



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

MAIRA TRÊS

**OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE PROVENIENTES DA
CASCA DE ABACAXI (*Ananas comosus*) E SUA APLICAÇÃO EM
FILMES BIODEGRADÁVEIS**

Porto Alegre
2022

MAIRA TRÊS

**OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE PROVENIENTES DA
CASCA DE ABACAXI (*Ananas comosus*) E SUA APLICAÇÃO EM
FILMES BIODEGRADÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadores: Prof.^a Dr.^a Simone Hickmann Flôres e Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Pagno

Porto Alegre
2022

CIP - Catalogação na Publicação

Três, Maira

Obtenção de nanofibras de celulose provenientes da casca de abacaxi (*Ananas comosus*) e sua aplicação em filmes biodegradáveis / Maira Três. -- 2022.

64 f.

Orientadores: Simone Hickmann Flôres, Alessandro de Oliveira Rios.

Coorientadora: Carlos Henrique Pagno.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Nanotecnologia. 2. Aproveitamento de resíduos. 3. Biodegradabilidade. 4. Filmes de amido. 5. Nanofibras de celulose. I. Flôres, Simone Hickmann, orient. II. Rios, Alessandro de Oliveira, orient. III. Pagno, Carlos Henrique, coorient. IV. Título.

Maira Três

(Nutricionista e Tecnóloga em Alimentos)

DISSERTAÇÃO
OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE PROVENIENTES DA
CASCA DE ABACAXI (*Ananas comosus*) E SUA APLICAÇÃO EM
FILMES BIODEGRADÁVEIS

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de
MESTRA EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Aprovada em: 07/10/2022
Pela Comissão Examinadora:

Homologada em:/...../.....

Prof^a. Dr.^a Simone Hickmann Flôres
Orientadora – PPGCTA – UFRGS

Prof. Dr. Plinho Francisco Hertz
Banca - UFRGS

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Orientador – PPGCTA – UFRGS

Prof. Dr. Voltaire Sant'Anna
Banca - UERGS

Prof. Dr. Carlos Henrique Pagno
Co-orientador – PPGCTA – UFRGS

Prof. Dr.^a Poliana Deyse Gurak
Banca - UFCSPA

AGRADECIMENTOS

"Un líquido es un estado de la materia sin una forma particular. Cambia fácilmente y solo queda definido por el recipiente que lo contiene. El cuerpo humano es un 70 % agua."

desenvolver esse trabalho foi um processo repleto de mudanças, principalmente devido ao atravessamento da pandemia de Covid-19. Agradeço a todos que se moldaram para que pudesse caber um mestrado dentro de um contexto desfavorável para tal:

Agradeço aos meus orientadores Dr.^a Simone, Dr. Alessandro e Dr. Carlos pelo aprendizado, disponibilidade e suporte constantes durante este processo.

Aos membros da banca pelas contribuições dadas ao trabalho.

Aos técnicos administrativos do ICTA que sempre acolheram todas as demandas e auxiliaram em tudo o que foi possível.

À Dr.^a Camila Duarte Teles (*in memoriam*), minha orientadora da graduação, que despertou meu desejo por fazer ciência, apostou e confiou em mim. Tenho certeza de que estaria muito orgulhosa neste momento.

Aos meus pais Rudimar e Maria, por tantos esforços e concessões que foram feitos para que eu pudesse ter o privilégio de chegar até aqui. Aos meus irmãos, Rodrigo e Rosana por estarem sempre ao meu lado.

Ao Eduardo pelo infinito apoio, por me proporcionar segurança em todos os momentos e por tornar viável a realização do mestrado. À Arlete pela generosidade e por fornecer condições para que eu pudesse desenvolver a pesquisa durante o tempo que fiquei em Porto Alegre.

Aos colegas que dividiram a experiência de realizar uma pesquisa científica em tempos pandêmicos, em especial, ao Patrik e às gurias do laboratório 211: Cecília, Marina, Thanise e Jorgiana.

Aos demais professores, familiares, amigos e colegas. Sou muito privilegiada por ter tanta gente que me apoiou durante este processo. Obrigada a cada um que contribuiu para que isso fosse possível.

RESUMO

A casca de abacaxi (*Ananas comosus*) é um dos resíduos gerados no processamento industrial do suco, sendo responsável por 35 % do peso da fruta, o que representa um desperdício de material orgânico rico em fibras e celulose. A nanotecnologia pode ser utilizada para a valorização de resíduos da indústria de alimentos, fazendo dessa matéria rica em compostos orgânicos a obtenção de novos ingredientes que podem ser utilizados na produção de embalagens biodegradáveis. Neste trabalho foi avaliada a obtenção e comparação de nanofibras de celulose a partir da casca de abacaxi por 8 tratamentos diferentes. Foram obtidas nanofibras de celulose a partir de métodos químico e enzimático, com ou sem tratamento mecânico coadjuvante. A eficiência do isolamento da celulose foi confirmada pelas análises de microscopia eletrônica de varredura, através da visualização das fibras na escala nanométrica e pelas análises de estabilidade térmica (termogravimétricas e calorimetria diferencial de varredura) as quais confirmaram a remoção dos compostos não-celulósicos das amostras obtidas. Ademais, o índice de cristalinidade foi maior para as amostras com aplicação do sonicador, que apresentou 29 % nesse parâmetro tanto para o tratamento enzimático quanto o químico. O método escolhido para aplicação em filmes biodegradáveis foi o tratamento enzimático com uso de sonicador conjuntamente, que obteve melhores resultados nas análises supracitadas. Foram então elaborados filmes biodegradáveis com a adição das nanofibras com melhores propriedades térmicas nas concentrações de 3 e 6 % de nanofibras de celulose provenientes do tratamento enzimático com sonicador. Os filmes com adição das nanofibras de celulose apresentaram-se mais opacos, com menor luminosidade e coloração amarelada em comparação com o filme controle. Além disso, foi constatada diminuição significativa ($p < 0,05$) nas propriedades de permeabilidade de vapor de água para os filmes com adição de 3 %. O teste de biodegradabilidade demonstrou que o aumento gradual de adição de nanofibras de celulose aumentou a degradação dos filmes, sendo que em 10 dias houve 86 e 96 % de degradação dos filmes com adição de 3 e 6 %, respectivamente. Em relação às propriedades térmicas e de solubilidade em água a adição de nanofibras de celulose não promoveu diferenças nos filmes avaliados em nenhuma das concentrações aplicadas. O método de tratamento enzimático e sonicador possibilitou a obtenção de nanofibras de celulose que proporcionaram melhores condições de reforço para filmes biodegradáveis.

Palavras-chave: aproveitamento de resíduos, nanotecnologia, biodegradabilidade.

ABSTRACT

Pineapple (*Ananas comosus*) peel is one of the residues generated in the industrial processing of the juice, accounting for 35% of the fruit's weight, which represents a waste of organic material rich in fibers and cellulose. Nanotechnology can be used to recover waste from the food industry, making this material rich in organic compounds to obtain new ingredients that can be used in the production of biodegradable packaging. This work evaluated the comparison of cellulose nanofibers from pineapple peel by 8 different treatments. Cellulose nanofibers were obtained from chemical and enzymatic methods with or without adjuvant mechanical treatment. The efficiency of cellulose insulation was confirmed by scanning electron microscopy through the visualization of the fibers at the nanometer scale and thermal stability analyses (thermogravimetric and differential scanning calorimetry) which confirmed the removal of non-cellulosic compounds from the samples obtained. Furthermore, the crystallinity index was higher for samples with the application of the sonicator, which presented 29% in this parameter for both enzymatic and chemical treatment. The method chosen for application in biodegradable films was the enzymatic treatment using a sonicator together, which obtained better results in aforementioned analyses. Biodegradable films were then made with the addition of nanofibers with better thermal properties at concentrations of 3 and 6% of cellulose nanofibers from the enzymatic treatment with a sonicator. The films with the addition of cellulose nanofibers were opaquer, with lower luminosity and yellowish color compared to the control film. Furthermore, a significant difference ($p < 0.05$) was found in the water vapor permeability properties for the films with the addition of 3%. The biodegradability test showed that the gradual increase in the addition of cellulose nanofibers increased the degradation of the films, and in 1 days there was 86 and 96 % of degradation of the films with the addition of 3 and 6 %, respectively. In the thermal and water solubility analyses, the addition of cellulose nanofibers did not promote differences in the evaluated films. Thus, applying enzymatic treatment with a sonicator made it possible to obtain cellulose nanofibers that provided reinforcing conditions for biodegradable films.

Keywords: reutilization of residues, nanotechnology, biodegradability.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura do abacaxi..... | 15 |
| Figura 2 – Fluxograma da produção de suco de abacaxi..... | 16 |
| Figura 3 - Fluxograma de produção das nanofibras a partir do método químico..... | 20 |
| Figura 4 - Efeito do pré-tratamento na estrutura dos materiais lignocelulóticos | 21 |
| Figura 5 - Planejamento Experimental | 29 |
| Figura 6 - Fluxograma para obtenção da nanofibras de celulose pelo tratamento químico ... | 30 |
| Figura 7 – Resíduo solúvel obtido das lavagens após o tratamento alcalino | 31 |
| Figura 8 – Fluxograma para obtenção da nanofibras de celulose pelo tratamento enzimático | 31 |
| Figura 9 – Farinha de casca de abacaxi | 37 |
| Figura 10 – Imagens de MEV do tratamento químico. 1:sem tratamento mecânico; 2: ultra-turrax®; 3: sonicador; 4: ultra-turrax® + sonicador (magnificação: 30.000x) | 40 |
| Figura 11 - Imagens de MEV do tratamento enzimático. 5:sem tratamento mecânico; 6: ultra-turrax®; 7: sonicador; 8: ultra-turrax® + sonicador (magnificação: 30.000x) | 41 |
| Figura 12 - Curvas obtidas do DSC..... | 43 |
| Figura 13 – Análise termogravimétrica das nanofibras de celulose..... | 45 |
| Figura 14 – Difratomogramas (DRX) das amostras de nanofibras de celulose | 47 |
| Figura 15 – Aparência dos filmes biodegradáveis dos tratamentos controle (CLT) e com adição 3 e 6 % de nanofibras de celulose | 48 |
| Figura 16 – Análise termogravimétrica dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose | 49 |
| Figura 17 – Aparência dos filmes secos no primeiro dia e com 5 e 10 dias de biodegradabilidade..... | 54 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Composição centesimal da farinha de casca de abacaxi..... | 38 |
| Tabela 2 – Composição química da farinha de casca de abacaxi..... | 39 |
| Tabela 3 – Valores obtidos na análise de DSC..... | 44 |
| Tabela 4 – Índice de cristalinidade (%) das nanofibras de celulose..... | 48 |
| Tabela 5 – Valores de permeabilidade de vapor de água dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose | 50 |
| Tabela 6 – Valores de tensão de elongação dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose | 51 |
| Tabela 7 – Cor e opacidade dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de adição de nanofibras de celulose | 52 |
| Tabela 8 – Valores de solubilidade em água dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose | 53 |
| Tabela 9 – Compilado dos resultados obtidos dos diferentes tratamentos das nanofibras de celulose | 56 |
| Tabela 10 – Compilado dos resultados obtidos dos filmes biodegradáveis elaborados..... | 57 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 14 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 14 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 3.1 ABACAXI | 15 |
| 3.2 NANOFIBRAS DE CELULOSE | 17 |
| 3.2.1 Obtenção de nanofibras por método químico | 19 |
| 3.2.2 Obtenção de nanofibras por método enzimático | 20 |
| 3.1.3 Obtenção de nanofibras por método mecânico | 22 |
| 3.1.4 Obtenção de nanofibras a partir de resíduos agroindustriais | 23 |
| 3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS COM NANOFIBRAS DE CELULOSE | 24 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 27 |
| 4.1 PREPARO DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI | 27 |
| 4.2 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA | 27 |
| 4.2.3 Análises físico-químicas | 27 |
| 4.2.4 Análise de celulose, lignina e hemicelulose | 27 |
| 4.3 OBTENÇÃO DAS NANOFIBRAS | 29 |
| 4.3.3 Método químico | 29 |
| 4.3.4 Método enzimático | 30 |
| 4.3.5 Método mecânico | 32 |
| 4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS | 32 |
| 4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura | 32 |
| 4.4.4 Calorimetria exploratória diferencial | 33 |
| 4.4.5 Análise termogravimétrica | 33 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 4.4.6 | Difração de raio-x | 33 |
| 4.5 | APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS | 33 |
| 4.6 | CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS | 34 |
| 4.6.3 | Análise termogravimétrica | 34 |
| 4.6.4 | Biodegradabilidade | 34 |
| 4.6.5 | Permeabilidade ao vapor de água | 35 |
| 4.6.6 | Propriedades mecânicas | 35 |
| 4.6.7 | Propriedades ópticas | 35 |
| 4.6.8 | Solubilidade em água | 36 |
| 4.7 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 36 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 37 |
| 5.1 | CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI | 37 |
| 5.2 | CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI | 39 |
| 5.2.3 | Microscopia eletrônica de varredura | 39 |
| 5.2.4 | Calorimetria exploratória diferencial | 42 |
| 5.2.5 | Análise termogravimétrica | 44 |
| 5.2.6 | Difração de raio X | 46 |
| 5.3 | FILMES BIODEGRADÁVEIS COM NANOFIBRAS DE CELULOSE DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI | 48 |
| 5.3.3 | Análises termogravimétricas | 49 |
| 5.3.4 | Permeabilidade de vapor de água | 50 |
| 5.3.5 | Propriedades mecânicas | 51 |
| 5.3.6 | Propriedades ópticas | 52 |
| 5.3.7 | Solubilidade em água | 53 |
| 5.3.8 | Biodegradabilidade | 54 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 56 |

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| 7. PERPECTIVAS FUTURAS | 58 |
| 8. REFERÊNCIAS | 59 |

1. INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus*) é uma fruta tropical com produção mundial média de 27 milhões de toneladas por ano, sendo o Brasil um dos maiores produtores. Normalmente é consumida na forma fresca ou de sucos, mas também pode ser utilizada em sobremesas e doces em geral. Constata-se que 35 % do peso total dessa fruta é proveniente da casca, o que gera uma grande quantidade de material orgânico no processamento industrial, visto que a polpa é a parte utilizada como matéria-prima, sendo a casca, o talo e a coroa descartados (DAI *et al.*, 2018).

A composição da casca de abacaxi é majoritariamente de fibra dietética, aproximadamente 75 %, e possui maiores quantidades de compostos bioativos quando comparados à sua polpa, o que comprova seu grande potencial para aproveitamento na indústria de alimentos. Além disso, apresenta de 20 a 25 % de celulose, um dos mais abundantes polímeros naturais encontrados em produtos de origem vegetal. A celulose possui diversas vantagens, como não-toxicidade, biodegradação, excelentes propriedades mecânicas e térmicas, sendo também de fácil modificação.

A demanda pelo aproveitamento dos resíduos da indústria de alimentos é crescente e vários estudos têm aplicado a nanotecnologia como uma alternativa para a valorização destes materiais (LEITE, 2016; TIBOLLA *et al.*, 2014; FUNG *et al.*, 2011, GUANCHACHALAPUD; SERNA-COCK; TIRADO, 2022). A produção de nanomateriais, como as nanofibras de celulose, são relatadas na literatura e sua aplicação é comumente testada em embalagens biodegradáveis por proporcionarem aumento de resistência destes materiais (MIRANDA, 2019; MACHADO *et al.*, 2012; HENRIQUE *et al.*, 2008).

Os filmes biodegradáveis são uma alternativa sustentável ao uso de embalagens de origem petroquímica, entretanto podem apresentar propriedades mecânicas inadequadas. Sendo assim, as nanofibras de celulose têm sido incorporadas como material de reforço em matrizes poliméricas, por apresentarem melhoria das propriedades mecânicas, de barreiras térmicas, ópticas e dielétricas dos polímeros (COELHO *et al.*, 2020)

Com o objetivo de ofertar novas possibilidades de aproveitamento do resíduo proveniente da produção industrial de suco de abacaxi, a casca da fruta pode ser valorizada a partir da obtenção de nanofibras de celulose para aplicação como agente de reforço em filmes biodegradáveis.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter nanofibras de celulose a partir de casca de abacaxi para aplicação como agente de reforço em filmes biodegradáveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar a farinha de casca de abacaxi;
- Obter e comparar as nanofibras de celulose por tratamento químico e enzimático, combinados com tratamento mecânico;
- Caracterizar as nanofibras de celulose quanto às propriedades estruturais, morfológicas e térmicas;
- Aplicar as nanofibras de celulose como material de reforço de filmes biodegradáveis elaborados por *casting*;
- Caracterizar os filmes elaborados reforçados com nanofibras de celulose.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

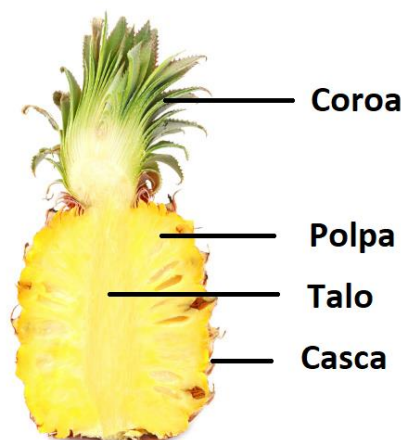
3.1 ABACAXI

O abacaxi (*Ananas comosus*) é uma fruta de origem do continente americano e com produção difundida no mundo. Atualmente sua produção ultrapassa 27 milhões de toneladas por ano e os principais países produtores são Filipinas, Costa Rica e Brasil (FAO, 2022). O Brasil apresentou produção de mais de 1 bilhão de frutas no ano de 2020, em média 2 milhões de toneladas, sendo o estado do Pará o maior produtor nacional (IBGE, 2022).

O abacaxi é composto por polpa, casca e coroa e apresenta diferentes variedades, sendo *Perola* e *Smooth Cayenne* as mais produzidas no Brasil. Em relação às propriedades nutricionais, o abacaxi apresenta alta composição de açúcar, teor de minerais e atividade proteolítica proveniente da bromelina, enzima que auxilia no processo de digestão. Além disso, o teor de proteínas e lipídeos é inferior a 0,5 % (EMBRAPA, 2022; TACO, 2011).

O abacaxi é consumido principalmente em sua forma *in natura*, já suas formas de apresentação processada são em sucos, geleias, em calda e em doces e sobremesas em geral. Contudo, o processamento dessa fruta apresenta uma problemática ambiental devido ao grande resíduo orgânico que é gerado durante a industrialização. Todos os produtos elaborados a partir do abacaxi utilizam somente a polpa para a produção, restando o talo, a casca e a coroa. Estima-se que 35 % do peso total da fruta seja proveniente da casca, valor significativo industrialmente (DAI *et al.*, 2018). A Figura 1 demonstra as partes do abacaxi aqui citadas.

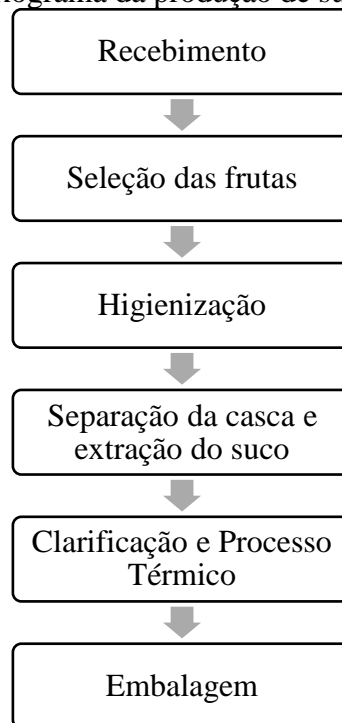
Figura 1 – Estrutura do abacaxi



Fonte: EMBRAPA (2022)

A elaboração de suco de abacaxi realizada industrialmente é composta pelas etapas demonstradas no fluxograma da Figura 2. Inicialmente ocorre a seleção das frutas e separação por tamanho, após as coroas dos abacaxis são retiradas e os mesmos são higienizados. A extração do suco acontece em equipamentos, comumente moinhos, que permitem a separação da casca e imediata extração da polpa para obtenção do suco. Posteriormente, o suco é clarificado e aplicado tratamento térmico para garantir a segurança do alimento. O suco pode ser embalado e as cascas e coroas são destinadas à produção de farelo para alimentação de animais (EMBRAPA, 2022).

Figura 2 – Fluxograma da produção de suco de abacaxi



Fonte: Embrapa (2022)

A geração de resíduos proveniente da indústria processadora de suco de abacaxi também representa perda de biomassa e de nutrientes, visto que a casca de abacaxi é rica em celulose e fibras dietéticas, contendo em média 23 % e 75 %, respectivamente (DAI *et al.*, 2018). A utilização desses resíduos como subprodutos para a própria indústria alimentícia pode representar uma alternativa interessante para o aproveitamento integral dos recursos naturais. Ademais, estudos demonstram que a casca de abacaxi contém maior quantidade de alguns nutrientes e fibras do que a polpa (CRIZEL, 2017).

3.2 NANOFIBRAS DE CELULOSE

A nanotecnologia é uma tecnologia emergente que consiste no estudo de materiais em escala atômica com tamanho de 1 a 99 nanômetros (nm). Com tal tecnologia é possível obter nanofibras, nanoemulsões ou nanocristais, sendo que o produto irá depender do tipo da matriz, extração e aplicação das mesmas. A nanotecnologia tem sido aplicada para obtenção de polímeros, pois fornecem estruturas com elevada elasticidade, resistência e maior área de superfície em relação ao volume (MEDEIROS *et al.*, 2016). Os métodos mais utilizados para a obtenção de nanofibras são: enzimático, mecânico, químico e *eletrospinning*. Suas aplicações podem ser separadas ou em conjunto e a escolha do método vai depender do tipo de matéria a ser utilizada e sua possível aplicação (MEDEIROS, *et al.* 2016; SIQUEIRA *et al.*, 2010).

As nanofibras podem ser obtidas a partir de polímeros sintéticos, como o polietileno, polipropileno e o poliéster, provenientes do petróleo; e polímeros naturais, como celulose, quitosana e gelatina, encontrados na natureza. A celulose é um dos componentes principais da parede celular dos vegetais e é uma alternativa sustentável para a substituição dos polímeros sintéticos. As características semelhantes aos sintéticos tornam a celulose potencial para a utilização como agente de reforço em compósitos, pois apresenta boa resistência mecânica, térmica, rigidez e alto grau de cristalinidade (SIQUEIRA *et al.*, 2010).

Tibolla *et al.* (2014) destacaram a necessidade de buscar alternativas para melhor utilização dos recursos existentes e identificação de espécies vegetais com propriedades interessantes. Devido a abundante disponibilidade de fontes vegetais, principalmente de resíduos, observa-se a oportunidade de estudo para obtenção de nanofibras de celulose.

A produção de nanofibras de celulose é relatada na literatura, como no estudo realizado por Varanasi *et al.* (2018), que produziram nanofibras de celulose do resíduo de cenoura, a partir de tratamento mecânico com o homogeneizador de alta pressão, sem a utilização de qualquer agente químico durante o processo. Além disso, os autores estimaram o consumo de energia para produção e este foi de 8.519 kWh/tonelada, valor inferior em comparação com nanofibras de celulose obtidas a partir de fibras de madeira (30.000 kWh/tonelada), material comumente utilizado para o isolamento da mesma.

Leite (2016) utilizou o resíduo industrial casca de mandioca para produção de nanofibras de celulose a partir de tratamentos químico e mecânico com sonificador e obtiveram um material com diâmetro de 5 nm e com alta cristalinidade, totalizando 62 %. Tibolla *et al.* (2018) produziram nanofibras de celulose com casca de banana a partir de tratamentos químico e mecânico com homogeneizador de alta pressão e como resultado obtiveram nanofibras com

diâmetro de 5 nm e cristalinidade de 66 %, o que representa alto potencial para uso como agente de reforço em filmes biodegradáveis.

Além da celulose, outras matrizes podem ser utilizadas para a obtenção de nanofibras, tais como quitosana, proteína isolada de soja e compostos microalgas, por exemplo. Nos últimos anos encontram-se vários estudos na literatura científica sobre a produção de nanofibras e suas diversas aplicações (TIBOLLA, *et al.*, 2018; XUE, *et al.*, 2019; SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2020; CZAIKOSKI; DA CUNHA; MENEGALLI, 2020). A aplicação destas pode ser realizada para fins de funcionalização das nanopartículas, como estudo realizado por Moreira (2018), que desenvolveu nanofibras com biocompostos microalgas com ação antioxidante e indicador de pH. Por sua vez, Miranda (2019), produziu nanofibras de poliestireno com adição de óleo de laranja e aplicou em embalagens ativas como agente antimicrobiano e embalagens inteligentes como indicador de pH.

A atividade antimicrobiana também foi relatada no estudo de Liu *et al.* (2015), onde foi testada a combinação de nanofibras de quitosana e nanopartículas de prata nas espécies *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus*. Wang *et al.* (2013) aplicaram nanofibras de proteína isolada de soja com óxido de polietileno contendo antocianina extraída da framboesa e obteve sucesso na atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermis*, possibilitando a utilização destas nanofibras como conservante.

Dada a versatilidade da aplicação das nanofibras exposta acima, seja como agente de reforço em filmes, adicionada de agente antimicrobiano, indicador de pH em embalagens inteligentes e ação antioxidante, e as possibilidades de obtenção de nanofibras de diferentes matrizes alimentícias, faz-se necessário o olhar para a potencialidade da nanotecnologia na indústria de alimentos.

Como mencionado anteriormente, existem diferentes métodos de obtenção das nanofibras e este trabalho focará, principalmente, nos métodos químico, enzimático e mecânico, que são os comumente usados para a obtenção das mesmas (SUKUMARAN *et al.*, 2009). O químico é o método com maior facilidade de execução laboratorial, pois utilizam-se reagentes químicos e equipamentos de uso frequente na bancada. Porém, este método possui uma problemática ambiental em relação ao uso de solventes químicos e seu descarte. Já o método enzimático é considerado *eco friendly*, por não envolver solventes químicos, porém requer alto investimento (SIQUEIRA *et al.*, 2010). O método mecânico comumente é utilizado em conjunto com outros métodos de obtenção das nanofibras e requer equipamentos que possibilitem que a redução do tamanho da partícula aconteça. Nos próximos três tópicos abaixo serão explorados cada um desses métodos para a obtenção de nanofibras de celulose.

3.2.1 Obtenção de nanofibras por método químico

O objetivo de cada etapa do método químico para obtenção de nanofibras de celulose é eliminar componentes não-celulósicos até a obtenção da celulose. O processo pode ocorrer em várias etapas e a ordem e condições destas dependem da origem da celulose. No processo de obtenção de nanofibras de celulose, encontra-se dificuldade na separação das fibrilas, pois elas possuem características químicas e morfológicas dos substratos lignocelulósicos. Estes materiais são constituídos de cadeias de celulose envolvidas em uma matriz amorfa de hemicelulose e lignina, a qual torna esses materiais estruturalmente resistentes à hidrólise e pouco reativos, já que agem como uma barreira natural dificultando a acessibilidade à celulose nativa. Diante disto, é necessário um processamento prévio desses materiais para romper as associações macromoleculares (OGEDA e PETRI, 2010; TIBOLLA, 2014).

Em virtude do exposto acima, são realizados pré-tratamentos, que podem ser: alcalino, quelante, branqueamento e alcalino novamente. O pré-tratamento alcalino tem como objetivo degradar as regiões amorfas, que fazem parte as ligninas e hemiceluloses, mantendo apenas as regiões cristalinas. Durante esse processo é necessário ter conhecimento das condições da amostra para não comprometer a celulose, em razão da cinética de hidrólise da região amorfa é mais rápida do que a da região cristalina (TIBOLLA, 2014). Além de parte da remoção dos componentes amorfos, esse pré-tratamento promove a exposição da região cristalina e promove a reatividade das fibras. Usualmente, esse processo é realizado com NaOH, KOH ou Ca(OH)₂ e as concentrações variam se o material está *in natura*, até 10 % da concentração de agente alcalino, ou se o material já sofreu algum pré-tratamento, até 4 % de concentração (FASSANELLA, 2008).

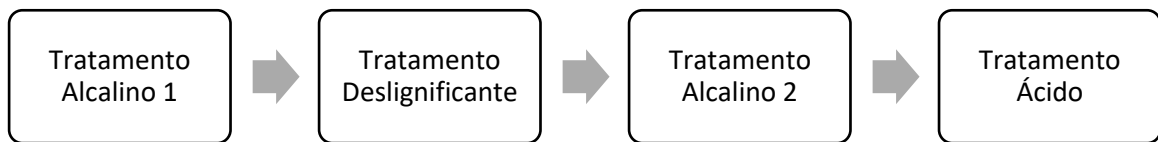
O pré-tratamento branqueamento também pode ser encontrado na literatura como tratamento deslignificante e é utilizado para remoção das frações de lignina, o que acaba descolorindo a amostra, sendo uma característica das polpas de celulose a sua coloração castanho escuro. Em escala laboratorial, utiliza-se cloro como pré-tratamento para a remoção de compostos amorfos, como a lignina, das fontes vegetais e esse processo é seguido de sucessivas lavagens e ciclos de centrifugação para garantia da eficácia desse tratamento (TIBOLLA, 2014).

Outro pré-tratamento utilizado é tratamento quelante, com EDTA, com a finalidade de remoção dos possíveis íons metálicos como o cálcio, ferro, manganês, magnésio e cobre, que

podem ser provenientes da própria matéria-prima e da água, mas também de equipamentos e impurezas de reagentes aplicados até então para obtenção da celulose (LEITE, 2016).

Posteriormente aos pré-tratamentos, é realizada a hidrólise ácida com H_2SO_4 e a amostra é resfriada através sucessivas lavagens com água destilada. Em seguida, a suspensão deve ser neutralizada (pH 7,0), diluída em água-milli-Q e centrifugada (LEITE, 2016). A partir disso, a amostra pode ser homogeneizada com algum tratamento mecânico, com a finalidade de diminuir o tamanho das nanofibras, contudo esta etapa dependerá do método escolhido para a obtenção das nanofibras.

Figura 3 - Fluxograma de produção das nanofibras a partir do método químico



Fonte: autora

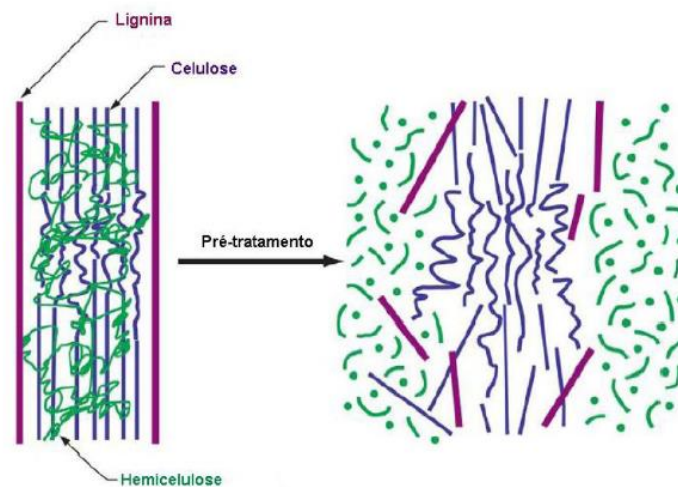
A combinação entre tratamentos é comumente utilizada na obtenção de nanofibras, isso porque cada um age na sua especificidade. De acordo com Leite (2016), a aplicação do tratamento químico com o branqueamento e sucessivas lavagens permite a obtenção de celulose com excelente qualidade a custos moderados. Combinado a isto, os tratamentos mecânicos têm como objetivo melhorar a dispersão das nanofibras de celulose que foram isoladas, com aplicação de forças de cisalhamento e ultrassom, por exemplo. Os métodos mecânicos possibilitam a obtenção de fibras finas, porém quando associado ao método químico, obtêm-se fibras muito mais finas, com diâmetros de 5 a 60 nm, aumentando consideravelmente sua funcionalidade, como demonstrado no trabalho de Khawas; Deka (2016) que avaliou como o tratamento com ultrasonicador de alta frequência influenciou na obtenção de nanofibras de celulose a partir do tratamento químico. Os autores relataram que quanto maior a potência aplicada pelo ultrasonicador, maior foi a dispersão e visualização das nanofibras nas análises realizadas.

3.2.2 Obtenção de nanofibras por método enzimático

De acordo com Siqueira *et al.* (2010), a hidrólise enzimática é um método com abordagem promissora, podendo ser usada no isolamento de fibrilas de celulose, fornecendo condições para uma hidrólise mais suave. Ademais, é considerada amigável ao meio ambiente, já que não envolve reagentes químicos e solventes.

Assim como no método químico ocorrem os pré-tratamentos para melhor acesso à celulose, no enzimático estes também são necessários. Podem ser utilizados pré-tratamentos alcalino e branqueamento, contudo ambos possuem o mesmo objetivo, a remoção de compostos não-celulósicos, como a lignina e a hemicelulose, e exposição da região cristalina para otimização dos tratamentos posteriores. O pré-tratamento químico pode ser realizado da mesma maneira que relatado no tópico anterior, com reagentes alcalinos que provocam a degradação das ligninas e hemiceluloses em condições de tempo e temperatura controlados para que não haja a degradação da celulose. Na Figura 4 está demonstrado o efeito do pré-tratamento na estrutura da célula lignocelulótica.

Figura 4 - Efeito do pré-tratamento na estrutura dos materiais lignocelulóticos



Fonte: Silva (2009)

A partir do pré-tratamento, com os materiais isolados e melhor acesso, são aplicadas as enzimas para hidrólise. As enzimas mais utilizadas são as xilanases e as celulases, sendo que as xilanases catalisam aleatoriamente os compostos de hemicelulose presentes na fibra vegetal, o que resulta em uma hidrólise seletiva de fibrilas, levando a formação de nanofibras de celulose, geralmente em suspensões coloidais (TIBOLLA, 2014; SILVA, 2009). Já a celulase (endoglicanase, exoglicanase e β -glicosidase), tem a capacidade de degradar totalmente a celulose em monômeros de açúcares, porém, para a obtenção de nanofibras de celulose, é ideal

a utilização somente da enzima endoglicanase, a qual age nas extremidades da cadeia de celulose (PAAKKO *et al.*, 2007; OGEDA, PETRI, 2010).

Para uma eficiente hidrólise enzimática, é necessário que as condições como tempo de hidrólise, temperatura ótima para crescimento enzimático, concentração enzimática (U/g) e concentração do substrato (%) sejam ajustados e controlados. Caso algum desses fatores não esteja adequado para a amostra em questão, a hidrólise não ocorrerá de maneira eficiente e não será possível a obtenção das nanofibras (MEYABADI e DADASHIAN, 2012).

O objetivo do processo de hidrólise é que as enzimas atuem na região amorfa, essa região apresenta maior área de contato e menor densidade, causando clivagem hidrolítica nas ligações que formam a celulose. Nesse processo também é importante assegurar condições ótimas de hidrólise, para que não ocorra a ação enzimática nas regiões cristalinas, que devem permanecer intactas (ZHU *et al.*, 2011).

3.1.3 Obtenção de nanofibras por método mecânico

O objetivo deste tratamento é a aplicação de forças que possibilitem a redução do tamanho das partículas de uma amostra. Para isso, podem ser utilizados os equipamentos ultra-turrax® (rotor estator), sonicador e homogeneizador de alta pressão, por exemplo. Na obtenção de nanofibras de celulose, a maioria dos estudos utilizam os métodos mecânicos como parte do processo para o isolamento. Entretanto, Varanasi *et al.* (2018) utilizaram apenas de homogeneizador de alta pressão e obtiveram nanofibras de celulose a partir de cenoura com diâmetro de 18 nm, aplicaram em filmes biodegradáveis e observaram uma melhoria nos parâmetros mecânicos e de permeabilidade de vapor de água em comparação com filmes que não tiveram a adição da nanofibra. Então pode-se fazer a utilização desse tratamento de forma isolada ou combinada com outros métodos.

Em relação aos equipamentos que fazem parte do escopo dos tratamentos mecânicos avaliados neste trabalho, a seguir serão explorados os mecanismos de ação de cada um deles: ultra-turrax® e o sonicador. O ultra-turrax® possui sistema de funcionamento que promove a ruptura das estruturas celulares da amostra através da força de turbulência gerada entre o rotor e o estator. Essa força pode ser controlada através da velocidade de rotação (LIRA, 2015).

Já o sonicador é um equipamento que tem como mecanismo de ação a cavitação, sendo um transdutor que converte energia em vibração para o líquido o qual está imerso, causando ruptura das estruturas celulares através de choques. O tamanho das partículas obtidas pode ser influenciado pelo tempo de sonicação, energia aplicada e volume de amostra (LIRA, 2015).

Esse equipamento é utilizado em pequena escala, comumente de uso laboratorial. Na obtenção de nanofibras de celulose, esse método é relatado como coadjuvante de tratamentos químicos como relatado por Khawas; Deka (2016), que demonstrou a melhor dispersão das nanofibras obtidas quando aplicado o ultrasonicador de alta frequência.

3.1.4 Obtenção de nanofibras a partir de resíduos agroindustriais

O desenvolvimento de nanofibras a partir de resíduos é amplamente estudado na comunidade científica, devido à possibilidade de ofertar um destino mais funcional para estes materiais e para a substituição de polímeros sintéticos. Fung *et al.* (2011) utilizaram os resíduos de óleos de palma, dendê e soja para a produção de nanofibras através de *eletrospinning* e posterior nanoencapsulação de *Lactobacillus acidophilus*. A aplicação das nanofibras teve como objetivo proteger as células probióticas do processo térmico, pois são termosensíveis. Os estudos de viabilidade mostraram boa capacidade de sobrevivência bacteriana de 78,6 a 90% em condições de eletrofiação e a viabilidade foi mantida em temperatura de refrigeração durante o estudo de armazenamento de 21 dias.

Tibolla *et al.* (2014) produziram nanofibras de celulose a partir do resíduo de casca de banana através dos métodos químico e enzimático e obtiveram um material rico em celulose cristalina, característica ideal para a aplicação como agente de reforço em filmes biodegradáveis. Além disso, as suspensões de nanofibras exibiram potencial zeta alto e negativo, que evitou que as nanofibras se agregassem e produziu uma suspensão coloidal mais estável. Ambos os tratamentos removeram a maior parte das hemiceluloses e lignina presentes na fibra de banana, sendo assim, os dois processos demonstraram-se eficientes para a produção de nanofibras de celulose.

Leite (2016) produziu nanofibras de celulose com o resíduo de mandioca por tratamento químico e obteve um produto com altos índices de cristalinidade, composição centesimal e propriedades térmicas e funcionais próprias para aplicação em filmes. A partir das análises de poder de inchamento e solubilidade, verificou-se que as amostras com fibras foram mais hidrofílicas que o amido. Em relação às características das nanofibras, os diâmetros para a casca e bagaço variaram de 2,4 nm a 5,4 nm e de 2,3 a 3,1 nm, respectivamente. E através das análises de FTIR, verificou-se a remoção de materiais lignocelulósicos durante os processos de isolamento.

Khawas; Deka (2016) isolaram nanofibras de celulose proveniente da casca da banana a partir de tratamentos químico e químico combinado com mecânico (ultrasonicador de alta

frequência) e compararam esses dois tratamentos entre si. Foi avaliado que o tratamento mecânico influenciou na estrutura das moléculas, o que gerou aumento da visualização de nanofibras. Porém, não alterou a composição química, cristalinidade e estabilidade térmica das nanofibras de celulose obtidas apenas com tratamento químico.

Varanasi *et al.* (2018) estudaram a produção de nanofibras de celulose a partir de um método sem utilização dos equipamentos e reagentes comumente empregados nesta técnica, com uma metodologia sustentável. As nanofibras foram produzidas a partir de casca de cenoura utilizando o método mecânico, que consiste na sequência das operações de moagem e homogeneização. As nanofibras foram aplicadas em filmes, os quais tiveram resistência e permeabilidade ao vapor de água semelhantes aos derivados de nanofibras de fibra de madeira. Ademais, foi realizado o estudo de impacto econômico e a produção de nanofibras de celulose proveniente de resíduos de cenoura apresentaram quatro vezes mais economia energética do que a fibra de madeira.

Guanha-Chalapud; Serna-Cock, Tirado (2022) obtiveram nanofibras de celulose a partir da coroa de abacaxi por método químico combinado com mecânico (ultrasom) e compararam as propriedades térmicas, de microscopia e infravermelho com uma celulose microcristalina comercial. A partir das análises realizadas, os autores constataram uma eficiente extração da celulose do resíduo industrial, o que comprova a valorização deste resíduo. As nanofibras obtidas tiveram diâmetro de 18 nm e uma temperatura de degradação máxima de 306 °C, fatores estes muito interessantes quando pensado em aplicação em filmes biodegradáveis.

A partir do exposto acima, entende-se a necessidade de mais pesquisa e otimização de métodos que utilizem os resíduos de produção da indústria de alimentos para melhor aproveitamento dos mesmos, tanto pelos atrativos da composição nutricional, quanto pelo emprego de tecnologias que preservem e economizam recursos naturais, aliadas a sustentabilidade do processo como um todo. Além da aplicação em filmes biodegradáveis, a nanotecnologia vem sendo relatada pela literatura também aplicada em produtos alimentícios, sendo que um levantamento detalhado sobre este tema está abordado no artigo de revisão desenvolvido (foi retirado do anexo para fins de publicação).

3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS COM NANOFIBRAS DE CELULOSE

Filmes biodegradáveis são embalagens com composição natural e de rápida degradação, ao contrário das embalagens convencionais, provenientes de derivados do petróleo que

demoram, em média, 400 anos para sua completa degradação (MMA, 2020). Os filmes têm como função proteger e aumentar a vida útil do alimento, mas podem ser elaborados com funcionalidades, como na aplicação de embalagem ativa e embalagem inteligente.

Os filmes biodegradáveis normalmente possuem propriedades mecânicas inadequadas e alta permeabilidade de água e vapor de água, o que dificulta o seu uso em diversos alimentos. Como alternativa para melhorar essas características a adição de agente de reforço tem sido estudada, os quais são denominados compósitos (SILVA *et al.*, 2009; SIQUEIRA *et al.*, 2010).

Os compósitos são materiais que consistem em, pelo menos, dois componentes: a matriz e o agente de reforço. A produção de partícula nanométrica vem sendo pesquisada por ser rígida e atuar como agente de reforço quando aplicada em materiais compósitos (SILVA *et al.*, 2009). As nanopartículas de reforço devem possuir uma de suas dimensões menor que 100 nm (SIQUEIRA *et al.*, 2010).

Os nanocompósitos quando aplicados em embalagens podem impedir a migração de umidade e evitar danos mecânicos que podem ocorrer no transporte e comercialização, conservando a sua integridade física. Além disso, controla a respiração das frutas e vegetais, o que possibilita maior tempo de armazenamento dos produtos e conservação das características sensoriais (MALI *et al.*, 2010).

Ademais, estudos demonstram outras vantagens na utilização de nanofibras de celulose como agentes de reforço: aumento da barreira à luz, diminuição da absorção de água, permeabilidade de vapor de água e solubilidade (BONDESON *et al.*, 2006), fatores esses que afetam positivamente na vida útil dos alimentos.

Azeredo *et al.* (2009) elaboraram filmes comestíveis a partir de purê de manga com adição de nanofibras de celulose. As nanofibras foram adicionadas com a finalidade de atuarem como agente de reforço para estes filmes. A adição de nanofibras melhorou significativamente as propriedades mecânicas dos filmes, aumentando a resistência à tração de 4 Mpa para 8 Mpa para os filmes com adição de 36 % de nanofibras de celulose em comparação com os filmes controle. Além disso, houve a diminuição de barreira de vapor de água de 2,6 (controle) para 1,6 g.mm/kPa.h.m² (36 % de adição de nanofibras de celulose).

Chen *et al.* (2009) aplicaram nanofibras de casca de ervilha em filmes de amido de ervilha e obtiveram filmes com alta transparência e barreira de vapor de água em comparação com os filmes controle sem adição de nanofibras de ervilha. Dai *et al.* (2018) aplicaram nanocelulose proveniente de casca de abacaxi em filmes de goma gelana e constataram que a adição desta diminuiu a transmitância de luz e aumentou a estabilidade térmica dos filmes

elaborados. Além disso, obtiveram melhora de 48,21 % na resistência à tração quando comparado ao filme sem adição de nanocelulose.

Reichert (2021) elaborou filmes de amido de milho com adição de celulose obtida da coroa do abacaxi e obteve resultados positivos em relação à solubilidade e permeabilidade de vapor de água em comparação com os filmes sem a adição da celulose. Além disso, os filmes foram totalmente degradados em 60 dias na análise de biodegradabilidade, demonstrando ser uma alternativa sustentável ao uso dos filmes convencionais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PREPARO DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI

Foi utilizado o resíduo casca de abacaxi (*Ananas comosus*), tipo pérola, proveniente da produção de sucos de uma empresa localizada na cidade de Osório/RS. No laboratório, o resíduo foi congelado a -20 °C até o momento da secagem.

O resíduo foi seco através de aquecimento em estufa com circulação de ar forçada a 70 °C até peso constante, posteriormente processado em moinho de facas para obtenção de uma farinha e peneirado a 100 mesh. A farinha foi lavada com etanol por arraste de vapor a uma proporção de 1:10 (p/v), para remoção das frações lipídicas e pectinas e seca novamente em estufa com circulação de ar a 105 °C até peso constante. O material resultante foi embalado a vácuo e armazenado em local seco e protegido da luz.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA

4.2.3 Análises físico-químicas

A caracterização físico-química da farinha foi realizada a partir da metodologia oficial da *Association of Official Agricultural Chemists - AOAC* (2005), onde foram avaliados os teores de umidade por diferença de peso após a secagem em estufa a 105 °C, cinzas por incineração, proteína pelo método de *Kjeldahl*, lipídeos por *Soxhlet* e fibras totais através do kit enzimático-gravimétrico. Todos os resultados foram expressos em porcentagem e o conteúdo de carboidratos foi calculado por diferença.

4.2.4 Análise de celulose, lignina e hemicelulose

O teor de celulose foi calculado de acordo com a metodologia proposta por Sun (2004), o qual foi pesado 1 grama da amostra em base seca, adicionado 20 mL de ácido acético 80 % e 2 mL de ácido nítrico 70 % em frasco com tampa e submetido ao banho-maria a 110 °C por 20 minutos. Posteriormente, foi efetuado o resfriamento do frasco em banho de gelo. Adicionou-se 60 mL de água destilada e filtrou-se a vácuo o material, o sólido foi lavado várias vezes com água destilada e etanol com a finalidade de remover o ácido nítrico e os produtos gerados durante a reação. A amostra foi transferida para um frasco previamente tarado e o sistema foi submetido à secagem em estufa por 24 h a 70 °C. A massa de celulose foi calculada de acordo com a Equação (1):

$$\text{Equação (1): } \%celulose = \frac{MPA-MP}{MA} \times 100$$

Onde: MPA é a massa da placa com amostra; MP é a massa da placa e MA é a massa da amostra.

Para a análise das ligninas, foram pesados 0,3 g de amostra e adicionados em 3 mL de ácido sulfúrico 72 % em *erlenmeyers* que foram submetidos ao banho-maria a 30 °C por 1 hora, com agitação manual a cada 10 minutos para garantir uma hidrólise ácida uniforme. Posteriormente, o material foi diluído em 84 mL de água deionizada e submetido a autoclavagem a 121 °C por 1 h. O teor de lignina insolúvel em ácido foi determinado a partir da filtração a vácuo em cadinhos de vidro previamente tarados. Os sólidos foram lavados com 50 mL de água destilada aquecida e seco em estufa até peso constante. A amostra foi calcinada para quantificação de cinzas de acordo com a metodologia AOAC (2005). O teor de lignina foi calculado pela Equação (2):

$$\text{Equação (2): } \%lignina = \frac{MP-MFA-MC}{MI} \times 100$$

Onde: MP: massa da placa; MFA: massa final da amostra; MC: massa de cinzas e MI: massa inicial.

O filtrado da análise de lignina insolúvel corresponde à lignina solúvel, sendo a análise realizada em espectrofotômetro UV/VIS no comprimento de onda de 240 nanômetros (nm). Para o cálculo foi utilizada a absorvidade molar de 25, considerando os comprimentos de onda de 240 nm conforme a metodologia proposta por Sluiter (2008). O teor de lignina solúvel foi determinado pela Equação (3):

$$\text{Equação (3): } \%ligs = \frac{abs.vf.FD}{a.MI} \times 100$$

Onde: % ligS é o teor de lignina solúvel; abs: absorvância; vf: volume do filtrado; FD: fator de diluição; a absorvidade molar e MI: massa inicial.

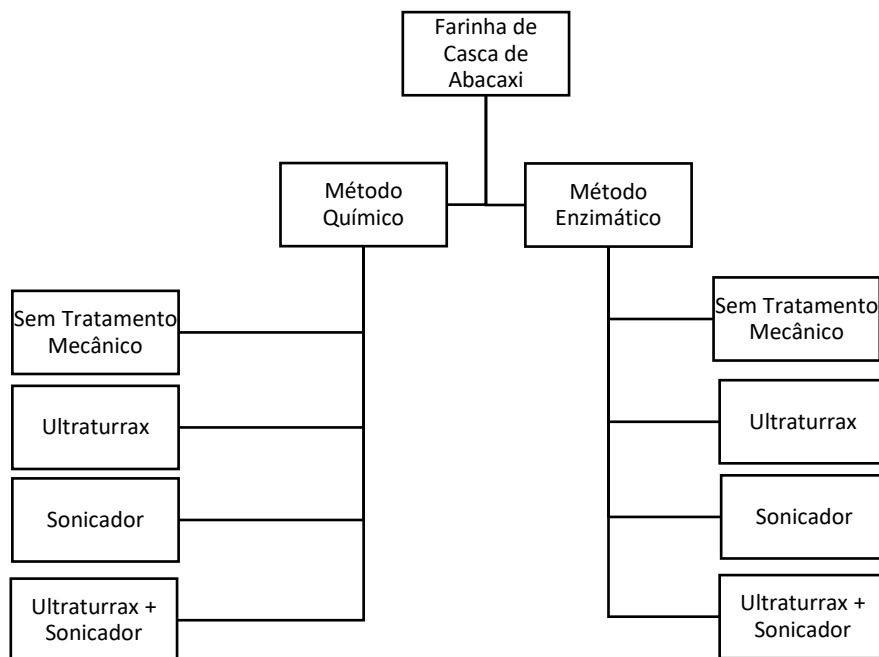
O teor de hemicelulose foi calculado por diferença dos teores encontrados de celulose, ligninas e cinzas, conforme Equação (4).

$$\text{Equação (4): } \%hemicelulose = 100 - \%celulose - \%lignina\ total - \%cinzas$$

4.3 OBTENÇÃO DAS NANOFIBRAS

Para obtenção das nanofibras foram estudados diferentes métodos de isolamento da celulose, como o químico, enzimático e mecânico. Foram testadas as diferentes combinações: método químico, químico & mecânico, enzimático e enzimático & mecânico, conforme demonstrado no planejamento experimental da Figura 5.

Figura 5 - Planejamento Experimental



Fonte: autora

4.3.3 Método químico

O tratamento químico foi realizado seguindo as metodologias propostas por Tibolla; Pelissari; Menegalli (2014) e Leite (2016). O objetivo de cada etapa do tratamento químico foi eliminar componentes não-celulósicos, como lignina, hemicelulose e pectinas até o isolamento da celulose. A figura 6 demonstra o fluxograma com as etapas para a obtenção das nanofibras de celulose e sua aparência ao final de cada tratamento.

Foi realizado o primeiro tratamento alcalino com o objetivo de solubilizar as frações de lignina da fibra vegetal. Utilizou-se uma solução de KOH 5 % para proporção de 1:20 m/v de amostra, sob vigorosa agitação com agitador mecânico, em temperatura ambiente durante 16 horas. A amostra foi separada por centrifugação (10.000 g por 15 min a 15 °C) e o material

insolúvel foi diluído em água destilada para realização de três lavagens consecutivas nas condições de centrifugação supracitas com a finalidade de remover o resíduo da amostra.

Figura 6 - Fluxograma para obtenção da nanofibras de celulose pelo tratamento químico



Fonte: autora

A partir disso, o material insolúvel foi submetido ao tratamento com NaClO₂ a 70 °C por 1 hora com a finalidade de oxidar a lignina presente na amostra, provocando deslignificação através da formação de grupos químicos que facilitam a solubilização da lignina em meio alcalino. Foi realizada uma lavagem do material, além da separação por centrifugação.

Novamente foi realizado o tratamento alcalino nas mesmas condições descritas anteriormente para potencializar os efeitos da deslignificação das fibras. Por fim, foi realizado um tratamento ácido com o objetivo de melhorar a desintegração das nanofibras, mantendo apenas as suas regiões cristalinas. O sólido úmido resultante da última centrifugação foi diluído em H₂SO₄ 1 % e submetido ao banho-maria a 80 °C por 1 hora. A amostra foi centrifugada e armazenada sob refrigeração em tubo fechado.

4.3.4 Método enzimático

Para o isolamento da celulose através do método enzimático, foi utilizada a metodologia proposta por Tibolla; Pelissari; Menegalli (2014), a qual inicia realizando um pré-tratamento alcalino, da mesma maneira que no método químico, com a finalidade de solubilizar as ligninas e melhorar a ação do composto enzimático. Utilizou-se uma solução de KOH 5 % para proporção de 1:20 m/v de amostra, sob vigorosa agitação com agitador mecânico, em temperatura ambiente durante 16 horas. Foram realizadas dez lavagens com água destilada para neutralização do pH da amostra. A Figura 7 mostra o resíduo solúvel obtido das lavagens após o tratamento alcalino.

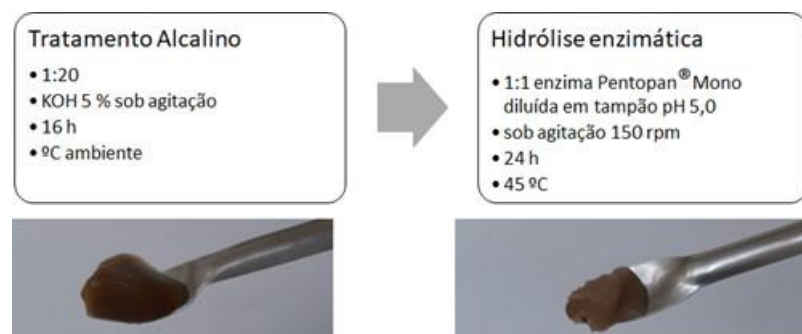
Figura 7 – Resíduo solúvel obtido das lavagens após o tratamento alcalino



Fonte: autora

Após, o resíduo insolúvel foi submetido à hidrólise enzimática com o composto enzimático Pentopan®Mono (Endo- β -(1 \rightarrow 4)-xilanase purificada de *Thermomyces lanuginosus* produzida por fermentação submersa de um microrganismo *Aspergillus oryzae* geneticamente modificado – Sigma-Aldrich) diluído em 60 mL de tampão acetato pH 5,0 sob agitação de 150 rpm, durante 24 horas, a uma temperatura controlada de 45 °C. Para encerrar a atividade da enzima, a amostra foi submetida ao banho-maria a 80 °C por 30 minutos. Por fim, a amostra foi centrifugada para separação do resíduo insolúvel e o mesmo foi armazenado sob refrigeração. A Figura 8 demonstra o fluxograma para obtenção das nanofibras de celulose descrita acima.

Figura 8 – Fluxograma para obtenção da nanofibras de celulose pelo tratamento enzimático



Fonte: autora

Foi avaliada a atividade do complexo de enzimas hemicelulolíticas a partir da metodologia proposta por GHOSE e BISARIA (1986), bem como pH ótimo e temperatura ótima. Foi constatado que a atividade do complexo enzimático está dentro de suas especificações técnicas, de 160 U/g (xilanolítica) e 2,5 FPU/g (celulolítica), a sua melhor atividade é em pH 5,0 e temperatura de 50 °C.

4.3.5 Método mecânico

Além de avaliar a obtenção de nanofibras de celulose pelos métodos químico e enzimático, foi estudada a influência de diferentes intervenções mecânicas após esses métodos. O tratamento mecânico possibilita a obtenção de fibras finas e comprimentos em microns, já a combinação de diferentes métodos, como o químico e enzimático, podem produzir fibras de celulose ainda mais finas com diâmetros entre 5 a 60 nm (LEITE, 2016).

Os resíduos insolúveis provenientes dos tratamentos químico e enzimático foram diluídos em 1:100 m/v de água destilada e submetidos a ação de três tratamentos mecânicos. A metodologia para esses tratamentos teve como base os trabalhos prévios realizados pelo grupo de pesquisa e adaptação do método proposto por Leite (2016):

- Com o homogeneizador Ultra-turrax® (Ika, T25, China), por 5 min (3 ciclos) a 7000 rpm com haste (S 25 N – 25 G), demonstrado na Figura 9.
- Com sonicador (QSonica Q700, U.S.A.), por 5 min (3 ciclos) a 20 kHz 60 % da potência total de 700 watts, demonstrado na Figura 10.
- Combinado: homogeneizador Ultra-Turrax (Ika, T25, China), por 5 min (3 repetições) a 15000 rpm com haste (S 25 N – 25 G) e sonicador (QSonica Q700, U.S.A.), por 5 min (3 ciclos) a 20 kHz 60 % da potência total de 700 watts.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

A análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizada junto ao Centro de Microscopia e Microanálise (CMM) da UFRGS para avaliação da microestrutura do material insolúvel obtido dos tratamentos realizados a fim de identificar a presença de nanofibras.

A amostra foi solubilizada em água destilada na concentração 1:100 v/v e homogeneizada por 1 minuto em vórtex. Em seguida, uma gota da mesma foi pingada em uma lamínula de vidro colada com fita de carbono em *stubs* e seca em estufa a 40 °C por 10 minutos. O conjunto foi submetido a metalização com uma camada de 92 Å de ouro para melhorar a condutividade e submetido à microscopia sob tensão de aceleração de 10 kV de acordo com a metodologia de Tibolla *et al.* (2014). O diâmetro médio das nanofibras foi determinado pela análise das imagens obtidas no MEV a partir de 50 medidas das fibras utilizando o software ImageJ.

4.4.4 Calorimetria exploratória diferencial

A análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foi realizada em calorímetro Shimadzu® modelo DSC 60 para avaliar a metrificação do fluxo de calor da amostra em função da temperatura e do tempo. O ensaio foi realizado na faixa de temperatura ambiente a 300 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min, gás de purga vazão constante de 25 ml/min, onde foram observados os picos endotérmicos e exotérmicos das amostras.

4.4.5 Análise termogravimétrica

Para avaliação da estabilidade térmica da amostra foi aplicada a análise termogravimétrica (TGA) em analisador termogravimétrico (modelo TGA-50, Shimadzu, Japão) nas faixas de temperatura ambiente a 600 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min sob fluxo de nitrogênio. Ao final da análise, foi calculada a perda de peso em relação ao peso inicial da amostra. A partir disso, um gráfico de temperatura por perda de peso foi realizado.

4.4.6 Difração de raio-x

Os difratogramas XRD foram coletados em um difratômetro XPert Pro MD (PANalytical, Holanda) com um tubo de cobre a 40 kV e 30 mA a uma faixa 2θ de 0° a 50°, com uma velocidade de varredura de 2 °C / min. Os índices de cristalinidade (IC) foram calculados a partir da Equação (5):

$$\text{Equação (5): } IC (\%) = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100$$

Onde: I₀₀₂ é a intensidade máxima de difração da região cristalina (2θ ~ 22,6°) e I_{am} é a intensidade de difração da região amorfa (2θ ~ 18°)

4.5 APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS

Para elaboração dos filmes foram utilizadas as nanofibras de celulose obtidas pelo tratamento enzimático combinado com sonificador. A escolha deste tratamento deu-se pela avaliação dos dados obtidos nas análises de MEV, TGA e Difração de Raio-X, o qual demonstrou ser o tratamento com os melhores resultados em relação aos obtidos dos demais tratamentos.

Os filmes foram elaborados com amido de mandioca (Yoki Alimentos, Brasil, lote D22BRVP261) como base da solução filmogênica e glicerol (Sigma, Brasil) como plastificante,

a partir do método de *casting*. A solução filmogênica foi elaborada com 4 g de amido de mandioca, 96 mL de água destilada e 1 g de glicerol. Após a pesagem, a solução foi submetida ao banho-maria a 80 °C por 15 min sob agitação mecânica com a finalidade de gelatinizar o amido, obtendo-se assim, a solução filmogênica controle.

Para a elaboração dos filmes contendo nanofibras de celulose, diferentes concentrações das mesmas foram adicionadas na forma de solução a solução filmogênica controle. As concentrações estudadas foram 3 e 6 % de adição de nanofibras de celulose, em relação ao peso de amido, em base seca. As concentrações estipuladas estão de acordo com as estudadas por Varanasi *et al.* (2009). Além disso, Van der Berg (2007) relata que a adição de concentrações acima de 10 % promove a aglomeração das nanopartículas, causando separação de fase do compósito e prejudicando as propriedades mecânicas dos filmes obtidos. As soluções filmogênicas foram vertidas em placas de acrílico (0,25 g/cm²) e secas em estufa de circulação de ar forçada (DeLeo, modelo B5AFD, Brasil) a 35 °C por 16 horas, de acordo com a metodologia adaptada de Pagno *et al.* (2015).

4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

4.6.3 Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos filmes foi analisada da mesma maneira que foi descrita no item 4.4.3.

4.6.4 Biodegradabilidade

Para avaliar como os filmes se degradam quando são enterrados e expostos à microflora natural encontrada no solo foi realizada a análise de biodegradabilidade. Os filmes foram cortados em retângulos (2 x 3 cm) e secos em estufa (DeLeo, modelo TLK48, Brasil) a 60 °C até peso constante. Dado este processo, os mesmos foram dispostos entre malhas de alumínio de 2 mm previamente secas por 48 h a 60 °C e enterrados em caixas de plástico compartimentadas (5,5 x 6 x 6,5 cm), com área superficial de 33 cm² contendo solo orgânico natural com pH próximo à neutralidade, a uma profundidade de 4 cm da superfície do solo. O solo foi mantido em 40 % de teor de água, sendo regado com água destilada a cada dois dias.

A cada 5 dias, o conjunto da malha e filme foi retirado do solo, lavado com água destilada e seco em estufa a 60 °C até peso constante. A perda de peso dos filmes após a biodegradação foi determinada pela Equação (6):

$$\text{Equação (6): } WL (\%) = \frac{m_t - m_o}{m_o} \times 100$$

Onde: WL é a perda de massa dos filmes, m_t é a massa seca e m_o é a massa inicial.

4.6.5 Permeabilidade ao vapor de água

Os filmes foram colocados em células de permeação (63 mm de diâmetro e 25 mm de altura) preenchidas com solução de cloreto de cálcio anidro granular e foram hermeticamente seladas. Esse sistema foi acondicionado em câmara de vidro com uma solução supersaturada de cloreto de sódio 75 % m/v a 25 °C por 24 horas. A permeabilidade ao vapor de água foi mensurada gravimetricamente com balança analítica e calculada usando a Equação (7), conforme metodologia de Pagno *et al.* (2015).

$$\text{Equação (7): } wvp = \frac{w.L}{A.t.\Delta p}$$

Onde: w é a massa de água permeada; L é a largura do filme; A é a área total do filme e Δp é a diferença entre a pressão interna e externa.

4.6.6 Propriedades mecânicas

Os filmes foram cortados em tiras de 100 mm de comprimento e 10 mm de largura e a espessura foi medida em cinco pontos diferentes e aleatórios com micrômetro digital (DIGIMESS, IP40, Brasil). A análise de tensão de ruptura no ensaio de tração e percentual de alongamento na ruptura foi realizada por texturômetro (TA.XT2i e Stable Micro Systems, UK) com uma célula de carga de 5 kg, distância inicial entre as garras de 50 mm e velocidade de tração de 0,8 mm/s, conforme metodologia de Pagno *et al.* (2015).

4.6.7 Propriedades ópticas

Foram realizadas análises de cor e opacidade dos filmes elaborados. Para análise de opacidade, retângulos de filmes foram cortados, dispostos em uma cubetas de quartzo e medida absorvância em espectrofotômetro de UV (Shimadzu UV-1800) na faixa de 210 a 600 nm. Uma cubeta de quartzo vazia foi utilizada como branco. O valor da opacidade foi calculado a partir da divisão da absorvância (nm) pela espessura do filme (mm), de acordo com a metodologia de Pagno *et al.* (2015).

Para análise de cor dos filmes foi utilizado colorímetro (Hunter Lab, modelo Miniscan XE, USA), operado com D65 (luz do dia) e utilizando os parâmetros de cores CIELab, onde L^*

(luminosidade), a* (vermelho-verde) e b* (amarelo-azul) foram determinados. A diferença de cor foi calculada pela Equação (8):

$$\text{Equação (8): } \Delta E^* = [\Delta L^* 2 + \Delta a^* 2 + \Delta b^* 2]^{1/2}$$

Onde: ΔL é a diferença de luminosidade; Δa é a diferença entre vermelho-verde; Δb é a diferença entre amarelo-azul.

4.6.8 Solubilidade em água

As amostras foram previamente secas em estufa (DeLeo, TLK 48, Brasil) a 105 °C por 24 horas. Em seguida, as mesmas foram imersas em água destilada (30 mL) sob agitação por 24 h em temperatura ambiente. As amostras foram secas novamente a 105 °C por 24 horas e o material não solubilizado foi pesado para determinação do peso final. A solubilidade foi calculada a partir da Equação (9):

$$\text{Equação (9): } S(\%) = \frac{mf - mo}{mo} \times 100$$

Onde: mf = massa final; mo = massa inicial.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise estatística ANOVA e análise de comparação de médias *Tukey* ao nível de 5 % de significância com auxílio do software Past. Todos os gráficos apresentados foram plotados no software Origin versão 2022.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI

A farinha de casca de abacaxi obtida apresentou aspecto de coloração amarelada e com granulometria fina, de 100 *mesh*, conforme esperado devido às características naturais da matriz e processos realizados para obtenção da mesma (Figura 9).

Figura 9 – Farinha de casca de abacaxi



Fonte: autora

A caracterização da farinha de casca de abacaxi está apresentada na Tabela 1. A determinação analítica da umidade dos produtos alimentícios secos é um fator fundamental para controle da estabilidade, qualidade e composição. Foi encontrado teor de umidade de 11,5 %, quantidade de acordo com a RDC nº 263 de 2005 (BRASIL, 2005) que determina o regulamento técnico de farinhas de partes comestíveis de frutas com limite de 15 % de umidade.

O teor de cinzas, resíduo mineral, foi de 4,8 %, valor similar aos estudos de Santos *et al.* (2017) e Crizel (2017) que também avaliaram farinha de casca de abacaxi e obtiveram 4,14 %, 4,58 %, respectivamente. Já a quantificação de proteínas foi de 10,7 %, enquanto Santos *et al.* (2017) obteve 5,54 % e Crizel (2017) 13,56 %. Essas diferenças entre os resultados obtidos em comparação com os da literatura podem ser devido a diversos fatores, como a origem e variedade da fruta, também de que maneira foi realizada a obtenção das cascas de abacaxi, como os diferentes métodos de extração de suco por exemplo, até a obtenção da farinha propriamente dita. Todos esses fatores influenciam na composição centesimal da farinha obtida.

Tabela 1 – Composição centesimal da farinha de casca de abacaxi

| Parâmetro | % |
|---------------------|----------------------|
| Umidade | 11,5 ± 0,2 |
| Cinzas (b.s) | 4,8 ± 0,09 |
| Proteínas (b.s) | 10,7 ± 0,2 |
| Lipídeos (b.s) | 0,67 ± 0,09 |
| Fibras Totais (b.s) | 55,7 ± 0,04 |
| Carboidratos (b.s) | 32,9 (por diferença) |

Os valores representam a média (g/100g) ± desvio padrão, das análises realizadas em triplicata. (b.s) = valores estabelecidos em base seca.

O teor de lipídeos foi de 0,67 %, enquanto Crizel (2017) encontrou 1,02 %, Dai; Huang (2016) 1,57 % e Moraes *et al.* (2017) 1,3 %. O valor encontrado no presente estudo foi inferior em relação aos descritos na literatura devido ao processo de lavagem com etanol que foi realizada na casca de abacaxi, justamente com a finalidade de redução do extrato etéreo e pectinas para otimizar o isolamento da celulose, estudos esses que não realizaram este processo, pois o objetivo do uso da casca de abacaxi era para outro fim.

O teor de fibras totais encontrado foi de 55,7 %, similar ao encontrado por Carneiro (2020) de 56,3 %. Vale ressaltar que pode haver variações na composição físico-química do bagaço de frutas devido aos diferentes métodos de produção, processamento, obtenção do resíduo e cultivar.

A composição química está apresentada na Tabela 2. A quantidade de celulose da farinha de casca de abacaxi apresentou 25,8 %, valor equiparado com o obtido por Dai e Huang (2016) que também isolaram celulose de casca de abacaxi e obtiveram 25 % no teor de celulose. Leite (2016) isolou nanofibras de celulose a partir da casca de mandioca que apresentava 14,8 % de celulose e realizou a aplicação em filmes biodegradáveis, o que indica que valores inferiores de celulose também possibilitam a obtenção de nanofibras de celulose.

A lignina total foi de 44,8 %, já as quantidades de lignina solúvel e insolúvel foram de 11,2 e 33,6 %, respectivamente. A literatura aborda valores de lignina total em diferentes faixas a partir da matriz alimentícia estudada, valores que vão de 11 % com a fibra de sisal (ESMERALDO, 2006), 18,8 % para bagaço de cana-de-açúcar (SUN, 2004), até 42 % para resíduo de oliveira (LEITE *et al.*, 2016). A lignina tem influência direta na rigidez das fibras na parede celular, portanto, o alto conteúdo presente na casca de abacaxi faz com que seja mobilizado maior esforço para isolamento das nanofibras de celulose. O teor de hemicelulose foi de 24,6 %, valor equiparado com o resíduo proveniente da coroa do abacaxi que apresenta teor de 20 % de acordo com Prado e Spinacé (2019).

Tabela 2 – Composição química da farinha de casca de abacaxi

| Parâmetro | % |
|-------------------------|------------|
| Celulose (b.s) | 25,8 ± 2,8 |
| Lignina Solúvel (b.s) | 11,2 ± 2,5 |
| Lignina Insolúvel (b.s) | 33,6 ± 1,8 |
| Lignina Total (b.s) | 44,8 |
| Hemicelulose (b.s) | 24,6 |

Os valores representam a média (g/100g) ± desvio padrão, das análises realizadas em triplicata. (b.s) = valores estabelecidos em base seca.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI

5.2.3 Microscopia eletrônica de varredura

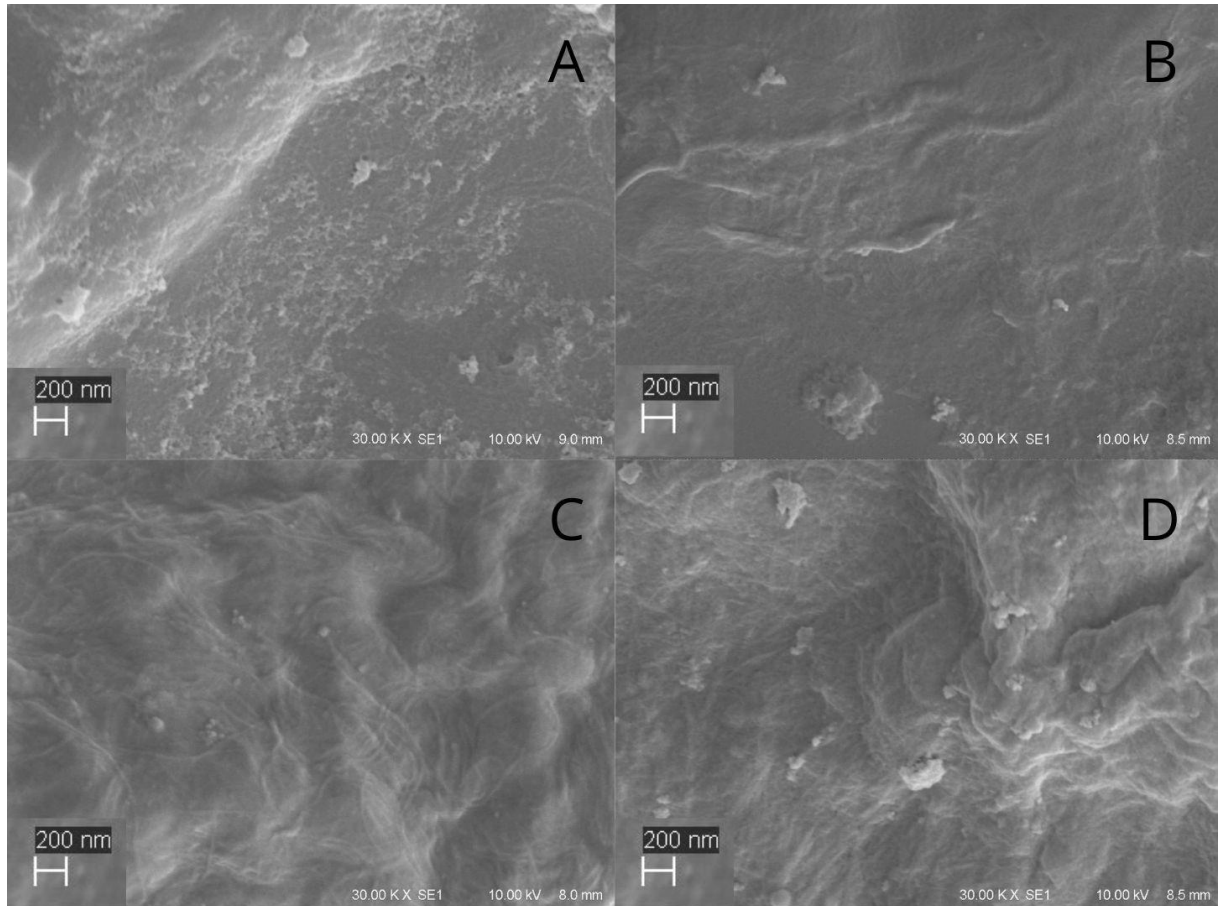
A análise de MEV oferece imagens com informações sobre morfologia das estruturas obtidas. As microestruturas obtidas em cada tratamento e, principalmente, as alterações devido aos tratamentos mecânicos podem ser observadas nas Figuras 10 e 11. As imagens indicadas como 1 são referentes aos tratamentos químico e enzimático (Figura 10-A e 11-A), respectivamente, sem os tratamentos mecânicos e não foi possível visualizar qualquer estrutura na forma de fibras. Entretanto, as imagens são limpas, comprovando a realização do isolamento da celulose pela retirada de impurezas como leveduras, açúcares, proteínas e demais compostos, que são caracterizadas por pontos grandes nas imagens de MEV.

Guanha-Chalapud; Serna-Cock; Tirado (2022) obtiveram nanofibras de celulose provenientes da coroa de abacaxi e constatam que a partir da visualização das fibras pelas imagens microscópicas obtidas no MEV, pode-se afirmar que a lignina e a hemicelulose que envolviam as fibras de celulose foram eliminadas pelos métodos aplicados.

Já na aplicação dos tratamentos mecânicos, pode-se visualizar poucos feixes de fibras (Figura 10-B e 11-B) pela aplicação do ultra-turrax®. Foi possível visualizar fibras maiores e em menor quantidade, demonstrando que a aplicação da força mecânica auxiliou no processo de obtenção das nanofibras. Na aplicação do sonicador (Figuras 10-C e 11-C), observou-se a disposição mais evidente de fibras tanto no tratamento químico, quanto no enzimático, com melhor visualização neste último. As fibras foram pequenas e dispostas em um emaranhado característico das nanofibras de celulose, porém no tratamento químico as fibras estão

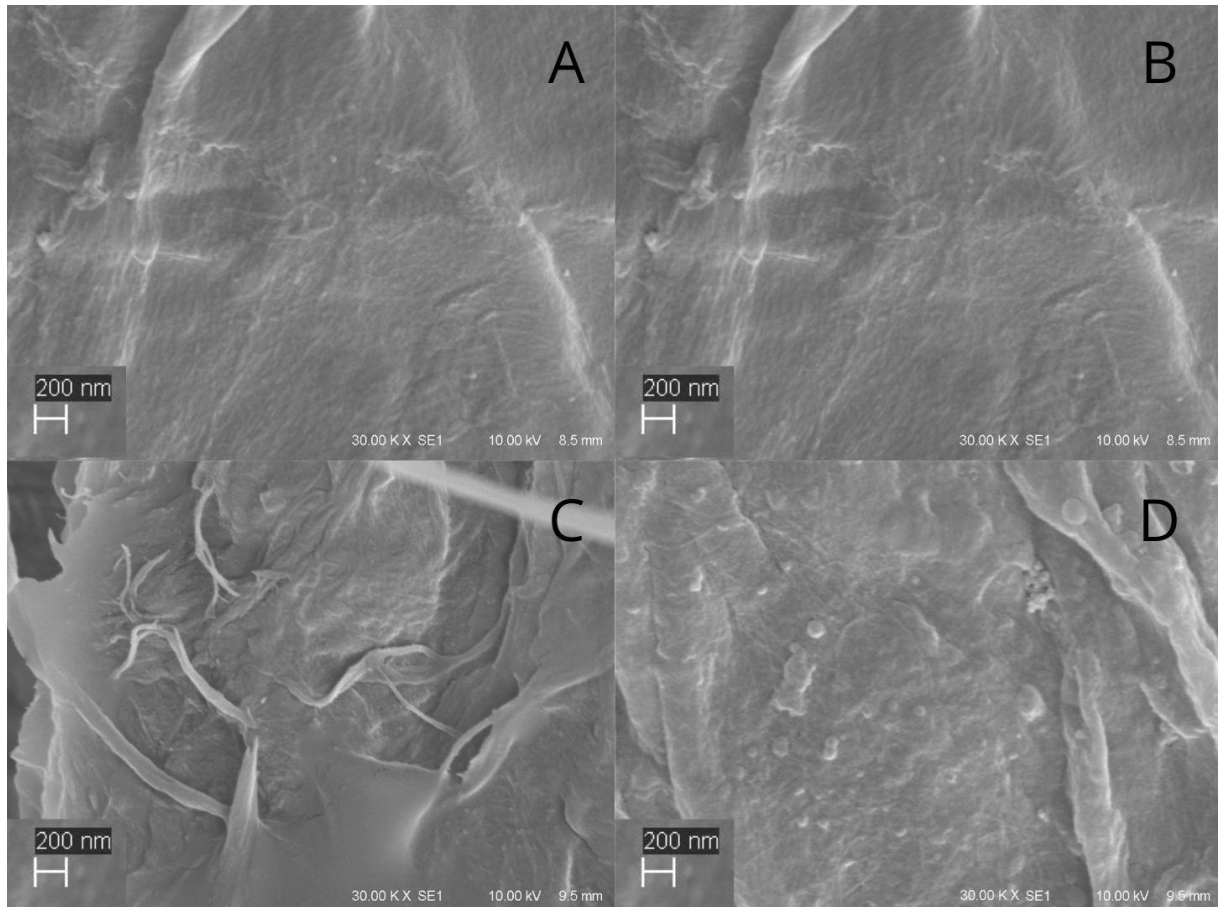
encobertas. Já na aplicação dos tratamentos mecânicos combinados, ultra-turrax® e sonicador, observa-se as características de cada um em conjunto, fibras pequenas encobertas e fibras maiores em menor quantidade.

Figura 10 – Imagens de MEV do tratamento químico. 1: sem tratamento mecânico; 2: ultra-turrax®; 3: sonicador; 4: ultra-turrax® + sonicador (magnificação: 30.000x)



Fonte: autora

Figura 11 - Imagens de MEV do tratamento enzimático. 5:sem tratamento mecânico; 6: ultra-turrax®; 7: sonicador; 8: ultra-turrax® + sonicador (*magnificação: 30.000x*)



Fonte: autora

Esses comportamentos se devem às forças de cisalhamento envolvidas nos tratamentos mecânicos, que possibilitam a melhor dispersão das nanofibras em meio aquoso (PICKERING, 2008). As particularidades de ação de cada tratamento mecânico os diferenciam na forma em que as nanofibras serão dispostas. O ultra-turrax® possui a capacidade de reduzir o tamanho da partícula pela quebra devido à turbulência gerada entre o rotor e o estator, caracterizando poucas fibras e de tamanho maior. Já o sonicador causa uma onda de choque, proveniente do transdutor de energia elétrica, que possibilita a redução de tamanho das partículas de maneira muito eficiente, o que possibilitou a obtenção e visualização de maior quantidade de estruturas em formato de fibras e com espessura menor (LIRA, 2015).

As fibras vegetais possuem ligações de hidrogênio interfibrilares que são envoltas em estruturas multicamadas, o que torna complexo o processo de acesso ao interior da mesma (SOMERVILLE *et al.*, 2004). Khawas; Deka (2016) também avaliaram o comportamento da aplicação de tratamento químico e tratamento químico combinado com mecânico

(ultrasonicador de alta frequência) e constataram que a aplicação do tratamento mecânico possibilitou a fragmentação e redução das alterações químicas e estruturais das nanofibras. Os autores obtiveram imagens de MEV semelhantes às obtidas no presente estudo.

Além das diferenças morfológicas entre os tratamentos, foi possível mensurar o diâmetro das fibras com base nas imagens do MEV de apenas um dos tratamentos estudados, o tratamento enzimático combinado com sonicador, pois para isso é necessário fazer o isolamento das fibras na imagem para aproximações que permitam analisar o diâmetro. Essa etapa não foi possível de ser realizada nos demais tratamentos por conta do emaranhado de fibras que constam nas imagens.

A partir desta análise, foi constatada média de 75 nm de diâmetro das fibras provenientes do tratamento enzimático com sonicador. Como o diâmetro das fibras é inferior a 100 nm, pode-se afirmar que foram obtidas nanofibras a partir deste tratamento.

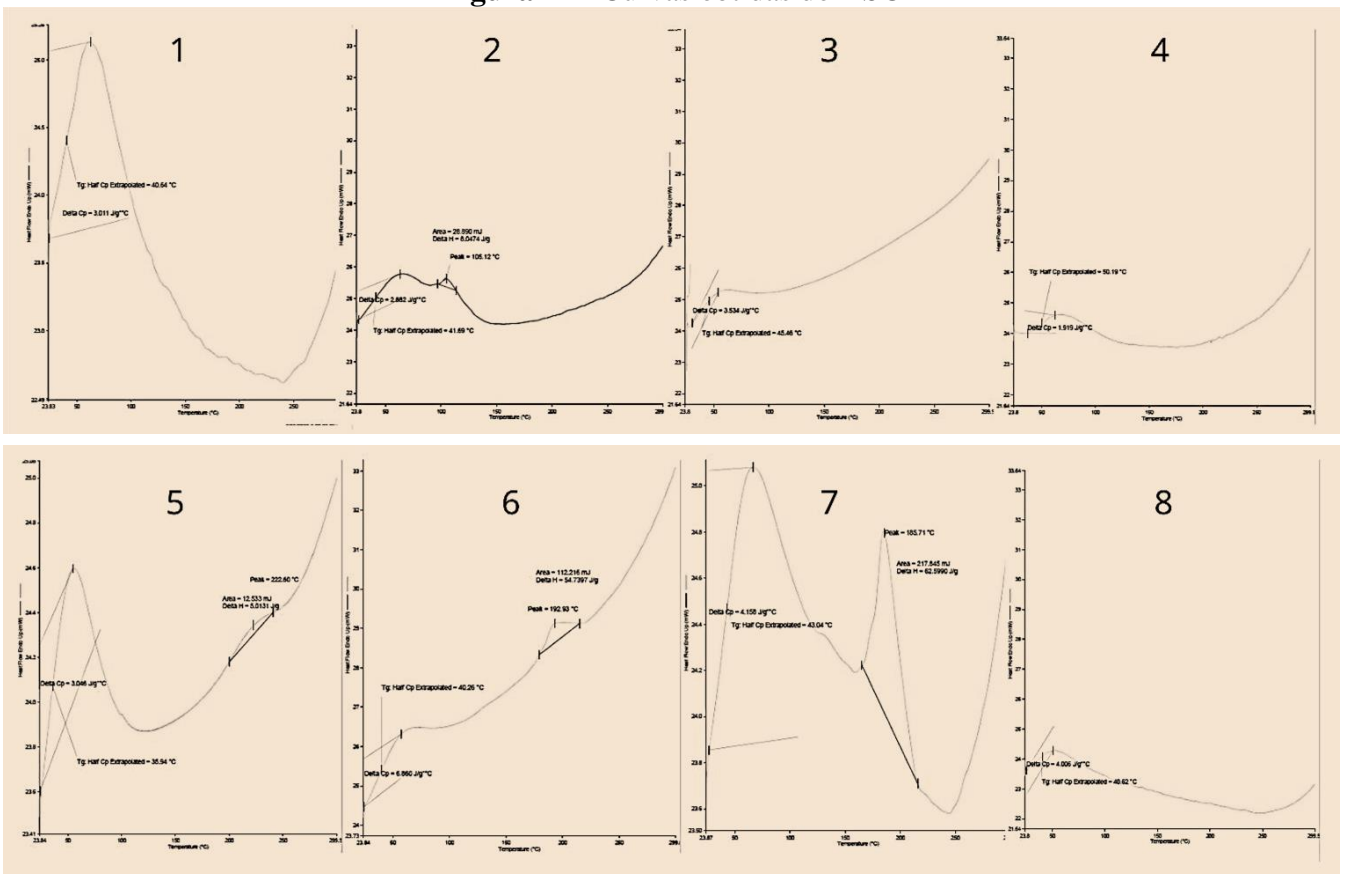
5.2.4 Calorimetria exploratória diferencial

A análise de calorimetria exploratória diferencial tem como objetivo investigar as interações entre os componentes da amostra e a ruptura das ligações de hidrogênio. Todos os tratamentos apresentaram o primeiro pico endotérmico entre as temperaturas de 70 a 100 °C, caracterizado pela perda de umidade que acontece nesta temperatura, comportamento descrito na literatura como faixa de temperatura que corresponde ao processo de desidratação das celuloses nativas (LEAL, 2007; NEENU *et al.*, 2022). É possível visualizar esse comportamento mais evidenciado nos tratamentos 1, 5 e 7, como demonstrado na Figura 12. Tal comportamento deve-se à variação de componentes residuais nas amostras, o que ocasiona o alargamento da endotérmica de perda de água, conforme relatado por Neenu *et al.* (2022), que avaliou nanofibras de celulose a partir do bagaço de abacaxi e obteve resultado semelhante. Sendo assim, o alargamento dos picos está relacionado com o conteúdo de hemicelulose e lignina remanescentes do processo de obtenção das nanofibras. Portanto, o estreitamento do pico significa a eficiência da eliminação dos compostos não celulósicos.

Outro pico pôde ser observado na faixa de temperatura entre 150 e 200 °C, nos tratamentos 2, 5, 6 e 7, o qual o equipamento gerou os dados de Delta H, sendo superior no tratamento 7. Esse mesmo pico foi relatado por Leal (2007) que avaliou nanofibras de celulose provenientes de fibra de paina e constatou que este ocorre devido ao processo de carbonização da lignina e hemicelulose remanescentes. O comportamento de picos descrito acima é corroborado por Wang *et al.* (2021), que obteve resultados semelhantes nas temperaturas citadas.

Na faixa de temperatura de 260 a 270 °C acontece um outro pico endotérmico que está relacionado com o rompimento das ligações glicosídicas dentro da celulose. A intensidade desse pico está relacionada com a remoção dos compostos não celulósicos, confirmando os dados dos picos anteriores. Esse comportamento está evidenciado nos tratamentos 3, 5, 6 e 7, portanto sugere-se que estes tratamentos tiveram uma eficiência maior na eliminação da lignina e hemicelulose.

Figura 12 - Curvas obtidas do DSC



1: tratamento químico; 2: tratamento químico ultra-turrax®; 3: tratamento químico sonicador; 4: tratamento químico ultra-turrax® + sonicador; 5: tratamento enzimático; 6: tratamento enzimático ultra-turrax®; 7: tratamento enzimático sonicador; 8: tratamento enzimático ultra-turrax® + sonicador

Os resultados evidenciados na Tabela 3 demonstram os valores que foram obtidos desses picos. A mudança de capacidade de calor (Delta CP) é maior nos tratamentos enzimáticos, de uma maneira geral.

A temperatura de transição vítrea (TG) é representada como a temperatura limite para a mobilidade de polímeros, isto é, abaixo não há mobilidade e acima eles mudam de estado. Fator importante de ter conhecimento, visto que esses materiais incorporarão filmes e devem ser trabalhados abaixo da temperatura indicada para não haver mudanças nas propriedades mecânicas. Os maiores valores de TG foram das amostras com aplicação de tratamentos

mecânicos, salvo o último tratamento. Os valores obtidos variaram de 35 a 50 °C, sendo o tratamento químico com turrax e sonificador o maior valor encontrado. O aumento da temperatura de transição vítrea acontece devido às interações água-celulose que desenvolvem uma distribuição diferente das moléculas de água dentro da matriz e pela representação da região cristalina das nanofibras de celulose (NEENU *et al.*, 2022).

Tabela 3 – Valores obtidos na análise de DSC

| Tratamentos | Delta CP (J/g*°C) | TG (°C) |
|--------------------------------|-------------------|---------|
| TQ | 3,046 | 35,94 |
| TQ ultra-turrax® | 2,882 | 41,69 |
| TQ sonificador | 3,534 | 45,46 |
| TQ ultra-turrax® + sonificador | 1,919 | 50,19 |
| TE | 3,011 | 40,64 |
| TE ultra-turrax® | 6,860 | 40,26 |
| TE sonificador | 4,158 | 43,04 |
| TE ultra-turrax® + sonificador | 4,006 | 40,62 |

TQ: tratamento químico; TE: tratamento enzimático; Delta CP: mudança da capacidade de calor; TG: temperatura de transição vítrea

5.2.5 Análise termogravimétrica

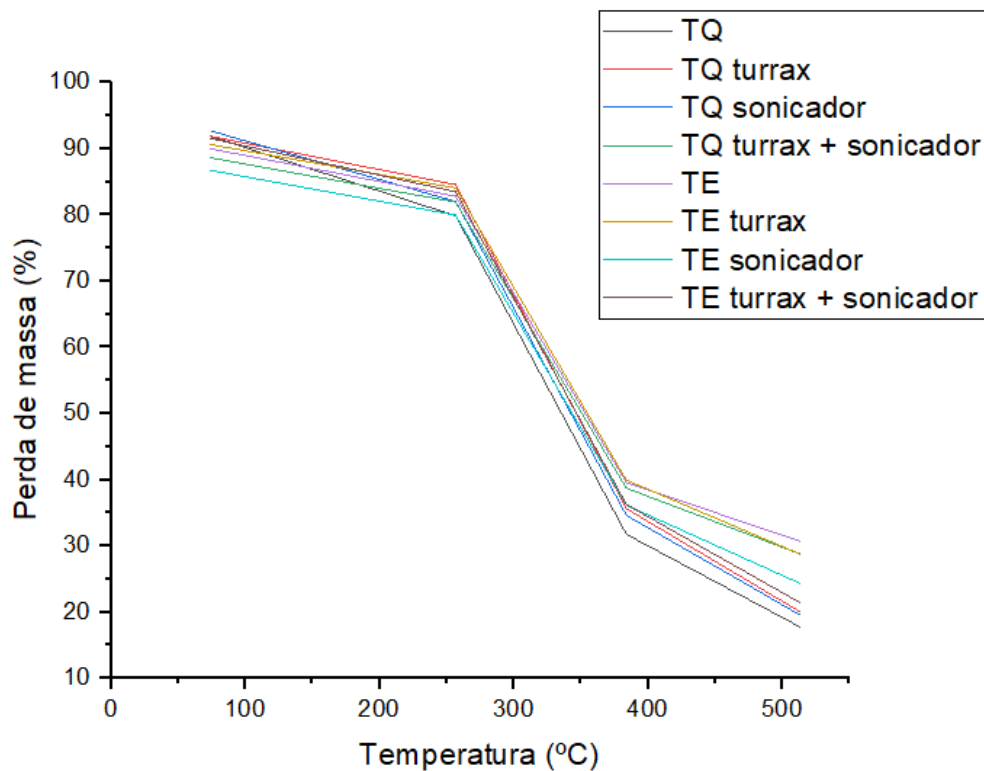
A análise termogravimétrica se baseia na avaliação da perda de massa resultante de uma transformação química ou física em função da temperatura. Em um gráfico de TGA pode-se observar as degradações dos componentes químicos que acontecem em cada faixa de temperatura específica. Esse é um fator essencial para determinar a aplicabilidade das nanofibras, visto que o comportamento de degradação permite projetar condições de processamento para otimizar o desempenho delas nos filmes que serão elaborados. Os resultados da análise de TGA das nanofibras de celulose estão demonstrados na Figura 13.

Todos os tratamentos apresentaram comportamento semelhante, tendo a primeira degradação na faixa de 100 a 150 °C, caracterizada pela perda total de água. O maior valor de perda de água nessa faixa de temperatura foi da amostra TE sonificador (13,28 %), que sugere maior retenção de água em sua estrutura em comparação com as outras amostras, que tiveram perda de água de 10 %.

A partir da temperatura de 250 °C é possível visualizar a maior perda de massa, podendo estar associada a degradação da celulose, incluindo a despolimerização, desidratação e decomposição de unidades de glicose (KHAWAS; DEKA, 2016). Todas as amostras obtiveram média de 60 % de perda de massa durante esse processo.

De uma maneira geral, os tratamentos enzimáticos apresentaram uma menor perda de massa (73 %) em comparação com os químicos (78 %). Os valores máximos de temperatura de degradação foram menores nos tratamentos químicos, mantendo média de 250 °C, enquanto os tratamentos enzimáticos tiveram média de 295 °C, o que demonstra que a aplicação dos tratamentos enzimáticos possibilita uma temperatura maior de degradação das nanofibras obtidas. Os resultados de temperatura máxima são semelhantes aos obtidos por Khawas; Deka (2016), que obteve temperatura máxima de degradação de 260 °C para apenas o tratamento químico e 295 °C para tratamentos com aplicação de 1000 W de ultrasonicador de alta frequência.

Figura 13 – Análise termogravimétrica das nanofibras de celulose



TQ: tratamento químico; TE: tratamento enzimático

Fonte: autora

De acordo com Vanderfleet et. al (2019), o tratamento ácido aplicado para a obtenção das nanofibras de celulose resulta em cadeias de celulose mais curtas, o que ocasiona menor grau de polimerização e aumento da carga superficial, levando a uma menor temperatura de degradação. Esse mesmo comportamento foi relatado por Guancha-Chalapud; Serna-Cock; Tirado (2022) que constataram que a hidrólise por H₂SO₄ diminui a degradação por temperatura causado pela inclusão de grupos sulfato na cadeia de celulose. Os valores máximos de

degradação obtidos pelos tratamentos enzimáticos (295 °C), podem ser explicados devido ao número de cadeias terminais livres que são formadas no processo de obtenção de celulose.

Além disso, pode-se observar que quanto mais aplicação de tratamentos mecânicos também é menor a perda de massa das amostras em comparação com as amostras que não sofreram tratamentos mecânicos. Os tratamentos mecânicos possuem essa característica, como relatado pelo trabalho de Paludo (2021), que aplicou números diferentes de passagens em homogeneizador de alta pressão em celulose bacteriana e obteve maior estabilidade térmica com o aumento gradual de passagens. Esse comportamento se deve a eliminação de compostos não-celulósicos durante estes processos que possibilitam uma melhor disposição das nanofibras de celulose nas amostras.

Pode-se afirmar que as nanofibras de celulose obtidas no presente trabalho possuem boa estabilidade térmica para a aplicação em filmes biodegradáveis (ROMAN; WINTER, 2004). A partir da análise dos resultados, é possível afirmar que os tratamentos enzimáticos possuem uma maior estabilidade térmica quando comparados com os químicos.

5.2.6 Difração de raio X

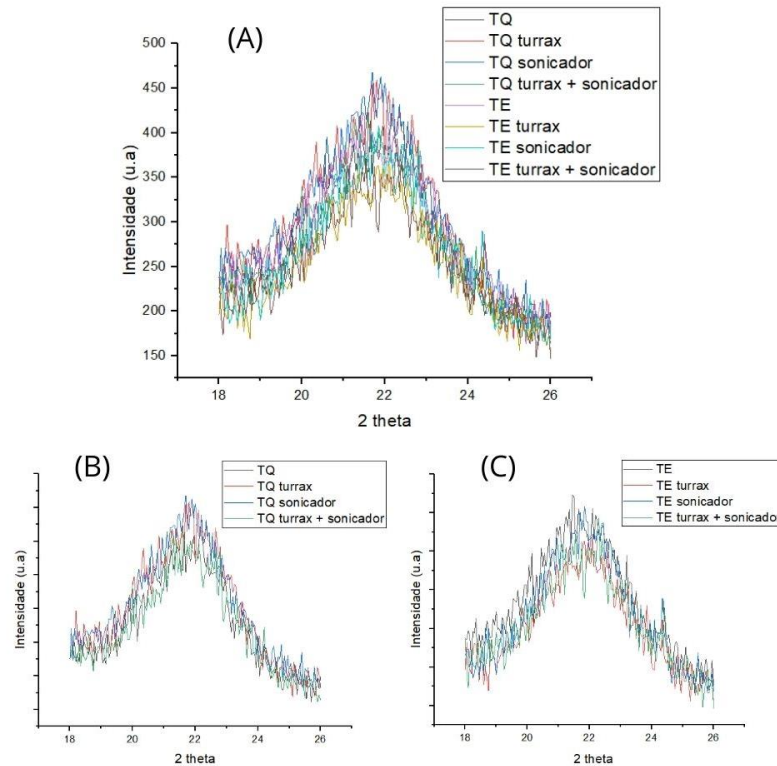
A técnica de Difração de Raio X consiste na avaliação do espalhamento de radiação eletromagnética provocada pela interação entre feixe de raio X incidente e os elétrons do material. A partir dos valores do espalhamento da radiação, é possível determinar a cristalinidade, parâmetro que quanto maior, melhor resistência mecânica, sendo assim, uma alternativa de reforço mecânico para aplicação em filmes biodegradáveis (CHEN *et al.*, 2011).

Na Figura 14 estão representados os difratogramas das amostras de nanofibras de celulose. No difratograma (A) é possível identificar que todas as amostras possuem comportamento semelhante e 22° como intensidade máxima. Os picos em ângulos próximos a 2 theta 15°, 22° e 34° indicam a presença de materiais lignocelulósicos, como a celulose (ANDRADE-MAHECHA, 2012). Portanto, é possível afirmar que há material celulósico nas amostras analisadas. O mesmo comportamento foi relatado por Reichert (2021), que descreve picos característicos de presença de fibras vegetais em 22° com resíduo de coroa de abacaxi que foram avaliadas.

Nos difratogramas (B) e (C) as amostras estão separadas por tratamentos químico e enzimático para melhor visualização, sendo possível observar que os tratamentos tiveram o mesmo comportamento, não havendo uma considerável diferença entre eles. Este resultado possibilita interpretar que, durante os tratamentos aplicados, a estrutura cristalina da celulose não mudou. O mesmo foi relatado por Khawas; Deka (2016) com nanofibras de casca de

banana, o qual não obteve diferenças nos difratogramas na aplicação de diferentes forças de potência ultrasônica em nanofibras de celulose.

Figura 14 – Difratogramas (DRX) das amostras de nanofibras de celulose



Fonte: autora

O índice de cristalinidade dos tratamentos aplicados ficou na faixa de 24 a 29 %, como demonstrado na Tabela 4, sendo possível observar que os tratamentos submetidos à intervenção mecânica possuíram os maiores valores de cristalinidade. Esses valores estão de acordo com o relatado por Reichert (2021), que avaliou a cristalinidade da farinha obtida da coroa do abacaxi e constatou índice de 25 % neste resíduo.

Obteve-se um índice de cristalinidade maior nas amostras que foram aplicadas o sonicador isolado, tanto no tratamento químico (29,11 %), quanto no enzimático (29,16 %). O aumento da cristalinidade está relacionado com a remoção dos compostos amorfos, como a hemicelulose e a lignina, o que indica que a aplicação de tratamentos mecânicos, principalmente o sonicador, otimiza este processo. Resultado semelhante foi apresentado por Khawas; Deka (2016), que observou que quanto maior a aplicação de força ultrasônica em nanofibras de celulose, maior foi o índice de cristalinidade obtida no material. O mesmo comportamento dos tratamentos mecânicos no aumento da cristalinidade foi descrito para nanofibras de celulose

obtidas a partir de casca de banana (KHAWAS; DEKA, 2016) e para nanofibras de celulose de madeira (CHEN *et al.*, 2011).

Tabela 4 – Índice de cristalinidade (%) das nanofibras de celulose

| Nanofibras de celulose | Índice de Cristalinidade (%) |
|------------------------|------------------------------|
| TQ | 24,17 |
| TQ turrax | 27,45 |
| TQ sonicador | 29,11 |
| TQ turrax + sonicador | 28,28 |
| TE | 25,42 |
| TE turrax | 27,53 |
| TE sonicador | 29,16 |
| TE turrax + sonicador | 28,24 |

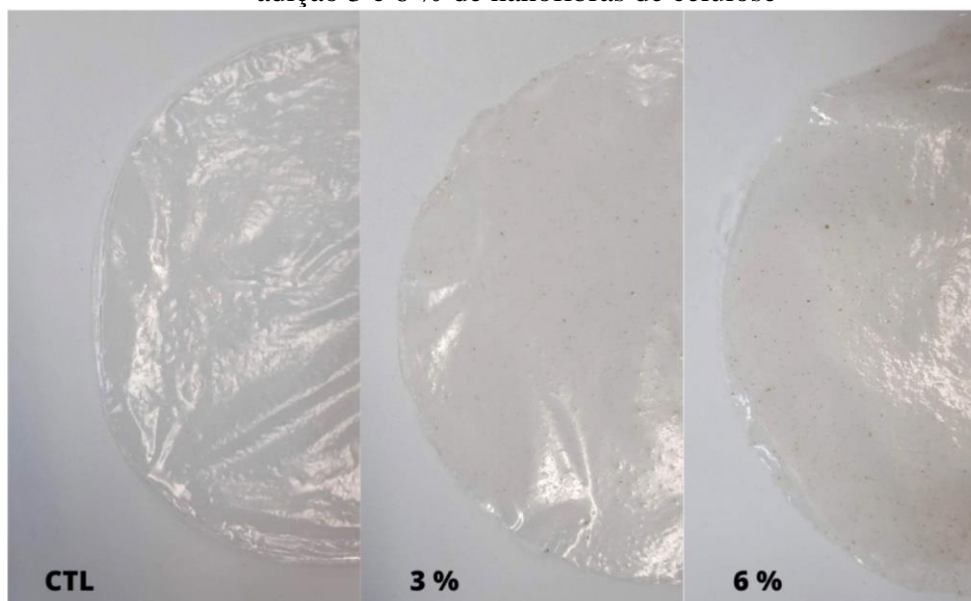
TQ: tratamento químico; TE: tratamento enzimático

Fonte: autora

5.3 FILMES BIODEGRADÁVEIS COM NANOFIBRAS DE CELULOSE DA FARINHA DE CASCA DE ABACAXI

Foram elaborados filmes com adição de nanofibras de celulose através do **Tratamento Enzimático combinado com Sonicador**, visto que este tratamento apresentou melhor visualização de nanofibras nas imagens de MEV, boa estabilidade térmica e maior índice de cristalinidade em comparação com os demais tratamentos testados. Foram testadas adição de 3 e 6 % das nanofibras de celulose, valores esses estimados com a média dos estudos com as mesmas características. A aparência dos filmes elaborados está demonstrada na Figura 15.

Figura 15 – Aparência dos filmes biodegradáveis dos tratamentos controle (CTL) e com adição 3 e 6 % de nanofibras de celulose



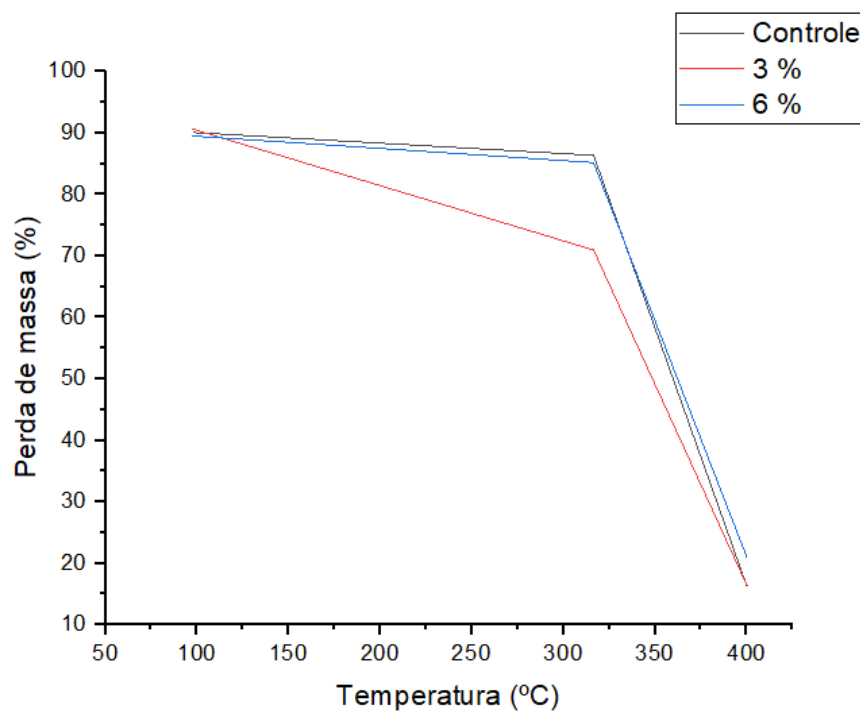
Fonte: autora

5.3.3 Análises termogravimétricas

A estabilidade térmica dos filmes elaborados foi avaliada a partir da análise termogravimétrica, sendo a perda de massa (%) e a temperatura para degradação máxima de decomposição dos filmes demonstradas na Figura 16.

A partir da temperatura de 150 °C há uma leve perda de massa por conta da evaporação de água em todos os tratamentos estudados, principalmente no tratamento com 3 % de adição de nanofibras de celulose. Esta sutil perda de massa continua até 260 °C, temperatura que é caracterizada pela degradação do glicerol, componente que está na formulação dos filmes. Essa ligeira redução se dá pela baixa concentração de glicerol que foram utilizadas (0,25 g/g de amido).

Figura 16 – Análise termogravimétrica dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose



Fonte: autora

A principal perda de peso aconteceu na faixa de 310 a 350 °C que corresponde a temperatura de degradação do amido e da celulose. Todos os filmes apresentaram comportamento semelhante nessa faixa de temperatura (310 a 350 °C), sendo possível afirmar que não houve diferença entre eles para a temperatura de degradação máxima. Este resultado também foi obtido por outros trabalhos como o de Paludo (2021) que não obteve diferenças nas

propriedades térmicas de filmes desenvolvidos com nanocelulose bacteriana com adição de até 5 %. Xie *et al.* (2020) adicionaram até 15 % de nanocelulose bacteriana em filmes de casca de batata e também não observaram diferenças entre os filmes controle.

A única diferença que pôde ser visualizada foi em relação à perda de massa na faixa de temperatura de 100 a 300 °C do filme com adição de 3 % de nanofibras de celulose, como pode ser visualizado na Figura 16 que foi maior (29 %) em relação aos demais tratamentos (14 %). Essa perda de massa pode ser justificada pela melhor interação das moléculas que ocorre ao adicionar essa concentração de nanofibras de celulose em filmes de amido, corroborando com os dados das análises de PVA.

5.3.4 Permeabilidade de vapor de água

A análise de permeabilidade de água tem como objetivo avaliar a transmissão de vapor de água através da espessura do filme em pressão e temperatura específicos e tem ligação direta com os componentes dele (ASTM, 1990). É desejável que esse valor seja baixo pois indica que o filme é mais resistente à umidade, protege e conserva o alimento, ampliando a sua aplicação em produtos. A permeabilidade de vapor de água encontrada no filme controle foi de 0,178 g.mm/Pa.h.m², conforme demonstrado na Tabela 5, valor equiparado ao de Paludo (2021) que obteve 0,175 g.mm/Pa.h.m² e abaixo ao encontrado por ASSIS *et al.* (2018) que obteve 0,36 g.mm/Pa.h.m², ambos em filmes de amido de mandioca.

Tabela 5 – Valores de permeabilidade de vapor de água dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose

| Filmes | PVA 24 h (g.mm/Pa.h.m ²) |
|----------|--------------------------------------|
| Controle | 0,178 ± 0,01 ^b |
| 3 % | 0,124 ± 0,01 ^c |
| 6 % | 0,253 ± 0,03 ^a |

Valores médios ± desvio padrão (n=3). Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença estatística significativa (p < 0,05).

Os tratamentos com adição de nanofibras de celulose tiveram dois comportamentos distintos. A adição de 3 % de nanofibras de celulose diminuiu a permeabilidade de água dos filmes para 0,124 g.mm/Pa.h.m², o que é desejável para filmes biodegradáveis. Os valores obtidos foram menores do que os encontrados por Paludo (2021), que adicionou celulose bacteriana na mesma proporção e obteve 0,165 g.mm/Pa.h.m².

Já a adição de 6 % aumentou a permeabilidade de água comparados aos filmes controle e com adição de 3 % de nanofibras de celulose, apresentando 0,253 g.mm/Pa.h.m². O aumento da permeabilidade limita a aplicação deste filme em alimentos com muita umidade, por conta da transmissão de água do alimento em relação ao ambiente, ocorrendo em menor tempo de conservação. Este aumento é caracterizado pela má disposição da celulose quando utilizada em maior quantidade nos filmes de amido, corroborando com os resultados de Paludo (2021) e Coelho *et al.* (2020), que constataram aumento da permeabilidade de água em filmes quando a adição foi superior a 5 % de celulose bacteriana e nanocristais de celulose, respectivamente.

5.3.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas, como tensão e alongação, são fundamentais para avaliar a aplicabilidade dos filmes em alimentos. Os filmes de amido são caracterizados como quebradiços, o que demanda a incorporação de agentes de reforços para melhoria de características mecânicas. A Tabela 6 apresenta os resultados concernentes aos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose. Foi possível visualizar que os valores que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) foram apenas no tratamento com adição de 6 % em relação aos demais, tanto na alongação quanto na tensão.

Tabela 6 – Valores de tensão de alongação dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose

| Filmes | Tensão (MPa) | Elongação (%) |
|----------|---------------------------|----------------------------|
| Controle | 1,17 ± 0,20 ^b | 131,28 ± 0,97 ^a |
| 3 % | 1,05 ± 0,16 ^b | 131,65 ± 0,36 ^a |
| 6 % | 26,01 ± 0,78 ^a | 3,27 ± 0,38 ^b |

Valores médios ± desvio padrão (n=3). Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Em relação à tensão, o maior valor foi da amostra com adição de 6 % de nanofibras de celulose e apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos. O aumento da tensão está diretamente ligado com o aumento da força que é necessária para romper os filmes. Este comportamento é devido às mudanças de interações que acontecem, principalmente pelo aumento das ligações de hidrogênio (TELES *et al.*, 2021).

A alongação também apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) apenas no filme com maior concentração de nanofibras, contando com 3,27 %, que demonstrou grande diminuição

em relação aos tratamentos controle e com adição de 3 % de nanofibras de celulose (131,28 e 131,65 %, respectivamente), demonstrando ser um filme muito rígido. Reichert (2021) descreve resultado semelhante com a adição de fibra de celulose, com diferença de 377 % quando comparado ao filme controle. De acordo com Teles *et al.* (2021), a adição de fibras de celulose aumenta a rigidez dos filmes, o que se deve à formação de ligações que acontecem entre a interação do amido e da celulose e a presença de fase dispersa mais rígida do que a matriz.

5.3.6 Propriedades ópticas

A cor é um fator importante para aceitação dos filmes pelo consumidor. Os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (vermelho-verde), b^* (azul-amarelo) e ΔE (diferença de cor) estão apresentados na Tabela 7. Os filmes apresentaram alta transparência e, como indicado no parâmetro L^* , com valores variando de 84 a 88, sendo o filme controle o que apresentou o maior valor. O menor valor de luminosidade, foi para a amostra com adição de 6 % de nanofibras de celulose, além disso, ela demonstrou ser mais amarelada com diferença significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros L^* e b^* em relação à amostra controle. O aumento da coloração amarela acompanhou o aumento da concentração de nanofibras de celulose e isso se deve a cor da matriz alimentícia, demonstrando que a cor da casca de abacaxi não foi totalmente removida durante os processos de obtenção da nanofibras. A diferença de cor entre as amostras com adição de 3 e 6 % também foram significativas entre si.

Tabela 7 – Cor e opacidade dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de adição de nanofibras de celulose

| Filmes | Parâmetros de Cor | | | | Opacidade ($A \cdot mm^{-1}$) | |
|----------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|---------------------------------|-------------------|
| | L^* | a^* | b^* | ΔE | 210 nm | 600 nm |
| Controle | $88,92 \pm 0,3^a$ | $-0,23 \pm 0,1^a$ | $0,02 \pm 0,1^a$ | - | $3,51 \pm 0,34^c$ | $0,33 \pm 0,06^c$ |
| 3 % | $87,26 \pm 0,5^b$ | $-0,31 \pm 0,1^a$ | $0,61 \pm 0,1^b$ | $2,87 \pm 0,9^b$ | $5,15 \pm 0,39^b$ | $0,86 \pm 0,06^b$ |
| 6 % | $84,91 \pm 0,4^c$ | $-0,42 \pm 0,3^a$ | $1,46 \pm 0,3^c$ | $6,94 \pm 0,9^a$ | $12,56 \pm 0,40^a$ | $1,99 \pm 0,05^a$ |

Valores médios \pm desvio padrão ($n=3$). Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

A opacidade dos filmes é um parâmetro importante para avaliar a transparência, fator que influencia na aceitabilidade do consumidor e também na preservação dos compostos nutricionais dos alimentos que serão envolvidos. Este parâmetro tem influência direta com seus componentes e é proporcional à sua espessura, pois quanto mais espesso, maior é a concentração e suspensão de substâncias e mais opaco será o filme. Na Tabela 7 é demonstrado

o resultado das análises de opacidade em dois comprimentos de onda, 210 nm (região de luz UV) e 600 nm (região de luz visível).

Todos os tratamentos apresentaram diferença entre si ($p < 0,05$) nos dois comprimentos de onda, contando com um aumento gradual de opacidade em relação ao aumento de adição de nanofibras de celulose, acompanhando com a diminuição de luminosidade proveniente da análise de cor para os tratamentos com adição de nanofibras de celulose, conforme discutido anteriormente.

O aumento de opacidade está ligado com a melhora do bloqueio de luzes UV e visível, o que é desejável já que este fator é capaz de proteger alimentos embalados por conta do aumento de capacidade de barreira à luz, inibindo degradações induzidas pelo contato com a luz como oxidações lipídicas e proteicas (WANG *et al.*, 2019).

5.3.7 Solubilidade em água

A solubilidade em água é uma análise que estima a resistência dos filmes quando expostos à umidade. É desejável que a porcentagem de solubilidade seja baixa, pois isso representa que o filme absorve pouca água, portanto, apresenta condições desejáveis para manter uma boa conservação do alimento que envolverá, mantendo sua integridade.

Os valores obtidos no presente estudo permaneceram na faixa de 12 %, como demonstrado na Tabela 8, próximo ao valor apresentado por ASSIS *et al.* (2018), que utilizou filmes de amido de mandioca com solubilidade de 17 %. Não foi constatada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos estudados, portanto, a adição das nanofibras de celulose nas proporções estudadas não influenciou neste parâmetro, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Valores de solubilidade em água dos filmes controle e com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose

| Amostra | Solubilidade em Água (%) |
|----------|---------------------------|
| Controle | 12,26 ± 0,03 ^a |
| 3 % | 12,23 ± 0,05 ^a |
| 6 % | 12,28 ± 0,07 ^a |

Valores médios ± desvio padrão (n=3). Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

A celulose possui estrutura química insolúvel em água e quando adicionada em filmes de amido cria uma rede que restringe a absorção de água por conta das ligações de hidrogênio formadas pelos grupos hidroxilas do amido e da celulose, o que tende a diminuir a solubilidade

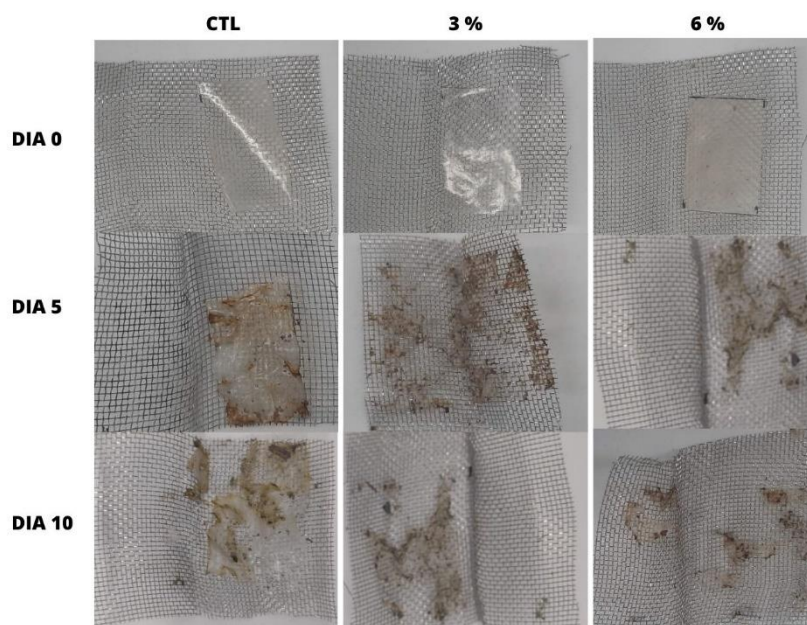
dos filmes (WANG, *et al.*, 2021). As concentrações estudadas no presente trabalho não foram suficientes para reduzir a solubilidade de água em relação ao filme controle, havendo necessidade de teste com maiores concentrações de adição de nanofibras de celulose para avaliar este efeito.

5.3.8 Biodegradabilidade

A análise de biodegradabilidade é um método para avaliar as alterações causadas pelo ataque microbiano da microflora composta por bactérias, fungos e protozoários naturalmente presentes no solo que atuam em sinergia no processo de biodegradabilidade. Como resultado desse processo biológico de degradação as substâncias orgânicas são convertidas em dióxido de carbono, metano, água e biomassa (SHAH *et al.*, 2008).

Os filmes foram submetidos ao tempo de 10 dias em condições ideais de biodegradabilidade para avaliação do comportamento deles. A Figura 17 mostra a aparência dos filmes no dia que foram dispostos à análise, 5 e 10 dias depois. No quinto dia, o filme controle teve 25,62 % de biodegradabilidade, enquanto os filmes com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose tiveram 53,81 e 84,96 %, respectivamente. Todos os tratamentos apresentaram uma rápida biodegradabilidade, principalmente nos tratamentos com adição das nanofibras de celulose, sendo crescente com o aumento da concentração.

Figura 17– Aparência dos filmes secos no primeiro dia e com 5 e 10 dias de biodegradabilidade



Fonte: autora

Já no décimo dia, o filme controle apresentou 80,76 % de biodegradabilidade, enquanto os filmes com 3 e 6 % de nanofibras de celulose apresentaram 86,25 e 96,44 %, respectivamente. Reichert (2021) avaliou a biodegradabilidade por 45 dias de filmes com adição de celulose proveniente de coroa de abacaxi e observou comportamento semelhante ao obtido. A perda de massa do filme de amido sem a adição das nanofibras foi de 33,9 % em 15 dias, já a adição de 5 % de celulose foi de 49,4 %. Ibrahim *et al.* (2019) adicionou 8 % de fibra de casca de milho em filmes de amido e apresentou perda de peso de 73,2 % em 8 dias.

Os filmes de amido e glicerol possuem estrutura hidrofílica, sendo assim, absorvem água, o que facilita na degradação das substâncias orgânicas por conta do aumento microbiano. As nanofibras de celulose acentuaram este processo, o que sugere que elas potencializam o poder higroscópico, absorvendo mais água e facilitando a biodegradação dos filmes (MARAN *et al.*, 2013). O processo de aumento de água e presença de microrganismos na matriz ocasiona o desprendimento das fibras resultando em uma maior taxa de degradação. A adição das fibras resulta em pequenas lacunas na interface da matriz, o que facilita a entrada de água, acelerando este processo (IBRAHIM *et al.*, 2019).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a perspectiva de valorização dos resíduos da indústria produtora de sucos, o trabalho estudou na aplicação da nanotecnologia para o isolamento de celulose proveniente da casca de abacaxi. Foi realizado o isolamento da celulose a partir de 8 métodos diferentes, sendo eles: químico, enzimático e o impacto da aplicação de tratamentos mecânicos (turrax, sonicador e turrax + sonicador). Entre os métodos avaliados, o tratamento enzimático com sonicador apresentou melhor dispersão das fibras, o que possibilitou a visualização nas imagens de MEV, além de apresentar maior índice de cristalinidade (29 %) e maior temperatura de degradação térmica (295 °C), conforme demonstrado na Tabela 9.

Tabela 9 – Compilado dos resultados obtidos dos diferentes tratamentos das nanofibras de celulose

| Amostra | Presença de fibras 30.000x | DSC | Estabilidade Térmica (°C) | Índice de Cristalinidade (%) |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------------|---------------------------------|
| TQ | - | - | 250 | 24 |
| TQ ultraturrax | Poucas fibras | - | | 27 |
| TQ sonicador | Fibras encobertas | Pico > [] celulose | | 29 |
| TQ ultraturrax + sonicador | Fibras encobertas | - | | 28 |
| TE | - | Pico > [] celulose | 295 | 25 |
| TE ultraturrax | Poucas fibras | Pico > [] celulose | | 27 |
| TE sonicador | Melhor dispersão | Pico > [] celulose | | 29 |
| TE ultraturrax + sonicador | Fibras encobertas | - | | 28 |

Fonte: autora

A partir disso, elaborou-se filmes com adição de 3 e 6 % de nanofibras de celulose provenientes do tratamento enzimático com sonicador, sendo avaliadas suas propriedades mecânicas, térmicas, de permeabilidade de água e biodegradabilidade. O filme com adição de 3 % apresentou melhores resultados no parâmetro de permeabilidade de água. Já o filme com adição de 6% de nanofibras teve a resistência aumentada significativamente, proporcionando filmes mais rígidos e menos elásticos. Além disso, observou-se que o aumento gradual da adição das nanofibras de celulose aumentou a biodegradabilidade dos filmes obtidos. O compilado desses resultados está demonstrado na Tabela 10. Todos estes parâmetros proporcionam uma gama de diferentes aplicações dos filmes em produtos alimentícios.

O resíduo de abacaxi apresentou potencial de uso para obtenção de nanofibras de celulose. Também pôde-se confirmar a efetividade do tratamento enzimático com sonicador na obtenção das nanofibras de celulose provenientes da casca de abacaxi para aplicação como agente de reforço em filmes biodegradáveis por processos mais sustentáveis e menos poluentes.

Tabela 10 – Compilado dos resultados obtidos dos filmes biodegradáveis elaborados

| Amostra | Prop. Mecânicas (tensão e alongação) | | Opacidade (210 a 600 nm) | | PVA | Biodegradabilidade de (5 e 10 d) | | Sugestão de aplicação |
|----------|--------------------------------------|--------|--------------------------|------|-------|----------------------------------|-------|-----------------------|
| Controle | 1,17 | 131,28 | 3,51 | 0,33 | 0,178 | 25,62 | 80,76 | - |
| 3 % | 1,05 | 131,65 | 5,15 | 0,86 | 0,124 | 53,81 | 86,25 | Frutas e carnes |
| 6 % | 26,01 | 3,27 | 12,56 | 1,99 | 0,253 | 84,96 | 96,44 | Emb. rígida |

Fonte: autora

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas para continuidade do trabalho:

- Otimizar a produção de filmes através da adição de diferentes concentrações de nanofibras de celulose;
- Avaliar a aplicação dos filmes obtidos em alimentos e realizar testes de vida de prateleira;
- Adicionar algum composto bioativo (antioxidante, antimicrobiano, etc) e avaliar o efeito deste na aplicação dos filmes em alimentos;
- Avaliar a migração das nanofibras de celulose presentes no filme para o alimento;
- Avaliar a toxicidade da inserção de nanofibras de celulose em embalagens alimentícias frente à saúde humana;

8. REFERÊNCIAS

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed, v. 2, Gaithersburg, 2000.
- ASSIS, Renato Queiroz et al. Synthesis of biodegradable films based on cassava starch containing free and nanoencapsulated β -carotene. **Packaging Technology and Science**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 157–166, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pts.2364>
- AZEREDO, H. M. C; et al. Nanocomposite Edible Films from Mango Puree Reinforced with Cellulose Nanofibers. **Food Sci.** 2009, 74, N31.
- BONDESON, D., MATHEW, A., & OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. **Cellulose**, v. 13, n. 2, p. 171–180, 2006.
- BRASIL. Resolução CNNPA n°12, de 1978 – Normas técnicas especiais para alimentos e bebidas. 1978.
- BRASIL. Resolução RDC n° 263, de 22 de setembro de 2005 – Regulamento técnico para produtos de cereais, amido, farinhas e farelos. 2005.
- CARNEIRO, Walkeane Dos Santos Felismino Rocha. Aproveitamento da farinha de casca de abacaxi ananas comosus (L.) Merrill para a elaboração de sorvete funcional probiótico. 86 f. 2020 Dissertação de Mestrado em Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco, 2020.
- CHEN, D. Biocomposites Reinforced with Cellulose Nanocrystals Derived from Potato Peel Waste. 2011. Dissertação Mestrado em Ciências Aplicadas. Faculdade de Pós- Graduação Ciências Aplicadas, McMaster University
- CHEN, Y., LIU, C., CHANG, P. R., CAO, X., & ANDERSON, D. P. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: Effect of hydrolysis time. (2009). **Carbohydrate Polymer**, 76(4), 607–615.
- COELHO, C.C.de S. et al. Cellulose nanocrystals from grape pomace and their use for the development of starch-based nanocomposite films, *Int. J. Biol. Macromol.* 159 (2020) 1048–1061, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.046>.
- CRIZEL, Tainara de Moraes. Aproveitamento de resíduos da indústria alimentícia e nutracêutica no desenvolvimento de ingredientes ativos para aplicação em filmes biodegradáveis. 211 f. 2017. Tese de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.
- CZAIKOSKI, Aline; DA CUNHA, Rosiane Lopes; MENEGALLI, Florencia Cecilia. Rheological behavior of cellulose nanofibers from cassava peel obtained by combination of

- chemical and physical processes. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 248, n. May, p. 116744, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116744>
- DAI H, HUANG H (2016) Modified pineapple peel cellulose hydrogels embedded with sepia ink for effective removal of methylene blue. **Carbohyd Polym** 148:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.040>
- DAI, Hongjie et al. Utilization of pineapple peel for production of nanocellulose and film application. **Cellulose**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 1743–1756, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1671-0>
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. A cultura do abacaxi. 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/120494/a-cultura-do-abacaxi>>.
- ESMERALDO, M. A. Preparação de novos compósitos suportados em matriz de fibra vegetal/natural. 2006. Dissertação Mestrado em Química Inorgânica. Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Major Tropical Fruits. 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/cb9412en/cb9412en.pdf>>
- FASSANELLA, C. C. Ação das enzimas ligninolíticas produzidas por *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. em bagaço de cana-de-açúcar tratado quimicamente. 2008. Dissertação Mestrado em Agronomia. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- FUNG, Wai-Yee, et al., Agrowaste-Based Nanofibers as a Probiotic Encapsulant: Fabrication and Characterization. 2011. **J. Agric. Food Chem.** 2011, 59, 8140–8147.
- GHOSE, T.K., 1987. Measurement of cellulase activities, International Union of Pure and Applied Chemistry. **Pure Appl. Chem.** 59 (2), 257–268.
- GUANCHA-CHALAPUD, Marcelo A.; SERNA-COCK, Liliana; TIRADO, Diego F. Valorization of Pineapple Residues from the Colombian Agroindustry to Produce Cellulose Nanofibers. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 14, p. 6956, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app12146956>
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola - Lavoura Temporária. Abacaxi. 2022. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/>>
- IBRAHIM, Mohamed; SAPUAN, Mohd; ZAINUDIN, Edi Syams; ZUHRI, Mohd Yusoff. Potential of using multiscale corn husk fiber as reinforcing filler in cornstarch-based biocomposites. **International journal of biological macromolecules**, v.139, p.596-604, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.015>.

- KHAWAS, Prerna; DEKA, Sankar. Isolation and characterization of cellulose nanofibers from culinary banana peel using high-intensity ultrasonication combined with chemical treatment. 2016. **Carbohydrate Polymers** 137, 608–616, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.020>
- LEAL, Marcia Regina. Preparação e caracterização de nanofibras de celulose obtidas a partir de fibra de paina e avaliação em compósitos de poli(acetato de vinila) - pvac. 74 f. 2018. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química. Universidade Federal do Paraná.
- LEITE, ANNA LETICIA MORON PEREIRA. Obtenção e caracterização de nanofibra de celulose a partir de subprodutos da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). 97 f. 2016. - Universidade Estadual de Campinas, [s. l.], 2016.
- LEITE, Paulina et al. Ultrasounds pretreatment of olive pomace to improve xylanase and cellulase production by solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 214, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.028>
- MALI, S. et al. Filmes de amido: produção, propriedades e potenciais de utilização. **Seminário: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 31, n. 1., p. 137-156, 2010.
- Maran JP, Sivakumar V, Sridhar R, Thirugnanasambandham K (2013) Development of model for barrier and optical properties of tapioca starch based edible films. **Carbohydr Polym** 92(2):1335–1347
- MEDEIROS, R. M. L. et al. Destinação e reaproveitamento de subprodutos da extração olivícola. 2016. **Sci. Agrar. Parana.**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 2, abr./jun., p. 100-108, 2016
- MEYABADI, T. F., & DADASHIAN, F. Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Waste Cotton Fibers for Nanoparticles Production Using Response Surface Methodology. **Fibers and Polymers**, v. 13, n. 3, p. 313-321, 2012.
- MIRANDA, Kelvi Wilson Evaristo. Nanofibras poliméricas para embalagens alimentícias. 85 f. 2019. Tese de Doutorado em Engenharia de Biomateriais – Universidade Federal de Lavras.
- MOREIRA, Juliana Botelho. Desenvolvimento de nanofibras utilizando biocompostos microalgais com ação antioxidante e indicadores de pH. 145 f, 2018. Tese de Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande.
- OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Química Nova**, v. 33, p. 1549-1558, 2010.
- Pääkko, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykänen, A., Ahola, S., Österberg, M., et al. (2007). Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. **Biomacromolecules**.

- PAGNO, Carlos H. et al. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chemistry*, [s. l.], v. 173, p. 755–762, 2015.
- PALUDO, Natália. Obtenção e aplicação de nanofibras de resíduo industrial de kombucha em filmes biodegradáveis. 86 f, 2021. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- PICKERING, K. *Properties and Performance of Natural-Fibre Composites*. Elsevier Science, 2008.
- PRADO, Karen; SPINACÉ, Márcia. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from pineapple crown waste and their potential uses. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 410-416, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.187>.
- REICHERT, Alexandra Augusta. Filmes biodegradáveis à base de amido de milho incorporados com celulose obtida a partir da coroa do abacaxi. 85 f., 2021. Dissertação de Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Pelotas.
- SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, Mónica et al. Production of cellulose nanofibers from olive tree harvest - A residue with wide applications. **Agronomy**, [s. l.], v. 10, n. 5, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy10050696>
- SANTOS, C. C. S.; GUIMARÃES, P. B.; RAMOS, S. A.; CAPOBIANGO, M. Determinação da composição centesimal de farinha obtida a partir da casca de abacaxi. **Sinapse Múltipla**, v.6, n.2, p.341-344, 2017.
- SHAH, A. A. et al. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. **Biotechnology advances, England**, v. 26, n. 3, p. 246–265, 2008.
- SILVA, R., HARAGUCHI, S. K., MUNIZ, E. C., & RUBIRA, A. F. Applications of Lignocellulosic Fibers in Polymer Chemistry and in Composites. *Aplicações de fibras lignocelulosicas na química de polímeros e em compostos*, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.
- SILVA, V. F. N. Estudos de Pré-Tratamento e Sacarificação Enzimática de Resíduos Agroindustriais como Etapas no Processo de Obtenção de Etanol Celulósico. 2009. Dissertação Mestrado em Ciências. Escola De Engenharia De Lorena – EEL, Universidade de São Paulo, Lorena.
- SIQUEIRA, G., BRAS, J., & DUFRESNE, A. Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation, Properties and Applications. **Polymers**, v. 2, n. 4, p. 728-765, 2010.

- SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SACARLATA, C., SLUITER, J., & TEMPLETON, D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. NREL. National Renewable Energy Laboratory of Analytical procedure (LAP), n., 2008.
- SUKUMARAN, R. K., SINGHANIA, R. R., MATHEW, G. M., & PANDEY, A. Cellulase production using biomass feed stock and its application in lignocellulose saccharification for bio-ethanol production. **Renewable Energy**, v. 34, n. 2, p. 421-424, 2009.
- SUN, J. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, n. 2, p. 331-339, 2004.
- TACO: Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.- Campinas: NEPA - UNICAMP, 2011. 161 p.
- TELES, Valéria; ROLDI, Mariana; LUZ, Sandra; SANTOS, Wellington; ANDREANI, Larissa; VALADARES, Leonardo. Obtaining plasticized starch and microfibrillated cellulose from oil palm empty fruit bunches: preparation and properties of the pure materials and their composites. **BioResources** v.16, n.2, p. 3746-3759, 2021.
- TIBOLLA, H. et al. Banana starch nanocomposite with cellulose nanofibers isolated from banana peel by enzymatic treatment: In vitro cytotoxicity assessment. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 207, p. 169–179, 2018. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.11.079>
- TIBOLLA, H. et al. Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and mechanical treatments: Characterization and cytotoxicity assessment. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 75, p. 192–201, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.027>
- TIBOLLA, Heloisa; PELISSARI, Franciele Maria; MENEGALLI, Florencia Cecilia. Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and enzymatic treatment. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 59, n. 2P2, p. 1311–1318, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.011>
- VARANASI, Swambabu; et al. Producing nanofibres from carrots with a chemical-free process. 2018. **Carbohydrate Polymers** 184 (2018) 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.056>
- WANG, Mengying et al. Water insoluble and flexible transparent film based on carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 255, n. November 2020, p. 117353, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117353>
- WANG, Sunan; et al. Electrospun soy protein isolate-based fiber fortified with anthocyanin-rich red raspberry (*Rubus strigosus*) extracts. 2013. **Food Research International** 52, 467–472 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.036>

WANG, Z. et al. Improvement of polylactic acid film properties through the addition of cellulose nanocrystals isolated from waste cotton cloth. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 878–886, 2019.

XUE, Jiajia et al. Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 119, n. 8, p. 5298–5415, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00593>

Y. Liu, Y. Liu, N. Liao, F. Cui, M. Park, H.-Y. Kim, Fabrication and durable antibacterial properties of electrospun chitosan nanofibers with silver nanoparticles, **International Journal of Biological Macromolecules** (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.058>

ZHU, J. Y., SABO, R., & LUO, X. Integrated production of nano-fibrillated cellulose and cellulosic biofuel (ethanol) by enzymatic fractionation of wood fibers. **Green Chemistry**, v. 13, n. 5, p. 1339-1344, 2011.