

## **Caracterização e biodegradação de filmes de quitosana e proteína isolada de soja incorporados com nanocristais de celulose**

## **Characterization and biodegradation of chitosan and soy protein isolate films incorporated with cellulose nanocrystals**

DOI:10.34117/bjdv8n3-078

Recebimento dos originais: 14/02/2022

Aceitação para publicação: 08/03/2022

### **Leonardo Bertuci Junior**

Mestrando

Instituição: Secretaria Estadual de Educação MS

Endereço: R. Guairá 155, Ponta Porã-MS

E-mail: leonardoppr@hotmail.com

### **Marcello Lima Bertuci**

Doutorando

Instituição: Universidade Estadual Paulista

Endereço: R. Candido Brasil estrela 355, jardim nazareth são Jose do Rio Preto- SP

E-mail: Marcello\_bertuci@hotmail.com

### **Farayde Matta Fakhouri**

Doutora

Instituição: Universidade Federal da Grande Dourados

Endereço: Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária- Dourados-MS

E-mail: faraydefakhouri@ufgd.edu.br

### **Silvia Maria Martelli**

Doutora

Instituição: Universidade Federal da Grande Dourados

Endereço: Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária- Dourados- Ms

E-mail: silviamartelli@ufgd.edu.br

### **RESUMO**

A produção de embalagens oriundas de matérias primas sintéticas vem aumentando exponencialmente, com isso tem ocasionado graves problemas ambientais devido a alta longevidade desses materiais. Surge então a necessidade da substituição de produtos de origem sintética por produtos de fontes renováveis, e o desenvolvimento de novos produtos a partir de processos mais limpos de fabricação. Os nanocristais de celulose são materiais que tem chamado atenção de pesquisadores, devido à suas características físicas e químicas e sua aplicação como reforço em outras matrizes poliméricas. Neste contexto o objetivo deste trabalho foi a obtenção de nanocristais de celulose, a partir da palha do milho (*Zea mays*) e incorporação dos nanocristais em matrizes poliméricas de quitosana e proteína isolada de soja, com o intuito de traçar o melhor parâmetro a extração dos nanocristais e sua caracterização, como também a biodegradabilidade deste filmes. Observou-se que nos filmes de quitosana e SPI, não houve alteração no processo de degradação pelo processo de adição dos nanocristais em comparação com o controle,

sugerindo que os nanocristais não interferem na biodegradabilidade das matrizes a qual são inseridos.

**Palavras-chave:** biofilmes, nanocristais de celulose e biodegradação.

## ABSTRACT

The production of packaging made of synthetic raw materials has been increasing exponentially, thus causing serious environmental problems due to the high longevity of these materials. The need then arises to replace products of synthetic origin by products from renewable sources, and the development of new products from cleaner manufacturing processes. Cellulose nanocrystals are materials that have drawn the attention of researchers, due to their physical and chemical characteristics and their application as reinforcement in other polymeric matrices. In this context, the objective of this work was to obtain cellulose nanocrystals from corn straw (*Zea mays*) and to incorporate the nanocrystals in polymeric matrices of chitosan and isolated soy protein, in order to determine the best parameters for the extraction of nanocrystals and their characterization, as well as the biodegradability of these films. It was observed that in the films of chitosan and SPI, there was no change in the degradation process by the process of addition of nanocrystals compared with the control, suggesting that the nanocrystals do not interfere in the biodegradability of the matrices in which they are inserted.

**Keywords:** biofilms, cellulose nanocrystals and biodegradation.

## 1 INTRODUÇÃO

Os materiais provenientes de polímeros sintéticos cresceram em importância e produção. No século XXI, foram produzidos mais de 250 milhões de toneladas por ano ultrapassando a produção mundial de aço, caracterizando a era do plástico. A predominância deste tipo de material se dá devido ao baixo custo e a grande estabilidade química de sua estrutura molecular. Suas propriedades físicas, como o ponto de fusão e resistência, têm sido aplicadas na fabricação de diversos tipos de utensílios que facilitam a vida humana, como garrafas de refrigerantes, hastes de cotonetes, sacos de supermercados, tubos de encanamento, escovas de dente e até para-choques de veículos (ROSA et al., 2002; OJEDA, 2008).

Devido ao amplo desenvolvimento socioeconômico e tecnológico que vêm modificando a estrutura da sociedade nas últimas décadas, junto com o crescimento da população e do processo de urbanização, vem com o tempo acarretando tanto com o aumento da produção como consumo intensivo de materiais descartáveis, geralmente feito com polímeros sintéticos, que juntos contribuem para intensificação na geração de resíduos sólidos urbanos no meio urbanizado. O consumo excessivo e a falta de consciência coletiva no que tange o descarte e disposição final dos resíduos e rejeitos,

está gerando riscos à saúde ambiental, tanto aos seres humanos quanto aos animais, sobretudo, quando estes materiais são acumulados em áreas de lixões, sendo estas, consideradas a mais danosa forma de acondicionar e dispor os resíduos e rejeitos. Pois, podem ser grandes reservatórios de doenças e de contaminantes para o solo.

Os danos são grandes tanto para animais como para vegetais, que são constantemente atingidos de forma sistemática pela poluição, resultante do acúmulo de resíduos no meio ambiente, de forma legal como em lixões e aterros ou de forma ilegal com esgotos a céu abertos ou o simples descarte em terrenos inadequados, até mesmo em ambientes aquáticos. Este último, é o que apresenta mais danos causados pela poluição como descarte impróprio de resíduos como esgoto residencial e das indústrias Silva (2018). Os mesmos, possuem capacidade de dispersão e contaminação de rios e lagos, através conexão com a correnteza marítima. Os oceanos são diariamente bombardeados por lançamentos de resíduos, geralmente derivados dos polímeros sintéticos com elevado tempo de degradação, que por sua vez, contaminam, a água e toda a biodiversidade presente, tornando o ecossistema aquático corrompido, inapropriado para reprodução e sobrevivência, sendo necessário a busca de materiais menos agressivas e de rápida degradação que gere o mínimo de impacto possível ao meio ambiente como os polímeros naturais (SILVA, 2018; SANTOS, 2012)

Os polímeros podem ser classificados em dois tipos: i) os biopolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina e outras, e ii) os polímeros artificiais produzidos a partir de matérias-primas de fontes não renováveis como: petróleo e outros minerais. O consumo de polímeros sintéticos ao longo dos anos vem produzindo grande número de resíduos desse material os quais se acumulam pelos aterros gerando problemas ambientais, pelo fato de possuírem elevada resistência a degradação biótica e abiótica, demorando anos para se decompor (BRITO et al., 2011). Por isso, amplia-se a possibilidade de estudo e utilização dos chamados polímeros biodegradáveis como possível alternativa na minimização desses graves problemas (BARDI E ROSA, 2007).

Uma alternativa largamente estudada para reduzir os impactos da poluição ambiental causados pelos plásticos derivados de petróleo é a substituição dos mesmos por materiais poliméricos derivados de produtos naturais. Dentre os biopolímeros, a proteína isolada de soja (SPI – do inglês “*Soy Protein Isolate*”) tem sido estudada extensivamente devido a sua aplicação em diversos setores de atividade, tais como: adesivos, plásticos, revestimentos, emulsificantes na química de alimentos e na agricultura pela técnica de

*Mulching* empregada por produtores de hortaliças em cultivo protegido, com o intuito de encontrar um material com um tempo de vida similar ao tempo de duração da cultura (GIACOMELLI, 2005; MORENO, MORENO E TARQUIS, 2013)

Materiais à base de SPI, no entanto, não apresentam, na maioria dos casos, propriedades físico-químicas e mecânicas satisfatórias, isto juntamente com a dificuldade de processamento e alto custo, tornam suas aplicações restritas. Em decorrência da necessidade de melhorar tais propriedades, tentativas como a combinação com outros polímeros biodegradáveis e modificações químicas, tem sido desenvolvida (GIACOMELLI, 2005; GONÇALVES, 2009).

A quitosana é um polissacarídeo natural de origem animal, abundante, que pode formar uma matriz por si só e/ou com outros agentes de reticulação devido à presença de grupos amino ( $\text{NH}_2$ ), tornou-se um dos polímeros mais atraentes derivados de recursos renováveis, porque possui propriedades notáveis, que encontram aplicações em muitas áreas da ciência e tecnologia de materiais, particularmente relacionadas a biomateriais e produtos médicos (GANDINI E BELGACEM, 2013).

Neste contexto, a aplicação de Nanocristais de Celulose, “Cellulose **nanocrystals**”(CNC) como agentes de reforço para matrizes poliméricas tem chamado atenção da comunidade científica, uma vez que oferecem uma combinação única de propriedades física e ambientais. Os nanocompósitos baseados em CNC geralmente exibem propriedades térmicas, mecânicas e de barreira (permeação de líquidos e gases) superiores em relação ao polímero puro ou composto convencional (FLAUZINO NETO, 2012).

Desta forma, este estudo visa a elaboração e caracterização dos processos de extração e aplicação de nanocristais extraídos da palha de milho e adicionados em matrizes de SPI e quitosana, incorporados com diferentes concentrações de nanocristais de celulose, bem como a análise da biodegradação dos filmes através do processo de respirometria.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 OBTENÇÃO DOS NANOCRISTAIS DE CELULOSE A PARTIR DA PALHA DE MILHO

#### 2.1.1 Mercerização, branqueamento(Extração de lignina) e extração dos nanocristais de palha de milho

A primeira etapa, mercerização foi realizada da seguinte forma, em um recipiente adequado (Erlenmeyer) foram adicionadas 20 gramas de fibra para 400 mL de solução de hidróxido de sódio 5%, e deixado em *shaker* a temperatura ambiente por 4 h sob agitação de 160-180 rpm. Após esse período, a solução foi filtrada em TNT (tecido não tecido), disposta em placas de petri grandes 10mm e secas em estufa (com circulação de ar) por aproximadamente 24h.

Em seguida, 20 gramas de fibra mercerizada foi adicionada em 400 mL de solução de peróxido alcalino / hipoclorito alcalino, sob agitação na chapa de aquecimento a temperatura de 50 °C (solução) por 1h30 minutos, filtrada em TNT, disposta em placas de petri grandes e secas em estufa (com circulação de ar) por aproximadamente 24h.

Após em um recipiente adequado (Becker) foi adicionado 1 grama de fibra para 15 mL de solução de ácido sulfúrico 60% m/m, agitado, em chapa aquecedora e alterado os parâmetros de acordo com o planejamento experimental: Fatorial 2<sup>2</sup>, com 4 repetições no ponto central e 4 axiais Tabela 1.

Tabela 1- Planejamento experimental para a extração de CNC da palha do milho. Após cada ensaio, adicionou-se 25 mL de água gelada para sessar o processo de

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis com valores reais	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	30	30
2	1	-1	90	30
3	-1	1	30	50
4	1	1	90	50
5	0	0	60	40
6	0	0	60	40
7	0	0	60	40
8	0	0	60	40
9	-1,41	0	18	40
10	+1,41	0	102	40
11	0	-1,41	60	26
12	0	+1,41	60	54

Fonte: Dados da pesquisa.

hidrólise e a solução foi acondicionada a solução em tubo de lipídios, para posteriormente centrifugação. Os tubos contendo a solução ácida foram centrifugados por

cerca de 10 a 12 vezes. Após cada centrifugação, o sobrenadante foi descartado e completado o volume de água, em seguida a solução foi ultrassonificada por 10 minutos, intercalando, 10 minutos de centrifugação com 10 minutos de ultrassom. A presença dos nanocristais de celulose foi observada pela turvação do sobrenadante, após cada lavagem os tubos de amostra foram comparados com um tubo com água destilada a fim de identificar a presença dos mesmos.

Em seguida o líquido com nanocristais foi colocado em membrana de diálise (SIGMA-Dialysis Tubing, Benzoylated), com largura plana de 9mm, para que seja retirado todo resíduo de ácido sulfúrico. As membranas eram condicionadas em bequer de 2 litros preenchidos com água destilada, sendo trocada uma vez por dia em um período de 3 dias.

Depois dos procedimentos descritos foram determinados os rendimentos para cada amostra e plotada a superfície resposta para o experimento. A melhor condição foi escolhida para a extração de grande quantidades empregadas na confecção dos filmes.

### 2.1.2 Espectroscopia no infravermelho (FTIR)

A identificação dos grupos funcionais e seus possíveis deslocamentos, foram avaliados usando um Espectrofotômetro modelo FT/IR-4100 tipo A no Laboratório de Óptica da UFGD. A faixa de comprimento de onda usado foi de 550 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Esta análise serviu para constatar se a primeira e segunda etapa, mercerização e branqueamento, realmente tiveram sucesso na remoção da lignina.

### 2.1.3 Cor instrumental

A cor dos filmes foi determinada utilizando-se o colorímetro Hunterlab (Colorquest II, Faifax, USA), seguindo o método HUNTERLAB. Os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram determinados para cada formulação em triplicada. O cálculo de diferença total de cor ( $\Delta E$ ) foi realizado pela Equação 3:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:  $\Delta L^*$  é a variação em mais claro e escuro;  $\Delta a^*$  é a variação em vermelho e verde;  $\Delta b^*$  é a variação em azul e amarelo.

## 2.2 DESENVOLVIMENTO/PREPARO DOS FILMES

Os filmes/biocompósitos de proteína de soja e quitosana incorporados ou não com os nanocristais de celulose foram obtidos pela técnica de *casting* Tabela 2 (FAKHOURI *et al.*, 2013). Inicialmente foram realizados alguns ensaios com concentração de quitosana 2% e proteína de soja 6% variando as concentrações de plastificante entre 10%, 20% e 30%, visando conhecer o comportamento das soluções obtidas e dos filmes formados em relação as características visuais, solubilidade em água e resistência mecânica .

Tabela 2- Formulações dos filmes de quitosana e SPI.

Formulação	SPI solução)	(g/100g Quitosana solução)	(g/100g CNC	(ml /100 g
Quitosana pura	-	2	-	
Quitosana 1% CNC	-	2	24,10	
Quitosana 2,5% CNC	-	2	60,24	
SPI puro	6	-	-	
SPI 1% CNC	6	-	72,30	
SPI 2,5 % CNC	6	-	180,723	

Fonte: Dados da pesquisa.

\* Todas a formulações usaram glicerol como plastificante, com relação de 20% com o SPI e a quitosana.

Os filmes usados para o teste de caracterização, foram elaborados SPI e quitosana, reforçados com nanocristais de celulose, obtidos da palha do milho. Para o processo de extração é necessárias três etapas: mercerização, branqueamento e extração de nanocristais de celulose. Após o tratamento para a extração dos nanocristais, os mesmos são aplicados em filmes de quitosana e proteína de soja, depois levados para a análise térmica e física.

### 2.2.1 Filmes isolados de proteína de soja

Para a obtenção dos filmes de proteína foi feita uma adaptação a metodologia descrita por Freitas *et al.* (2009). Os filmes foram preparados misturando 18 g de proteína isolada de soja com 3,6 g de glicerol e 300 mL de água destilada usando um agitador magnético com aquecimento 90°C por 20 minutos. O pH das soluções foi ajustado para 8,0 por adição de uma solução de NaOH 0,1N. Estas soluções foram então misturadas e alíquotas de 50 mL distribuídas em placas de 11,8 cm de diâmetro, os filmes secaram a temperatura de 45°C por 24h em uma estufa com circulação.

Os filmes foram colocados em dessecadores a uma temperatura de 25°C. O ambiente RH (humidade relativa) dentro dos dessecadores foi obtido com solução saturada de nitrato de magnésio.

### 2.2.2 Filmes quitosana

A preparação da solução de quitosana foi realizada pela dissolução de 6 g de quitosana em 297 mL de água destilada. O pH foi ajustado adicionando 3 mL de ácido acético e adicionou-se 0,320 g de glicerol agente plastificante, após mantido a solução sobre repouso por 2h, logo após a solução com a quitosana já diluída foi colocada sob agitação magnética a temperatura ambiente por 5h a uma rotação de 1000 rpm. A filtração da solução foi realizada com TNT (para retirar o material insolúvel). Após a centrifugação a solução foi vertida em placas de Petri e levada a estufas de circulação para secagem a 43°C por 24h.

## 2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

### 2.3.1 Permeabilidade ao vapor de água

A PVA dos filmes foi determinada utilizando o método padrão E96 da ASTM modificado, e foi expressa em gmm/m<sup>2</sup>d.kPa. A permeabilidade ao vapor d'água foi determinada gravimetricamente a 25 °C. Os filmes (0,0019 m<sup>2</sup>) foram fixados em células de acrílico contendo em seu interior cloreto de cálcio anidro (CaCl<sub>2</sub>). O cloreto de cálcio anidro foi previamente seco em estufa a 140°C por 24 h e cerca de 5 g de CaCl<sub>2</sub> anidro foram utilizadas em cada célula. As células foram acondicionadas em uma cuba hermética contendo solução de cloreto de sódio concentrada. Desta forma se determinou o ganho de peso (umidade) de cada célula com o tempo ocasionado pelo gradiente de UR de 2-75 %. As células foram pesadas a cada 60 min em uma balança analítica (OHAUS) por 10 horas e subsequentemente duas pesagens após 24 h e a relação linear entre a quantidade de água transferida por unidade de área e tempo foi obtida. A PVA foi calculada de acordo com a equação 2.

$$PVA = \frac{m/t.e}{A.p_s \left( \frac{UR_1 - UR_2}{100} \right)} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde a espessura média de cada filme (m); A é a área de permeação (0,0019 m<sup>2</sup>); UR1 é a umidade relativa no interior da cuba (75 %); UR2 é a umidade relativa no interior das células (2 %); ps é a pressão de saturação do vapor a temperatura do ensaio (kPa); e



o termo  $m/t$  (g água/dia) foi calculado a partir da regressão linear obtida pelo ganho de massa em função do tempo.

### 2.3.2 Transmitância UV-Vis

É a razão entre a quantidade de luz que atravessa o meio e a quantidade de luz que incide perpendicularmente à superfície. A determinação de transmitância foi realizada pelos métodos ASTM D 1746 e D 1003, e medida em percentual (%). O equipamento utilizado foi o VARIAN CARY 50 CONC.

### 2.3.3 Difração em raios X

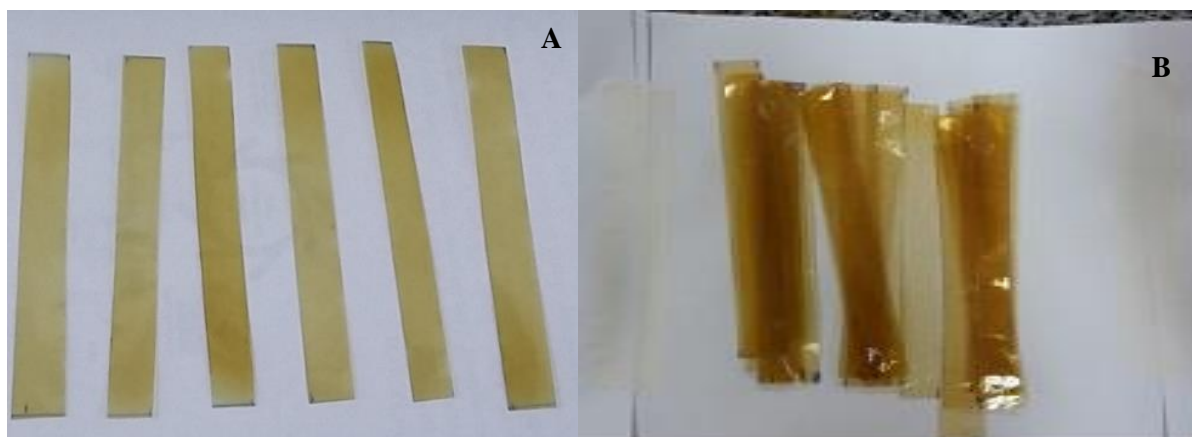
Os ensaios de difração de raios-X, para os filmes, foram realizados em um difratômetro, com radiação  $K\alpha$  de cobre, voltagem de 40 kV, corrente de 40 mA, varredura 0,05 ( $2\theta/5$  s) para valores de  $2\theta$  entre 5 e  $45^\circ$ . A análise foi realizada pelo grupo de pesquisa em Química de Superfícies e Moléculas Bioativas da UFMS em Campo Grande-MS.

### 2.3.4 Ensaio Mecânico de Resistência À Tração

Os testes mecânicos de resistência à tração dos filmes foram realizados conforme a norma ASTM D882 (American Society for Testing And Materials, 2012), utilizando-se a máquina universal de ensaios da marca Emic (modelo DL2000) e célula de carga TRD-21 com capacidade de carregamento igual a 50 kg (490,5 N).

Os corpos de prova (Figura 01) foram obtidos a partir dos filmes, apresentando espessura uniforme de 0,08-0,120 mm, 130 mm (comprimento), 10 mm (largura) e condicionados antes da realização dos ensaios a  $22\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $58\pm 3\%$  UR, durante 48 h. Posteriormente, os corpos de prova foram posicionados na máquina universal de ensaios com espaçamento de 50 mm entre as garras mecânicas.

Figura 01- Corpos de prova de SPI (A) e quitosana (B).



Fonte: dados da pesquisa.

Os testes de resistência à tração foram realizados com velocidade constante de  $10 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ , a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $58 \pm 3\%$  UR. Para cada tratamento (formulação) dos sistemas foram realizadas 15 replicatas. Os dados foram coletados da máquina universal de ensaios por meio do *software* Tesc® versão 1.13. O ensaio mecânico de resistência à tração foi utilizado para analisar as modificações nos filmes de quitosana e SPI, por meio das medidas das propriedades tensão máxima, tensão na ruptura, deformação específica e módulo de elasticidade (módulo de Young).

A análise estatística para testar a igualdade das médias dos tratamentos em cada um dos sistemas foi realizada pela análise de variância (ANOVA), acompanhada de um teste *F*. Para examinar as diferenças entre as médias por comparação múltipla foi utilizado o teste de Tukey. O nível de significância dos testes estatísticos foi de 5% e os dados foram tratados nos *software* Excel® 2013 da Microsoft® Corporation e STATISTICA® version 7 da StatSoft Inc. As propriedades mecânicas dos filmes serão obtidas a partir de corpos de provas, segundo as normas técnicas como a ASTM D638 (ASTM, 2010). As avaliações de diferentes parâmetros, tais como: módulo de elasticidade, tensão na ruptura e alongamento máximo, permitiram relacionar características dos componentes e composição com propriedades macroscópicas do produto final.

### 2.3.5 Cor instrumental

Mesma metodologia utiliza no item 2.1.2.

### 2.3.6 Espessura

A espessura foi obtida pela média dos valores de cinco pontos aleatórios em diferentes segmentos do filme, utilizando-se um micrômetro digital (Model COOLANT PROOF IP 65, Mitutoyo, Japan, resolução 0,001 mm).

### 2.3.7 Análise elementar- CHN

As amostras dos filmes de quitosana e SPI foram secas em estufa de circulação por 24h, em seguida foram trituradas e acondicionadas em **eppendorf**, para o transporte até o Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo, localizado.

Análise elementar é uma técnica para determinação das porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio em uma amostra, seu funcionamento é baseado no método de Pregl-Dumas, em que as amostras são sujeitas à combustão em uma atmosfera de oxigênio puro, e os gases resultantes dessa combustão, usando **analisador elementar - Perkin Elmer 2400 series ii**.

### 2.3.8 Análise Estatística

O programa Statistica 7 foi utilizado para calcular as análises de variância (ANOVA), aplicado teste de Tukey para determinar diferenças entre as propriedades dos materiais no intervalo de 95% de confiança.

## 2.4 ENSAIO DE BIODEGRADAÇÃO

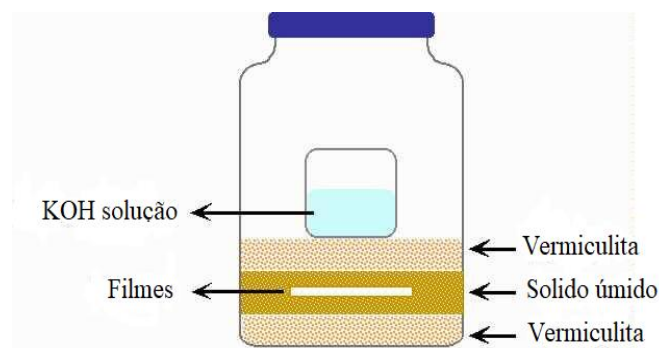
Para esta análise foi utilizada uma metodologia de Bartha e Pramer (1965), que desenvolveram uma metodologia para a captação e quantificação do CO<sub>2</sub> proveniente da respiração aeróbica. O método Respirométrico de Bartha, padronizado pela norma brasileira NBR 14283 (ABNT, 1999), este método tem sido utilizado para avaliar o tempo de degradação de compostos orgânicos bem como sua estabilidade quando no solo, a partir de medidas da liberação do CO<sub>2</sub> gerados pela atividade dos microrganismos (CAMARGO et al. ; 2009)

Os ensaios de degradação foram realizados em três etapas. Sendo que a primeira etapa consistiu na coleta do solo agrícola na fazenda experimental da UFGD (Universidade Federal da Grande Dourados), após o solo foi peneirado usando uma malha de 2 mm para retirar as impurezas, logo em seguida o solo foi colocado em uma estufa de circulação a 50°C por 48h para o cálculo da umidade. Depois disso, o solo foi misturado

com vermiculita nas proporções de solo 2: 1: vermiculita (VMS), e a umidade ajustada para 60%.

Na segunda etapa, os respirômetros (Figura 02) com os filmes de quitosana e SPI foram preparados para a biodegradação em solo agrícola em triplicatas, totalizando 24 frascos levando em consideração os branco (não possuíam filmes apenas o solo agrícola e vermiculita), duas referência e seis amostras. os respirômetros de 2000 mL foram preenchidos com três camadas de materiais. O primeiro foi de 100 g de vermiculita (VER), o seguinte foi de 350 g de (VMS), onde foi colocado um pedaço de amostra de filme ( em média 250 mg) no meio e, finalmente, 100 g de VER. As camadas no controle consistiram apenas em VER / VMS / VER na mesma quantidade do teste de amostra.. Uma vez preparadas as três camadas, um recipiente de plástico de 50ml contendo 30 mL de KOH (cerca de 0,06 N) foi posicionado na camada superficial da vermiculita, para interceptar o CO<sub>2</sub> evoluído da biodegradação e o respirômetro foi fechado hermeticamente. A biodegradação se seguiu em uma B.O.D – Modelo SP-500 em temperatura de 35°C por 30 dias.

Figura 02- Respirômetros utilizados para o experimento de degradação



Fonte: (MARTELLI, 2008).

O último passo corresponde à avaliação da quantidade de CO<sub>2</sub> evoluiu da biodegradação. Assim, em intervalos periódicos de tempo, o biômetro foi aberto e o béquer com KOH foi removido. Uma alíquota de 10 mL foi retirada e titulada novamente com HCl 0,1 N. Subseqüentemente, a solução de KOH no béquer foi substituída por uma nova dentro dos respirômetros.

Para o cálculo da geração de gás carbônico em cada respirômetros, foi utilizado a seguinte formula:

$$\mu\text{mol CO}_{2\text{solo}(\text{resíduo})} = (A - B) \times 50 \times f_{\text{HCl}}$$

Equação 03

Em que:

A= é o volume de HCl 0,1 N gasto para titular o branco (mL);

B= é o volume de HCl 0,1 N gasto para titular o tratamento (mL);

50= é um fator para transformar equivalente em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{CO}_2$ ;

$f_{\text{HCl}}$ = é o fator do HCl 0,1N.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 TRATAMENTO DOS RESÍDUOS DO MILHO

##### 3.1.1 Mercerização e Branqueamento

O processo de mercerização é aplicado em fibras naturais, com o objetivo de obter um produto final branco (Figura 03). Este processo permite a remoção de diversas impurezas presentes nas fibras, as quais são responsáveis pela sua cor, como a lignina e hemicelulose que são os principais componentes da biomassa. Palha de milho apresentam de 57 a 58% de hemicelulose e 14% lignina e 41% de celulose de acordo com Salazar e Silva (2005), enquanto outras como fibras de curauá apresentam cerca de 10% de hemicelulose e 8% de lignina segundo Leão e Caraschi,(1998). Por esse motivo a palha de milho precisam passar pelos 2 processos de branqueamento para que esses elementos indesejados sejam eliminados.

Figura 03- Comparação entre matéria prima (A), fibra mercerizada (B) e fibra branqueada (C).



Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados foram expressos em valores  $L^*$  (luminosidade ou brilho), que variam do preto (0) ao branco (100) CIE (1983). A avaliação de luminosidade para a palha de milho *in natura*, mercerizada e branqueada, apresentaram valores de 76,42, 54,39 e 77,53 respectivamente. Neste contexto, é possível observar que a luminosidade da

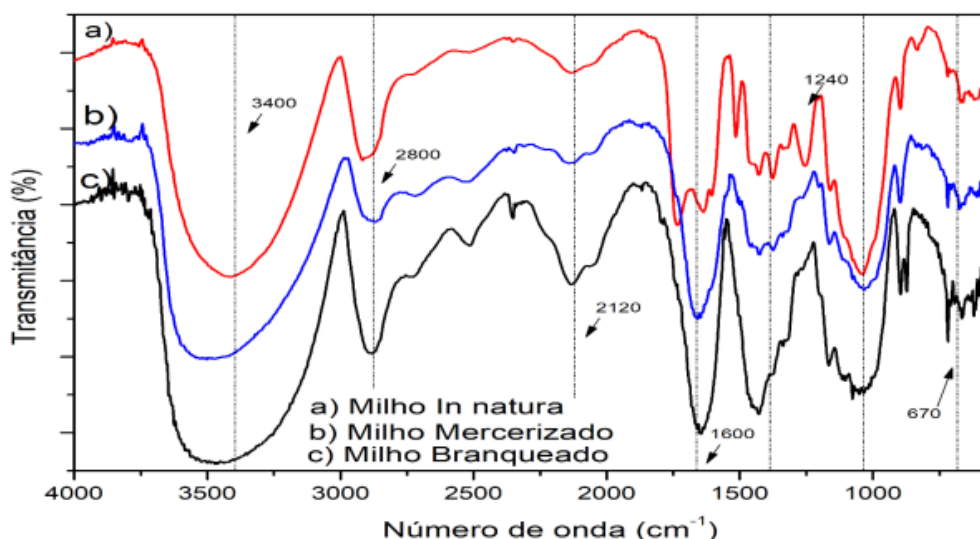
amostra mercerizada é inferior à amostra *in natura*, constatando-se que o processo de mercerização altera a coloração da amostra, este fato pode ocorrer pela hidroxialquilização que converte compostos lipofílicos em solúveis em água. Em relação ao branqueamento, esta amostra apresentou maior índice de luminosidade em relação as outras, assim, observa-se que o processo aplicado obteve resultado esperado, pois, atuou no clareamento da palha do milho e possível remoção de impurezas.

As fibras branqueadas apresentaram uma remoção parcial da lignina e até mesmo, uma determinada degradação da celulose durante os processos de branqueamento.

### 3.1.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Nos espectros de FTIR representados no Figura 04. foi possível verificar bandas em torno de  $3400\text{cm}^{-1}$ , picos referentes a trechos simétricos e assimétricas das ligações C-H de cadeias alifáticas. As bandas da região  $1600$  e  $670\text{cm}^{-1}$ , são faixas compreendidas pelos grupos funcionais característicos da celulose, hemicelulose e lignina e suas unidades de repetição, enquanto a banda em  $1240\text{cm}^{-1}$ , pode ser atribuída à C-O, ligados a grupos aromáticos, apresentaram diminuição na intensidade destes sinais, e, portanto, correlaciona-se a redução destes compostos, que foram eliminados no tratamento químico (PAIVA, 2010)

Figura 04- Mostra os trechos simétricos e assimétricas das ligações C-H de cadeias alifáticas em a) Palha de milho *in natura* b) Palha de milho Mercerizada c) Palha de milho branqueada.



Fonte: Dados da pesquisa.

Os espectros obtidos, na região do infravermelho, das fibras sujeitas a diferentes condições de tratamentos, possibilitaram monitorar a eficácia dos tratamentos através do aumento e/ou redução de intensidade de picos relacionados a grupos funcionais característicos

### 3.1.3 Processo de Extração de Nanocristais

Observando a Tabela 3, pode-se verificar que os parâmetros que obtiveram os melhores resultados foram 1 e 3, isso acontece porque a hidrólise afeta o grau de cristalinidade dos nanocristais. Para as amostras que sofreram a hidrólise ácida, o tempo de extração influencia o grau de cristalinidade, amostras submetidas a menores tempos e temperaturas durante a extração apresentaram maior cristalinidade Rosa et al. (2007). Isto provavelmente ocorreu devido à destruição parcial da parte cristalina, uma vez que a fibra vegetal tende a sofrer desnaturação em altas temperatura ficando com uma aparência verde escura.

Tabela 3- Rendimento dos nanocristais obtidos da palha do milho, em diferentes temperaturas.

Paramentos	Tempo ( Min.)	Temperatura (°C)	Rendimento (%)
1	60 Min.	26 °C	2,0
2	30 min.	30 °C	--
3	90 min.	30 °C	2,0
4	18 min.	40 °C	1,2
5	60min.	40 °C	1,8
6	102 min.	40 °C	--
7	30 min.	50 °C	0,9
8	90 min.	50 °C	0,9
9	60 min.	54 °C	1,3

Fonte: Dados da pesquisa

Segundo Dufresne (2017) tempos acima de 60 minutos para extração dos nanocristais indicam a presença da lignina residual na segunda etapa de branqueamento, ela dificulta a hidrólise ácida, sendo necessário mais tempo para que ocorra a separação da parte cristalina da amorfa. Uma vez que a hidrólise ocorre principalmente nas regiões amorfas e o grau de cristalinidade das fibras celulósicas varia com a origem da fibra precursora, este último fator é importante na definição da dimensão dos NCCs.

De acordo com a tabela 3, o parâmetro que obteve a melhor resultado foi o de número 1 pois à extração ocorre em menos tempo, já os tratamentos 2 e 6 não apresentaram os nanocristais, o motivo é que processo está relacionado ao tempo, em um curto período de tempo a hidrólise não ocorre não havendo separação das partes amorfas

e cristalinas da celulose, em tempos muito longo s fibra tende a se desnaturar adquirindo um aspecto verde escuro, assim toda a fibra acaba se perdendo.

### 3.2 ANÁLISE DE RESPIROMETRIA

Os respirômetros ficaram incubados no período de 40 dias em uma estufa BOD em uma temperatura constante de 25 °C. A Tabela 04 fornece os valores de CO<sub>2</sub> desprendidos dos respirômetros do ensaio e do controle. Para se determinar a quantidade de gás carbônico produzida devido a biodegradação, subtraiu-se o CO<sub>2</sub> gerado no respirômetro controle daquele observado na média do tratamento, obtendo-se os dados de produção acumulada ao longo dos 40 dias.

Tabela 04- Quantidade de CO<sub>2</sub> liberada nos respirômetros.

	<b>Quit. pura (µmol)</b>	<b>Quit. 1% CNC (µmol)</b>	<b>Quit. 2,5% CNC (µmol)</b>	<b>Controle (µmol)</b>	<b>SPI puro (µmol)</b>	<b>SPI 1 % CNC (µmol)</b>	<b>SPI 2,5% CNC (µmol)</b>
26/Mar/18	114,02	115,2	112,46	104,39	127,2	127,72	127,2
30/Mar/18	97,85	97,69	93,73	85,85	126,17	127,72	126,69
03/Abri/18	102,33	99,75	101,3	92,7	126,17	124,63	126,02
07/Abri/18	38,31	36,05	39,5	37,44	75,55	43,77	39,5
11/Abri/18	56,13	58,4	53,25	46,04	63,55	60,1	64,37
15/Abri/18	48,77	51,5	49,55	46,35	53,25	51,5	52,22
19/Abri/18	48,92	52,73	47,89	38,62	56,13	48,1	56,65
23/Abri/18	33,47	36,77	35,22	30,5	36,05	36,92	35,22
29/Abri/18	44,8	43,77	43,77	42,95	45,16	43,77	37,8
03/Mai/18	45,83	46,35	45,32	42,95	41,2	46,35	43,77

Fonte: Dados da pesquisa.

Analisando os percentuais de atividade metabólica, pela liberação de dióxido de carbono, nos filmes com ou sem a incorporação dos nanocompósitos, notou-se que no decorrer do monitoramento independente da concentração de CNC incorporados aos filmes, a liberação do CO<sub>2</sub> obteve poucas variações entre os filmes de quitosana e os de SPI, estes polímeros são degradados por fungos, que podem secretar enzimas, que catalisam reações de oxidação de polissacarídeos. Já as bactérias podem liberar enzimas para degradar este tipo de macromolécula. Além disso fungos e bactérias pode agir cooperativamente (CHANDRA, 1998).

De acordo com Campagner et al. (2014), os polímeros de amido e SPI apresentam comportamento biodegradável, onde a degradação dos materiais poliméricos ocorre através da ação de organismos vivos, como bactérias e fungos. Já Jayasekara et al. (2005), diz que principal alteração que um polímero degradável sofre é a diminuição na massa

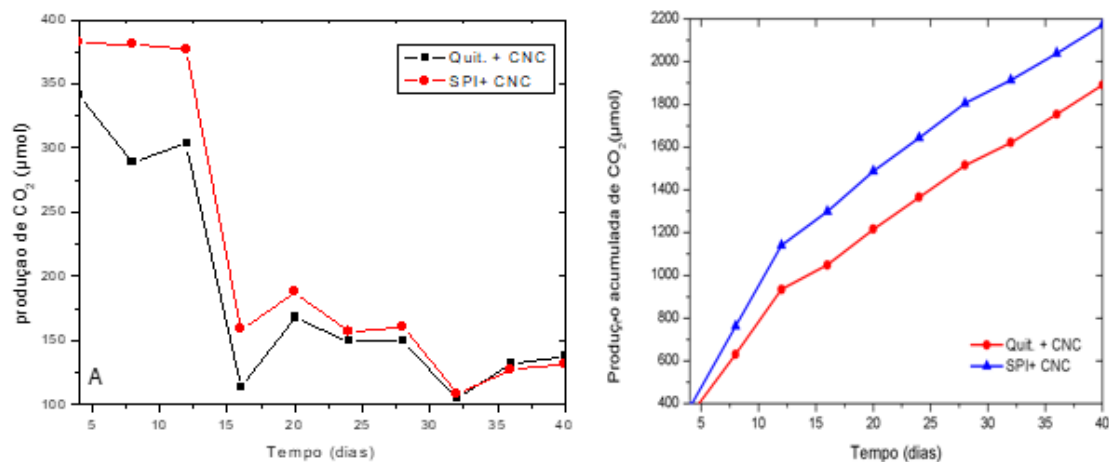


molecular em função da degradação dos nanocompósitos originando moléculas menores. Em outro trabalho Condés et al., (2015), constataram que a perda de massa foi semelhante para todos os filmes de amido de milho, adicionados ou não de nanocristais, atingindo valores entre 80 e 90% de biodegradação total após três semanas de exposição, muito parecido com o resultado obtido com os filmes de SPI neste trabalho.

Observou-se que nas primeiras semanas o processo de liberação de CO<sub>2</sub> é menor nos filmes de quitosana em relação dos SPI Figura 5A, uma vez que a espirometria serve para quantificar a atividades de microbianas no solo através da liberação de dióxido de carbono. O fato da liberação de CO<sub>2</sub> ser menor nos filmes de quitosana pode ser explicado, por ser um polímero versátil, e possuir atividade antimicrobiana e não-toxicidade. Essas propriedades antibacterianas inerentes e a capacidade de formação de película de quitosana fazem dela uma escolha ideal para o uso como um material antimicrobiano biodegradável de embalagem que pode ser usado para melhorar a capacidade de armazenamento de alimentos perecíveis (DUTTA et al., 2009).

Tem sido provado de forma convincente que filmes de quitosana apresentam boa atividade antimicrobiana, que pode ajudar a prolongar o prazo de validade dos alimentos. Esta ação é devida a capacidade de ligar-se às moléculas de água, inativar enzimas microbianas e absorver os nutrientes usados pelos micro-organismos, mas não há interferência na degradação dos filmes na natureza (DEVLIEGHERE, VERMEULEN E DEBEVERE, 2004; VILLADIEGO et al., 2005).

Figura 05. (A) Liberação de CO<sub>2</sub> nos filmes de quitosana e SPI.(B)Produção de CO<sub>2</sub> acumulada durante o período de 40 dias.



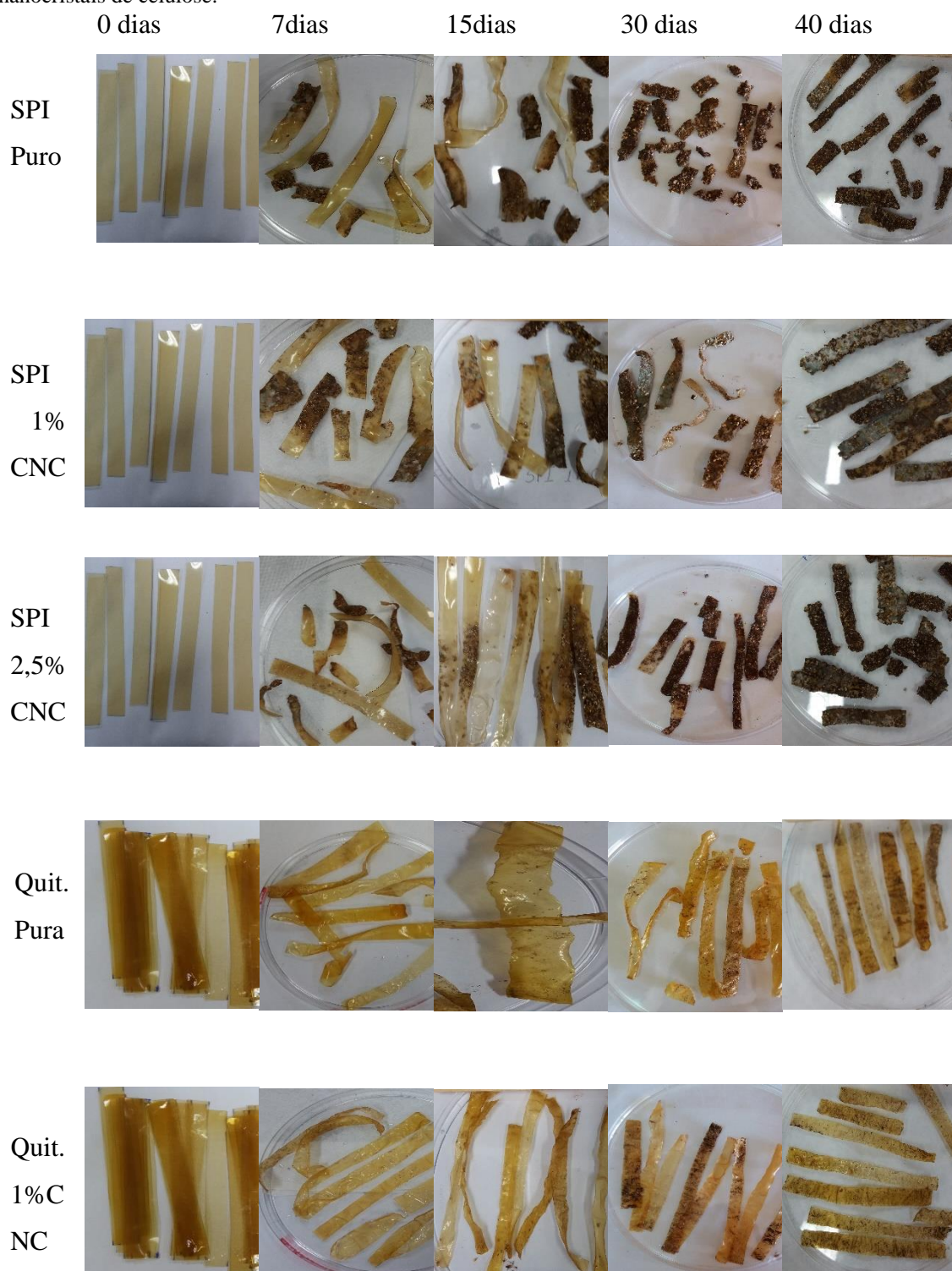
Fonte: Dados da pesquisa.

Na figura 05B é apresentada a produção média acumulada efetivo de CO<sub>2</sub> nos respirômetro que receberam quitosana e SPI ambos reforçados com nanocristais, para tanto, foi descontada a produção nos respirômetro no controle. É observado que o pico de liberação do gás fica no intervalo de 15 dias, sendo liberado aproximadamente 0,29g de CO<sub>2</sub> para os filmes de quitosana e 0,23g para os filmes de SPI, durante todo o experimento.

### 3.3 BIODEGRADABILIDADE DO BIOFILME

Em solo com umidade de 33,33%, pH de 5,98 e armazenados em temperatura de 25°C± 2°C, sendo verificados que todos os tratamentos, nos intervalos de 4 dias, apresentaram indícios de biodegradação visível após 3 semanas. Os tratamentos de quitosana (Puro; 1% CNC; 2,5% CNC) apresentaram tempos de degradação total superior 40 dias já os filmes de SPI (Puro; 1% CNC; 2,5% CNC) apresentaram nos tempos de 7 à 30 dias, maior pontos de degradação (Figura 06). Este aspecto pode estar relacionado à maior concentração de celulose bacteriana nestes tratamentos, pois se trata de um polímero formado por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas formando cadeias lineares não-ramificadas longas (Raven et al., 2001), com elevada capacidade de retenção e absorção de água (Czaja et al., 2006), favorecendo a biodegradabilidade pelos micro-organismos do solo.

Figura 06- Evolução da biodegradabilidade de biofilmes de quitosana e SPI com diferentes concentrações nanocristais de celulose.





Fonte: Dados da pesquisa

Autores como Pellicano, Pachekoski e Agnelli (2009) obteve PHBV/Ecoflex<sup>®</sup> (70/30) escuros, frágeis, com manchas escuras na superfície, como indicação de degradação, para filmes produzidos com 30% de amido apresentaram degradação total a partir do 60º dia, a presença do amido aumenta a velocidade de biodegradação do composto.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOCOMPÓSITOS

#### 3.4.1 Difração de Raios-X

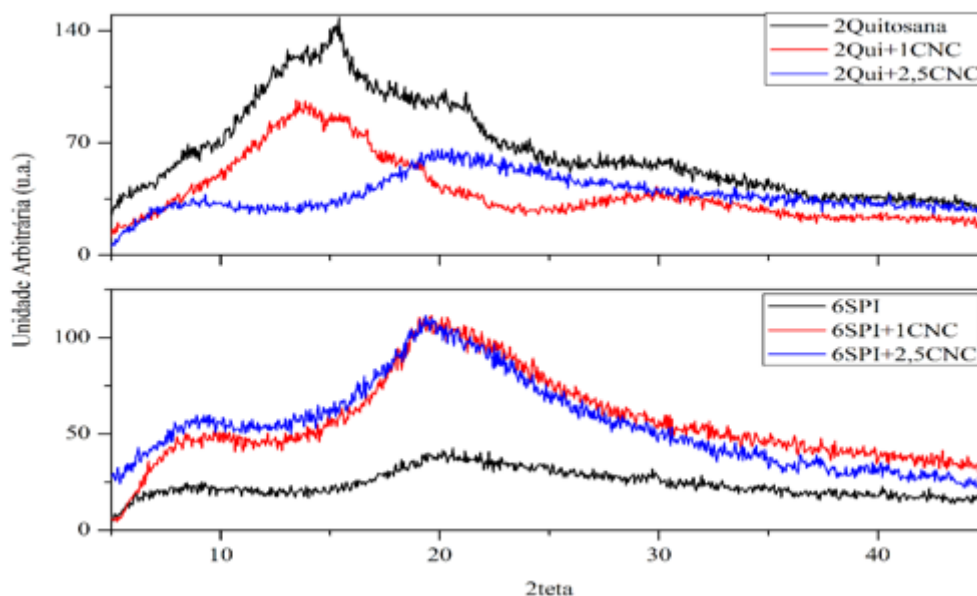
A quitosana no estado sólido, é classificada em muitos trabalhos científicos, como misturas de cadeias cristalinas e amorfas assim como a proteína de soja, que provavelmente encontram-se interligadas Holanda (2011). Na quitosana o grupo das hidroxilas, carbonilas e amino terminais da estrutura favorecem a formação de fortes interações intra e intermolecular, uma vez que as pontes de hidrogênio que atuam como ligações secundárias influenciando a mudança nas ligações das moléculas do filmes de quitosana originando assim regiões amorfas OLIVEIRA et al., 2012).

Já nos filmes de SPI, as proteínas interagem não mais intra, mas intermolecularmente, através da formação de ligações de hidrogênio, pontes dissulfeto e ligações hidrofóbicas formando uma rede. Esta rede, pouco hidratada, cujas propriedades são, sobretudo, função do tipo, das atribuições e da intensidade das ligações estabelecidas (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993)

Os picos agudos e bem definidos no difratograma referentes aos planos cristalográficos e caracterizam tanto os filmes de quitosana como os de proteína de soja bem cristalizados. Os ângulos de difração referentes a esses biofilmes Figura 06, aproximam-se dos valores apresentados por Santos (1989) e 8,3° 11,28° ; 18,1° e 22,44, de onde pode-se concluir que a que os filmes utilizados nesse trabalho tem alta cristalinidade. (SANTOS 1989).

Em seu trabalho Barros e Branciforti (2018) dizem que a permeabilidade de gases como oxigênio e o vapor de água, tendem a diminuir com o aumento do grau de cristalinidade do filme uma vez que, cristalinidade e permeabilidade tem relação entre si, através da observação do aumento do caminho difusional, devido à maior tortuosidade das regiões cristalinas e, consequente isso acarreta na diminuição da permeabilidade.

Figura 07- Difratoograma dos biofilmes de quitosana e SPI com diferentes concentrações de nanocristais



Fonte: Dados da pesquisa.

Como observado na Figura 13 a pico em 20°, aproximadamente, presente nos 2 filmes de quitosana e no SPI indicam uma região de cristalinidade. O difratograma mostra que ao elevar a quantidade de nanocristais de celulose nos biofilmes, aumenta também a quantidade de regiões cristalinas e diminui o espaçamento basal das amostras. Na SPI pura o espaçamento era de 1,17 nm já nas amostras de quitosana 2,5% de CNC esse espaçamento cai para 0,25 nm. Nas amostras de quitosana esse efeito e inverso uma vez que o espaço basal aumento conforme a adição de nanocristais aumentam, na amostra de SPI puro os espaçamento é de 0,47 nm subindo para 2,34nm em filmes com 2,5% de CNC. Este fato ocorre devido a configuração das ligações dos nanocristais chamadas de “paralelismo” quando todas as cadeias de CNCs são dispostas de tal forma que o link de 1 a 4 aponta na mesma direção caracterizando uma estrutura cristalina mostrando assim uma intercalação perfeita entre os matérias (TEIXEIRA et al., 2010; MOON et al., 2011).

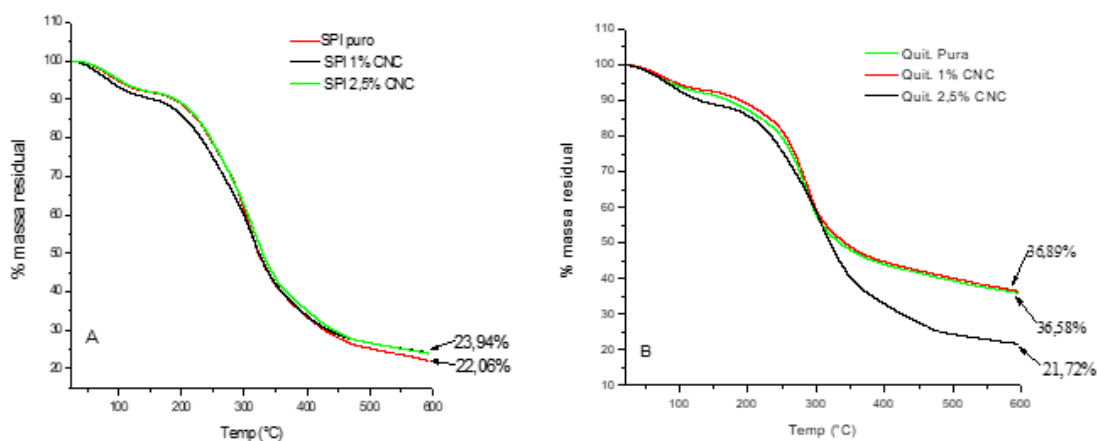
Com base na análise da Figura 13, podemos constatar também, que na amostra de quitosana com a adição de nanocristais houve uma diminuição na cristalinidade, já nas

amostras de filmes de SPI houve um aumento da cristalinidade, o que indica que a quitosana possui mais áreas cristalinas e os filmes de proteína de soja mais áreas amorfas. (SAKATA et al., 2006).

### 3.4.2 Termogravimetria (TG)

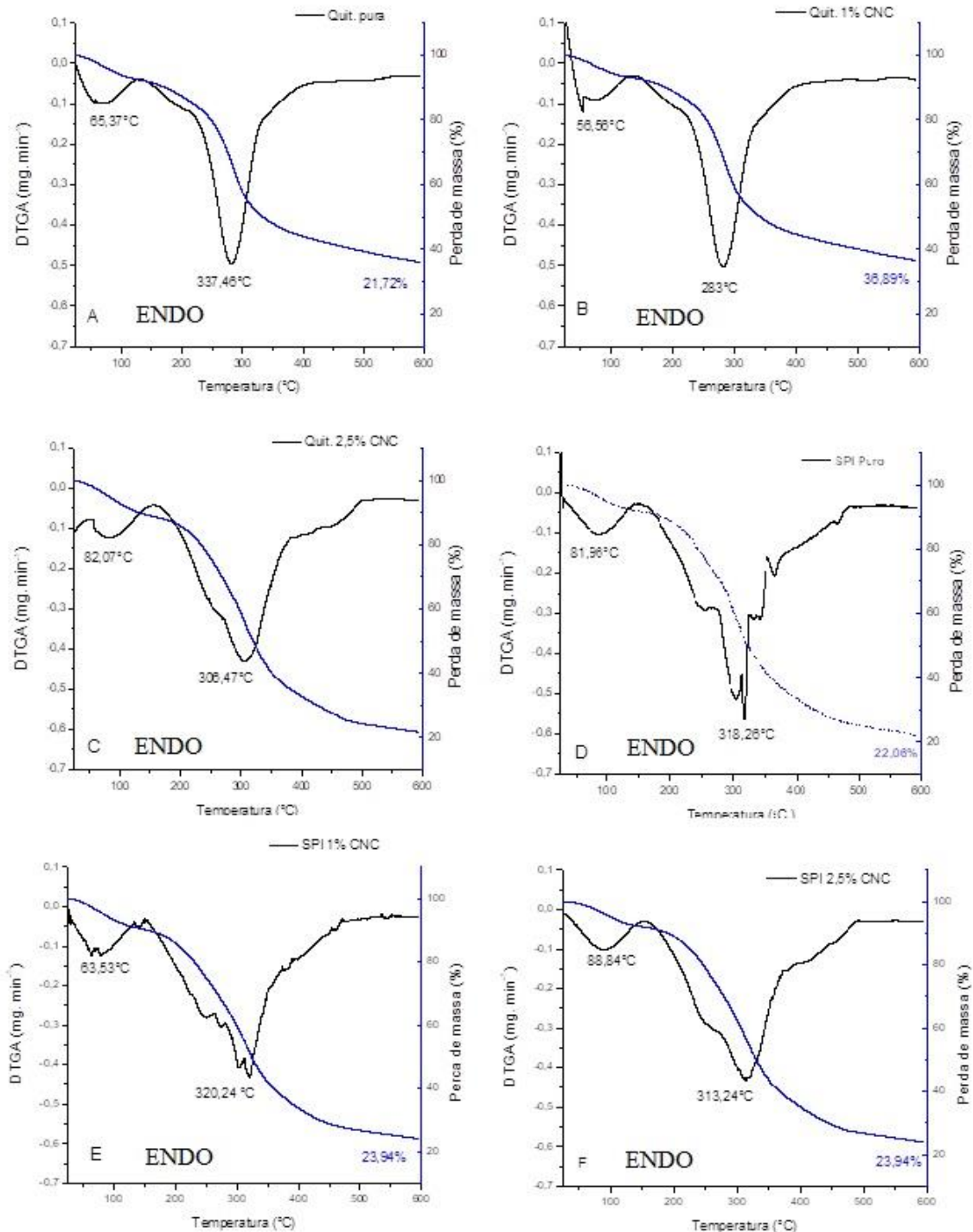
Técnica foi utilizada para avaliar a estabilidade térmica dos filmes de quitosana e proteína de soja isolada representados na figura 08, considerando a possível utilização dos mesmo como coberturas, envoltório ou como embalagens de alimentos, e que os mesmos podem ser submetidos a processos térmicos durante a preparação, processamento ou mesmo no consumo. (BARRETO,2003)

Figura 08- Curvas termogravimétricas dos filmes de SPI (A) quitosana (B) na taxa de aquecimento de 10o C/min e fluxo de nitrogênio constante de 50 mL/min. perda de massa (% residual).



Os gráficos da Figura 08, mostram que os filmes de quitosana e de proteína de soja, respectivamente, apresentaram apenas dois estágios de degradação, sendo que o primeiro estágio de perda de massa corresponde a perda de água e de compostos de baixa massa molecular na temperatura que varia de 65°C à 88°C, que encontram-se ligada aos “sítios ligantes” da molécula de quitosana bem como com as moléculas formadoras dos filmes de SPI, devido a hidrofiliçidade causada por estas ligações de hidrogênios, formados por agrupamentos de hidroxila de unidade de glicose, bem como a decomposição (térmica e oxidativa), vaporização e eliminação de compostos voláteis (ZACCARON, 2005; FAMÁ; GOYANES; GERSCHENSON, 2007).

Figura 09- Curvas termogravimétricas derivadas (DTGA's) dos filmes de quitosana (A) Pura; (B) 1% CNC; (C) 2,5% CNC e SPI (D) Puro; (E) 1% CNC; (F) 2,5% CNC.



Fontes: Dados da pesquisa.

Os resultados obtido para os filmes nas análises de termogravimetria são muito similares aos encontrado por outros autores, tais como Martins et al. (2012) e Guerrero et al. (2011), que obtiveram temperaturas entre 60 a 88°C no primeiro estágio (perda de água) e o segundo estágio com o início a 240°C e alcançando um máximo a 380° C.

Os filmes contendo ou não CNCs apresentaram dois estágios de perda de massa, sendo que o primeiro estágio à referente a perda de água, que ocorreu entre as temperaturas de 60 a 88°C. A degradação destes filmes está de acordo com os estudos feitos por (KHUTORYANSKIY et al., 2004).

O segundo estágio de degradação foi observado nas temperaturas de pico de 318,26 °C (SPI Puro), 320,24°C (SPI 1,5% CNC), 313,24°C (SPI 2,5% CNC), 337,46°C (Quit. Pura), 283°C (Quit. 1% CNC), 306,47°C (Quit.2,5% CNC), que estão associados com a degradação do grupo carbonila e formação de CO<sub>2</sub>. Dados da literatura indicam que a temperatura de degradação da cadeia principal se encontra entre 292 a 350°C (SCHMIDT, GIACOMELLI e SOLDI, 2005).

De forma geral, é possível concluir que os de filmes SPI reforçados com os nanocristais de celulose tiveram um aumento significativo no primeiro estágio da temperatura de degradação como mostra a Figura 09, devido as funções na estabilidade térmica de nanocompósitos que são duas : um efeito de barreira, o que deve melhorar a estabilidade térmica, ou um efeito catalítico sobre a degradação da matriz de polímero, reduzindo assim sua resistência Lima Júnior, et al (2016), mas não houve um aumento significando na segunda etapa de degradação. Nos filmes de quitosana adição de nanocristais diminuiu as propriedades térmicas, este resultado pode estar ligado a diminuição de cristalinidade. Com a adição dos nanocristais de celulose houve um aumento na perca de massa tanto nos filmes de quitosana como nos filmes de proteína de soja como mostra Tabela 05. Nos resultados obtidos não teve uma diferença significativa nos valores TG dos filmes em questão.

Tabela 5- Estágios de perda de massa, com suas respectivas temperaturas de degradação térmica e, consequentemente, a massa residual dos filmes de quitosana e proteína de soja isolada.

Etapas De Decomposição									
Amostras	1 Puro			2 1% CNC			3 2,5 % CNC		
	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)
Proteína Soja(A)	de 45,24	593,81	<b>22,06</b>	31,24	593,94	<b>23,94</b>	26,70	593,95	<b>23,94</b>
Quitosana(B)	24,53	595,17	<b>21,72</b>	24,60	595,17	<b>36,89</b>	24,53	595,17	<b>21,72</b>

Ti = temperatura inicial Tf = temperatura inicial

Fonte: Dados da pesquisa.



### 3.4.3 Espectroscopia na Região do UV-vis

A transmitância verifica o quanto de luminosidade passa pela superfície do filme. Já a análise de absorvância quantifica o quanto esse filme absorve de um comprimento de onda específico. A utilização de um comprimento de onda no ultravioleta é importante, pois se o filme barra a passagem de luz UV ele será eficaz na proteção de alimentos expostos a esse tipo de radiação para que os mesmos não sofram com a fotodegradação,

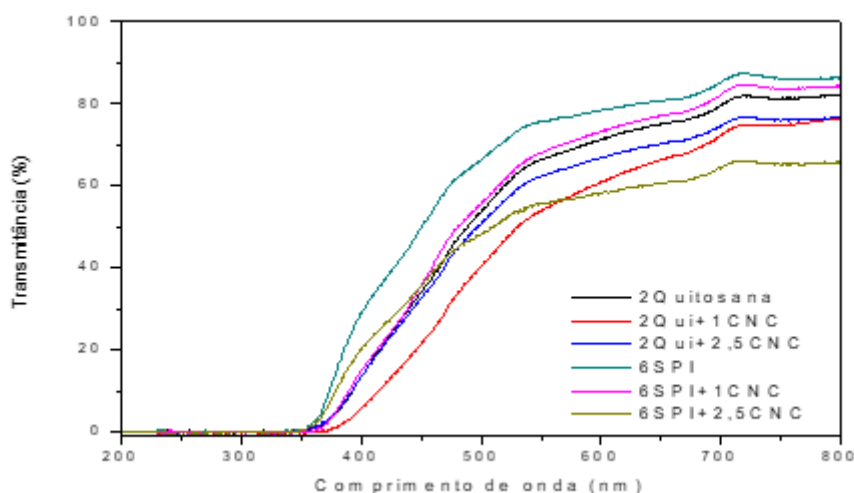
Os espectros de absorção na região do UV-vis das amostras mostram absorções na faixa de 200 a 360 nm resultado semelhante com o obtido por Vargas (2016). As transições eletrônicas nos grupos funcionais presentes, que podem ser responsáveis pelas absorções observadas, são: R<sub>2</sub>CO (280nm), R-CHO(290 nm), RCOOH (205 nm) tendo a transição  $n \rightarrow \pi^*$  e o grupo funcional C=C (217 a 245 nm) com a transição  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Os grupos funcionais oxigenados são os principais responsáveis pelas absorções em todas as amostras (SOUZA, 2017).

Com a adição dos nanocristais de celulose nota-se que aumenta a banda de absorção de luz uv-vis, como é observado nos filmes de quitosana 2,5% CNC (347 nm) e de SPI 2,5% CMC. As propriedades ópticas dependem fortemente do tamanho da partícula, da morfologia (forma) ou da natureza do agente passivador (DANIEL; ASTRUC, 2004).

A transmitância das amostras foi investigada em uma série de comprimentos de onda de excitação (Figuras 10). As amostras sintetizadas apresentam curvas de fluorescência que indicam uma maior homogeneidade no tamanho das nanopartículas preparadas. A aparência de um único pico de emissão indica a presença de população de nanopartículas com distribuição de tamanho mais homogêneo para as amostras. A relação entre o comprimento da onda de excitação e a intensidade de emissão forma o deslocamento de Stokes, pode ser associado ao efeito de defeitos de superfície, ou ao efeito do tamanho das nanopartículas (PENG, 2012; SAHU 2012; EVANGELISTA et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2017).

Como mostram a Figura 10, não houve grande diferença na transmitância entre os filmes com ou sem a adição de nanocristais, os picos de refração ficam entre 360 a 490 nm, indicando a presença de carotenoides, que absorvem a luz visível na faixa dos tons de azul e, portanto, sendo responsável pelas cores visualizadas laranjas e amarelo Solomons (2005). Os carotenoides se tornam potenciais antioxidantes, retardando o seu envelhecimento do produto e no corpo humano estimula a produção de melanina (MACHADO, 2005; JONES,2006; SARON,2006).

Figura 10- Espectros de fluorescência obtidos com progressivos comprimentos de onda de excitação, entre 350 a 780 nm. da amostra quitosana e SPI.



Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.4.4 Ensaio mecânico de resistência à tração

#### 3.4.4.1 Filmes de SPI

Os resultados das propriedades mecânicas tensão máxima, tensão na ruptura, deformação específica e módulo de elasticidade do filme de SPI (controle) e das modificações com CNC. O valor médio, o desvio-padrão e a comparação múltipla entre as médias das propriedades mecânicas estão apresentados na Tabela 6.

Os resultados da adição do CNC no filme de SPI mostraram que as tensões máximas e na ruptura foram elevadas com diferenças significativas somente para o ensaio SPI 1% CNC. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, a adição de 1% do CNC elevou a tensão máxima e na ruptura do SPI, respectivamente, em 25% e 19%.

Os valores da deformação específica dos filmes de SPI foram reduzidos com a adição de 1% do CNC (aproximadamente 36%). De acordo com a análise estatística não foi observado diferença significativa com a adição de 2% de CNC na matriz do SPI controle.

Na análise dos resultados obtidos, a adição do CNC contribuiu significativamente para aumentar a rigidez (módulo de elasticidade) na matriz dos filmes de SPI somente na formulação contendo SPI 1% CNC (elevação de aproximadamente 29%).

Tabela 6- Propriedades mecânicas dos filmes de SPI com CNC.

Amostras	Tensão máxima (MPa)	Tensão ruptura (MPa)	na Deformação específica (%)	Módulo de elasticidade (MPa)
SPI puro	15,17±0,29 <sup>a</sup>	14,50±0,71 <sup>a</sup>	52,13±7,76 <sup>a</sup>	548±22 <sup>a</sup>
SPI 1% CNC	18,90±0,42 <sup>b</sup>	17,25±0,50 <sup>b</sup>	33,14±5,37 <sup>b</sup>	709±28 <sup>b</sup>
SPI 2,5% CNC	11,00±0,35 <sup>c</sup>	9,20±0,45 <sup>c</sup>	48,61±8,51 <sup>a,b</sup>	396±20 <sup>c</sup>

<sup>†</sup> Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa (p < 0,05).

Fontes: Dados da pesquisa.

### 3.4.4.2 Filmes de Quitosana

Os resultados da adição do CNC no filme de quitosana mostraram que as tensões máxima e na ruptura foram elevadas com diferenças significativas. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, a adição de 2,5% do CNC elevou a tensão máxima e na ruptura da quitosana, respectivamente, em 41% e 43%.

Os valores da deformação específica dos filmes de quitosana foram elevados com a adição de 1% do CNC, apresentando diferença significativa de aproximadamente 38% em relação a quitosana (controle).

Na análise dos resultados obtidos, a adição do CNC contribuiu significativamente para aumentar a rigidez (módulo de elasticidade) na matriz dos filmes de quitosana somente para as formulações contendo Quitosana 2,5% CNC (elevação de aproximadamente 11%). Se comparar com os filmes de quitosana com os de SPI pode se observar que os filmes de quitosana apresentaram, um módulo de elasticidade maior isso pode estar ligado ao fato que a adição de nanocristais diminuiu a cristalinidade dos mesmos.

Tabela 7. Propriedades mecânicas dos filmes de quitosana com CNC.

Quitosana_Controle	Tensão máxima (MPa)	Tensão ruptura (MPa)	na Deformação específica (%)	Módulo de elasticidade (MPa)
Quitosana_Controle	28,67±2,31 <sup>a</sup>	27,00±2,65 <sup>a</sup>	4,45±0,78 <sup>a</sup>	1409±37 <sup>a</sup>
Quitosana 1% CNC	33,80±2,17 <sup>b</sup>	31,80±2,49 <sup>a</sup>	8,80±0,64 <sup>b</sup>	1459±13 <sup>a</sup>
Quitosana 2,5% CNC	40,45±2,76 <sup>c</sup>	38,50±3,54 <sup>b</sup>	6,12±1,38 <sup>a</sup>	1559±10 <sup>b</sup>

<sup>†</sup> Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa (p < 0,05).

Fontes: Dados da pesquisa.

### 3.4.5 Permeabilidade a vapor de água

Quanto mais elevada for a atividade da água ( $a_w$ ), mais rápido os microrganismos (como bactérias, leveduras e bolores) serão capazes de crescer logo a importância da  $a_w$  está na sua relação com a conservação dos alimentos.

A água pode segundo Labuza, Tannembaum e Karel (1970) pode ser encontrada de três formas nos alimentos: Água livre (disponível ou não ligada); Água adsorvida (hidratada); Água ligada quimicamente. Sendo que a água livre é liberada com mais facilidade. Atua como meio de dispersão e nutriente para o crescimento de microrganismos ou reações químico-enzimáticas, tendo que para haver um melhoramento da estabilidade dos alimentos, a água livre tem que ser reduzida através de processos como o congelamento, desidratação parcial ou adição de açúcar ou sal. O uso de embalagens que diminuam a permeabilidade do vapor de água e outro método que ajuda mesmo que um pouco a melhorar conservação do alimento (CUNHA, 2016)

Os resultados obtidos com os nanocompositos mostram uma diminuição considerável na permeabilidade do vapor de água (PVA), em relação ao filme puro. Pode-se observar que ocorreu uma maior redução da permeabilidade com o aumento da adição dos nanocristais, isto é, quanto mais nanocristais é adicionado à matriz polimérica (quitosana), mais difícil vai ser a passagem do vapor de água. Segundo Pillai et al (2008), os nanocristais proporcionam uma barreira física, assim criando um caminho difícil para a umidade que tenta permear a membrana, sem falar que a alta cristalinidade dos CNC e a forte interação entre os seus grupos hidroxilas entre as cadeias de celulose facilitam suas propriedades de barreira.

Os filmes de quitosana com 1% e 2,5% de CNC, apresentaram uma melhoria na redução do PVA cerca de 80% e 95% respectivamente como indica a Tabela 08. Isso mostra que os nanocristais estavam bem dispersos pela matriz polimérica da quitosana, resultado parecido com a de Garcia et al (2006) que utilizou CNC extraídos de microfibras de  $\alpha$ -celulose para reforço de filmes Carrageenan. Também constatou que o aumento da adição de CNC sobre uma matriz pode fazer com que os nanocristais se aglomerem prejudicando as propriedades de barreiras dos filmes, este problema ocorre com outros compostos poliméricos como descritos por Farias et al. (2012) onde a aglomeração de CNC causou um aumento da espessura aumentando a permeabilidade dos filmes.

Outra explicação para os resultados inconclusivos demonstrados pelos filmes de SPI é a concentração do plastificante, como relata Mali et al. em seu trabalho dizendo que o aumento da concentração do glicerol, usado como plastificante em filmes, tem

uma tendência ao aumento da permeabilidade de vapor de água com o aumento de sua concentração. Portanto, o efeito do glicerol na permeabilidade está associado à sua concentração na formulação, visto que afeta a solubilidade do permeante no biopolímero e a formação de espaços vazios na estrutura polimérica. Aumentando-se a solubilidade e a difusibilidade do permeante no polímero, aumenta a permeabilidade.

Tabela 08. Determinação da cor, espessuras e PVA.

Biofilmes	Diferença de cor ( $\Delta E^*$ )	Espessura	vapor d'água ( $\text{g} \cdot \mu\text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{kPa}^{-1}$ )
SPI puro	91,42± 0,04 <sup>a</sup>	0,19± 0,034 <sup>a</sup>	-
SPI 1% CNC	91,08± 0,12 <sup>a</sup>	0,26± 0,069 <sup>a</sup>	4,10.10 <sup>-4</sup> ± 0,356
SPI 2,5 % CNC	90,50 ± 1,23 <sup>b</sup>	0,30± 0,110 <sup>a</sup>	-
Quit. puro	93,24± 0,43 <sup>b</sup>	0,07± 0,007 <sup>b</sup>	20,53.10 <sup>-4</sup> ± 0,519 <sup>b</sup>
Quit. 1% CNC	90,78± 0,03 <sup>a</sup>	0,08± 0,014 <sup>a</sup>	0,99.10 <sup>-4</sup> ± 0,096 <sup>a</sup>
Quit. 2,5% CNC	90,50± 1,23 <sup>a</sup>	0,07±0,006 <sup>b</sup>	2,30.10 <sup>-4</sup> ± 0,204 <sup>a</sup>

<sup>†</sup> Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Fontes: Dados da pesquisa.

Segundo a Tabela 08, não foi possível calcular o PVA para os filmes de SPI puro e com 2,5% CNC, uma vez que as cápsulas perderam massa ao invés de ganhar, o que significa que água saiu da capsula ao invés de entrar.

### 3.4.6 Espessura

Os valores de espessura variaram entre 0,078 mm à 0,19 mm nas formulações controle, e com 1% de nanopartícula de mandioca até 0,26 mm , já nas formulações com 2,5% SNC a espessuras variam 0,78 mm(quitosana) à 0,30 mm(SPI), assim mostrando que adição de nanopartículas aumenta a espessura dos filmes, havendo dessa forma diferenças significativas entre as amostras ( $p < 0,5\%$ ) como mostra tabela 8. Quando se produzem filmes por casting, o controle da espessura depende largamente da viscosidade que é diretamente ligada a solubilidade, se considera ótima uma solubilização superior a 80%. A Solubilidade da proteína de soja e da quitosana estão diretamente relacionada com o pH sendo que é menor próxima a seu ponto isoelétrico e máxima próxima a pH 8 (RODRIGUES; GOZZO E MORETTI, 2013)

No entanto, filmes com espessuras uniformes são mais favoráveis a apresentar melhores resultados em testes mecânicos, porque a espessura uniforme serve como uma base para determinar várias propriedades dos filmes.

### 3.4.7 Análise de Cor

Os filmes obtidos com SPI e quitosana em todas as concentrações testadas apresentaram-se transparentes e brilhantes. Verificou-se efeito significativo das fontes de CNC sobre a diferença de cor dos filmes é não-significativo para concentração e interação entre concentração e tipo de amido .

O croma  $a^*$  indica a variação de cor do verde (- 60) ao vermelho (+ 60). Os biofilmes quitosana mostraram variação de -1,58 a 3,03 e os filmes de SPI entre 1,53 a 3,05, indicativo para o componente vermelho, com diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ). Os valores obtidos do croma  $b^*$  estão relacionados com variação das cores do azul (- 60) a amarelo (+ 60). Os resultados obtidos da quitosana para o croma  $b^*$  mostraram variação entre 29,45 a 43,01, já para SPI varia entre 26,65 a 43,25 , valores positivos para o componente amarelo. Os maiores valores do croma  $b^*$  foram observados nos biofilmes com maior concentração de nanocristais, influenciada pela sua coloração levemente amarelada.

Segundo Akin e Hasirci (1995) em seus trabalhos observaram a mudança da coloração de amarelo para laranja vivo nos primeiros minutos de reação entre o glutaraldeído e a solução de gelatina. Butler et al. (1996) observaram que os filmes à base de quitosana apresentam uma coloração amarelada, que é acentuada à medida que a espessura aumenta. Em outros estudos observaram que os compostos desenvolvidos com maior proporção de isolado protéico de soja apresentaram-se mais opacos, em virtude da presença de partículas insolúveis.

### 3.4.8 Análise Elementar

Os resultados de análise elementar de carbono e hidrogênio para Quitosana e spi estão listados na (Tabela 9). Com base nas porcentagens obtidas foram calculadas as quantidades de cada elemento por grama de composto e também os valores da razão entre as quantidades de carbono e nitrogênio (C/N).

Os filmes de Quitosana com a concentração de 1% e 2,5% de nanocristais, apresentaram queda nas porcentagens de nitrogênio, bem como também nos teores de carbono em relação da matriz, o que se reflete em um aumento da Razão molar C /N. O

aumento da razão molar entre o carbono e nitrogênio confirma a inclusão de novos fragmentos na cadeia polimérica, com consequente aumento do número de átomos de carbono, já que a Quitosana contém apenas um átomo de nitrogênio por unidade monomérica. Já com os filmes de SPI não houve alteração considerável na concentração de nitrogênio e carbono, dos filmes reforçados com nanocristais em relação a sua matriz.

Tabela 09- Percentuais de Carbono(C) e Nitrogênio (N), e seus respectivos de mmol e razão molar C/N dos biofilmes de quitosana e SPI.

Filmes	C%	N%	C mmol g <sup>-1</sup>	N mmol g <sup>-1</sup>	C/N
SPI Puro	46,05	11,55	38,37	8,25	4,65
SPI 1% CNC	45,08	11,29	37,56	8,06	4,66
SPI 2,5% CNC	46,97	11,76	39,14	8,40	4,65
Quit. Puro	41,38	6,17	34,48	4,40	7,83
Quit. 1% CNC	36,83	5,41	30,69	3,86	7,95
Quit. 2,5% CNC	39,83	5,80	33,19	4,14	8,01

Fonte: Dados da pesquisa.

Os filmes de quitosana com 1% de CNC apresentaram um comportamento diferentes dentre os outros filmes. Nesses filmes a razão molar entre carbono e nitrogênio é que mais se aproxima do valor apresentado pela matriz, sendo assim apresentando um baixo grau de modificação da superfície.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados no estudo confirmam que os nanocristais de celulose, quitosana e a Proteína de soja isolada se apresentam como materiais promissores para o desenvolvimento de compósitos biodegradáveis a serem aplicados na indústria de alimentos na forma de filmes e coberturas para a proteção dos alimentos . A obtenção dos nanocristais de celulose da palha de milha por hidrólise ácida não se mostrou vantajosa por apresentar baixo rendimento em comparação a outros substratos, mas a vantagem deste processo é que nanocristais que apresentam grande potencial para serem utilizados como reforço de matrizes poliméricas biodegradáveis, devido ao seu tamanho nanométrico e alto grau de cristalinidade.

A aplicação dessas nanopartículas nos filmes plastificados com glicerol resultou na obtenção de um material homogêneo com características mecânicas, de barreira e térmicas apropriadas e com o diferencial de serem biodegradáveis. Verificou-se que a

concentração de nanocelulose foi a responsável por alterar significativamente as propriedades mecânicas. As nanocargas foram responsáveis por aumentar o módulo de *Young* e a tração máxima, sendo estes resultados consistentes com a literatura.

Na análise de PVA os filmes de SPI não tiveram bom rendimento, uma vez que a adição de nanocristais fez com que a espessura dos filmes aumentasse facilitando assim permeabilidades do vapor sem falar da característica hidrofílica dos filmes proteicos. Já os filmes de quitosana apresentaram espessuras lineares e um bom rendimento nos teste e permeabilidades a vapor de água. Nos testes de biodegradação observou que tanto a quitosana como os filmes a base de proteína isolada de soja, tiveram máxima degradação nas 3 primeiras semanas do estudo e que a adição de nanocristais não interferiu não processo de degradação dos microrganismos presentes no solo.

O emprego de nanocristais para o reforço de polímeros naturais como quitosana e proteína de soja, é uma força eficiente de melhorar a propriedades físico-químicas destes materiais, uma vez que se faz necessária investimentos em novas tecnologia para diminuir o impacto ambiental gerado pelo uso de polímeros sintéticos, pois os polímeros biodegradáveis sofrem mais facilmente a ação de microrganismos, por conterem funções orgânicas em suas cadeias alifáticas: carbonilas, hidroxilas, ésteres, hidroxíácidos, mais suscetíveis à ação enzimática,

Portanto a adição de nanocristais à estruturas poliméricas biodegradáveis se torna estratégia para aumentar as propriedade físicas-químicas dos mesmo, que serão utilizados como embalagens para a indústria de alimento, mas se faz necessários mais estudos sobre essa aplicação, para a determinação do comportamento dessas possíveis embalagens em contato direto com os alimento, quais microrganismo degradarão está embalagem na natureza e quais compostos serão liberados por eles na natureza.



## REFERÊNCIAS

- Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 14283: **Resíduos em solos: determinação da biodegradação pelo método respirométrico**. Rio de Janeiro. 1999.
- AKIN, H; HASIRCI, N. Preparation and characterization of crosslinked gelatin microspheres. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 58, p. 95-100, 1995.
- BARDI, M.a.g.; ROSA, D.s.. AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO EM SOLO SIMULADO DE POLI ( $\epsilon$ -CAPROLACTONA), ACETATO DE CELULOSE E SUAS BLENDS. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, Itatiba, v. 26, n. 1, p.43-47, 20 mar. 2007. Disponível em: <[www.sbvacu.org.br/rbav/index.php/rbav/article/download/15/11](http://www.sbvacu.org.br/rbav/index.php/rbav/article/download/15/11)>. Acesso em: 18 set. 2018.
- Bartha, R. e Pramer. "Features of a flask and Method for Measuring the Persistence and Biological effects of Pesticides in Soil". *Soil Science*. 100 (1). 68 – 70. 1965.
- BARRETO, Pedro Luiz Manique. **Propriedades Físico-Químicas de Soluções Formadoras e de Filmes de Caseinato de Sódio Plastificados com Sorbitol**. 2003. 114 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Florianópolis, 2003. Cap. 4. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/85484/204411.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 17 nov. 2018.
- BARROS, Raimundo Mesquita; BRANCIFORTI, Marcia Cristina. Correlação entre orientação molecular, cristalinidade e permeabilidade de filmes biaxialmente orientados de polietileno linear de baixa densidade. **Matéria (Rio de Janeiro)**, [s.l.], v. 23, n. 1, p.1-12, 5 mar. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620170001.0290>.
- BUTLER, B.L.; VERGANO, P. J.; TESTIN, R. F.; BUNN, J.M. WILES, J. L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of Food Science*, v. 61, n. 5, p. 953-958, 1996.
- BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p.127-139, 31 set. 2011. Mensal. Disponível em: <[www.dema.ufcg.edu.br/revista](http://www.dema.ufcg.edu.br/revista)>. Acesso em: 17 set. 2018.
- Campagner, M. R.; Moris, V. A. da S.; Pitombo, L. M.; Carmo, J. B.; Paiva, J. M. F. (2014). Filmes poliméricos baseados em amido e lignossulfonatos: preparação, propriedades e avaliação da biodegradação. *Polímeros*, 24 (6), 740-751.
- CHANDRA, R. Biodegradable polymers. **Progress In Polymer Science**, [s.l.], v. 23, n. 7, p.1273-1335, nov. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6700\(97\)00039-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6700(97)00039-7).
- Condés, M. C., Añón, M. C., Mauri, A. N., & Dufresne, A. (2015). Amaranth protein films reinforced with maize starch nanocrystals. *Food Hydrocolloids*, 47, 146–157.

CUNHA, H.V.F. **A diferença entre Atividade de Água (Aw) e o Teor de Umidade nos alimentos.** 2016. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/diferenca-entre-atividade-de-agua-aw-e-o-teor-de-umidade-nos-alimentos/>>. Acesso em: 30 maio 2018.

CZAJA, Sara J. et al. Factors predicting the use of technology: Findings from the center for research and education on aging and technology enhancement (create).. **Psychology And Aging**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.333-352, 2006. American Psychological Association (APA). <http://dx.doi.org/10.1037/0882-7974.21.2.333>.

Daniel, M. C., & Astruc, D. (2004), "Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology." *Chemical reviews*, v. 104, n. 1, pp. 293-346.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology* v. 21, p. 703–714, 2004.

DUFRESNE, Alain. **Nanocellulose::** From Nature to High Performance Tailored Materials. 2. ed. France: Walter de Gruyter GmbH & Co Kg, 2017. 650 p.

DUTTA, P.K.; SHIPRA TRIPATHI; MEHROTRA, G.K, JOYDEEP DUTTA. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry* v.114, p.1173–1182, 2009.

EVANGELISTA, Thamasia Fernanda de Sá et al. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PEC DE QUITOSANA FUNCIONALIZADOS COM  $\beta$ -CD E CARRAGENA COM POTENCIAL APLICAÇÃO EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE LATINO AMERICANA DE BIOMATERIAIS, ORGÃOS ARTIFICIAIS E ENGENHARIA DE TECIDOS - SLABO, 14<sup>o</sup>., 2017, Maresias - SP. 5<sup>a</sup> Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais - OBI... Maresias - SP: [s.n.], 2017. p. 617-626. Disponível em: <<http://www.metallum.com.br/obi2017/anais/PDF/02-215.pdf>>. Acesso em: 31 dez. 2018.

FAMÁ, Lucía; GOYANES, Silvia; GERSCHENSON, Lía. Influence of storage time at room temperature on the physicochemical properties of cassava starch films. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 70, n. 3, p.265-273, out. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.04.003>.

FARIAS, Mônica Guimarães et al. O E F E I T O D A P E R M E A B I L I D A D E A O V A P O R D E Á G U A , A T I V I D A D E D E Á G U A , M O L H A B I L I D A D E E S O L U B I L I D A D E E M Á G U A E M F I L M E S D E A M I D O E P O L P A D E A C E R O L A. In: VI WORKSHOP DA REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 6., 2012, Fortaleza. **Rede agronano**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. v. 6, p. 135 - 137.

FLAUZINO NETO, Wilson Pires. **Extração de nanocristais de celulose a partir de casa de soja, e sua aplicação como agente de reforço em nanocompósito poliméricos utilizando Carboximetilcelulose como matriz.** 2012. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação e Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012. Cap. 1.

FREITAS, Daniela de Grandi Castro et al. Reducing fat uptake in cassava product during deep-fat frying. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 94, n. 3-4, p.390-394, out. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.04.005>.

Garcia, M. A., Pinotti, A., & Zaritzky, N. (2006). Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. *Starch*, 58(9), 453-463. <http://dx.doi.org/10.1002/star.200500484>.

GIACOMELLI, Vanessa Schmidt. **MORFOLOGIA, PROPRIEDADES TÉRMICAS E MECÂNICAS DE FILMES DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA / DODECILSULFATO DE SÓDIO / POLICAPROLACTONA-TRIOL**. 2005. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Química, Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. Cap. 1. Disponível em: <<http://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/101718>>. Acesso em: 12 out. 2018

GONÇALVES, Suely Patrícia Costa. **BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PHBV, PCL, PP E BLENDS PELA AÇÃO DE MICRORGANISMOS DE SOLO**. 2009. 134 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Microbiologia Aplicada, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2009. Cap. 1.

GONTARD, Nathalie; GUILBERT, StÉphane; CUQ, Jean-louis. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. **Journal Of Food Science**, [s.l.], v. 58, n. 1, p.206-211, jan. 1993. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246>.

GUERRERO, P. et al. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 107, n. 1, p.41-49, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.003>.

HOLANDA, Adriana Lima de. Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização. 2011. 114f. (Tese de Doutorado em Engenharia de Processos), Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande - Paraíba - Brasil, 2011.

JAYASEKARA, R.; HARDING, I. H.; BOWATER, I.; LONERGAN, G.; CHISTIE, G. (2005). Biodegradability of a Selected Range of Polymers and Polymer Blends and Standard Methods for Assessment of Biodegradation. *Journal Polymers Environment*, 13 (3), 231-251.

Jones, Loretta; Atkins, Peter *Princípios de Química - Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente - 3ª Ed-Porto Alegre:Bookman, 2006.*

KHUTORYANSKIY, Vitaliy V et al. Morphological and thermal characterization of interpolymer complexes and blends based on poly(acrylic acid) and hydroxypropylcellulose. **Polymer International**, [s.l.], v. 53, n. 3, p.307-311, 4 fev. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pi.1408>.

LABUZA, T. P.; TANNEMBAUM, S. R.; KAREL, M. Water content and stability of low moisture and intermediate-moisture foods. *Food Technology*. p .543-550, 1970.

Leão, A. L.; Tan, I. H.; Caraschi, J. C. – "Curaua Fiber – A Tropical Natural Fiber from Amazons Potential and Applications in Composites", in: International Conference on Advanced Composites, Hurghada-Egypt, 15-8 dez. (1998).

MACHADO, C. X. *Tomate – o papel do licopeno na proteção antioxidante*. Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005

MARTELLI, Sílvia Maria. **Environmentally Compatible Polymeric Blends and Composites Based on Oxo-Biodegradable Polyethylene**. 2008. 233 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ph.d. In Biomaterials - Xx Cycle, Department Of Chemistry And Industrial Chemistry, University Of Pisa, Pisa, 2008.

MARTINS, Joana T. et al. Synergistic effects between  $\kappa$ -carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.280-289, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.004>.

MORENO, Marta María; MORENO, Carmen; TARQUIS, Ana María. Mulch materials in processing tomato: a multivariate approach. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 4, p.1-5, 30 jan. 2013. Mensal. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162013000400005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162013000400005)>. Acesso em: 30 set. 2018.

MOON, Robert J. et al. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, [s.l.], v. 40, n. 7, p.3941-3994, 2011. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c0cs00108b>.

OJEDA, Telmo Francisco Manfron. **Biodegradabilidade de Materiais Polímeros**. 2008. 113 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Cap. 5.

Paiva, G. M. S., Borges, F. M., Batista, N. C., Lima, S. G. e Matos, J. M. E. Síntese de poliuretana obtida do óleo de mamona (*ricinuscommunis*) na ausência de solventes. 62º Congresso brasileiro para o progresso da ciência. Natal, p. 1, 2010.

PELLICANO, Marília; PACHEKOSKI, Wagner; AGNELLI, José A. M.. Influência da adição de amido de mandioca na biodegradação da blenda polimérica PHBV/Ecoflex®. **Polímeros**, [s.l.], v. 19, n. 3, p.212-217, 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-14282009000300009>.

PENG, J., GAO, W., GUPTA, B. K., LIU, Z., ROMERO-ABURTO, R., GE, L.,; SONG, L., ALEMANY, L. B. Graphene Quantum Dots Derived from Carbon Fibers. **Nano Letters**, v.12, p. 844 - 849, 2012.

PILLAI, C.k.s.; PAUL, Willi; SHARMA, Chandra P.. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress In Polymer Science**, [s.l.], v. 34, n. 7, p.641-678, jul. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>

Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE 2001. A composição molecular das células vegetais. In: Raven P.H.; Evert R. F. and Eichhorn S.E. (orgs). *Biologia Vegetal*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 17-39.

RODRIGUES, Rosane da Silva; GOZZO, Ângela Maria; MORETTI, Roberto Hermínio. COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE EXTRATOS DE GRÃOS, FARINHA INTEGRAL E ISOLADO PROTÉICO DE SOJA. **B.ceppa**, Curitiba, v. 21, n. 2, p.367-378, 02 dez. 2013. Semestral. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/viewFile/1171/972>>. Acesso em: 03 jun. 2018

ROSA, D.S.; HANG-CHUI, Q. S.; PANTANO FILHO, R.; AGNELLI, J.A.M. 2002.Avaliação da Biodegradação de Poli-(Hidroxibutirato), Poli(Hidroxibutirato-covalerato)e Poli-(caprolactona) em Solo Compostado. **Polímeros**. 12(4): 311-317.

Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/po/v12n4/a15v12n4.pdf> acessado 17/09/2018.

ROSA, D. S. E. A. Biodegradabilidade e Propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. **Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 82-88, 2007.

SALAZAR, Rodrigo Fernando dos Santos; SILVA, Maria Lúcia Caetano Pinto da. Estudo da composição da palha de milho para posterior utilização como suporte na preparação de compósitos. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 2005, São Paulo. **ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DA PALHA DE MILHO PARA POSTERIOR UTILIZAÇÃO COMO SUPORTE NA PREPARAÇÃO DE COMPÓSITOS**. Lorena: Researchgate, 2005. v. 6, p. 1 - 6. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/235645089>>. Acesso em: 26 out. 2018.

SANTOS, Amélia S. F. e et al . Sacolas plásticas: destinações sustentáveis e alternativas de substituição. **Polímeros**, São Carlos , v. 22, n. 3, p. 228-237, 2012.

SAKATA, Y.; SHIRAIISHI, S.; OTSUKA, M. A novel white film for pharmaceutical coating formed by interaction of calcium lactate pentahydrate with hydroxypropyl methylcellulose, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 317 p. 20–126, 2006.

SARON, C.; FELISBERTI, M. I. Ação de colorantes na degradação e estabiização de polímeros. *Revista Química Nova*, Campinas, vol.29, n. 1, p. 124-128, ago. 2006.

SILVA ,RAYANE MONTEIRO DOS REIS,. POLUIÇÃO MARINHA POR PLÁSTICOS E SUAS CONSEQUÊNCIAS AMBIENTAIS. 2018.38 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso Graduação em Engenharia Ambiental – Faculdade Pitágoras de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

SOUZA, Debora Rosa da Silva. Preparação e caracterização de pontos de carbono e material carbonoso nanoestruturado a partir da celulose e nanocristais de celulose. 2017. 169 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Disponível em: <[http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/SFSA-ARJUMH/tese\\_debora.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/SFSA-ARJUMH/tese_debora.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 02 jan. 2019

SCHMIDT, V.; GIACOMELLI, C.; SOLDI, V. Thermal stability of films formed by soyprotein isolate-sodium dodecyl sulfate. **Polymer Degradation and Stability**, v. 87, n.1, p. 25-31, 2005.

TEIXEIRA, Genisson B. et al. SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITO BASEADO EM QUITOSANA TIOLADA E NANOPARTÍCULAS DE OURO. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE LATINO AMERICANA DE BIOMATERIAIS, ORGÃOS ARTIFICIAIS E ENGENHARIA DE TECIDOS - SLABO, 14<sup>o</sup>., 2017, Maresias - SP. 5<sup>a</sup> Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais - OBI... Maresias - SP: [s.n.], 2017. p. 555-564. Disponível em: <<http://www.metallum.com.br/obi2017/anais/PDF/02-192.pdf>>. Acesso em: 31 dez. 2018.

VARGAS, Luiz Felipe Praça. “PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE VIDROS BIOATIVOS CONTENDO PRATA E TRICLOSAN”, 2016. Acessa em 31/12/2018: <https://posgraduacao.ufms.br/portal/trabalho-arquivos/download/2413>.

VILLADIEGO, A.M.D.; SOARES, N.F.F.; ANDRADE, N.J.; PUSCHMANN, R; MINIM, R.P.V.; CRUZ, R. Filmes e Revestimento Comestíveis na Conservação de Produtos Alimentícios. Revista Ceres, v. 52, p 221-244, 2005.

ZACCARON, Cláudia Menegaz. **BLENDAS DE HIDROXIPROPILMETILCELULOSE/POLI(1-VINILPIRROLIDONA-CO-ACETATO DE VINILA) OU ALGINATO DE SÓDIO: MISCIBILIDADE, PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTABILIDADE TÉRMICA.** 2005. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-graduação em Química, Químia, Florianópolis, Florianópolis, 2005. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/102335/221572.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 25 nov. 2018.