figura 26** é possível observar imagens com as diferentes ampliações da microestrutura da superfície da película enriquecida com ácido ferúlico.

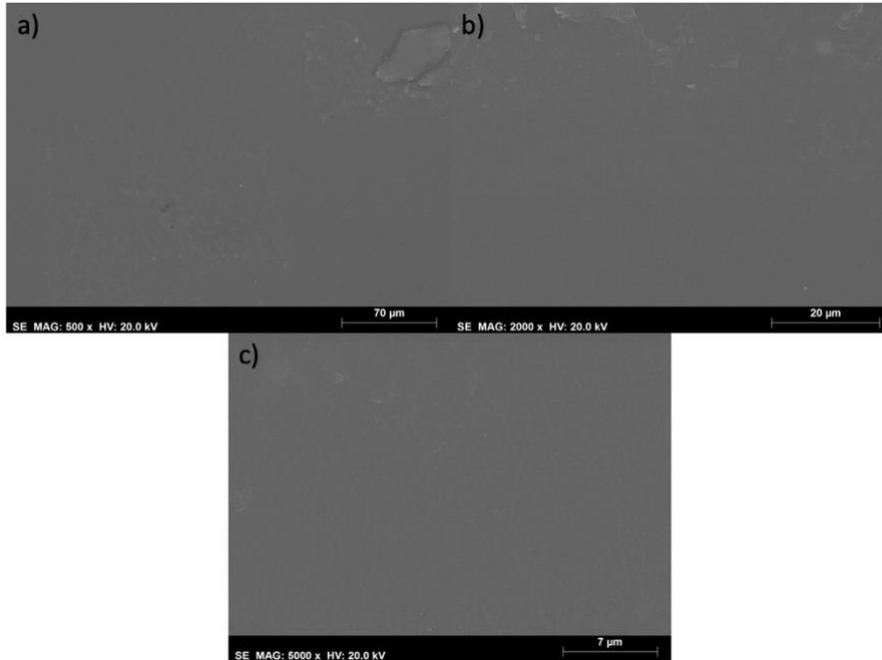


Figura 26 - Microestrutura da superfície das películas de arabinoxilanos enriquecidas com ácido ferúlico, obtidas pela técnica SEM com diferentes ampliações: a) 500x; b) 2000x; c) 5000x

Pela análise das imagens pode-se afirmar que até à escala são densas, sendo que no caso das películas enriquecidas com ácido ferúlico, nas imagens com ampliação de 5000x, são visíveis pequenos defeitos com cerca de 300nm, o que indica que acima deste valor podem ser visíveis poros.

Assim sendo, as películas analisadas com a formulação base apresentam ser um pouco mais homogêneas que as películas enriquecidas com ácido ferúlico.

#### 4.3.4. Propriedades de barreira

##### Permeabilidade ao vapor de água

Os testes de permeabilidade ao vapor de água foram realizados tanto para a película à base de arabinosilanos com 30 % glicerol, denominada de película original, bem como para a enriquecida com ácido ferúlico, obtendo-se um valor de permeabilidade de vapor de água (PVA) de  $0,623 \times 10^{-11} \pm 0,016 \times 10^{-11} \text{ mol.m.m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}$  e de  $2,06 \times 10^{-11} \pm 0,286 \times 10^{-11} \text{ mol.m.m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}$  respetivamente.

No **quadro 11** estão apresentados os valores de permeabilidade dos ensaios às películas em estudo bem como películas de arabinosilanos de outros autores. O celofane é um biopolímero proveniente da celulose e foram apresentados os valores de permeabilidade na tabela uma vez que as suas utilizações são semelhantes às pretendidas das películas em estudo. De forma a poder comparar a permeabilidade ao vapor de água dos biopolímeros com os polímeros de fontes não renováveis, apresentou-se também o valor de permeabilidade do polietileno de baixa densidade (LPDE), uma vez que é o polímero mais simples e também o mais produzido.

*Quadro 11 - Permeabilidade ao vapor de água das películas em estudo em comparação com as de outros autores*

| Película   | Espessura<br>( $\mu\text{m}$ ) | PVA<br>( $\times 10^{-11} \text{ mol.m.m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}$ ) |
|--|--------------------------------|---|
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol                                | $90 \pm 10,17$                 | $0,62 \pm 0,02$   |
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol<br>+ 10 % (m/m) ácido ferúlico | $89 \pm 35,81$                 | $2,06 \pm 0,29$   |
| Arabinosilanos<br>+ 15 % Glicerol (Péroval et al., 2002)               | $90,8 \pm 6,6$                 | $0,98 \pm 0,03$   |
| Celofane (Péroval et al., 2002)  | 20                             | $0,38 \pm 0,04$   |
| LDPE (H. J. Park et al., 1993; Péroval et al., 2002)                   | 25                             | $0,01 \pm 0,01$   |

O alto valor de permeabilidade ao vapor de água obtido para as películas de arabinosilanos deve-se à sua natureza hidrofílica. Comparando as películas em estudo pode-se concluir que a permeabilidade ao

vapor de água aumentou quando o ácido ferúlico foi incorporado na película em uma ordem de grandeza, prevendo-se que este possa atuar como plastificante (além do glicerol) quando as suas moléculas são incorporadas na matriz polimérica dos arabinosilanos. Estas moléculas podem quebrar algumas ligações de hidrogénio responsáveis por manter as moléculas de arabinosilanos compactas, aumentando eventualmente os espaços intramoleculares e a difusão do vapor de água. Não é precisamente o caso, mas a espessura das películas pode também ter influências na permeabilidade. Segundo Péroval et al., (2002) o aumento da espessura das películas de arabinosilanos aumenta a permeabilidade. Este fato é comum quando se trata de películas hidrofílicas, cuja permeabilidade ao vapor de água aumenta com a diferença de humidade relativa usada no ensaio e com o aumento da espessura.

As películas de arabinosilanos apresentam valores de permeabilidade semelhantes quando comparados com outros apresentados no **quadro 11**. Péroval et al.,(2002) produziu películas de arabinosilanos do farelo do milho com diferentes concentrações de glicerol, sendo que a que se assemelha mais às em estudo é a película com 15 % glicerol como plastificante. Os valores de permeabilidade ao vapor de água desta película são superiores aos das do presente estudo, ao contrário do que se podia esperar por terem um conteúdo mais baixo de plastificante. Este facto pode ser explicado por diversos fatores tais como as diferenças de pureza dos arabinosilanos; às diferentes quantidades em percentagem do plastificante adicionado; ao diferente método de preparação das películas, e por fim, as condições experimentais na determinação da permeabilidade ao vapor de água, que não foram as mesmas.

O celofane é um material biodegradável à base de celulose mais comum em embalagens para alimentos (Paunonen, 2013) sendo aqui considerado para comparação de características com as películas à base de arabinosilanos. Péroval et al., (2002) relatou valores de permeabilidade ao vapor de água do celofane na mesma ordem de magnitude que as películas de arabinosilanos sem ácido ferúlico.

H. J. Park et al., (1993) e Péroval et al., (2002) relata valores de permeabilidade ao vapor de água do LDPE, que devido à sua natureza hidrofóbica, apresentam propriedades de barreiras mais altas ao vapor de água, com um valor de permeabilidade por volta de 35 a 95 vezes inferior ao das películas hidrofílicas apresentados.

#### [Permeabilidade ao oxigénio e ao dióxido de carbono](#)

Os testes foram realizados de acordo com os métodos na secção 3, e foram feitos em duplicado para ambas as películas. Após a estabilização do gás na câmara, as válvulas do permeado foram abertas e em vez da película oferecer qualquer resistência à passagem dos gases, deixou-o passar na totalidade. Este

comportamento sugere que a película seja porosa, o que não está de acordo com as análises de microscopia; que sugerem que a película seja densa com a presença de pequenas falhas. O teste foi feito a uma pressão relativamente baixa de 0,7 bar, ainda assim pode ter sido suficiente para aumentar o tamanho das falhas e portanto a transferência completa dos gases.

#### 4.3.5. Propriedades mecânicas

Os materiais de embalagem de alimentos devem suportar grandes forças sobre pequenas áreas (resistência à perfuração) e tensão (resistência à tração). Devido à necessidade desses pontos fortes, estas duas análises são frequentemente realizadas para desenvolver o perfil de um material. Estes testes foram realizados de acordo com os métodos apresentados na secção 3.

#### Testes de tensão axial

Nos testes de tensão foram determinados os parâmetros de tensão na rotura, a deformação na rotura e o módulo de *Young* de forma a avaliar a resistência mecânica das películas.

De forma a obter uma boa reprodutibilidade os ensaios foram realizados em quintuplicado, os retângulos tinham de ser bastante regulares e provenientes de películas homogêneas.

As curvas tipo de tensão *versus* deformação para a película original e película enriquecida com ácido ferúlico são apresentadas na **figura 27**.

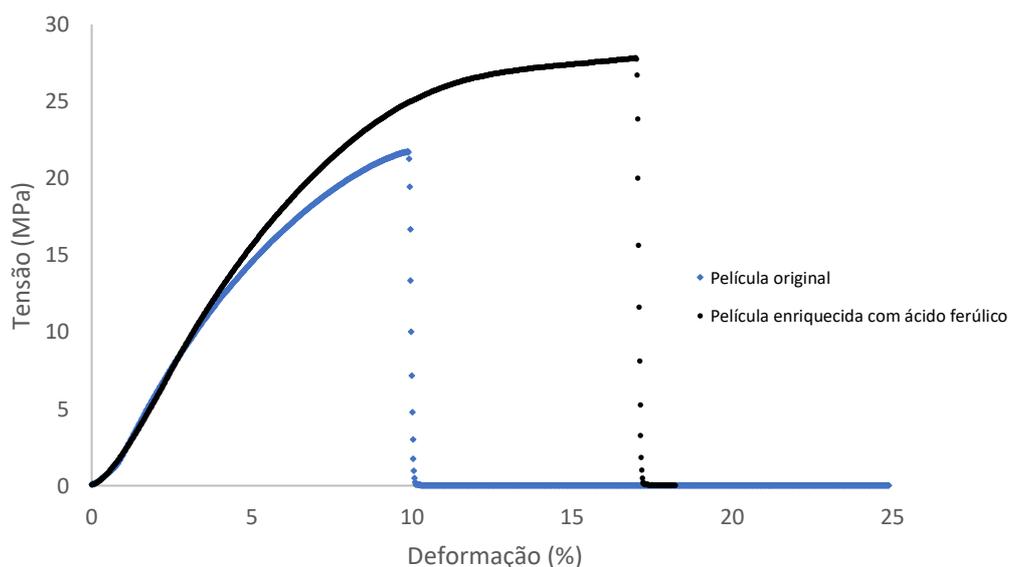


Figura 27 - Curvas de tensão-deformação para película original e para a película enriquecida com ácido ferúlico

A **figura 28 (a)** permite comparar os valores de tensão na rotura das películas de arabinosilanos e das filmes enriquecidos com ácido ferúlico. Durante a realização dos testes de tensão, observou-se que as

películas alongavam até quebrarem, com a deformação na rotura apresentada na **figura 28 (b)**. Os módulos de *Young* apresentados na **figura 28 (c)** foram obtidos através das curvas de tensão / deformação das películas.

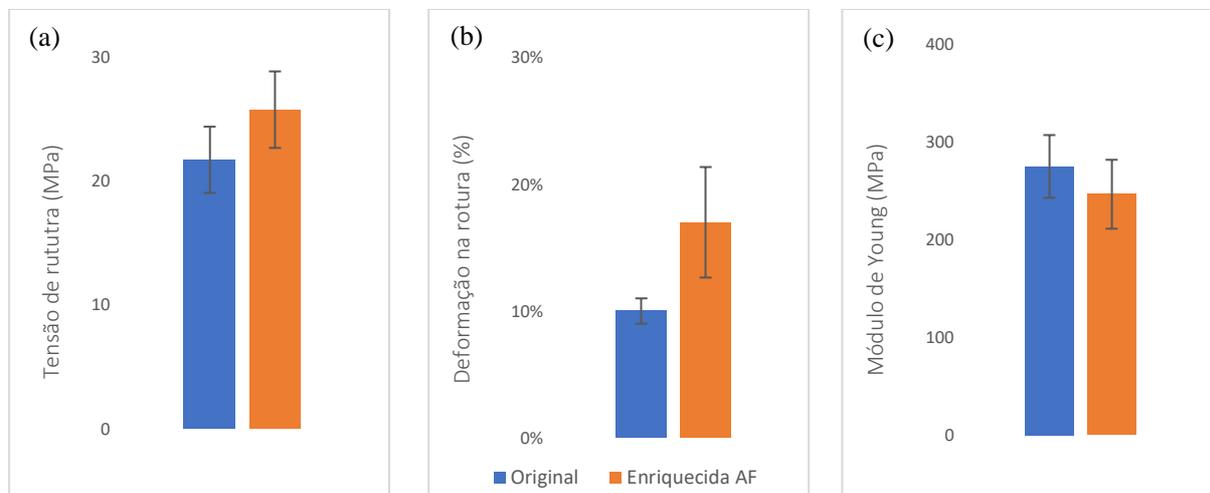


Figura 28 - Representação gráfica dos valores de (a) tensão de rutura, (b) deformação na rotura e o (c) módulo de Young para as diferentes películas.

O **quadro 12** indica os valores de tensão de rotura,  $\sigma$  (MPa); deformação na rotura,  $\epsilon$  (-) e módulo de *Young*,  $\gamma$  (MPa) publicados por outros autores.

Quadro 12 - Valores de tensão de rotura, deformação na rotura e de módulo de Young para as diferentes películas. Letras diferentes significam valores significativamente diferentes (Tuckey HSD,  $\alpha = 0,05$ )

|  | Espessura<br>( $\mu\text{m}$ ) | Tensão de rotura<br>(MPa) | Deformação na rotura<br>(%) | Módulo de Young<br>(MPa)    |
|--|--------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol                                | 90 ± 10,17                     | 21,72 ± 2,67 <sup>a</sup> | 10 ± 1 <sup>a</sup>         | 274,52 ± 32,08 <sup>a</sup> |
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol<br>+ 10 % (m/m) ácido ferúlico | 89 ± 35,81                     | 25,77 ± 3,09 <sup>a</sup> | 17 ± 4 <sup>a</sup>         | 246,11 ± 35,22 <sup>a</sup> |
| Arabinosilanos<br>+ 15 % Glicerol (Péroval et al.,<br>2002)            | 90,8 ± 6,6                     | 26,5 ± 4,1                | 7,4 ± 2,9                   | 72,4 ± 35,2                 |
| Celofane (Péroval et al., 2002)  | 20                             | 114                       | 20                          | NR                          |
| LDPE (H. J. Park et al., 1993;<br>Péroval et al., 2002)                | 25                             | 13,1 – 27,6               | 100 - 965                   | NR                          |

(\*) NR, não registado.

Pela análise da **figura 28** e pelo **quadro 12** pode afirmar-se que a quantidade de ácido ferúlico adicionado não afetou substancialmente as propriedades mecânicas dos ensaios de tensão na rotura. As películas em estudo não são significativamente diferentes entre si com um nível de significância de 0,05 para um teste de tuckey HSD.

Péroval et al., (2002) desenvolveu várias películas de arabinosilanos com diferentes percentagens de plastificante, glicerol, entre as quais com a percentagem de 15 %, que é a que mais se assemelha à utilizada em estudo. Quando comparado com as películas em estudo, os valores de tensão na rotura são muito semelhantes, já os valores de deformação na rotura são ligeiramente mais elevados, o que sugere que tenham uma maior capacidade de alongamento quando submetidas a estas condições de teste. Esta diferença de valores pode estar relacionada com as concentrações adicionadas de glicerol, sendo que este pode diminuir a resistência à deformação, o que seria de esperar uma vez que as películas em estudo têm o dobro da quantidade de plastificante adicionado quando comparadas com as películas do autor. Porém, o módulo de *Young* das películas em estudo é superior, sugerindo alguma rigidez. Um fator que afeta o módulo de Young é a humidade relativa a que as películas estiveram a estabilizar imediatamente antes dos testes, pelo que quando maior for a percentagem de humidade relativa na película, menor será o módulo de *Young*. Neste caso as percentagens de humidade relativa às quais as películas foram acondicionadas foram bastante semelhantes, 50 % para as películas em estudo e 54 % para as películas do autor, pelo que o seu valor de módulo de *Young* inferior se pode dever a diferentes propriedades físico-químicas dos arabinosilanos como já discutido acima na seção de permeabilidade ao vapor de água.

Os valores de tensão e de deformação na rotura para o celofane estão reportados por Péroval et al., (2002) com valores bastante mais elevados para a tensão na rotura e valores semelhantes de deformação sugerindo que a película de celofane é mais resistente com uma elasticidade semelhante à das películas em estudo.

H. J. Park et al., (1993) e Péroval et al., (2002) apresentam os valores de tensão na rotura e deformação na rotura do polímero mais comercializado, o LDPE. Segundo os valores de tensão na rotura, o polímero necessita de menos força até quebrar comparando com as películas em estudo, mas é bastante mais dúctil, com percentagem de deformação superior a 100 %, característica difícil de obter para películas de polissacáridos como os arabinosilanos.

### Testes de perfuração

No teste de perfuração, as películas obtidos sofreram um ligeiro alongamento até a força exercida pela sonda ser capaz de perfurar a película. Foram determinados parâmetros tais como a tensão de perfuração, deformação e módulo de *Young*.

De forma a obter uma boa reprodutibilidade os ensaios foram realizados em quintuplicado, as amostras tinham de ser bastante regulares e provenientes de películas homogêneas.

As curvas tipo de tensão *versus* deformação nos ensaios de perfuração são apresentadas na **figura 29**.

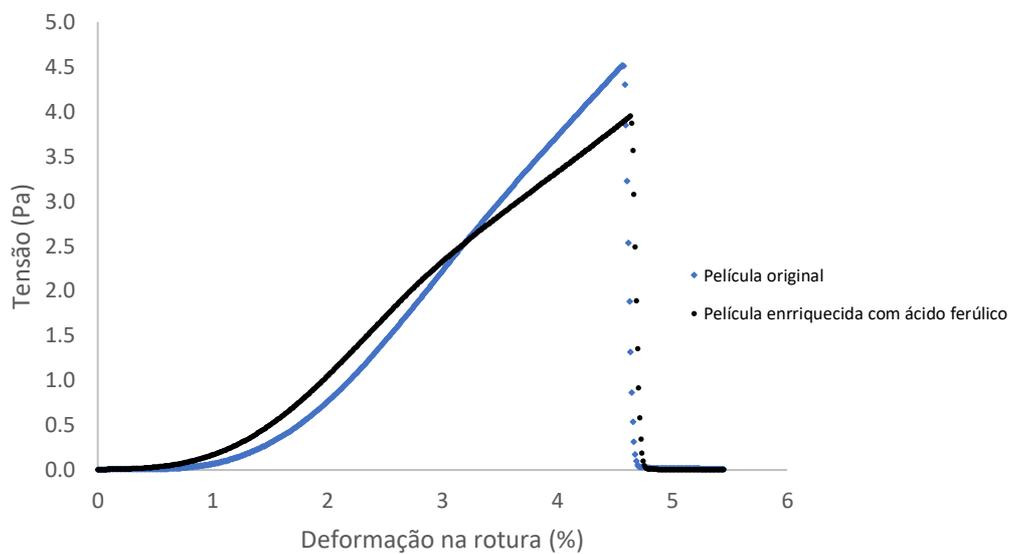


Figura 29 - Curva tipo do teste de perfuração para película original e película enriquecida com ácido ferúlico

Dos resultados dos testes de perfuração, apresentados na **figura 29** e no **quadro 13**, conclui-se que o enriquecimento da película com ácido ferúlico não alterou significativamente as suas propriedades mecânicas quando sujeitas a perfuração, com um nível de significância de 0,05 para um teste de tuckey HSD.

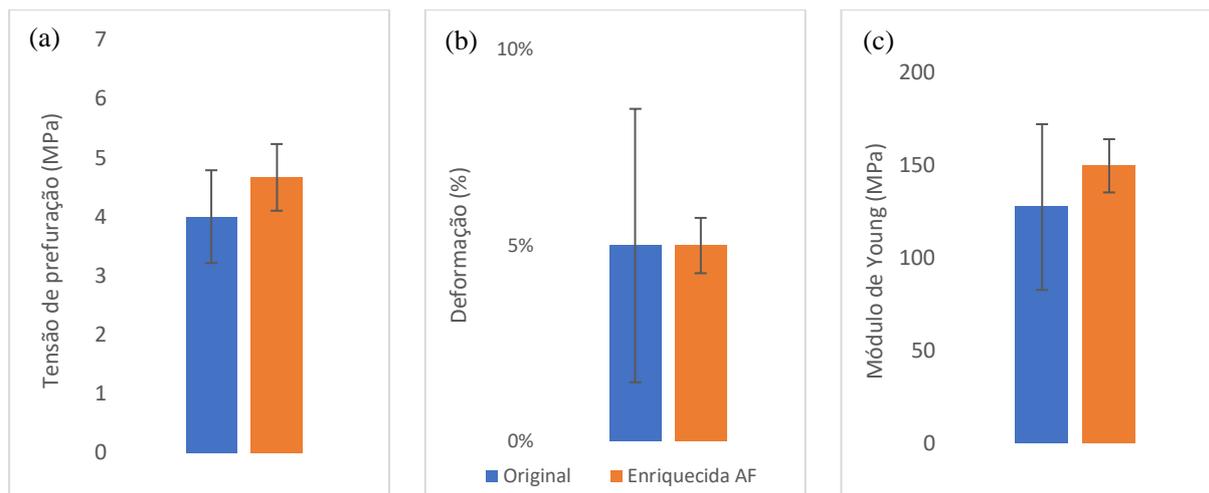


Figura 30 - Representação gráfica dos valores de (a) tensão de perfuração, (b) deformação e o (c) Módulo de Young para as diferentes películas. Letras diferentes significam valores significamente diferentes (Tuckey HSD,  $\alpha=0,05$ )

O quadro 14 indica os valores de tensão perfuração,  $\sigma_p$  (MPa); deformação na rotura,  $\varepsilon$  (-) e módulo de Young,  $\gamma$  (MPa) publicados por outros autores.

Quadro 13 - Representação dos valores de tensão de perfuração, deformação e o módulo de Young para as diferentes películas. Letras diferentes significam valores significamente diferentes (Tuckey HSD,  $\alpha=0,05$ )

|  | Espessura ( $\mu\text{m}$ ) | Tensão de perfuração (MPa) | Deformação na rotura (%) | Módulo de Young (MPa) |
|--|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Arabinosilanos + 30 % (m/m) Glicerol                             | $90 \pm 10,17$              | $4 \pm 0,79^a$             | $5 \pm 3^a$              | $127,58 \pm 44,77^a$  |
| Arabinosilanos + 30 % (m/m) Glicerol + 10 % (m/m) ácido ferúlico | $89 \pm 35,81$              | $4,67 \pm 0,57^a$          | $5 \pm 1^a$              | $149,87 \pm 14,39^a$  |
| Película de arabinosilanos + 25 % glicerol                       | NR                          | $2,42 \pm 0,12$            | NR                       | NR                    |

(C. Anderson & Simsek, 2019b)

(\*) NR, não registado.

C. Anderson & Simsek, (2019b) desenvolveram películas de arabinosilanos provenientes da fibra do milho com diferentes percentagens de plastificantes, tais como o glicerol e o sorbitol, caracterizando-as através de testes mecânicos. A película de arabinosilanos provenientes do milho com uma concentração adicionada de 25 % de glicerol, com uma humidade relativa de estabilização da película de 49 % HR, foi a escolhida para comparação por ter um valor aproximado das em estudo. Através do único valor reportado do teste de perfuração, o valor de tensão de perfuração, conclui-se que é necessária uma força maior para quebrar a película, pelo que se considera uma película mais resistente.

#### 4.3.6. Atividade antioxidante

##### Método DPPH

A atividade antioxidante total calculada pela captura do radical livre DPPH está apresentada no **quadro 14**:

*Quadro 14 - Valores de atividade antioxidante obtidos pelo método DPPH. Letras diferentes significam valores significativamente diferentes (Tuckey HSD,  $\alpha=0,05$ )*

|  | RSA<br>(%)        | TEAC<br>( $\times 10^{-7}$ mol trolox.mg película <sup>-1</sup> ) |
|--|-------------------|---|
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol                                | ND <sup>(a)</sup> | ND <sup>(a)</sup>   |
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol<br>+ 10 % (m/m) ácido ferúlico | 9 <sup>(b)</sup>  | 3,93 <sup>(b)</sup>   |

(\*) ND, não detetado.

O método não é o mais indicado para determinar a atividade antioxidante das películas, porque o solvente da reação é metanol, no qual a película não é solúvel, limitando a reação do radical com o ácido ferúlico existente na superfície da amostra. De acordo com o teste Tuckey HSD, as películas são significativamente diferentes com um nível de significância de 0,05.

##### Método FRAP

A atividade antioxidante total calculada pelo método de redução de ferro está apresentada no **quadro 15**.

*Quadro 15 - Valores de atividade antioxidante obtidos pelo método FRAP. Letras diferentes significam valores significativamente diferentes (Tuckey HSD,  $\alpha=0,05$ )*

|  | TEAC<br>( $\times 10^{-5}$ mmol Trolox mg <sup>-1</sup> ) |
|--|---|
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol                                | 1,56 <sup>(a)</sup>                                       |
| Arabinosilanos<br>+ 30 % (m/m) Glicerol<br>+ 10 % (m/m) ácido ferúlico | 9,16 <sup>(a)</sup>                                       |

Contrariamente aos resultados da análise anterior com o DPPH, no **quadro 15** é possível verificar que os valores se encontram dentro do limite de detecção para o método FRAP. É possível observar um aumento dos valores de atividade antioxidante quando se incorporou o ácido ferúlico na película, ainda que não sejam considerados significativamente diferentes de acordo com o teste Tuckey HSD com um

nível de significância de 0,05. Considera-se que este método é o mais indicado para películas solúveis em água, uma vez que, de acordo com os métodos, a película é dissolvida em água para a análise. Assim sendo o ácido ferúlico também fica mais disponível à reação.

Era de esperar que a película original mostrasse atividade antioxidante uma vez que o ácido ferúlico está presente na estrutura dos arabinosilanos, e estes têm um elevado poder antioxidante (Rose *et al.*, 2009). De forma a comprovar este facto, e a tornar a película com uma forte componente bioativa, foi adicionado à película base 10 % deste ácido aumentando assim a atividade.

## 5. Conclusões e perspectivas futuras

Neste trabalho foi estudada a purificação de um extrato concentrado de arabinosídeos, obtido a partir de fibra de milho, usando o processo de diafiltração. Para isso, aplicaram-se dois tipos de módulos de membranas: (i) um módulo de fibras ocas (MWCO de 100 kDa, e com uma área de 0,48 m<sup>2</sup>), operando com fluxo de permeado controlado (18,75 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>), para diferentes temperaturas do reservatório de alimentação (30 °C ± 2 °C, 40 °C ± 2 °C e 50 °C ± 4 °C). Com este módulo, foi ainda testado um método de operação de relaxamento membranar a uma temperatura de 40 °C ± 2 °C; (ii) um módulo de membranas planas (MWCO de 100 kDa e com uma área de 0,2 m<sup>2</sup>) operando a uma pressão transmembranar constante de 0,70 ± 0,04 bar e à temperatura de 40 °C ± 2 °C.

No módulo (i) concluiu-se que quando se aumentou a temperatura o número de *Reynolds* e a permeabilidade também aumentaram, significando que com este aumento houve uma menor colmatção da membrana e portanto uma maior remoção de sais de referência. Reunindo todos estes fatores, optou-se por considerar a temperatura de 40 °C uma vez que não houve diferenças significativas em relação à temperatura de 50 °C. A operação a esta temperatura mais elevada tem várias desvantagens, tais como elevado consumo energético quando em escala industrial, e um controle mais difícil para que não ultrapasse os limites dos equipamentos. A técnica de relaxamento não trouxe um aumento significativo em termos de remoção e rejeição dos compostos de baixa massa molecular. Tendo-se definido a temperatura de operação, procedeu-se à operação no módulo (ii) com um número de *Reynolds* (Re = 180) idêntico aos do módulo (i) (Re = 184) à mesma temperatura (40°C). A permeabilidade deste novo módulo aumentou significativamente, não alterando significativamente a eficiência na remoção dos compostos quando em comparação com todos os outros ensaios. Assim sendo, utilizou-se todo o material purificado às temperaturas de 40 e 50°C para a preparação das películas, uma vez que se obteve valores de remoção expressos em termos de percentagem de NaCl (93,25 ± 1,26 %) e de ácido ferúlico (87,58 ± 2,83 %) bastante elevados.

O extrato purificado foi utilizado com sucesso para produzir películas de arabinosídeos com atividade antioxidante. Numa análise preliminar foi testada a adição de glicerol (15, 30 e 47 % (m/m)) sendo que a que apresentou melhor flexibilidade sem se observar excesso de glicerol foi a com a adição de 30 % (m/massa seca). A partir desta película base testou-se a reticulação com PEDGE (4, 8 e 15 % (m/m)) e com ácido cítrico (20 e 50 % (m/m)), com os quais não foi possível formar uma película homogênea. Estudou-se ainda a incorporação de 10 % de ácido ferúlico na película, com o 30 % de glicerol como plastificante, obtendo-se uma película com uma cor homogênea e bastante flexível, tal como a película original com apenas a adição do plastificante. Assim, as películas com apenas a adição do plastificante

a 30 % e a película enriquecida com o ácido ferúlico a 10 % foram as escolhidas para prosseguir com a caracterização.

Quanto à aparência estas películas apresentam uma cor amarelada, e por microscopia eletrónica de varrimento, pode-se afirmar que até à escala da análise as películas são densas, sendo que no caso das películas enriquecidas com ácido ferúlico nas imagens com maior ampliação são visíveis pequenos defeitos com cerca de 300nm, o que indica que se se aumentasse o valor da ampliação seria eventualmente possível visualizar poros. Este facto pode explicar os resultados dos testes de permeabilidade ao oxigénio e dióxido de carbono, indicando que as películas são completamente permeáveis a estes gases, e portanto, que apresentam eventualmente poros/defeitos que não permitem propriedades de barreira a gases nas condições testadas (pressurização da alimentação). Em relação às propriedades de barreira ao vapor de água, a película enriquecida com ácido ferúlico teve um valor ligeiramente mais elevado prevendo-se que este composto adicionado possa-se comportar como plastificante (além do glicerol) quando as suas moléculas são incorporadas na matriz polimérica de arabinosilanos. Relativamente às propriedades mecânicas, as películas original e enriquecida com ácido ferrúlico, apresentaram uma resistência mecânica muito semelhante. Nos testes realizados à atividade antioxidante das películas, o método FRAP deu indicação do aumento dos valores de atividade antioxidante quando se incorporou o ácido ferúlico na película.

Assim sendo, pode-se afirmar que o extrato purificado de arabinosilanos foi usado com sucesso para produzir películas com atividade antioxidante e que tem um bom potencial para ser utilizado para projetar películas biodegradáveis com propriedades adequadas para aplicações industriais, nomeadamente na embalagem de produtos alimentares com baixo teor de água (devido ao facto das películas serem hidrofílicas).

Como perspetivas futuras, salienta-se a necessidade da otimização da produção e caracterização das películas de arabinosilanos, designadamente no melhoramento da sua resistência à água (com misturas com materiais hidrofóbicos, utilização de agentes reticulantes eficientes, p.e.). Adicionalmente, propõe-se o estudo da aplicação das películas otimizadas em embalagens ativas de produtos alimentares passíveis de sofrer oxidação (frutos secos, chocolate, p.e.), ou simplesmente como barreiras passivas, mas biodegradáveis.

## 6. Bibliografia

- Adsul, M., Tuli, D. K., Annamalai, P. K., Depan, D., & Shankar, S. (2016). Polymers from Biomass: Characterization, Modification, Degradation, and Applications. *International Journal of Polymer Science*, 2016(February), 1–2. <https://doi.org/10.1155/2016/1857297>
- Aghazadeh, M., Karim, R., Rahman, R. A., Sultan, M. T., Johnson, S. K., & Paykary, M. (2018). Effect of glycerol on the physicochemical properties of cereal starch films. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(5), 403–409. <https://doi.org/10.17221/41/2017-CJFS>
- Almanasrah, M., Brazinha, C., Kallioinen, M., Duarte, L. C., Roseiro, L. B., Bogel-Lukasik, R., ... Crespo, J. G. (2015). Nanofiltration and reverse osmosis as a platform for production of natural botanic extracts: The case study of carob by-products. *Separation and Purification Technology*, 149, 389–397. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.06.008>
- Alves, V. D., Costa, N., & Coelho, I. M. (2010). Barrier properties of biodegradable composite films based on kappa-carrageenan/pectin blends and mica flakes. *Carbohydrate Polymers*, 79(2), 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.08.002>
- Anderson, B., & Almeida, H. (2019). Corn Dry Milling: Processes, Products, and Applications. In *Corn* (pp. 405–433).
- Anderson, C., & Simsek, S. (2019a). How Do Arabinoxylan Films Interact with Water and Soil? *Foods*, 8(6), 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods8060213>
- Anderson, C., & Simsek, S. (2019b). Mechanical profiles and topographical properties of films made from alkaline extracted arabinoxylans from wheat bran, maize bran, or dried distillers grain. *Food Hydrocolloids*, 86, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.016>
- Baker, R. W. (2004). Membrane technology and applications. In *Membrane Technology and Applications*.
- Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Barros, A. C. da C. (2013). *Aplicação de embalagens ativas com agentes naturais na preservação de alimentos*.
- Bataillon, M., Mathaly, P., Nunes Cardinali, A. P., & Duchiron, F. (1998). Extraction and purification of arabinoxylan from destarched wheat bran in a pilot scale. *Industrial Crops and Products*, 8(1), 37–43. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)10002-4](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)10002-4)
- British Plastics Federation. (2016). Plastipedia - The Web's Largest Plastics Encyclopedia. Retrieved August 15, 2019, from <http://www.bpf.co.uk/plastipedia/Default.aspx>
- Broekaert, W. F., Courtin, C. M., Verbeke, K., van de Wiele, T., Verstraete, W., & Delcour, J. A. (2011). Prebiotic and other health-related effects of cereal-derived arabinoxylans, arabinoxylan-oligosaccharides, and xylooligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(2), 178–194. <https://doi.org/10.1080/10408390903044768>
- Cabral, S. R. (2015). *Otimização da ultrafiltração em modo de diafiltração para redução do teor de lactose em concentrados proteicos*.
- Cacique, P. P., Rios, M. N. M., Barbosa, I. O., & Wentz, A. P. (2017). Bioplastics Production From Starch and Chitosan Blends. *Revista Eletrônica Perspectivas Da Ciência e Tecnologia - ISSN: 1984-5693*, 9(Único), 46. <https://doi.org/10.22407/1984-5693.2017.v9.p.46-53>
- Carvalho, J. M. (2008). *Recuperação de Ácido Láctico por Filtração Tangencial*.

- Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.06.056>
- Chuc-Gamboa, M. G., Vargas-Coronado, R. F., Cervantes-Uc, J. M., Cauich-Rodríguez, J. V., Escobar-García, D. M., Pozos-Guillén, A., & del Barrio, J. S. R. (2019). The Effect of PEGDE Concentration and Temperature on Physicochemical and Biological Properties of Chitosan. *Polymers*, *11*(11). <https://doi.org/10.3390/polym11111830>
- Doner, L. W., & Hicks, K. B. (1997). Isolation of hemicellulose from corn fiber by alkaline hydrogen peroxide extraction. *Cereal Chemistry*, *74*(2), 176–181. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.2.176>
- European Bioplastics*. (2016). Retrieved from <http://www.bancodealimentos.es/bancos/aprende/queson>
- Ferreira, A. R. V., Alves, V. D., & Coelho, I. M. (2016). Polysaccharide-based membranes in food packaging applications. *Membranes*, *6*(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/membranes6020022>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2011). Retrieved from Global food losses and food waste website: <http://www.fao.org/portugal/pt>
- Galvão, D. F., & Gomes, E. R. dos S. (2015). Os Processos De Separação Por Membranas E Sua Utilização No Tratamento De Efluentes Industriais Da Indústria De Laticínios: Revisão Bibliográfica. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, *70*(6), 349–360. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v70i6.487>
- Garcia, P. S., Eiras Grossmann, M. V., Yamashita, F., Mali, S., Dall'Antonia, L. H., & Barreto, W. J. (2011). Citric acid as multifunctional agent in blowing films of starch/PBAT. *Quimica Nova*, *34*(9), 1507–1510. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900005>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, (July), 25–29. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Gironi, F., & Piemonte, V. (2011). Bioplastics and petroleum-based plastics: Strengths and weaknesses. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, *33*(21), 1949–1959. <https://doi.org/10.1080/15567030903436830>
- Glater, J. (1999). Early history of reverse osmosis membrane development. *Water Supply*, *17*(1), 103–115.
- Gu, F., Guo, J., Zhang, W., Summers, P. A., & Hall, P. (2017). From waste plastics to industrial raw materials: A life cycle assessment of mechanical plastic recycling practice based on a real-world case study. *Science of the Total Environment*, *601–602*, 1192–1207. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.278>
- Guarino, V., Gentile, G., Sorrentino, L., & Ambrosio, L. (2017). Polycaprolactone: Synthesis, Properties, and Applications. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology* (pp. 1–36). <https://doi.org/10.1002/0471440264.pst658>
- Habert, A. C., Borges, C. P., & Nobrega, R. (2006). *Processos de Separação Separação por membranas*.
- Heikkinen, S. (2016). *Biodegradable films from cereal arabinoxylans*.
- Hespell, R. B. (1998). Extraction and Characterization of Hemicellulose from the Corn Fiber Produced by Corn Wet-Milling Processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(7), 2615–2619. <https://doi.org/10.1021/jf971040y>
- Hopewell, J., Dvorak, R., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: Challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *364*(1526), 2115–2126. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311>
- Hopkins, M. J., Englyst, H. N., Macfarlane, S., Furrie, E., Macfarlane, G. T., & McBain, A. J. (2003). Degradation of Cross-Linked and Non-Cross-Linked Arabinoxylans by the Intestinal Microbiota in Children. *Applied and*

- Environmental Microbiology*, 69(11), 6354–6360. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.11.6354-6360.2003>
- Izydorczyk, M. S., & Biliaderis, C. G. (2007). Arabinoxylans: Technologically and Nutritionally Functional Plant Polysaccharides. In *Function Food Carbohydrates* (pp. 249–290).
- Jeon, S. J., Singkhornart, S., & Ryu, G. H. (2014). The effect of extrusion conditions on water-extractable arabinoxylans from corn fiber. *Preventive Nutrition and Food Science*, 19(2), 124–127. <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.2.124>
- Kale, M. S., Hamaker, B. R., & Campanella, O. H. (2013). Alkaline extraction conditions determine gelling properties of corn bran arabinoxylans. *Food Hydrocolloids*, 31(1), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.09.011>
- Khosravi-Darania, K., & Bucci, D. Z. (2015). Application of Poly(hydroxyalkanoate) In Food Packaging: Improvements by Nanotechnology. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29, 275–285.
- Kirwan, M. J., Plant, S., & Strawbridge, J. W. (2011). Plastics in Food Packaging. In *Food and Beverage Packaging Technology* (pp. 157–212). <https://doi.org/10.1002/9781444392180>
- Lazarevic, D., Aoustin, E., Buclet, N., & Brandt, N. (2010). Plastic waste management in the context of a European recycling society: Comparing results and uncertainties in a life cycle perspective. *Resources, Conservation and Recycling*, 55(2), 246–259. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2010.09.014>
- Life cycle of a plastic product. (2019). Retrieved August 14, 2019, from life cycle of a plastic product website: [https://web.archive.org/web/20081116041538/http://www.americanchemistry.com/s\\_plastics/doc.asp?CID=1571&DID=5972&dowhat=&css=print](https://web.archive.org/web/20081116041538/http://www.americanchemistry.com/s_plastics/doc.asp?CID=1571&DID=5972&dowhat=&css=print)
- Lopez, H. W., Levrat, M. A., Guy, C., Messenger, A., Demigné, C., & Rémésy, C. (1999). Effects of soluble corn bran arabinoxylans on cecal digestion, lipid metabolism, and mineral balance (Ca, Mg) in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 10(9), 500–509. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(99\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(99)00036-4)
- Luchese, C. L., Brum, L. F. W., Piovesana, A., Caetano, K., & Flôres, S. H. (2017). Bioactive compounds incorporation into the production of functional biodegradable films - A review. *Polymers from Renewable Resources*, 8(4), 151–176. <https://doi.org/10.1177/204124791700800402>
- Malte, W., & Bernhard, R. (2016). Biobased Polyamides: Recent Advances in Basic and Applied Research. *Macromolecular Rapid Communications*, 37(17), 1–23.
- Mikkonen, K. S., Heikkinen, S., Soovre, A., Peura, M., Serimaa, R., Talja, R. A., ... Tenkanen, M. (2009). Films from oat spelt arabinoxylan plasticized with glycerol and sorbitol. *Journal of Applied Polymer Science*, 114(1), 457–466. <https://doi.org/10.1002/app.30513>
- Moonsri, P., Watanesk, R., Watanesk, S., Niamsup, H., & Deming, R. L. (2008). Fibroin Membrane Preparation and Stabilization by Polyethylene Glycol Diglycidyl Ether. *Journal of Applied Polymer Science*, 108, 1402–1406. <https://doi.org/10.1002/app>
- Morales-Ortega, A., Carvajal-Millán, E., López-Franco, Y., Rascón-Chu, A., Lizardi-Mendoza, J., Niño-Medina, G., ... Torres-Chávez, P. (2013). Ferulated arabinoxylans from cereals. A review of their physico-chemical characteristics and gelling capability. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 36(4), 439–446.
- Mulder, M. (1996). *Basic Principles of Membrane Technology*. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-1766-8> e-ISBN
- Niño-Medina, G., Carvajal-Millán, E., Rascon-Chu, A., Marquez-Escalante, J. A., Guerrero, V., & Salas-Muñoz, E. (2010). Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylan gels: Structure, sources and applications. *Phytochemistry Reviews*, 9(1), 111–120. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9147-3>

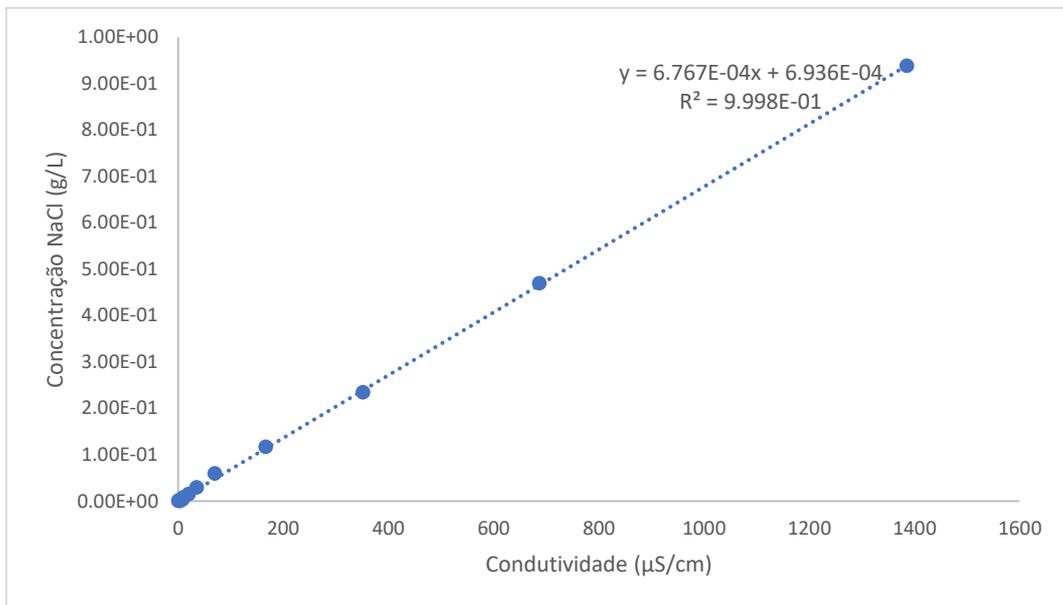
- Ou, S., & Kwok, K. C. (2004). Ferulic acid: Pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(11), 1261–1269. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1873>
- Park, H. J., Weller, C. L., Vergano, P. J., & Testin, R. F. (1993). Permeability and Mechanical Properties of Cellulose-Based Edible Films. *Journal of Food Science*, *58*(6), 1361–1364. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb06183.x>
- Park, H. R., Chough, S. H., Yun, Y. H., & Yoon, S. Do. (2005). Properties of starch/PVA blend films containing citric acid as additive. *Journal of Polymers and the Environment*, *13*(4), 375–382. <https://doi.org/10.1007/s10924-005-5532-1>
- Paunonen, S. (2013). Strength and barrier enhancements of cellophane and cellulose derivative films: A review. *BioResources*, *8*(2), 3098–3121. <https://doi.org/10.15376/biores.8.2.3098-3121>
- Pérez-Arauz, A. O., Aguilar-Rabiela, A. E., Vargas-Torres, A., Rodríguez-Hernández, A. I., Chavarría-Hernández, N., Vergara-Porras, B., & López-Cuellar, M. R. (2019). Production and characterization of biodegradable films of a novel polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesized from peanut oil. *Food Packaging and Shelf Life*, *20*(December 2018), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.01.001>
- Péroval, C., Debeaufort, F., Despré, D., & Voilley, A. (2002). Edible Arabinoxylan-Based Films. 1. Effects of Lipid Type on Water Vapor Permeability, Film Structure, and Other Physical Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 3977–3983.
- Pertile, C. (2013). *Avaliação de Processos de Separação por Membranas como Alternativas no Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário*.
- Portal de Engenharia Química - Membranas. (2014). Retrieved September 20, 2019, from Separações e operações unitárias website: [http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?option=com\\_content&task=view&id=17&Itemid=135](http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?option=com_content&task=view&id=17&Itemid=135)
- Rausch, K. D., Hummel, D., Johnson, L. A., & May, J. B. (2019). Wet Milling: The Basis for Corn Biorefineries. In *Corn* (3rd ed., pp. 501–535). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811971-6.00018-8>
- Ray, S. S., & Bousmina, M. (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in Materials Science*, *50*(8), 962–1079. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2005.05.002>
- Rose, D. J., Inglett, G. E., & Liu, S. X. (2009). Utilisation of corn (Zeamays) bran and corn fiber in the production of food components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*, 915–924.
- Saeed, F., Pasha, I., Anjum, F. M., & Sultan, M. T. (2011). Arabinoxylans and arabinogalactans: A comprehensive treatise. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(5), 467–476. <https://doi.org/10.1080/10408391003681418>
- Saulnier, L., Sado, P. E., Branlard, G., Charmet, G., & Guillon, F. (2007). Wheat arabinoxylans: Exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. *Journal of Cereal Science*, *46*(3), 261–281. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.014>
- Scott, K. (1995). *Handbook of Industrial Membranes*.
- Sganzerla, W. G., Paes, B. B., Azevedo, M. S., Ferrareze, J. P., da Rosa, C. G., Nunes, M. R., & Veeck, A. P. L. (2019). Bioactive and biodegradable film packaging incorporated with acca sellowiana extracts: physicochemical and antioxidant characterization. *Chemical Engineering Transactions*, *75*(April 2018), 445–450. <https://doi.org/10.3303/CET1975075>

- Shiiba, K., Yamada, H., Hara, H., Okada, K., & Nagao, S. (1993). Purification and characterization of two Arabinoxylans from wheat bran. In *Cereal Chemistry* (pp. 209–214).
- Shrivastava, A. (2018). Polymerization. In *Introduction to Plastics Engineering*. (pp. 17–48).  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39500-7.00002-2>
- Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., & Rosa, M. D. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 19(12), 634–643. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.003>
- Strazzi, S. (2015). Derivados do milho são usados em mais de 150 diferentes produtos industriais. *Visão Agrícola*, 13(9), 146–150. Retrieved from  
[https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA\\_13\\_Industrializacao-artigo4.pdf](https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Industrializacao-artigo4.pdf)
- Swift, G., & Wiles, D. M. (2004). "Photopolymerization, Cationic". In: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. 40–51.
- ToolBox, E. (2004). Water - Dynamic and Kinematic Viscosity. Retrieved August 15, 2019, from Engineering ToolBox website: [http://www.engineeringtoolbox.com/water-dynamic-kinematic-viscosity-d\\_596.html](http://www.engineeringtoolbox.com/water-dynamic-kinematic-viscosity-d_596.html)
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., De Kruijf, N., & Debevere, J. (1999). Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 10(3), 77–86. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00032-1](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00032-1)
- Wang, B., Cheng, B., & Feng, H. (2008). Enriched arabinoxylan in corn fiber for value-added products. *Biotechnology Letters*, 30(2), 275–279. <https://doi.org/10.1007/s10529-007-9537-9>
- Zhang, Z., Smith, C., & Li, W. (2014). Extraction and Modification Technology of Arabinoxylans from Cereal by-products: A Critical Review. *Food Research International*, 1–44.

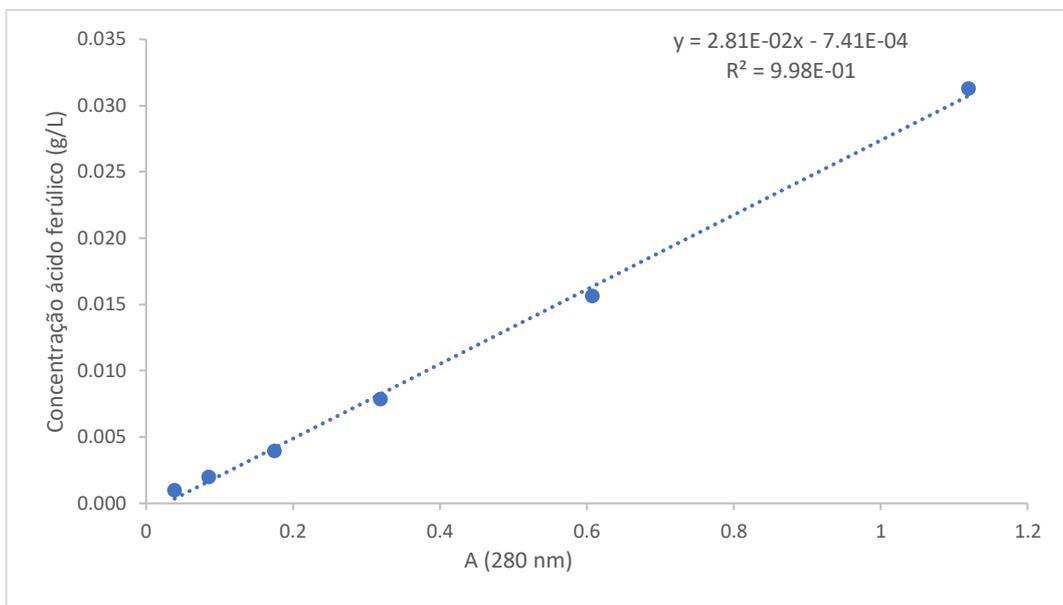
# ANEXOS

## Anexo A - retas de calibração

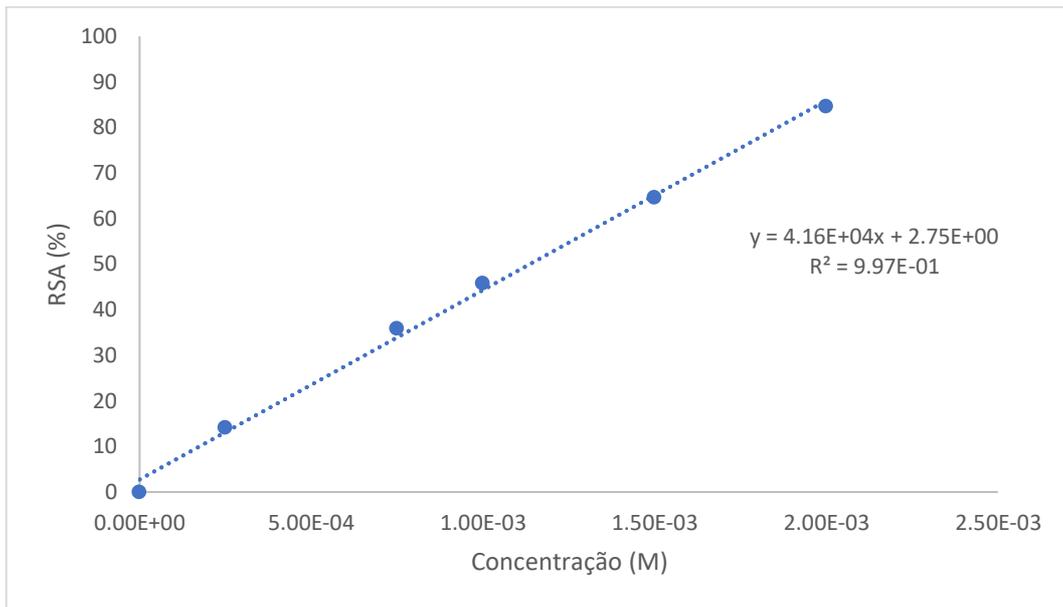
### A.1. Reta de calibração do cloreto de sódio determinação da reta de calibração do cloreto de sódio



### A.2. Reta de calibração do ácido ferúlico Determinação da reta de calibração do ácido ferúlico



### A.3. Retas de calibração com trolox para o método DPPH



### A.4. Retas de calibração com trolox para o método FRAP

