

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES DE POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE
BORRA DE CAFÉ**

MICHELLE J. P. DE AZEVEDO BATISTA

BELO HORIZONTE
2023

MICHELLE J. P. DE AZEVEDO BATISTA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES DE POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE
BORRA DE CAFÉ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Ciência de Alimentos.

Orientador: Leandro Soares de Oliveira

BELO HORIZONTE – MG
2023

B333d Batista, Michelle Jennifer Pereira de Azevedo.
Desenvolvimento e caracterização de filmes de polissacarídeos extraídos de borra de café [recurso eletrônico] / Michelle Jennifer Pereira de Azevedo Batista. – 2023.
1 recurso eletrônico (158 f. : il.) : pdf.

Orientador: Leandro Soares de Oliveira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Borra de café – Teses. 2. Polissacarídeos – Teses. 3. Precipitação (Química) – Teses. 3. Ultrassom – Teses. 4. Biopolímeros – Teses. I. Oliveira, Leandro Soares de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD: 663.93



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

FOLHA DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE BORRA DE CAFÉ

MICHELLE JENNIFER PEREIRA DE AZEVEDO BATISTA

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Doutora em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 30 de março de 2023, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Leandro Soares de Oliveira (Orientador e Presidente da Comissão) - UFMG

Profa. Dra. Cláudia Pereira Passos - Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Rodrigo Lambert Oréfice - UFMG

Profa. Dra. Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia - UFMG

Prof. Dr. Pedro Henrique Campelo Felix - UFV

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Pedro Henrique Campelo Felix, Usuário Externo**, em 30/03/2023, às 18:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cláudia Pereira Passos, Usuário Externo**, em 31/03/2023, às 05:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Lambert Oréfice, Presidente de comitê**, em 31/03/2023, às 08:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Soares de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2023, às 09:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia, Professora do Magistério Superior**, em 03/04/2023, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2189632** e o código CRC **DEBAFB22**.

Referência: Processo nº 23072.237200/2020-20

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar comigo mesmo eu não sendo merecedora da sua graça e misericórdia, por ter me dado força todos os dias para continuar. A Ele toda honra e glória.

Agradeço ao meu marido Heide por ser meu porto seguro, amigo bem presente, que sempre acreditou em mim e que sem ele nada disso seria possível. Aos meus meninos, Timóteo e Estêvão, por serem fontes inesgotáveis de alegria e força.

Agradeço aos meus pais e irmãos que sempre acreditaram em mim e muito lutaram para que eu pudesse estudar. Agradeço em especial à minha mãe por me ajudar sem medir esforços sempre que precisei.

Ao meu orientador, Prof. Leandro Soares de Oliveira pela oportunidade e ensinamentos que tanto me ajudaram nesta caminhada, pelo respeito e compreensão diante das minhas escolhas.

Aos meus colegas de laboratório que desde o início me acolheram e estiveram presentes ao longo de todos esses anos de estudo e pesquisa. Agradeço em especial aos queridos Fernando, Vitor, Daniela, Gisella, Laís B., William e Ana Letícia que se tornaram meus amigos e que estiveram comigo compartilhando conhecimento, os muitos momentos de angústia e de alegria durante toda essa caminhada. Mas principalmente à Andréia pela preciosa amizade e pelos sábios conselhos e à Pâmella por ter sido uma amiga que nunca me deixou desistir sendo tão presente e amável em momentos tão difíceis da trajetória nos últimos anos.

À minha amiga Jessi pelos momentos de alegria e confiança no início dessa trajetória, por deixar tudo mais leve. À minha amiga Sabrina por sua amizade, sempre disposta a me escutar e trocar experiências. À dona Marilza por cuidar dos meus filhos com tanto carinho para que eu pudesse me dedicar ao doutorado

À Prof^a. Maria Irene Yoshida (DQ) e à Dra. Betânia de Freitas Marques pelo apoio e por possibilitarem as análises de TGA. Ao professor Carlos Rosa (ICB) por viabilizar as análises no HPLC. Ao professor Vicente Buono (DEMEC) por possibilitar as análises no DRX. Ao Prof. Tiago Venâncio por conduzir as análises no RMN no departamento de Química, Laboratório de Ressonância Nuclear (UFSCar). Ao Prof. José Dias pelo apoio e suporte para a compreensão dos espectros de RMN (Dep. de Química, UFOP). Ao Prof. Washington Azevedo pela oportunidade para realização dos ensaios mecânicos das amostras no Laboratório de Embalagens (UFSJ – Campus Sete Lagoas).

À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo custeio financeiro. Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia e a Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade e pela minha formação.

RESUMO

A grande maioria dos materiais poliméricos são materiais sintéticos que se acumulam em aterros sanitários, ou seguem o fluxo do ciclo hidrológico, acumulando-se nos oceanos. Pesquisadores têm buscado alternativas que substituam pelos menos parcialmente os materiais poliméricos provenientes do petróleo e materiais que demoram anos para se degradarem totalmente. Os resíduos provenientes da agroindústria são descartados em abundância anualmente e são ricos em compostos orgânicos como os polissacarídeos que são polímeros que podem ser utilizados na produção de filmes. A borra de café é um resíduo rico em polissacarídeos e outros compostos orgânicos como proteínas, lipídeos e compostos fenólicos. Anualmente, são gerados em torno de 6,5 milhões de toneladas de borra de café, o que a torna um problema ambiental, inclusive no Brasil, que é o segundo maior consumidor de café e o maior produtor de grãos no mundo. A partir disso, este trabalho buscou o desenvolvimento de filmes provenientes da borra de café que é rica em celulose, galactomananas e arabinogalactanas. Para tal, a borra de café *espresso* foi submetida a um tratamento com 35 % (v/v) de peróxido de hidrogênio alcalino. O tratamento resultou em um material com 63 % de polissacarídeos contrapondo a 46 % presentes na borra de café com 56 % de rendimento. O material resultante foi dissolvido em solução com 67 % de cloreto de zinco e produzido um filme por meio da técnica de inversão de fases por precipitação via imersão. A partir disso, foram realizados dois tipos de ligações cruzadas, a primeira formando ligações entre íons e polissacarídeos que foi realizada utilizando cloreto de cálcio e a segunda foi realizada por meio ligações covalentes com ácido 1,4-fenilenodiborônico. Os filmes com íons Ca^{2+} apresentaram maior barreira ao vapor de água e maior resistência à tração que o filme controle e os filmes com ácido 1,4-fenilenodiborônico, os quais, em contrapartida, apresentaram elevado teor de umidade, maior permeabilidade ao vapor de água e maior percentual de alongamento. Além disso, sabendo da possibilidade de degradação dos polissacarídeos em virtude do uso da solução de cloreto de zinco para dissolver a borra de café, o presente trabalho avaliou os efeitos da solução de ZnCl_2 sobre a celulose, as galactomananas e as arabinogalactanas da matriz borra de café e buscou alternativas para minimizá-la por meio da adição de concentrações menores de ZnCl_2 (53, 60 e 67 %) assistidas por ultrassom. Os materiais dissolvidos com 53 % de ZnCl_2 apresentaram maior estabilidade térmica com pico na DTG (do inglês – *derivative thermogravimetry*) localizado em temperatura mais alta que as demais amostras. Os resultados são promissores e sugere-se que em pesquisas futuras sejam produzidos filmes a partir desses materiais.

Palavras chaves: galactomananas; precipitação por imersão; sal inorgânico hidratado; ultrassom; filmes de biopolímeros; ácido 1,4-fenilenodiborônico

ABSTRACT

Most polymeric materials are synthetic and derived from petroleum, hence they accumulate in landfills or follow the flow of the hydrological cycle, accumulating in the ocean. Researchers have been studying alternatives to replace polymeric materials that come from petroleum, which take years to degrade. Wastes from agroindustry are discarded on a large scale annually and they are rich in organic compounds such as polysaccharides, which could be used as polymers to produce films. Spent coffee grounds (SCG) are rich in polysaccharides and other organic compounds as well. Around 6,5 million tons of SCG are generated every year, and it is an environmental problem around the world, including Brazil, which is the second largest coffee consumer and the largest coffee grounds producer in the world. Given the aforementioned, it was the aim of this work the development of films from spent coffee grounds, which are rich in cellulose, galactomannans and arabinogalactans. Thus, SCG were treated by a solution with 35% (v/v) alkaline hydrogen peroxide. The insoluble material showed 63% polysaccharides and yield 56 %, whereas SCG exhibited 46%. For the development of films, SCG were dissolved in 67% zinc chloride solution and a film was produced using the phase inversion technique by immersion precipitation. Then, two types of crosslinking were performed, the first forming chemical interaction between ions and polysaccharides by calcium chloride and the second was performed through covalent bonds with 1,4-phenylenediboronic acid. The films with Ca^{2+} ions exhibited a greater barrier to water vapor and greater tensile strength than the control film and the films with 1,4-phenylenediboronic acid, which showed a high moisture content, greater permeability to water vapor and a higher percentage of elongation. Furthermore, because of the knowledge about of degradation on the polysaccharides due to the use of zinc chloride solution to dissolve the SCG, the present work evaluated the effects of the ZnCl_2 solution on the cellulose, galactomannans, and arabinogalactans of the SCG matrix. We tested alternatives to minimize it through the addition of lower concentrations of ZnCl_2 (53, 60 and 67%) assisted by ultrasound. The materials dissolved with 53% ZnCl_2 showed greater thermal stability with a peak in the DTG (derivative thermogravimetry) located at a higher temperature than the other samples. The results are promising, and it is suggested as future research the development of films from these materials.

Keywords: galactomannans; precipitation by immersion; inorganic molten salt hydrate; ultrasound; biopolymer films; 1,4-phenylenediboronic acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Representação esquemática de galactomananas isoladas do grão de café verde..	23
Figura 2.2 - Representação esquemática de uma das possíveis estruturas de arabinogalactanas que foi isolada do grão de café verde por extração com água quente.	25
Figura 2.3 - Esquema de materiais lignocelulósicos.	28
Figura 2.4 - Reações de decomposição de peróxido de hidrogênio.	29
Figura 2.5 - Espectros de RMN de estado sólido ^{13}C das amostras BE e BE-PHA.....	41
Figura 2.6 - Espectros de FTIR da borra de café espresso e borra de café submetida ao tratamento com H_2O_2 alcalino.....	44
Figura 2.7 - Análise térmica das amostras de borra de café espresso (BE) e borra de café submetida a tratamento com H_2O_2 alcalino (BE-PHA): a) Curvas de TGA. b) Curvas da DTG.	47
Figura 3.1 - Ácidos e ésteres de boro.	59
Figura 3.2 - Representação da estrutura química da molécula ácido 1,4 fenilenodiborônico..	60
Figura 3.3- Experimento para determinação da permeabilidade ao vapor de água dos filmes.	66
Figura 3.4 - Espectros das amostras de filmes com ligações cruzadas por meio de íons Ca^{2+} e do filme controle.....	68
Figura 3.5 - Esquema da interação das cadeias de celulose e os íons Zn^{2+} e Ca^{2+} . a) Ligações inter e intramolecular entre as cadeias glicosídicas da celulose; b) Interação entre as cadeias poliméricas da celulose com os íons Zn^{2+} ; c) interação entre as cadeias poliméricas da celulose com os íons Zn^{2+} e Ca^{2+}	71
Figura 3.6 - Espectros das amostras de filmes com ligações cruzadas com 1,4-fenilenodiborônico e da amostra do filme controle.	72
Figura 3.7 - Análise térmica dos filmes com CaCl_2 : a) curvas da análise de termogravimetria; b) curvas da primeira derivada.	75
Figura 3.9 - Amostra F311, filme imerso em 2 % de CaCl_2 (m/v) por 30 min.	76
Figura 3.8 - Amostra F511, filme imerso em 2 % de CaCl_2 (m/v) por 5 min.	76
Figura 3.10 - Amostra F411, filme imerso em 10 % de CaCl_2 (m/v) por 30 min.	79
Figura 3.11- Análise térmica dos filmes com ligações cruzadas com ácido 1,4 fenilenodiborônico: a) curvas da análise de termogravimetria; b) curvas da primeira derivada.	81
Figura 3.12 - Espectro de RMN de ^{13}C de BE-PHA e do filme controle.....	83
Figura 3.13 - Espectros de RMN de ^{13}C do filme controle e dos filmes submetidos ao banho de imersão com cloreto de cálcio.	85
Figura 3.14 - Espectros de RMN de ^{13}C do filme controle e dos filmes com adição de ácido 1,4-fenilenodiborônico.	86
Figura 3.15 - Diâmetro das amostras com ligações cruzadas com íons Ca^{2+} em diferentes valores de pH ao final de 10 dias exposto a solução ácida, neutra ou alcalina.	90

Figura 3.16 - Diâmetro das amostras com ligações cruzadas com agente 1,4-fenilenodiborônico em diferentes valores de pH.	92
Figura 3.17 - Micrografias da superfície do filme controle e dos filmes com íons cálcio.	96
Figura 3.18 – Micrografias da seção transversal do filme controle e dos filmes com íons cálcio.	97
Figura 3.19 - Micrografias da superfície do filme controle e dos filmes com FDB.....	99
Figura 3.20 – Micrografias da seção transversal do filme controle e dos filmes com FDB...	100
Figura 3.21 - Teste de biodegradabilidade dos filmes em função do tempo enterrado.	103
Figura 4.1 - Esquema das ligações de hidrogênio das cadeias de celulose (a). Interação dos íons Zn^{2+} com as cadeias de celulose (b).	108
Figura 4.2 - Esquema da ação do ultrassom por meio do fenômeno de cavitação sob as fibras de celulose.	110
Figura 4.3: Fluxograma da metodologia realizada para recuperar as amostras depois da dissolução em cloreto de zinco.	113
Figura 4.4 - Espectros de FTIR das amostras BE-PHA e BE-PHAr.....	115
Figura 4.5 - Espectros de FTIR de BE-PHA, BE-PHAr e das amostras dissolvidas em $ZnCl_2$ assistida por ultrassom.....	116
Figura 4.6 - Segunda derivada dos espectros das amostras BE-PHA e BE-PHAr na região típica dos polissacarídeos.	119
Figura 4.7 - Segunda derivada dos espectros de BE-PHAr, DBTU-53 e DATU-67.	123
Figura 4.8 - Segunda derivada dos espectros das amostras dissolvidas com solução de cloreto de zinco assistidas por ultrassom.....	124
Figura 4.9 - Curvas TGA (a) e DTG (b) das amostras BE-PHA e BE-PHAr.	125
Figura 4.10 - Curvas TGA (a) e DTG (b) das amostras que foram dissolvidas em solução de cloreto de zinco assistidas por ultrassom.....	129
Figura 4.11 - Difração de raio-X das amostras BE-PHA, BE-PHAR e amostras $ZnCl_2$ -ultrassom (a) e a intensidade dos picos referente a cristalinidade da celulose (b).	133
Figura 4.12 - Micrografias das amostras BE-PHA, BE-PHAr, DATU-67 e DBTU-53.....	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Composição físico-química da borra de café <i>espresso</i> (BE) e da borra de café submetida a tratamento com peróxido de hidrogênio (BE-PHA).....	37
Tabela 2.2 - Perfil de monossacarídeos das amostras BE e BE-PHA.	40
Tabela 2.3 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada dos das amostras BE e BE-PHA.....	48
Tabela 3.1 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada dos filmes de borra de café deslignificada com ligações cruzadas com íons Ca^{2+}	78
Tabela 3.2 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada dos filmes de borra de café deslignificada com ligações cruzadas com 1,4 fenilenodiborônico.....	80
Tabela 3.3 – Percentuais de umidade e solubilidade dos filmes com íons Ca^{2+}	87
Tabela 3.4 - Percentuais de umidade e solubilidade dos filmes com FDB.	88
Tabela 3.5 – Dados referentes à análise de estabilidade em meios com diferentes valores de pH dos filmes FC e dos filmes com ligações cruzadas com íons cálcio.	89
Tabela 3.6 - Dados referentes à análise de estabilidade em meios com diferentes valores de pH dos filmes FC e dos filmes com ligações cruzadas com ácido 1,4-fenilenodiborônico.....	91
Tabela 3.7 – Coeficiente de permeabilidade ao vapor de água dos filmes desenvolvidos usando íons cálcio como agente de ligação cruzada.....	93
Tabela 3.8 - Coeficiente de permeabilidade ao vapor de água dos filmes desenvolvidos com adição de ácido 1,4-fenilenodiborônico.	94
Tabela 3.9 – Dados do ensaio mecânico de filmes desenvolvidos.....	105
Tabela 4.1 – Principais picos da segunda derivada dos espectros de FTIR das amostras BE-PHA, BE-PHAr, DATU-67 e DBTU-53.....	120
Tabela 4.2 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada das amostras BE-PHA e BE-PHAr.....	126

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 - Tratamentos dos filmes com banho de imersão com solução de CaCl_2	62
Quadro 4.1 - Dissolução das amostras BE-PHA utilizando ultrassom e solução de ZnCl_2	112
Quadro 4.2 - Relação da concentração da solução de ZnCl_2 e da estabilidade térmica das amostras conforme o tratamento.....	131

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	18
2	BORRA DE CAFÉ <i>ESPRESSO</i>	21
2.1	REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1.1	BORRA DE CAFÉ <i>ESPRESSO</i>	21
2.1.2	PRINCIPAIS POLISSACARÍDEOS DO CAFÉ	22
2.1.3	TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO (PHA)	27
2.2	METODOLOGIA	30
2.2.1	MATERIAIS	30
2.2.2	TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO (PHA)	30
2.2.3	CARACTERIZAÇÃO DA BORRA DE CAFÉ <i>ESPRESSO</i> E DE BE-PHA	30
2.2.3.1	RENDIMENTO DA AMOSTRA APÓS TRATAMENTO COM PHA	31
2.2.3.2	DETERMINAÇÃO DE UMIDADE	31
2.2.3.3	DETERMINAÇÃO DE CINZAS	31
2.2.3.4	DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL – PROTEÍNAS	32
2.2.3.5	DETERMINAÇÃO DE EXTRATO ETÉREO	33
2.2.3.6	DETERMINAÇÃO DE LIGNINA	33
2.2.3.7	DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS – HPLC	35
2.2.3.8	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C (RMN)	35
2.2.3.9	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	36
2.2.3.10	ANÁLISE TÉRMICA	36
2.2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
2.3.1	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	36

2.3.2	ANÁLISES DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS	39
2.3.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C (RMN)	41
2.3.4	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	43
2.3.5	ANÁLISE TÉRMICA	46
2.4	CONCLUSÃO	49
3	FILMES DE BIOPOLÍMEROS	51
3.1	REFERENCIAL TEÓRICO	51
3.1.1	FILMES DE BIOPOLÍMEROS	51
3.1.2	MÉTODOS DE FORMAÇÃO DE FILMES POR INVERSÃO DE FASES	54
3.1.3	CROSSLINKING EM FILMES	56
3.1.3.1	CROSSLINKING – CLORETO DE CÁLCIO	57
3.1.3.2	CROSSLINKING – ÁCIDO DE BORO (ÁCIDO 1,4-FENILENODIBORÔNICO)	58
3.2	METODOLOGIA	61
3.2.1	PREPARAÇÃO DOS FILMES	61
3.2.2	<i>CROSSLINKING</i> – CLORETO DE CÁLCIO	61
3.2.3	<i>CROSSLINKING</i> – ÁCIDO 1,4 FENILENODIBORÔNICO	62
3.2.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	63
3.2.4.1	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	63
3.2.4.2	ANÁLISE TÉRMICA - TERMOGRAVIMETRIA	63
3.2.4.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C (RMN)	64
3.2.4.4	TEOR DE UMIDADE	64
3.2.4.5	SOLUBILIDADE EM ÁGUA	64

3.2.4.6	ESTABILIDADE DOS FILMES EM SOLUÇÕES ÁCIDA E ALCALINA	65
3.2.4.7	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)	65
3.2.4.8	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	66
3.2.4.9	TESTE DE BIODEGRADABILIDADE	67
3.2.4.10	ENSAIO DE TRAÇÃO	67
3.2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	67
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.3.1	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	68
3.3.2	ANÁLISE TÉRMICA	73
3.3.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C (RMN)	82
3.3.4	TEOR DE UMIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA	86
3.3.5	ESTABILIDADE DOS FILMES EM SOLUÇÕES ÁCIDA E ALCALINA	88
3.3.6	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)	93
3.3.7	MORFOLOGIA DOS FILMES	94
3.3.8	TESTE DE BIODEGRADABILIDADE	101
3.3.9	PROPRIEDADES MECÂNICAS	104
3.4	CONCLUSÃO	106
4	EFEITO DA SOLUÇÃO DE ZnCl_2 ASSISTIDA POR ULTRASSOM SOBRE OS POLISSACARÍDEOS DA BORRA DE CAFÉ	107
4.1	REFERENCIAL TEÓRICO	107
4.1.1	SOLVENTE – SOLUÇÃO DE CLORETO DE ZINCO	107
4.1.2	EFEITO DO ULTRASSOM NA DISSOLUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS	109

4.2	METODOLOGIA	111
4.2.1	DISSOLUÇÃO DE BE-PHA EM SOLUÇÃO DE CLORETO ASSISTIDA POR ULTRASSOM	111
4.2.2	RECUPERAÇÃO DE BE-PHA DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE ZINCO	112
4.2.3	CARACTERIZAÇÃO	113
4.2.3.1	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	114
4.2.3.2	ANÁLISE TÉRMICA	114
4.2.3.3	DIFRAÇÃO DE RAIO-X (DRX)	114
4.2.3.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	115
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	115
4.3.1	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	115
4.3.2	ANÁLISE TÉRMICA	124
4.3.3	DIFRAÇÃO DE RAIO-X (DRX)	132
4.3.4	MORFOLOGIA DAS AMOSTRAS	134
4.4	CONCLUSÃO	137
5	CONCLUSÃO GERAL	138
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140

1 INTRODUÇÃO GERAL

Desde meados do século passado, a sociedade vem utilizando cada vez mais plásticos, principalmente, devido à versatilidade, estabilidade e baixo custo desses materiais (HALE *et al.*, 2020). Os plásticos têm utilidade em diversos setores como de eletrônicos, automotivos, construção civil e embalagens de modo geral. No entanto, o descarte desses materiais tem sido inadequado e resíduos de plásticos têm sido encontrados em regiões litorâneas em todo o mundo, inclusive na Antártica, no Ártico e no fundo dos oceanos. Estima-se por meio de modelos preditivos que 5 a 13 milhões de toneladas de plásticos são depositados no oceano anualmente (ROTJAN *et al.*, 2019), desta maneira, o descarte adequado de materiais é um dos maiores desafios para o meio ambiente atualmente.

Já foi constatado que diversos organismos, de peixes a aves, têm se alimentado de pequenos fragmentos de plásticos, os chamados microplásticos (partículas de 1 a 5000 μm), inclusive os humanos têm ingerido esses resíduos por meio de água e fontes de alimentos contaminados (HALE *et al.*, 2020). Um estudo analisou o leite materno de 34 mulheres por meio da técnica de Microespectroscopia de Raman e encontrou microplásticos em 26 amostras, sendo contaminadas principalmente por polietileno, policloreto de vinila e polipropileno, com tamanhos variando de 2 a 12 μm . O grupo buscou encontrar relação entre as pacientes e os microplásticos encontrados na amostra de leite materno, contudo, não encontraram relação específica, concluindo que a exposição humana aos microplásticos é inevitável atualmente, podendo ocorrer por inalação, ingestão ou contato (RAGUSA *et al.*, 2022).

Por estas razões, diversos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de desenvolver materiais provenientes de biopolímeros e que sejam biodegradáveis para substituir ou amenizar os danos causados pelos materiais provenientes de petróleo, os quais apresentam degradação lenta, de 500 a 1000 anos em muitos casos (ROTJAN *et al.*, 2019). Os biopolímeros podem ser encontrados em fontes vegetais ou animais e pertencem a proteínas, carboidratos e lipídeos, ou podem ainda, ser quimicamente sintetizados usando monômeros de fontes agrícolas (DEGRUSON, 2016; LEYVA-JIMÉNEZ *et al.*, 2023).

Os polissacarídeos são os biopolímeros mais abundantes na natureza, sendo biocompatíveis e biodegradáveis, características interessantes para a produção de biomateriais (WASUPALLI; VERMA, 2018). Ademais, são polímeros de fontes renováveis e são fáceis de processar em diferentes formas como cápsulas, filmes e fibras. Os polissacarídeos têm sido aplicados na

indústria de alimentos, farmacêutica e na biomedicina devido aos seus respectivos atributos físicos e químicos. Na maioria das vezes são seguros, não tóxicos e comestíveis (HUANG *et al.*, 2022). Polissacarídeos podem ser obtidos de resíduos da produção agrícola e de alimentos.

A borra de café é um resíduo rico em compostos orgânicos como fenólicos, proteínas, ácidos graxos, melanoidinas, mas principalmente rica em polissacarídeos, cerca de 60 a 65 % em base seca, que podem ser destinados à produção de diversos produtos inclusive de biomateriais (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; MASINO *et al.*, 2022; MCNUTT; HE, 2019).

A borra de café é o principal resíduo do processo de fabricação da bebida café podendo ser proveniente da produção do café industrial (e.g., indústria de café solúvel), obtenção doméstica ou de estabelecimentos comerciais (e.g., borra de café espresso). Anualmente são descartados em torno de 6,5 milhões de toneladas de borra de café (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; ICO, 2021). Em função de sua composição, esses números expressivos também contribuem significativamente para poluição ambiental, necessitando de um gerenciamento adequado (MASINO *et al.*, 2022).

Empresas de diversas áreas já estão reaproveitando a borra de café para gerar produtos de valor agregado como xícaras e pratos (KAFEEFORM, 2021), esfoliantes de pele (DONNAN, 2021), embalagens de shampoo e condicionador (O'RIGHT, 2021).

A comunidade científica entendeu essa importância, e inúmeras pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de reaproveitar a borra de café como o uso desta na produção de bebida destilada (SAMPAIO *et al.*, 2013), ingredientes para panificação (MARTINEZ-SAEZ *et al.*, 2017), protetor solar (MARTO *et al.*, 2016), reforço para biomateriais (MENDES *et al.*, 2019) e outros.

Batista *et al.*(2020) e Coelho *et al.*(2021) desenvolveram filmes provenientes da borra de café utilizando o cloreto de zinco como solvente para dissolução de resíduos agroindustriais, visto que não é tóxico, não é volátil, e é facilmente recuperado, sendo, portanto, uma alternativa sustentável para dissolver polímeros como a celulose e as galactomananas do café, os quais apresentam regiões cristalinas e por isso, não são dissolvidos pelos solventes comumente utilizados na fabricação de filmes a base polissacarídeos (OOSTERVELD *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2016). No entanto, a solução de ZnCl₂ pode ter prejudicado as propriedades finais do material e degradado os polissacarídeos da matriz como discutido em outros estudos, além disso, a adição de sais como cloreto de zinco e cloreto de lítio na formulação dos filmes pode tornar a matriz polimérica mais aberta, aumentando a permeabilidade e diminuindo a resistência

mecânica do material (BAKER, 2012; LIN *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2016). Por isso, mais pesquisas são necessárias, a fim de entender o efeito do cloreto de zinco sobre a matriz polimérica assim como a necessidade de aprofundamento a respeito da formação dos filmes, uma vez que estudos utilizando a borra de café para tais fins ainda são escassos.

Estratégias para contornar as limitações provocadas pelo cloreto de zinco no desenvolvimento de filmes poderiam ser adotadas como a adição de nanopartículas, ou de agentes formadores de ligações cruzadas, ou a incorporação de outros polímeros (AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017; GARAVAND *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2017). O presente trabalho adotou como estratégia a adição de agentes de ligações cruzadas com objetivo de aproximar as cadeias poliméricas e melhorar as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água dos filmes. Foram realizados dois tipos de ligações cruzadas, a primeira por meio de atração eletrostática utilizando íons Ca^{2+} e a segunda, por meio de ligações covalentes utilizando o ácido 1,4-fenilenodiborônico.

À vista disso, este trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de filmes biopoliméricos provenientes da borra de café a partir da incorporação de agentes de ligações cruzadas. A parti disso, os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- Caracterizar a borra de café *espresso* para compreensão da formação dos filmes;
- Desenvolver e comparar filmes com diferentes tipos de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas (cloreto de cálcio e ácido 1,4-fenilenodiborônico);
- Avaliar a degradação provocada pela solução de cloreto de zinco nos polissacarídeos da borra de café durante o preparo da solução filmogênica; e
- Apontar alternativas para minimizar a degradação promovida pelo ZnCl_2 nos polissacarídeos da borra de café.

2 BORRA DE CAFÉ *ESPRESSO*

2.1 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1.1 BORRA DE CAFÉ *ESPRESSO*

O café é a bebida quente mais popular do mundo, sendo a mais consumida, depois da água e a segunda *commodity* mais comercializada no mundo, ficando atrás apenas do petróleo (HUANG; ZHANG, 2013; ORECCHIO; AMORELLO; BARRECA, 2019; PIÑEIRO-GARCÍA *et al.*, 2020). Em 2020, a produção de café quase alcançou 176 milhões de sacas de 60 kg de grãos de café, o que gerou um valor estimado de 6,5 milhões de toneladas de borra de café, além de outros resíduos provenientes da produção cafeeira (ICO, 2021; JANISSEN; HUYNH, 2018). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento- CONAB no Brasil o estado de Minas Gerais lidera a produção e exportação. No mês de setembro de 2022, Minas Gerais exportou 2,26 milhões de sacas de café. O volume para tal ano, já totaliza 20,43 milhões de sacas (CONAB, 2022).

A borra de café é o resíduo gerado do processo de extração sólido-líquido envolvendo água e grãos de café moídos para a produção da bebida café ou do café solúvel (DEL CASTILLO *et al.*, 2019). A borra de café *espresso* (BE) é o resíduo especificamente proveniente da produção do café *espresso* e é produzida em larga escala, pois é um dos métodos de extração de café mais populares nas cafeterias. Para a coleta de BE já existem projetos que promovem o recolhimento das mesmas para a produção de diversos produtos com valor agregado (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; MORRISON, 2016; PUJOL *et al.*, 2013). Apesar disso, o reaproveitamento da borra de café ainda é baixo em vista da quantidade de resíduos gerados anualmente, por isso é preciso ampliar a sua coleta e utilização como fontes para a produção de produtos com valor agregado.

Nos últimos anos, a borra de café tem sido amplamente estudada para diversos fins com a intenção de aproveitá-la, visto que é uma matriz rica em compostos orgânicos como ácidos graxos, aminoácidos, polifenóis, minerais e, principalmente em polissacarídeos (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; JANISSEN; HUYNH, 2018; MCNUTT; HE, 2019; MUSSATTO *et al.*, 2011).

O método de extração para produção da bebida café tem influência nas características da borra, isso porque as condições utilizadas extraem compostos diferentes e em concentrações variadas (ANGELONI *et al.*, 2019). O método de extração para produzir uma xícara de café é composto

por muitas variáveis como granulometria do grão moído, proporção de água e grão de café, temperatura e pressão da água, tempo de extração e tipo de filtro. Tais variáveis influenciam nas características da bebida, como o café coado em que o papel filtro é responsável por remover os diterpenos da bebida, ou o café solúvel que apresenta alto teor de carboidratos devido às extrações sequenciais em que a matriz foi submetida (LOPES *et al.*, 2021; MOEENFARD *et al.*, 2015). Contudo, apesar das diferenças em função do método de extração utilizado, em geral, a bebida é composta por carboidratos solúveis em água quente, cafeína, ácidos clorogênicos, proteínas, lipídeos e melanoidinas.

Para a produção do café *espresso*, a bebida é preparada por meio de uma máquina que promove a percolação por tempo determinado, 30 ± 5 segundos, de um volume de água quente pré-definido (90 ± 5 °C) em grãos de café torrado e moído compactados em um recipiente sob a pressão de 9 ± 2 bar, tendo como resultado uma bebida coberta por uma espuma conhecida como *crema* (ANDUEZA *et al.*, 2003; PETRACCO, 2008; SALAMANCA *et al.*, 2017).

O processo de extração de compostos para a produção do café *espresso* remove entre 12 a 24 % de carboidratos, principalmente os polissacarídeos arabinogalactanas e galactomananas, sendo a última a responsável pela viscosidade e estabilidade da espuma do café *espresso* devido à alta massa molecular desse polímero (ILLY; NAVARINI, 2011; LOPES *et al.*, 2021; MOREIRA *et al.*, 2015).

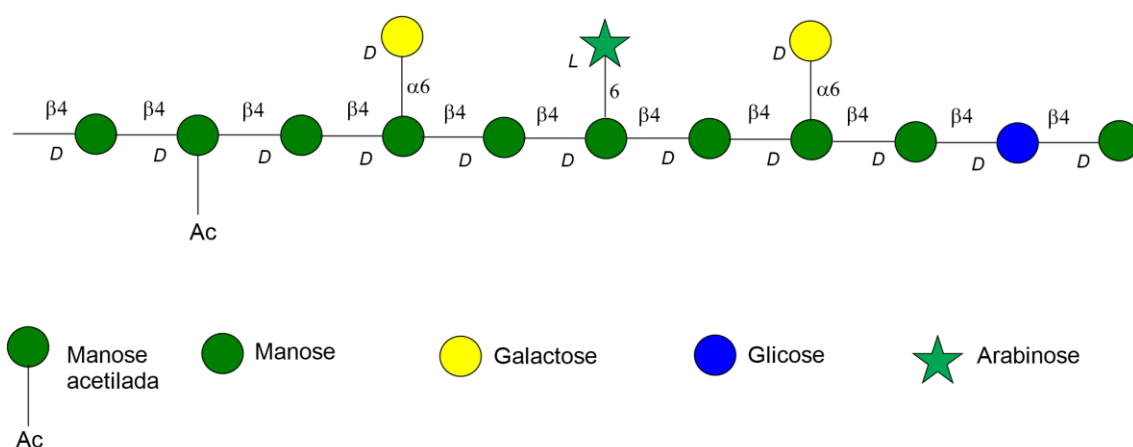
2.1.2 PRINCIPAIS POLISSACARÍDEOS DO CAFÉ

Os componentes predominantes da borra de café são a celulose e a hemicelulose, que juntos representam de 60 a 65% da matriz em base seca (MCNUTT; HE, 2019; SIMÕES *et al.*, 2019). A celulose representa em torno de 25 %, ao passo que a hemicelulose é composta pelas galactomananas e arabinogalactanas que representam em torno de 50 e 25 % dos polissacarídeos presentes na borra de café, respectivamente (DE OLIVEIRA PETKOWICZ, 2014; PASSOS; COIMBRA, 2013).

As galactomananas (GM) são constituídas por unidades de D-manopiranosose, ligadas umas às outras por ligações β -(1-4) na cadeia principal, apresentam cadeias laterais formadas por resíduos unitários de D-galactopiranosose ligados à cadeia principal por meio de ligações α -(1-6) (CERQUEIRA *et al.*, 2011a; WEI; TANOKURA, 2015a). As galactomananas apresentam diferentes níveis de substituição de unidades de galactose e de massa molecular, indicando que existem diferentes galactomananas no café (DE OLIVEIRA PETKOWICZ, 2014). Estudos que

caracterizaram galactomananas extraídas do grão de café cru, relataram que as mesmas exibiram estrutura química contendo arabinose (2 mol%) e glicose (6 mol%) e estavam acetiladas (11 mol %), sendo a maioria dos grupos acetil encontrados na cadeia principal ligados ao O-2 nos resíduos de manose como pode ser observado pelo esquema da Figura 2.1:

Figura 2.1 - Representação esquemática de galactomananas isoladas do grão de café verde.



Fonte: Moreira *et al.* (2012) modificado.

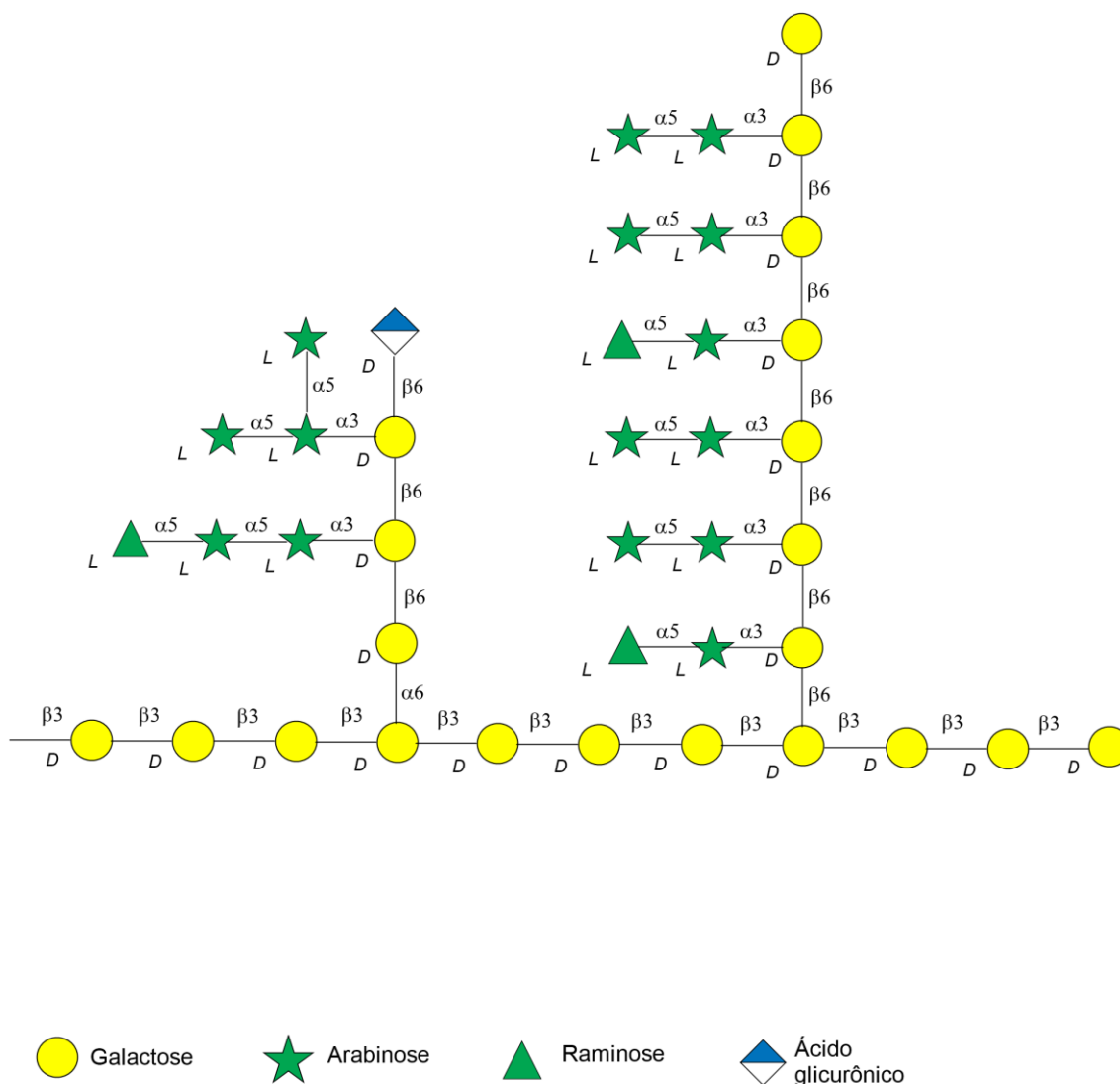
A razão manose/galactose (M/G) é uma das principais características utilizadas para diferenciar as galactomananas e é dependente da planta de origem e das condições de extração das mesmas (DOS SANTOS *et al.*, 2015; FIGUEIRÓ *et al.*, 2004). Além disso, a distribuição dos resíduos de galactose ao longo da cadeia principal, o tamanho da cadeia carbônica e a massa molecular do polissacarídeo são as demais características responsáveis pelas diferenças entre as galactomananas (PRAJAPATI *et al.*, 2013). Essas características, bem como a razão manose/galactose (M/G), determinam as propriedades físico-químicas do polissacarídeo, como solubilidade em água, densidade e a viscosidade das soluções em que as galactomananas estão dispersas.

As galactomananas do café diferem das GM mais comumente comercializadas como as gomas guar, tara e de alfarroba, que apresentam razões M/G de 1,6–1,8; 3,0 e 3,9-4,0; respectivamente (CUI; IKEDA; ESKIN, 2006). Diferentemente das comerciais, as GM do café apresentam menor percentual de ramificação ao longo da cadeia principal com regiões lineares e cristalinas. Estudos relatam razão de M/G de até 23 para galactomananas extraídas de grãos verdes de café. Existem diferentes tipos de galactomananas na matriz do café, no entanto, a extração das mesmas para pesquisas e o respectivo aproveitamento, pois fazem parte da parede celular do

grão (PASSOS *et al.*, 2014; SIMÕES *et al.*, 2009). Parte das diferenças entre os polissacarídeos no café torrado é explicada pelas condições e graus de torração aos quais a matriz foi submetida (OOSTERVELD *et al.*, 2003).

As arabinogalactanas (AG) conhecidas dos grãos de café verde são do Tipo II, ou seja, altamente ramificadas. São polissacarídeos de unidades de D-Galp ligadas em β -(1-3) na cadeia principal e com cadeias laterais formadas por unidades de D-Galp ligadas à cadeia principal por ligações β -(1-6), apresentando ramificações de resíduos de α -L-arabinose, α -L-raminose e α -D-ácido glicurônico. As arabinogalactanas do café são predominantemente ligadas a fragmentos de proteína ($\approx 4\%$), formando glicoproteínas conhecidas como arabinogalactanas-proteínas (AGP) (NUNES *et al.*, 2008; REDGWELL *et al.*, 2002a). A Figura 2.2 ilustra as arabinogalactanas extraídas dos grãos de café cru:

Figura 2.2 - Representação esquemática de uma das possíveis estruturas de arabinogalactanas que foi isolada do grão de café verde por extração com água quente.



Fonte: Moreira *et al.* (2012)(modificado)

Outro importante polissacarídeo presente no café é a celulose, sendo o polímero que menos sofre mudanças na estrutura durante o processo de torração e o mais difícil de ser extraído devido à aderência existente entre o polímero e a parede celular do grão (OOSTERVELD *et al.*, 2003; SIMÕES *et al.*, 2013). A celulose é formada por unidades de glicose com ligações β -(1-4) e é o polímero mais abundante na natureza (MONDAL, 2017; ZHANG *et al.*, 2019)(MONDAL, 2017; ZHANG *et al.*, 2019). A configuração β permite a formação de cadeias longas e lineares, possibilitando a organização de fibrilas por ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas, desta maneira, interagindo paralelamente umas às outras (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002). Essa configuração da celulose é a responsável pelas fibras

com elevada resistência à tração presentes nesse polímero, assim também ocorre com as mananas (ou galactomananas com baixo grau de substituição de resíduo de galactose). As ligações de hidrogênio intramolecular das galactomananas são mais fortes que as ligações de hidrogênio na celulose, essa diferença ocorre devido à presença de pares de hidroxilas na conformação *cis* para os carbonos C2 e C3 nos resíduos de manose de galactomananas, ao invés da configuração *trans* que ocorre nas unidades de glicose da celulose (MATHUR, 2016).

A celulose é amplamente utilizada na preparação de membranas para purificação de água e aplicações biomédicas, principalmente, por ser abundante na natureza e apresentar propriedades mecânicas adequadas para tais aplicações, estabilidade térmica e biocompatibilidade (PANDELE *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2019). Em relação aos materiais provenientes do petróleo, a celulose apresenta vantagens como baixo custo, biodegradabilidade, proveniente de recurso natural e renovável, além de ser facilmente modificável quimicamente, podendo ser utilizada em diversas aplicações. A celulose apresenta regiões cristalinas devido às ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas dificultando a dissolução do polímero em água e em solventes orgânicos comumente utilizados, demandando muitas vezes o uso de solventes que podem ser tóxicos e de custo elevado.

De forma geral, o grão verde é composto por 22 % de galactomananas, 14-17 % de arabinogalactanas e 8 % de celulose (SIMÕES *et al.*, 2019). Dependendo das condições de torração, são degradados entre 12 a 40 % de polissacarídeo, principalmente aqueles de baixo peso molecular (REDGWELL *et al.*, 2002b). As galactomananas e arabinogalactanas sofrem mudanças estruturais, desidratação, isomerização, despolimerização e formação de complexos com proteínas, fragmentos de proteínas e outros (SIMÕES *et al.*, 2019; WEI; TANOKURA, 2015a). Além disso, é possível que ocorra a formação de estruturas híbridas de arabinogalactanas e galactomananas (MOREIRA *et al.*, 2014). As galactomananas reagem com os resíduos de arabinose da cadeia lateral das arabinogalactanas em tratamento térmico, e podem ser incorporadas às estruturas de melanoidinas (MOREIRA *et al.*, 2012a; NUNES; COIMBRA, 2007; SIMÕES *et al.*, 2019).

Redgwell *et al.* (2002) avaliaram a degradação dos polissacarídeos após o processo de torração em grãos de café arábica. Segundo estes autores, as arabinogalactanas são as mais susceptíveis à degradação térmica, seguidas das galactomananas, ao passo que a celulose não apresentou degradação mesmo em torrações mais intensas (REDGWELL *et al.*, 2002b). As regiões mais afetadas durante o processo térmico, são as cadeias laterais compostas por resíduos de arabinose

nas arabinogalactanas. Além disso, arabinogalactanas também sofrem despolimerização, ocorrendo a diminuição do peso molecular. Apesar de serem mais resistentes, as galactomananas também sofrem despolimerização e se tornam mais lineares durante a torração.

Devido a reações químicas durante a torração, gases como CO₂, água e compostos voláteis são produzidos no interior dos grãos, aumentam a pressão interna dos mesmos, provocando a sua expansão e ruptura da estrutura interna da parede celular (FERNANDES, 2019; OOSTERVELD *et al.*, 2003; SCHENKER *et al.*, 2000; SIMÕES *et al.*, 2019). Desta maneira, o processo torna a parede celular mais porosa possibilitando que compostos solúveis sejam mais facilmente extraídos, assim como a extração de polissacarídeos, que também é facilitada pelas mudanças estruturais sofridas por estes em virtude das reações químicas que ocorrem durante o processo de torração. Contudo, a maior parte das galactomananas e arabinogalactanas permanecem na parede celular durante a extração de compostos da matriz do café utilizando água em torno de 90 °C (OOSTERVELD *et al.*, 2003).

Ademais, os polissacarídeos estão envolvidos, juntamente com as proteínas e com os compostos fenólicos, na formação de melanoidinas, as quais são macromoléculas formadas durante o processo de torração (WEI; TANOKURA, 2015b). As melanoidinas são compostos de coloração marrom com altas massas moleculares, com estruturas heterogêneas e diversificadas, sendo polímeros oriundos das reações de Maillard. A formação e a estrutura das melanoidinas ainda não estão totalmente elucidadas.

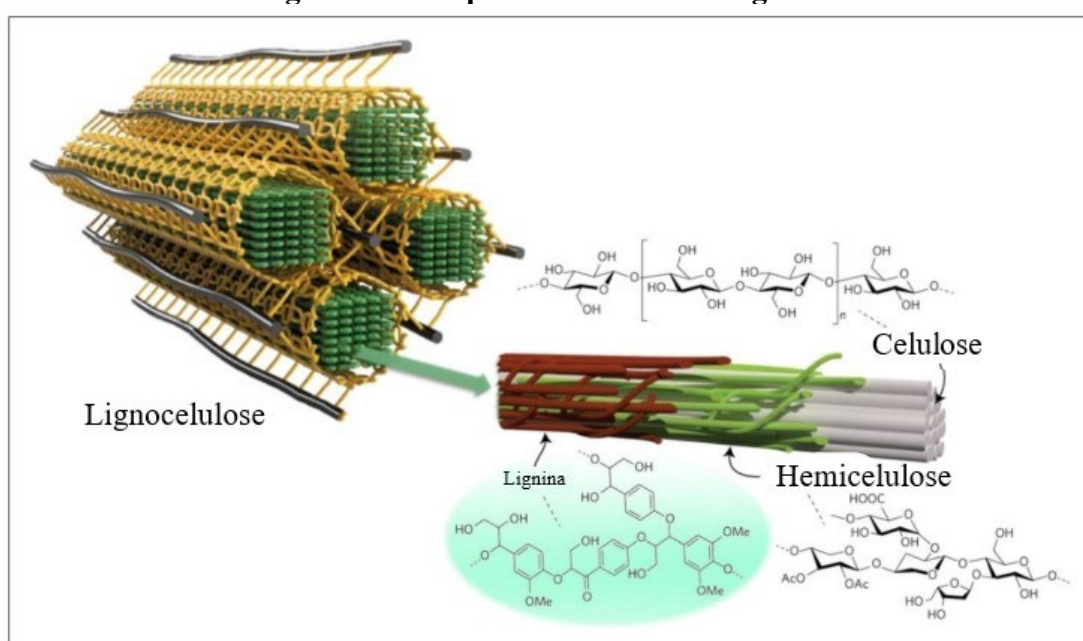
Desta maneira, a borra de café é uma matriz complexa composta predominantemente por polissacarídeos que são resistentes à extração, por lipídeos, proteínas, fenólicos e compostos gerados durante o processo de torração como as melanoidinas. Ou seja, é um material rico em compostos orgânicos que podem ser utilizados como fonte de novos produtos, inclusive materiais biodegradáveis contribuindo para a redução do impacto ambiental que as embalagens e materiais plásticos derivados do petróleo causam na natureza. Além disso, o reaproveitamento da borra de café também iria contribuir de maneira positiva para o meio ambiente diante do volume de resíduo agroindustrial gerado anualmente.

2.1.3 TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO (PHA)

O tratamento com peróxido de hidrogênio é comumente utilizado para remoção de lignina, pois esta impede o acesso a polissacarídeos de materiais lignocelulósicos (JUNG *et al.*, 2022). A lignina é uma estrutura polifenólica complexa, composta por macromoléculas tridimensionais

amorfos complexos constituídas por diferentes unidades de fenilpropanóides metoxiladas (JUNG *et al.*, 2022). Está associada à parede vegetal com a função de proteção celular estando presente em sementes com o objetivo de proteger a região embrionária, mas está presente principalmente em tecidos vascularizados de plantas, conferindo rigidez às hastes das plantas e impermeabilização aos tecidos vasculares onde ocorre a circulação da seiva e é uma estrutura recalcitrante que protege os tecidos vegetais da parede celular de ataques microbiológicos e químicos como ilustra o esquema da Figura 2.3 (LU; YUE, 2019; RUIZ-DUEÑAS; MARTÍNEZ, 2009; TOBIMATSU *et al.*, 2013).

Figura 2.3 - Esquema de materiais lignocelulósicos.



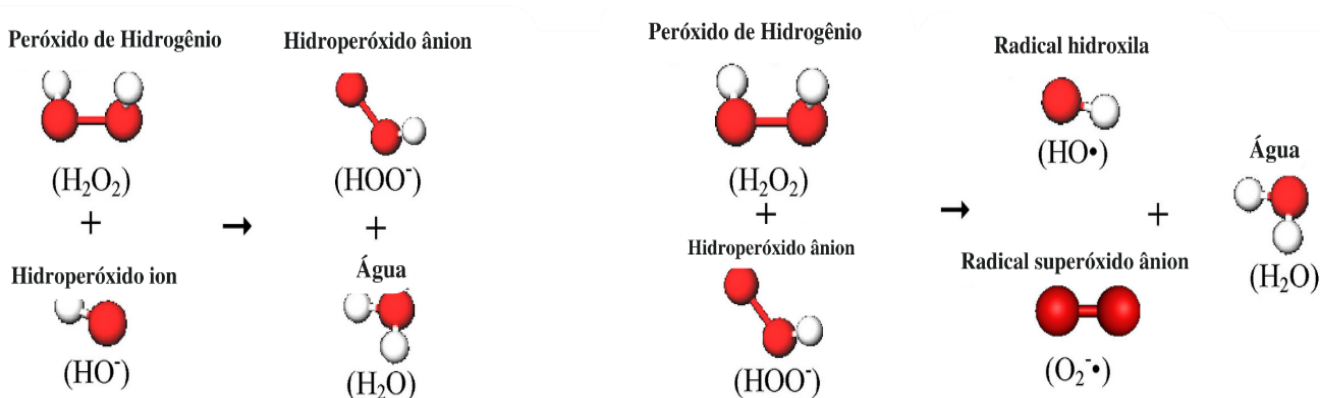
Fonte: Jung *et al.*(2022) (modificado).

A primeira aplicação de PHA ocorreu por volta de 1984 e a partir dessa data comprovou-se a capacidade deste em atacar seletivamente grupos carbonila, melhorando o processo de deslignificação de biomassa lignocelulósica e conseqüentemente, aumentando o rendimento na produção de bioprodutos (HO; ONG; WU, 2019). Segundo os autores, a eficiência do tratamento depende da decomposição do peróxido de hidrogênio e produtos intermediários que agem como iniciadores para várias reações oxidativas com os componentes presentes na biomassa.

Em condições alcalinas, pH 11,5 aproximadamente, o peróxido de hidrogênio é dissociado para produzir ânion hidroperóxido (HOO^-), responsável por desencadear as reações que formarão os

radicais que oxidam a lignina e a liberam da matriz. Assim, é possível afirmar que, todo esse processo é dependente do pH do meio. Os íons HOO^- podem reagir com o peróxido de hidrogênio não dissociado, produzindo o radical hidroxila altamente reativo ($\text{OH}\cdot$) e o superóxido (O_2^-). Esses radicais oxidam a lignina e despolimerizam a biomassa em constituintes de baixo peso molecular. (GOULD, 1984, 1985; HO; ONG; WU, 2019). Na ausência de outros reagentes, os radicais hidroxílicos e superóxidos reagem entre si formando oxigênio e água. A Figura 2.4 apresenta as reações de decomposição do peróxido de hidrogênio em condições alcalinas e a produção de radicais altamente reativos.

Figura 2.4 - Reações de decomposição de peróxido de hidrogênio.



Fonte: Ho; Ong; Wu (2019) (modificado).

A lignina é o principal alvo de ataque químico na reação do peróxido de hidrogênio alcalino, contudo, parte da hemicelulose é solubilizada, e possíveis mudanças estruturais na celulose, sugerindo que unidades de glicose possam ser modificadas pelo tratamento. Porém, essas modificações apresentam um percentual pequeno, cerca de 5% do total de unidades de glicose e podendo ser suficientes para quebrar as ligações de hidrogênio entre os polímeros de celulose, abrindo a estrutura e diminuindo as regiões cristalinas desse polissacarídeo (GOULD, 1984, 1985).

Apenas uma fração das galactomananas e arabinogalactanas são solubilizadas durante do preparo da bebida, independentemente da espécie e da origem geográfica do café (NUNES; COIMBRA, 2001, 2002), desta maneira, cerca de 70 % dos polissacarídeos do grão de café do valor inicial permanecem na borra (ARYA; RAO, 2007). Desta maneira, este presente trabalho realizou um tratamento de deslignificação na matriz com peróxido de hidrogênio alcalino com o objetivo de produzir um material rico em polissacarídeos que possa ser utilizado em reações e etapas subsequentes necessárias para o desenvolvimento de produtos com maior valor agregado.

2.2 METODOLOGIA

2.2.1 MATERIAIS

A borra de café *espresso* (BE) foi adquirida em cafeteria local na cidade de Belo Horizonte (MG, Brasil). As amostras foram secas a 55 °C por 24 h em estufa convectiva (marca New Lab, modelo NL82-64, Brasil), cominuídas em moedor de café (marca Cadence, modelo MDR301, Brasil) e classificadas em peneiras ($0,50 \text{ mm} < D < 0,84 \text{ mm}$).

2.2.2 TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO (PHA)

Para o processo de deslignificação da borra de café, foram utilizados os reagentes peróxido de hidrogênio 50 % e hidróxido de sódio P.A. (NaOH) da marca Synth (Diadema – Brasil) e ácido acético glacial P.A. (Anidrol, Diadema – Brasil).

O experimento foi baseado na metodologia utilizada por Batista *et al.*(2020) para deslignificação dos materiais. Inicialmente, foram adicionados 40 g de borra de café em 200 mL de solução de peróxido de hidrogênio a 35 % (v/v). Em seguida, adicionou-se, gota a gota, 7 mL de solução de hidróxido de sódio a 50 % (m/v). A partir disso, a temperatura da mistura atingiu cerca de 80 °C e ocorreu a liberação de O₂, gerado na degradação de H₂O₂ (GUO *et al.*, 2013). Esperou-se a mistura esfriar e o pH foi ajustado para $11,5 \pm 0,1$ pela adição de solução de NaOH. Subsequentemente, a suspensão foi agitada a 120 rpm por 18 h a 25 °C em incubadora orbital (marca Quimis). A mistura foi neutralizada com solução de ácido acético a 10 % (v/v), filtrada e lavada com água. O resíduo da filtração foi colocado em estufa convectiva por 16 h a 55 °C (marca New Lab, modelo NL82-64). Em seguida, as amostras de borra de café *espresso* submetidas ao tratamento com peróxido alcalino (BE-PHA) foram moídas (marca Cadence, modelo MDR301) e peneiradas em malhas de 20 mesh (Série Tyler). As amostras foram armazenadas em ambiente seco e ao abrigo da luz.

2.2.3 CARACTERIZAÇÃO DA BORRA DE CAFÉ *ESPRESSO* E DE BE-PHA

Com o objetivo de compreender os fatores que promovem as diferenças entre os filmes produzidos, a borra de café *espresso* e a borra de café submetida ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino foram caracterizadas por meio da composição físico-química das amostras, isto é, percentual de umidade, cinzas, nitrogênio total, gordura e lignina, as quais foram analisadas de acordo com os métodos da AOAC (2007), e carboidratos que foram obtidos por diferença. Além disso, foram realizadas as análises de determinação dos carboidratos

estruturais utilizando HPLC (sigla do inglês - *High Performance Liquid Chromatography*), de espectroscopia no infravermelho médio, de ressonância magnética nuclear de estado sólido e de termogravimetria (TGA).

2.2.3.1 RENDIMENTO DA AMOSTRA APÓS TRATAMENTO COM PHA

A fim de avaliar a perda de massa das amostras de borra de café após o tratamento com PHA, foi calculado o rendimento (R) com base na massa final (m_f) e inicial (m_i) das amostras utilizadas nos tratamentos:

$$R (\%) = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \quad \text{Eq. 2.1}$$

2.2.3.2 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

A determinação da umidade foi realizada utilizando o método de secagem definitiva em estufa com circulação de ar forçada a 105°C por 16 horas (AOAC, 2007; SILVA; QUEIROZ, 2002).

Primeiramente, os recipientes foram previamente secados a 105°C por duas horas. Então, os mesmos foram colocados no dessecador até que o equilíbrio da temperatura com o meio ambiente fosse atingido (em torno de 30 min). Em seguida, os recipientes foram pesados um de cada vez. Foram adicionados aproximadamente 2g de amostra aos recipientes. Foram colocadas as amostras na estufa previamente aquecida a 105°C. Enfim, os recipientes com as amostras foram colocados no dessecador para atingirem a temperatura ambiente, e então, pesados. As amostras foram colocadas na estufa a 105 °C por mais 1 hora com o objetivo de avaliar se as amostras foram secas completamente. Este procedimento foi repetido até não mais ocorrer variação da massa das amostras.

2.2.3.3 DETERMINAÇÃO DE CINZAS

Para determinação de cinzas utilizou-se a metodologia de Silva & Queiroz (2002). Cadinhos de porcelana foram colocados na estufa a 105°C por duas horas, esfriados por uma hora no dessecador e pesados. Então, foram pesados 1,5-2,0 gramas de amostra seca. Procedeu a queima durante duas horas após a temperatura ter alcançado 600°C, quando foi obtido cinzas de coloração clara. Após este tempo, a mufla foi desligada e os cadinhos foram esfriados até menos

de 250°C. Os cadinhos com as amostras foram colocados no dessecador até atingirem o equilíbrio com o ambiente. Então, as amostras foram pesadas.

2.2.3.4 DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL – PROTEÍNAS

A determinação de proteínas foi realizada de acordo com o Método de Micro-Kjeldahl, (LABCONCO, 1998; ZENEBON; PASCUET; TIGLEA, 2008). Para etapa de digestão foram pesados 0,25 g de amostra em um pedaço de papel manteiga (6 x 6 cm), o qual foi fechado como um envelope. Do mesmo modo, foram pesados 2,0 g da mistura composta por 96 % de K_2SO_4 e 4 % de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (catalisador) em um pedaço de papel manteiga. Em um tubo digestor, adicionaram-se os envelopes com amostra e mistura, além de 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Então, os tubos foram levados ao sistema de digestão de proteínas (bloco digestor) e aquecidos gradualmente até atingirem a temperatura de 350 °C (GALVANI; GAERTNER, 2006; LABCONCO, 1998). O processo ocorreu em 4 h no bloco digestor e envolveu a digestão da matéria orgânica com ácido sulfúrico e transformação do nitrogênio orgânico em sulfato de amônio, o que pode ser observado visualmente pela mudança da coloração da solução de preta para cor verde claro.

Para a etapa de destilação, foi utilizado o destilador de Kjeldahl (marca Quimis, modelo Q328S21). No equipamento, o tubo digestor com a solução ácida resultante da digestão recebeu 20 mL de solução a 40% de hidróxido de sódio para neutralização e alcalinização do produto da digestão, convertendo o íon amônio proveniente da etapa de digestão em gás amoníaco, o qual é coletado em frasco Erlenmeyer, contendo 10 mL da solução de ácido bórico e gotas do indicador vermelho de metila. A solução com ácido bórico, inicialmente, apresentou coloração marrom alaranjada, e, após a destilação, tornou-se esverdeada/azulada devido à presença do borato de amônio, proveniente da reação entre o ácido bórico e a amônia.

A terceira etapa da análise consistiu na titulação do destilado com solução padronizada de ácido clorídrico 0,1 mol/L até a viragem da cor do indicador de verde/azulado para alaranjado.

Para calcular o percentual de nitrogênio total e conseqüentemente estimar o percentual de proteína, segue a Equação 2.1:

$$NT (\%) = \frac{(Va - Vb) \times F \times 0,05 \times 0,014 \times 100}{ma} \quad \text{Eq. 2.2}$$

em que NT representa o teor de nitrogênio total, Va é o volume da solução de ácido clorídrico (mL) gasto na titulação da amostra, Vb é o volume da solução de ácido clorídrico (mL) gasto na titulação do branco, f é o fator de correção da solução padronizada HCl 0,05mol/L; e m é a massa da amostra (g).

O valor de proteína bruta é calculado pela multiplicação do valor de nitrogênio total pelo fator de conversão de nitrogênio para proteína (%), neste caso, optou-se por 6,25, classificação mais adequada para a borra de café (JIMÉNEZ-ZAMORA; PASTORIZA; RUFÍAN-HENARES, 2015; LABCONCO, 1998).

2.2.3.5 DETERMINAÇÃO DE EXTRATO ETÉREO

A determinação do extrato etéreo ou de lipídeos foi realizada de acordo com a metodologia de Zenebon; Pascuet; Tiglea. (2008).

Primeiramente, os balões com fundo chato foram identificados e secos por 1 hora em estufa convectiva a 105°C, em seguida, foram colocados em dessecador por 30 minutos, e, enfim, pesados em balança analítica. Foram pesados 1,5 g de amostra seca em cartucho extrator preparado com filtro de papel qualitativo, logo após, este foi dobrado e grampeado.

Em cada balão com fundo chato, adicionaram-se 150 mL de éter de petróleo (ponto de ebulição de 35-70 °C – P.A.). O cartucho contendo a amostra foi adicionado no extrator Soxhlet, assim como o balão foi acoplado neste. A extração ocorreu por refluxo contínuo com duração de 4 horas. Em seguida, o solvente foi parcialmente recuperado, os balões contendo a gordura bruta foram colocados em capela operacional até que praticamente todo o éter de petróleo fosse evaporado. Então, os balões foram colocados em estufa convectiva a 105°C por 30 minutos para evaporação do solvente residual. Em sequência, foram levados ao dessecador, no qual permaneceram por 30 minutos para atingirem a temperatura ambiente, e enfim, foram devidamente pesados. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

2.2.3.6 DETERMINAÇÃO DE LIGNINA

A determinação de lignina foi realizada de acordo com a norma TAPPI 222 om-02 (TAPPI, 2006) e metodologia descrita por Sluiter *et al.*(2012) com algumas modificações. Para tal, as amostras foram secas e desengorduradas como descrito nas metodologias das seções 2.2.3.1 e 2.2.3.5 deste capítulo, respectivamente.

Primeiramente, foram pesados 300 mg da amostra em tubo com tampa de Teflon (politetrafluoroetileno). Em seguida, adicionaram-se 3 mL de ácido sulfúrico 72% (m/m) para hidrólise dos carboidratos estruturais. Os tubos foram colocados em banho-maria a 30 °C por 1 h com agitação dos mesmos a cada 10 min para uniformizar a hidrólise. Após remover os tubos do banho-maria, a mistura foi diluída para 4 % de ácido sulfúrico por meio da adição de 84 mL de água ultrapura em frascos Erlenmeyer, os quais foram colocados em autoclave a 121 °C por 1 h. As amostras foram filtradas em cadinho de Gooch contendo 0,5 g de celite, e então, as amostras ainda nos cadinhos foram secas em estufa a 105 °C até alcançar peso constante. Com o objetivo de subtrair o teor de cinzas do resíduo insolúvel para a determinação da lignina insolúvel em ácido, os cadinhos foram levados a mufla e submetidos por 12 min a 105 °C, em seguida a temperatura da mufla foi mantida por 30 min a 250 °C, e por fim, por 180 min a 575 °C. A rampa de aquecimento de todo o processo foi 10 °C/min. As amostras foram retiradas da mufla em temperatura abaixo de 180 °C e em seguida, foram colocadas por 30 min no dessecador e depois pesadas.

Uma alíquota de 50 mL do filtrado foi separada para as análises de determinação de lignina solúvel em ácido (LSA) e carboidratos estruturais por HPLC. A determinação da lignina solúvel em ácido foi realizada utilizando o espectrofotômetro UV-vis para a leitura da absorbância da alíquota do filtrado. O branco das leituras foi realizado com água destilada, assim como a diluição das amostras quando necessária para obter absorbância entre 0.7 e 1.0. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 320 nm. O cálculo de % LSA foi realizado de acordo com a Equação 2.2:

$$\% LSA = \frac{UV_{abs} \times V_f \times D}{\epsilon \times m_i \times C} \times 100 \quad \text{Eq. 2.3}$$

em que UV_{abs} é a absorbância média lida no UV-Vis; V_f é o volume do filtrado (87 mL); ϵ é a absorvidade da biomassa de acordo com o comprimento de onda utilizado na leitura ($\epsilon = 30$ L/g.cm para 320 nm); m_i é a massa inicial da amostra em base seca em miligramas; e C é a trajetória da célula em cm.

2.2.3.7 DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS – HPLC

Os monossacarídeos das amostras de BE e BE-PHA foram quantificados de acordo com Sluiter *et al.*(2012). A alíquota separada na análise descrita na seção anterior (2.2.3.6) foi utilizada como amostra para determinação dos carboidratos estruturais por HPLC.

Os padrões de açúcar de alta pureza utilizados para a curva de calibração foram L-arabinose ($\geq 99\%$), D-manose ($\geq 99\%$), D-galactose ($\geq 99\%$) e α -D-glicose (96%), os quais são da marca Sigma Aldrich.

Assim como as amostras foram submetidas ao tratamento com H_2SO_4 diluído em autoclave a $121\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h descrito na seção 2.2.3.6, os padrões de monossacarídeos também foram submetidos a esse tratamento para reparar eventuais perdas devido à hidrólise ácida diluída. Desta maneira, cada açúcar padrão foi pesado, adicionou-se 10 mL de água deionizada e 348 μL de ácido sulfúrico.

Então, as amostras e os padrões foram neutralizados com carbonato de cálcio até a solução atingir pH 5-6, em seguida, as mesmas foram deixadas em repouso para que os precipitados decantassem. Em seguida, as amostras foram filtradas (filtros de $0,2\ \mu\text{m}$) e transferidas para os frascos de leitura no HPLC. Para cada padrão, foi construída uma curva de calibração com cinco pontos variando a concentração de $0,1$ a $4,0\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Cada amostra foi preparada em triplicata.

A identificação e a quantificação foram realizadas no HPLC (Shimadzu LC-20AP) utilizando coluna Supelcogel C-610H ($30\ \text{cm} \times 7,8\ \text{mm}$), tendo como fase móvel ácido sulfúrico a $5\ \text{mM}$ e vazão de $0,6\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A coluna foi operada a $60\text{ }^\circ\text{C}$ e o volume injetado foi de $20\ \mu\text{L}$. O HPLC foi utilizado com detector por índice de refração para leituras das amostras.

2.2.3.8 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C (RMN)

Para coletar os espectros de RMN de estado sólido foi utilizado o equipamento Bruker Avance III 400 MHz com rotação da amostra em torno do ângulo mágico (MAS – do inglês *magic-angle-spinning*), padrão Bruker de 4 mm, operando a $100,57\ \text{MHz}$ para núcleo ^{13}C . As amostras em pó foram colocadas em rotores de zircônio de 4 mm de diâmetro. Todos os experimentos foram realizados a $25\text{ }^\circ\text{C}$ a uma taxa de rotação de $5\ \text{kHz}$. Os espectros de RMN ^{13}C foram adquiridos com uma sequência de pulsos de polarização cruzada com supressão total de banda lateral, coletando 2048 varreduras com tempo de defasagem de 3 s, tempo de contato de 2 ms e tempo de aquisição de 34 ms.

2.2.3.9 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

As amostras foram analisadas por meio do espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modelo IRAffinity-1 (Shimadzu, Japão), detector DLATGS (Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine), com capacidade de leitura do espectro de 7800 a 370 cm^{-1} . As leituras foram realizadas na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} , com 20 *scans* e resolução de 4 cm^{-1} (BELCHIOR; FRANCA; OLIVEIRA, 2016). Utilizou-se o acessório de refletância total atenuada (ATR, do inglês *Attenuated Total Reflectance*) em cristal de ZnSe, em atmosfera controlada e à temperatura de 20 °C.

2.2.3.10 ANÁLISE TÉRMICA

As análises térmicas das amostras foram realizadas pela termobalança da marca Shimadzu (modelo TGA-51). Para realização da análise, foram pesados aproximadamente 20 mg de amostra em cadinho de alumínio, avaliou-se desde a temperatura ambiente até 600 °C, sob razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, e atmosfera de gás nitrogênio (N₂) com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (CERQUEIRA *et al.*, 2011b).

2.2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das análises foram avaliados estatisticamente pelo Teste t de Student pareado e realizados a 5% de significância por meio do software Minitab[®] 16 1.0 para avaliar se há diferença entre as amostras BE e BE-PHA.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Com o objetivo de caracterizar o material precursor dos filmes e avaliar a eficiência e o impacto do tratamento com PHA sobre BE, foram determinados o percentual de proteínas, gordura bruta, lignina, umidade e cinzas, e o percentual dos carboidratos (obtido por diferença) de BE e BE-PHA (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008).

A borra de café é um resíduo rico em compostos orgânicos, o que pode ser confirmado pelos dados da Tabela 2.1, os quais estão de acordo com os valores encontrados na literatura (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2014; CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; COELHO *et al.*, 2021; KARMEE, 2018; PUJOL *et al.*, 2013). O teor dos constituintes de BE pode variar em razão de fatores como tipo de variedade do café; tipo de colheita dos grãos, local de cultivo,

incluindo solo e clima, grau de torração e o método de extração utilizado para o preparo da bebida.

Tabela 2.1 - Composição físico-química da borra de café *espresso* (BE) e da borra de café submetida a tratamento com peróxido de hidrogênio (BE-PHA).

Composição (% m/m)						
Amostras	Carboidratos	Proteínas	Lípídeos	Lignina e Melanoidinas	Umidade	Cinzas
BE*	46,31	13,00 ± 0,50 ^a	13,77 ± 0,42 ^a	21,42 ± 2,39 ^a	6,52 ± 0,03 ^b	1,84 ± 0,10 ^a
BE-PHA	63,41	3,43 ± 0,19 ^b	14,68 ± 1,22 ^a	9,15 ± 1,01 ^b	7,51 ± 0,08 ^a	2,08 ± 0,06 ^a

BE: borra de café *espresso* seca a 55 °C por 24 h.

BE-PHA: borra de café *espresso* submetida ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste t de Student pareado, a 5% de significância.

Como ambos os compostos, melanoidinas do café e lignina, apresentam grupos funcionais típicos de compostos fenólicos, a metodologia comumente utilizada para remover lignina de materiais lignocelulósicos, a norma TAPPI 222 om-02 (TAPPI, 2006) e a metodologia descrita por Sluiter *et al.* (2012), também extraiu e quantificou as melanoidinas do café. Estas são macromoléculas de coloração marrom formadas pelas Reações de Maillard durante o processo de torração e são formadas por fragmentos de proteína (< 6 %) e polissacarídeos associados a ácidos clorogênicos (principal composto fenólico do café), contudo, as estruturas das melanoidinas ainda não são completamente elucidadas (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; MOREIRA *et al.*, 2012a, 2012b; NUNES; COIMBRA, 2010).

Desta maneira, a metodologia utilizada para quantificar as ligninas presentes na borra de café, também quantificou as melanoidinas, e por esta razão, podemos dizer que a soma do teor de lignina e de melanoidinas na borra de café foi determinada em 21,42 %, sendo necessárias outras análises mais específicas para distinguir o teor de cada composto presente.

Com relação ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino, o rendimento foi de 56,35 ± 2,68 % e foi eficiente para remover quase 76 % de compostos fenólicos, isto é, de lignina total e melanoidinas, além dos ácidos clorogênicos livres na matriz da borra de café *espresso*. BE-PHA apresentou uma redução de quase 60 % de melanoidinas e lignina total em relação a mesma massa de BE. Coelho *et al.* (2021) avaliaram a eficiência de diferentes tratamentos para

remoção da lignina em amostras de BE e relataram a redução de 70, 60 e 55 % (m/m) em relação ao percentual de lignina na matriz original para os tratamentos com PHA, permanganato de sódio assistido por ultrassom e tratamento com hidróxido de sódio, respectivamente, ou seja, o tratamento com PHA apresentou melhor resultado com base na redução do teor de lignina na amostra. Embora, a metodologia realizada por Coelho *et al.* (2021) seja semelhante, a diferença dos resultados pode ter acontecido primordialmente devido às diferenças entre as amostras de BE já supracitadas nesta seção.

Assim como a metodologia para determinar lignina também quantificou as melanoidinas, o tratamento com PHA remove a lignina, mas também remove as melanoidinas. Visto que a decomposição do peróxido de hidrogênio, em pH básico, principalmente próximo de 11,5, forma os ânions HOO^- e os radicais $\text{O}_2^{\bullet-}$ e HO^\bullet , os quais a literatura reporta que reagem com estruturas aromáticas, com ligações duplas e carbonilas das cadeias laterais da lignina, tornando-a em fragmentos de compostos de baixa massa molecular solúveis em água (GOULD, 1984, 1985; HO; ONG; WU, 2019). Tais estruturas químicas presentes na lignina, também estão presentes nas melanoidinas devido aos fragmentos de ácidos clorogênicos que foram incorporados a esta macromolécula durante a Reação de Maillard. Desta maneira, estes grupos funcionais presentes nas melanoidinas também são alvo da ação dos radicais provenientes da decomposição H_2O_2 . Além disso, esses agentes reativos e oxidantes formados na degradação de H_2O_2 também podem reagir com os polissacarídeos da parede celular e causar perdas principalmente da hemicelulose (XU; LI; MU, 2016).

Por isso, outro critério importante a ser avaliado para ver a eficiência do tratamento é o teor de carboidratos, que é o composto de interesse do presente trabalho para o desenvolvimento dos filmes, ou seja, não é vantajoso que a amostra deslignificada apresente baixo percentual de carboidratos, o que indicaria grandes perdas da fração polissacarídica da matriz. Analisando os dados, verifica-se que o tratamento com PHA promoveu a perda de aproximadamente 23 % dos carboidratos presentes em BE, porém, como esta perda foi inferior em relação aos demais constituintes da matriz, os carboidratos foram concentrados em BE-PHA quando se compara com o percentual encontrado na amostra BE exibindo teores de 63,41 e 46,31%, respectivamente.

Ademais, observa-se pelos dados expostos na Tabela 2.1 que BE-PHA quando comparada à BE também apresentou diferentes percentuais na composição centesimal dos demais constituintes,

exibindo menor teor de proteínas, valores de lipídeos estatisticamente semelhantes, e valores superiores para umidade e cinzas.

Além de proteínas, a borra de café apresenta outros compostos nitrogenados, como a cafeína que permanece na matriz mesmo após o preparo do café *espresso* com percentual de 1,3 a 2,4 %, os aminoácidos livres com 3,7 % e as melanoidinas que apresentam em torno de 16% (OESTREICH-JANZEN, 2010). Como a análise realizada determina o teor de nitrogênio nas amostras, o percentual de proteína encontrado foi influenciado pelos compostos nitrogenados que foram citados presentes na matriz.

A redução do teor de proteínas provavelmente ocorreu devido à diminuição da estabilidade conformacional da estrutura das proteínas promovidas pela ação do peróxido de hidrogênio (LE *et al.*, 2009), facilitando, portanto, a hidrólise alcalina destas pelo hidróxido de sódio presente na solução. Ao passo que, os lipídeos presentes na matriz provavelmente sofreram oxidação pelos radicais oriundos da decomposição do peróxido de hidrogênio (CRUZ *et al.*, 2012).

2.3.2 ANÁLISES DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIIS

Os carboidratos podem ser denominados como estruturais, ligados à matriz da biomassa, ou não-estruturais, os quais podem ser facilmente removidos por meio de extrações (SLUITER *et al.*, 2012). A análise das amostras submetidas à hidrólise utilizando H₂SO₄ e analisadas por cromatografia líquida com detector de índice de refração avaliou os polissacarídeos ligados à matriz da biomassa, ou seja, hemicelulose e celulose.

A borra de café *espresso* apresentou percentuais de monossacarídeos de manose, glicose, galactose e arabinose como descrito na Tabela 2.2. De acordo com a literatura, as galactomananas representam cerca de 50 % em base seca dos polissacarídeos encontrados no café e na borra (MOREIRA *et al.*, 2015; PASSOS; COIMBRA, 2013), o que corrobora o alto teor de manose encontrado nos resultados, visto que a mesma é o resíduo constituinte das galactomananas. A celulose e as arabinogalactanas representam cerca de 18 e 32 % dos polissacarídeos da matriz, sendo que a primeira é um homopolímero composto por resíduos de glicose, e a segunda é composta por resíduos de galactose na cadeia principal e as ramificações são compostas principalmente por arabinose (NUNES *et al.*, 2008; SIMÕES *et al.*, 2019; WANG; SHANKAR; RHIM, 2017). Portanto, os resultados encontrados estão em concordância com a literatura.

Tabela 2.2 - Perfil de monossacarídeos das amostras BE e BE-PHA.

Amostras	Concentração de açúcares %				Total
	Glicose	Manose	Galactose	Arabinose	
BE	25,68 ± 0,32 ^b	37,90 ± 0,20 ^a	17,63 ± 0,09 ^b	18,78 ± 0,17 ^a	100
BE-PHA	31,41 ± 0,85 ^a	36,35 ± 0,53 ^b	19,43 ± 0,28 ^a	12,81 ± 0,19 ^b	100

BE: borra de café *espresso*.

BE-PHA borra de café *espresso* submetida ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino.

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste t de Student pareado, a 5% de significância.

Resultados similares foram encontrados na literatura, como Simões *et al.*(2013) que encontraram 46 % de manose, 27 % de galactose, 20 % de glicose e 6 % de arabinose em amostras de BE e Coelho *et al.*(2021) que relataram que a borra de café *espresso* apresentou 48,36 % de manose, 22,50 % de galactose, 17,12 % de glicose e 12,02 % de arabinose.

Em relação à amostra de BE-PHA, a composição monossacarídica desta foi muito similar à borra de café *espresso*, sendo que as maiores diferenças foram a diminuição no teor de arabinose de 19 % em BE para 13 % em BE-PHA, e a concentração de glicose que aumentou de 26 % para 31 %. Esses resultados indicam que os polissacarídeos mais atingidos pelo tratamento com PHA foram as arabinogalactanas, ao passo que os polímeros mais conservados foram a celulose, este resultado pode favorecer o desenvolvimento de uma matriz polimérica mais densa, visto que as arabinogalactanas são altamente ramificadas diferentemente da celulose que é um polímero linear, o que facilita as ligações de hidrogênio entre as cadeias (REDGWELL *et al.*, 2002a; ZHANG *et al.*, 2019).

Coelho *et al.* (2021) também submeteram a borra de café ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino a 35% (v/v) como foi realizado no presente trabalho. A borra de café *espresso* analisada pelos autores apresentou 48,36 % de manose, 22,50 % de galactose, 17,12 % de glicose e 12,02 % de arabinose. Ao passo que, a borra de café submetida ao tratamento com PHA apresentou 53,89 % de manose, 28,84 % de galactose, 13,31 % de glicose e 3,96 % de arabinose. Pode-se observar que os perfis de monossacarídeos das duas amostras são similares, assim como ocorreu com as amostras BE e BE-PHA do presente trabalho. Contudo, pode-se notar que no trabalho de Coelho *et al.* (2021), as unidades de manose e galactose foram concentradas, enquanto os teores de glicose e arabinose diminuíram. Esta diferença pode ter

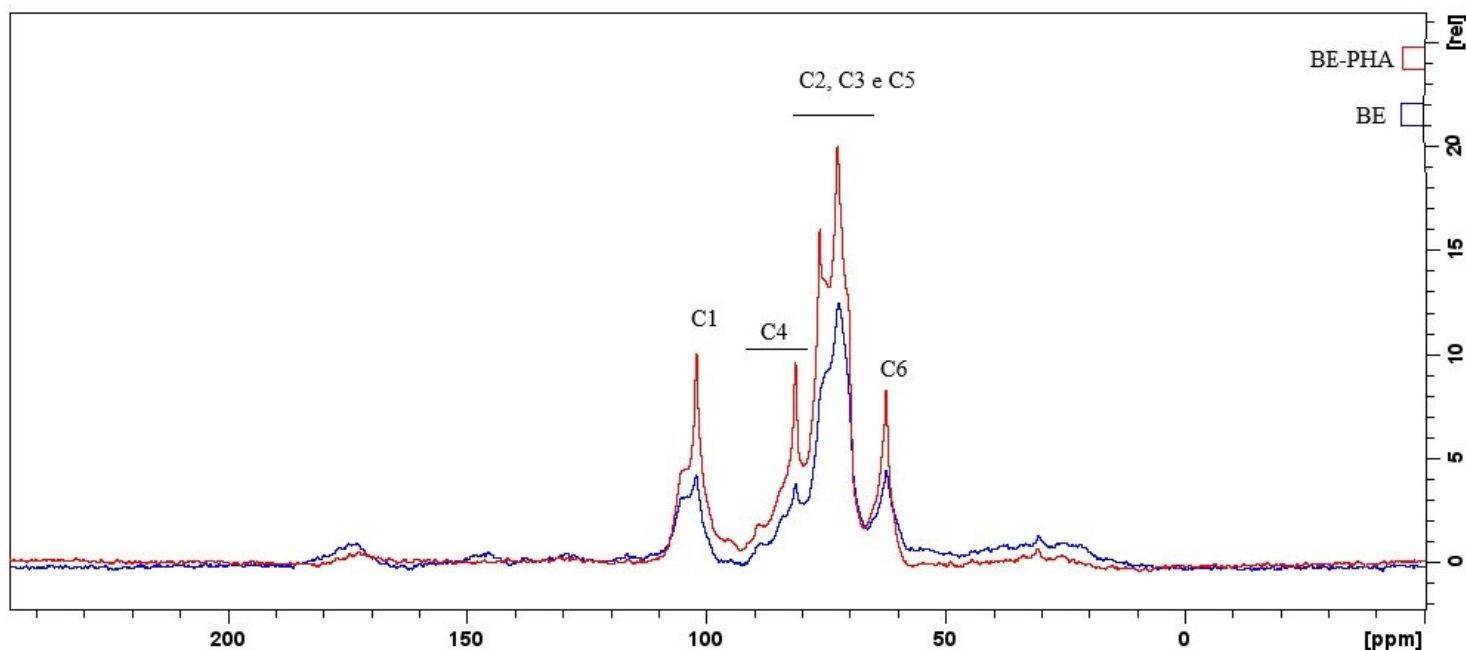
ocorrido devido aos diferentes métodos utilizados para quantificação dos açúcares, de modo que neste trabalho foi utilizado cromatografia líquida e no trabalho realizado por Coelho *et al.* (2021), cromatografia a gás.

2.3.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C (RMN)

A caracterização de materiais em RMN de estado sólido possibilita a análise direta de macromoléculas insolúveis como os polissacarídeos da parede celular, permitindo a caracterização da celulose e das galactomananas, polissacarídeos que são difíceis de serem extraídos da matriz do grão (KANAI; YOSHIHARA; KAWAMURA, 2019). As análises de RMN também foram conduzidas com o objetivo de avaliar as diferenças na composição química entre a borra de café e a mesma após tratamento com peróxido alcalino.

O espectro de RMN de estado sólido do ^{13}C da borra de café apresentou perfil característico da matriz com as principais bandas e picos na região de δ 50 a δ 120 ppm, atribuídas principalmente à presença de celulose e hemicelulose (Figura 2.5) (ESPIRITO SANTO *et al.*, 2018), principais componentes da borra de café. Contudo, a região apresenta picos e bandas sobrepostos devido à similaridade entre as ligações dos polissacarídeos presentes na matriz.

Figura 2.5 - Espectros de RMN de estado sólido ^{13}C das amostras BE e BE-PHA.



Os picos com as maiores intensidades estão relacionados aos carbonos das cadeias dos polissacarídeos da borra de café, ou seja, celulose, arabinogalactanas e galactomananas. De

modo geral, os sinais localizados de δ 58 a δ 66 ppm são referentes a C6, de δ 66 a δ 79 ppm são referentes aos carbonos C2, C3 e C5, de δ 79 a δ 92 ppm são referentes a C4 e de δ 96 a δ 108 ppm são referentes ao carbono anomérico C1 (ESPIRITO SANTO *et al.*, 2018; JIN CHO *et al.*, 2022; SABET *et al.*, 2021). Em relação a BE, percebe-se que o espectro de BE-PHA apresentou maior intensidade dos picos citados neste parágrafo, indicando que BE-PHA apresenta maior teor de polissacarídeos que as amostras de BE como sugerem os resultados de composição físico-química presentes na seção 2.3.1.

No espectro da borra de café é possível observar a banda de δ 140 a δ 160 ppm que foi associada ao carbono do anel aromático das estruturas da lignina e compostos fenólicos e que desaparece no espectro da amostra BE-PHA, assim como a redução no mesmo espectro da banda larga com baixa intensidade observada entre δ 160 e δ 185 ppm que está associada a ressonância do carbono do grupo C=O e pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos poliméricos (melanoidinas e ácidos clorogênicos) e lignina (GONZÁLEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2021; JIN CHO *et al.*, 2022; SANNIGRAHI; MILLER; RAGAUSKAS, 2010).

Os sinais observados na banda larga de δ 18 a δ 45 ppm e centralizados em δ 30 ppm presentes no espectro de BE e que sofre redução na intensidade nos dados de BE-PHA está relacionada à ressonância do carbono de grupos acetil na hemicelulose e proteínas (JIN CHO *et al.*, 2022).

Tais resultados indicam que o tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino reduziu o teor de lignina na matriz de BE-PHA assim como degradou parte da hemicelulose e proteínas presentes na borra de café *espresso* corroborando os resultados da análise térmica e FTIR. O mesmo resultado foi observado no trabalho desenvolvido por Jin Cho *et al.* (2022) em que realizaram tratamento com hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio na borra de café para posterior utilização da mesma para produção de produtos com maior valor agregado como bioetanol e manoligossacarídeos. Os autores observaram que o tratamento foi capaz de remover a lignina e compostos fenólicos da matriz da borra de café.

Além disso, observa-se que o espectro de BE-PHA apresentou maior resolução dos picos em relação ao espectro de BE, o que pode ser em decorrência de maior mobilidade do sistema causado pela maior absorção de água pela matriz, corroborando os dados referentes ao teor de umidade das amostras (seção 2.3.1)(VIEIRA; GIL, 2005). Tal mobilidade pode indicar que houve algum grau de rompimento de ligações inter e intramoleculares entre as macromoléculas,

diminuindo o empacotamento polimérico e facilitando a interação de moléculas de água com a matriz.

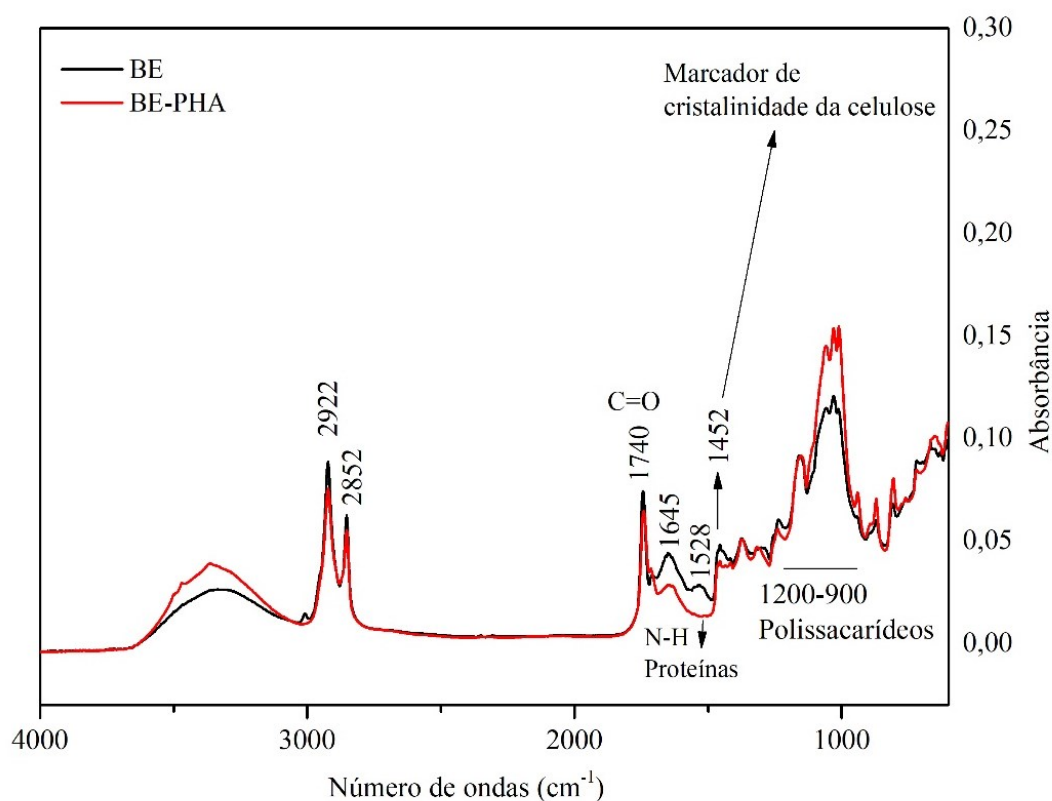
Os picos em δ 62,3 e δ 84,1 ppm (80 a 86) são característicos de C6 e C4 da fração menos ordenada e mais amorfa, enquanto os picos δ 65 e δ 88,9 ppm (86 a 92) são típicos de C6 e C4 da região cristalina da celulose, respectivamente (ESPIRITO SANTO *et al.*, 2018; SANNIGRAHI; MILLER; RAGAUSKAS, 2010). Desta maneira, observando a sobreposição dos espectros na Figura 2.5, nota-se que os picos referentes a região amorfa, δ 62,3 e δ 84,1 ppm, apresentam maior intensidade em BE-PHA em relação ao espectro de BE, apesar disso, também é possível que as amostras de BE-PHA continuam a apresentar regiões cristalinas de acordo com a análise do espectro.

Os espectros de RMN de estado sólido corroboram os demais resultados deste capítulo, sugerindo que o tratamento de PHA foi capaz de remover parte da lignina, aumentar a porção amorfa dos polissacarídeos e manter a cristalinidade da celulose, além de concentrar o percentual de polissacarídeos de maneira geral.

2.3.4 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

O preparo simples das amostras, a rapidez e a precisão da análise, a possibilidade de avaliar vários constituintes da amostra em uma leitura está entre as principais vantagens da técnica de espectroscopia no infravermelho (XU *et al.*, 2013). Além disso, o método não é destrutivo, o que permite o uso da amostra em outras análises. A técnica possibilita o estudo estrutural e de composição de grupos funcionais, o que corrobora com a elucidação de ligações entre cadeias poliméricas, as quais não podem ser analisadas em técnicas de extração química. Desta maneira, FTIR contribuiu para caracterizar as amostras de BE e BE-PHA, assim como elucidar as diferenças entre elas. Na Figura 2.6, podem ser observados os espectros das amostras de BE e de BE-PHA.

Figura 2.6 - Espectros de FTIR da borra de café espresso e borra de café submetida ao tratamento com H₂O₂ alcalino.



A banda em 3700-3000 cm^{-1} é atribuída ao estiramento O-H que é associado à umidade nas amostras e às hidroxilas nas cadeias de polissacarídeos e em outras estruturas como ácidos clorogênicos (BATISTA *et al.*, 2020). Esta banda apresentou maior intensidade no espectro de BE-PHA sugerindo maior teor de água presente nas amostras de BE-PHA em relação à BE.

Os picos em 2922 e 2852 cm^{-1} ocorrem devido aos estiramentos assimétricos e simétricos das ligações de C-H de carbonos saturados (-CH, -CH₂, -CH₃) de alcanos e grupos alquila, respectivamente, e estão relacionados à presença de lipídeos (REIS; FRANCA; OLIVEIRA, 2013a; WANG; LIM, 2012). Pelos espectros da Figura 2.6, observa-se que ambos os picos exibem intensidade similar, desta maneira, pode-se inferir que as amostras BE e BE-PHA compreendem similar teor de lipídeos corroborando os dados da análise de determinação de extrato etéreo que reportam que BE e BE-PHA são constituídas de 13,77 e 14,68 % de lipídeos.

Além disso, em outros estudos, o pico em 2852 cm^{-1} foi associado à presença de cafeína por meio de modelos preditivos para análise de quantificação, visto que tal pico é atribuído ao estiramento das ligações de C-H do grupo metil, o qual apresenta três unidades na estrutura cíclica da cafeína (PARADKAR; IRUDAYARAJ, 2002; REIS; FRANCA; OLIVEIRA,

2013b). No entanto, este pico pode ser predominante associado aos lipídeos nas amostras estudadas, pois de 75-85 % da cafeína presente no café é lixiviada durante o preparo da bebida, permanecendo na matriz em torno de 0,2 a 0,35 % (m/m) (CRUZ *et al.*, 2012).

O pico acentuado em 1740 cm^{-1} nos espectros de BE e de BE-PHA, associado ao estiramento de ligações C=O de grupos ésteres, é possivelmente pertencente aos triglicerídeos presentes em ambas amostras (LIANG *et al.*, 2016). Este mesmo pico também pode ser atribuído à presença de grupos acetil da hemicelulose na matriz da borra de café (COELHO *et al.*, 2021; KEMSLEY; RUAULT; WILSON, 1995; SILLS; GOSSETT, 2012; WANG; LIM, 2012; XU *et al.*, 2013).

A banda em 1645 cm^{-1} , mais acentuada no espectro de BE, e a banda em 1528 cm^{-1} , presente somente na borra de café *espresso* (Figura 2.6), estão associadas às vibrações dos estiramentos do grupo carbonila (C=O) e às vibrações das ligações C=C de anéis aromáticos, respectivamente, sendo ambas atribuídas à presença de lignina e melanoidinas (KIM *et al.*, 2020; WANG; LIM, 2012). Além disso, a banda de $1476\text{-}1403\text{ cm}^{-1}$ com pico presente nos espectros de BE e de BE-PHA em 1452 cm^{-1} pode estar relacionado à deformação da ligação C-H em grupos na lignina (XU *et al.*, 2013) e também pode ser associado à cristalinidade da celulose, considerado um marcador para tal que pode indicar redução do grau de cristalinidade do polímero como sugere os espectros da RMN das amostras de BE e de BE-PHA discutidos na seção 2.3.3.

Ademais, as bandas de 1641 e $1560\text{-}1465\text{ cm}^{-1}$ encontradas no espectro da BE também podem estar associadas às deformações angular de N-H e axial de C=O, respectivamente (BATISTA *et al.*, 2020; CRAIG *et al.*, 2014). Ambas podem ser atribuídas à presença de proteínas na borra de café *espresso* e indicam a diminuição do teor dessas macromoléculas nas amostras de BE-PHA.

A região de *fingerprint* das amostras é similar, principalmente as bandas na região de $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ que correspondem aos estiramentos das ligações C-O em C-O-H e às vibrações de C-O-C de ligações glicosídicas presentes nos polissacarídeos (MARECHAL; CHANZY, 2000). O pico em 1150 cm^{-1} está associado à deformação angular de $\delta(\text{C-O})$ do anel piranosídico (FIGUEIRÓ *et al.*, 2004). Assim como, o ombro em 930 cm^{-1} que pode estar relacionado à deformação de ligações C-H presentes nos polissacarídeos celulose e da hemicelulose (RIBEIRO; SALVA; FERREIRA, 2010; XU *et al.*, 2013). Estão presentes em ambos espectros, os picos em 870 e 790 cm^{-1} e são relacionados à presença das ligações β -glicosídicas e α -

glicosídicas, atribuídas às unidades de β -D-manopiranosose e α -D-galactopiranosose, respectivamente, as quais são típicas de configurações glicosídicas de galactomananas (BALLESTEROS *et al.*, 2015).

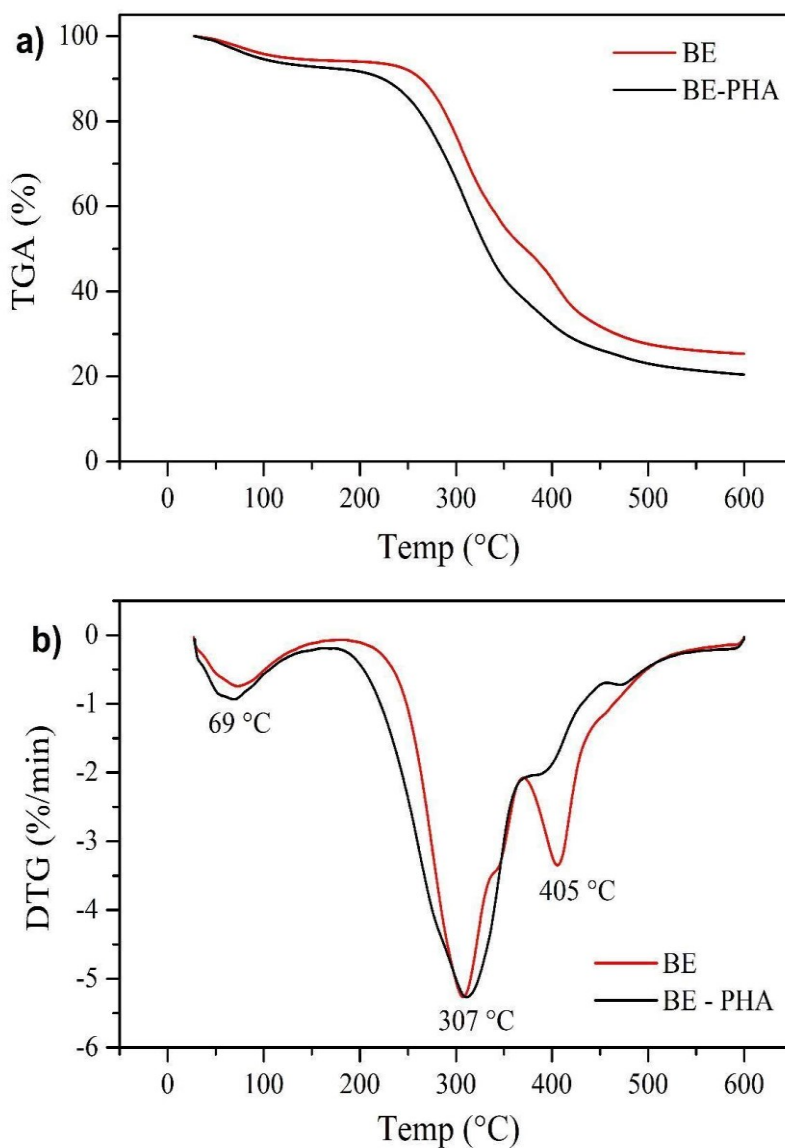
De forma geral, pode-se inferir pelos espectros que as maiores diferenças entre as amostras de BE e de BE-PHA, estão relacionados ao teor de polissacarídeos em BE-PHA que parece ser superior ao encontrado em BE, ao passo que o teor de proteínas e de lignina parece ser menor em BE-PHA que em BE.

2.3.5 ANÁLISE TÉRMICA

O comportamento térmico das curvas de TGA das amostras BE e BE-PHA apresentaram algumas diferenças como pode ser observado na Figura 2.7a, indicando que o tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino promoveu mudanças na matriz assim como as demais análises realizadas têm corroborado.

As amostras BE e BE-PHA apresentaram o primeiro pico na DTG em 72 e 69 °C (Figura 2.7b), e a perda de massa envolvida na etapa foi de 6,52 e 7,51 %, respectivamente (Tabela 1.3). Este estágio está sobretudo relacionado à evaporação da água (desidratação das amostras) e os valores encontrados são próximos aos resultados da análise de determinação de umidade discutidos na seção 2.3.1 de 5,58 e 6,91 % para BE e BE-PHA. (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2014).

Figura 2.7 - Análise térmica das amostras de borra de café espresso (BE) e borra de café submetida a tratamento com H₂O₂ alcalino (BE-PHA): a) Curvas de TGA. b) Curvas da DTG.



No segundo estágio de decomposição, BE apresentou a maior taxa de perda de massa de toda o processo térmico exposto com pico na DTG em 307 °C e perda de massa de 44 % (Tabela 2.3). Esse estágio está relacionado basicamente à despolimerização e decomposição de alguns óleos, da hemicelulose (arabinogalactanas e galactomananas) e da celulose de BE (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2014).

Tabela 2.3 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada dos das amostras BE e BE-PHA.

Amostras	Estágio	Faixa de degradação (°C)	Picos da DTG (°C)	Perda de massa (%)
BE	1°	28,39 - 153,29	72,43	5,58
	2°	153,29 - 370,29	307,47	43,95
	3°	370,29 - 600,00	405,64	25,06
	Resíduo			25,41
BE-PHA	1°	28,19 - 139,60	68,74	6,91
	2°	139,60 - 463,30	311,05	67,66
	3°	463,30 - 600,00		4,86
	Resíduo			20,58

BE: borra de café *espresso*

BE-PHA: borra de café *espresso* submetida ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino

A degradação da hemicelulose, geralmente, ocorre em torno de 220 °C a 315 °C, sendo mais susceptível à degradação térmica que a celulose e a lignina, isso ocorre porque, de modo geral, a hemicelulose é uma estrutura amorfa e ramificada (YANG *et al.*, 2007). Por outro lado, a celulose é um homopolímero composto por unidades de glicose com estrutura basicamente linear que possibilita o empacotamento entre as cadeias por meio de ligações de hidrogênio, o que a torna mais resistente. Desta maneira, a celulose apresenta início de degradação térmica em torno de 300 °C e é finalizada por volta de 360 °C (CARRIER *et al.*, 2011), no entanto, substâncias derivadas de outros compostos podem provocar variações na faixa de degradação desse polímero assim como outros fatores como a metodologia utilizada na análise térmica (LIU *et al.*, 2011; MOHAN; PITTMAN; STEELE, 2006).

De acordo com o estudo realizado por Liu *et al.* (2011) que avaliaram a pirólise das hemicelulose, celulose e lignina e a pirólise da interação entre os principais componentes da biomassa por meio da técnica de TG-FTIR, pode-se inferir, em relação ao segundo estágio, que as reações de decomposição que ocorrem antes do ombro (inflexão em 340 °C) no pico em 307 °C da curva da DTG da amostra BE (**Figura 2.7b**) referem-se predominantemente à hemicelulose, ao passo que a perda de massa depois de 340 °C ocorre principalmente devido à degradação da celulose.

Estudos demonstraram que as galactomananas do café e a celulose apresentam maior resistência térmica que as arabinogalactanas (REDGWELL *et al.*, 2002b; SIMÕES *et al.*, 2014), provavelmente por serem polissacarídeos mais lineares e com regiões cristalinas. Simões *et al.* (2014) extraíram frações ricas em galactomananas do café e observaram nas curvas da primeira derivada um pico em 323 °C, ao passo que a amostra de celulose apresentou um pico em 343 °C. O estudo realizado por Redgwell *et al.* (2002b) avaliou a resistência térmica dos polissacarídeos do café em diferentes graus de torração e concluíram que mesmo em torração clara (3 – 3,5 min a 240 °C), as arabinogalactanas apresentavam certo nível de degradação, essencialmente das cadeias laterais com ligações entre resíduos de arabinose, ao passo que as galactomananas mesmo em torrações mais escuras (7 - 8,5 min a 240 °C) eram menos susceptíveis à degradação. Desta maneira, pode inferir que as galactomananas do café degradaram em faixas de temperaturas próximas a celulose.

O terceiro estágio de degradação da borra de café *espresso* ocorreu de 370,29 - 600,00 °C e com perda de massa máxima em 405 °C. Essa etapa, refere-se à continuação do processo de degradação da lignina que foi iniciado em torno de 300 °C com baixa taxa de perda de massa até cerca de 390 °C e que alcança taxas mais altas de decomposição na terceira etapa com cauda que vai além de 500 °C (CARRIER *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2011; MOHAN; PITTMAN; STEELE, 2006). A ampla faixa de degradação da lignina pode ser explicada pela estrutura amorfa e complexa composta por anéis aromáticos e altamente ramificada que a mesma apresenta (YANG *et al.*, 2007). De todos os principais polímeros da biomassa, a lignina é a mais difícil de se decompor e que produz mais resíduos (MOHAN; PITTMAN; STEELE, 2006).

De forma geral, as curvas de TGA e DTG das amostras BE e BE-PHA são similares exceto pelo pico em 405 °C na curva da DTG da borra de café *espresso* (Figura 2.7a e Figura 2.7b). Essa diferença sugere que BE-PHA apresenta menor teor de lignina que BE, este resultado corrobora os dados encontrados nas análises de determinação de lignina discutidos na seção 2.3.1, que revelam que o tratamento com PHA removeu 76 % da lignina total presente em BE, e as análises de RMN e FTIR que os espectros indicam redução do teor de lignina em BE-PHA em relação à BE descritas nas seções 2.3.3 e 2.3.4, respectivamente.

2.4 CONCLUSÃO

O tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino removeu o percentual de condensados fenólicos presentes na matriz, isto é, removeu parcialmente o conteúdo de lignina e

melanoidinas presentes na borra de café *espresso* com rendimento de 56 %. A matriz deslignificada exibiu teor de carboidratos de 63 % em contrapartida a 46 % de BE, indicando que o tratamento com PHA promoveu a concentração de polissacarídeos presente na matriz, que é desejável para o desenvolvimento de filmes poliméricos. Além disso, o processo de deslignificação não provocou a derivatização dos polissacarídeos e manteve a estabilidade térmica da amostra. Para trabalhos futuros, sugere-se análises específicas para diferenciar o teor de lignina removido e de melanoidinas da borra de café *espresso* com o tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino.

3 FILMES DE BIOPOLÍMEROS

3.1 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1.1 FILMES DE BIOPOLÍMEROS

Os filmes de biopolímeros provenientes de resíduos agroindustriais pode ser uma das alternativas para reduzir a produção de embalagens convencionais sintéticas provenientes de materiais à base de recursos fósseis (petróleo) (AGUIRRE-JOYA et al., 2018; PEREIRA et al., 2017). Além de serem provenientes de materiais não-renováveis, muitas embalagens convencionais apresentam tempo de degradação lento, podendo variar de 500 a 1000 anos, visto que esses materiais apresentam alta massa molecular e hidrofobicidade que dificultam a ação microbiológica nas embalagens (ROTJAN et al., 2019).

Os biopolímeros são polímeros que podem ser classificados como aqueles produzidos por microrganismos, polímeros naturais de origem agrícola (celulose, proteína), ou ainda quimicamente sintetizados usando monômeros de fonte agrícola (DEGRUSON, 2016).

Embora, os biopolímeros sejam provenientes de fontes naturais, não necessariamente o material desenvolvido será biodegradável, sendo necessária a avaliação deste material. Os polímeros biodegradáveis podem ser definidos como os materiais que são degradados pela ação de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos ou enzimas (SUDARSHAN SINGH; WARANGKANA CHUNGLOK, 2022). De acordo com a Norma Europeia EN 13432:2000, que define os parâmetros para que embalagens plásticas possam ser consideradas compostáveis, um material deve ser decomposto em pelo menos 90 % em até 6 meses para ser classificado como biodegradável, ou seja, todos os materiais de embalagens e seus constituintes devem ter no mínimo 90 % convertido em CO₂ em um período de 6 meses (VINCOTTE, 2014). Assim também, a norma brasileira ABNT NBR 15448-2 (2008) baseada na EN 13432 exige tais requisitos para considerar embalagens plásticas como sendo biodegradáveis.

Além da questão ambiental relacionada ao gerenciamento de resíduos sólidos causada pelos materiais de degradação lenta como foi supracitado, o interesse pelos biopolímeros também vem aumentando em consequência dos grandes impactos ambientais provocados pelos processos de extração e refino para produção dos polímeros derivados do petróleo, a escassez do petróleo e aumento do preço dessa fonte não-renovável (KHALID; ARIF, 2022).

Nessa perspectiva, as indústrias de cosméticos, farmacêuticas e de alimentos têm se interessado pelo desenvolvimento de materiais derivados de biopolímeros como para a produção de embalagens e materiais para encapsulamento, visto que apresentam propriedades que melhoram a perda de umidade, de aromas dos produtos, além de apresentarem barreira ao oxigênio (CAZÓN et al., 2017). Ademais, os materiais derivados de biopolímeros são excelentes carreadores de aditivos que podem ser antimicrobianos e antioxidantes melhorando a qualidade e agregando valor ao produto final (BALLESTEROS et al., 2018; CERQUEIRA et al., 2011a; MELLINAS et al., 2016).

Os polímeros naturais utilizados de fontes renováveis geralmente são lipídios, proteínas e polissacarídeos e têm sido vistos como fontes para produção de embalagens, , pois são biocompatíveis, apresentam baixo custo e não são tóxicos (LOMBO VIDAL et al., 2020; MELLINAS et al., 2016).

Os filmes de lipídeos são macromoléculas hidrofóbicas e por esta razão apresentam excelentes propriedades de barreira ao vapor de água com permeabilidade próxima a filmes plásticos como o polietileno de baixa densidade e o cloreto de polivinila, no entanto, geralmente materiais a base de lipídeos formam filmes quebradiços e mais espessos que os demais (DE VARGAS et al., 2022; DEBEAUFORT; VOILLEY, 2009; VALENCIA-CHAMORRO et al., 2011). Uma possível aplicação, é o desenvolvimento de filmes de revestimentos para prolongar a vida útil de frutas e vegetais, a partir de uma camada protetora que reduz a respiração destes. Contudo, podem apresentar textura pegajosa, característica indesejável pelo consumidor. Outra desvantagem de filmes elaborados somente com a adição de lipídeos é a falta de transparência da embalagem, aparência pouco atrativa desse tipo de material para os consumidores. Por isso, os lipídios são geralmente utilizados juntamente com outros materiais, a fim de reunir características desejáveis de diferentes materiais às embalagens. Um exemplo disso, é o trabalho realizado por Slavutsky & Bertuzzi (2016), em que os autores desenvolveram um filme de amido com uma nanocamada hidrofóbica capaz de melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água do material.

Outro biopolímero usado na elaboração de filmes são as proteínas, as quais precisam primeiramente de ser desnaturadas para possibilitar que as cadeias poliméricas possam interagir entre si via ligações de hidrogênio, iônica ou covalente (JANJARASSKUL; KROCHTA, 2010). As proteínas diferem dos demais biopolímeros principalmente pela carga eletrostática ao longo das cadeias poliméricas (DE VARGAS et al., 2022).

Tais características proporcionam forte interação intermolecular entre as cadeias formando filmes que podem ser friáveis, contudo, a adição adequada de plastificantes podem melhorar as propriedades de viscoelasticidade e de extensibilidade dos materiais. Os filmes de proteínas exibem excelente barreira a aromas externos, ao gás carbônico e principalmente ao gás oxigênio, entretanto, apresentam elevada permeabilidade ao vapor de água devido à natureza hidrofílica dessas macromoléculas, sendo esta característica intrínseca a maior desvantagem dos materiais à base de proteínas. Os filmes proteicos são geralmente desenvolvidos pelo método *casting* e os solventes utilizados na preparação dos filmes são comumente limitados a etanol, água ou combinações de ambos (HASSAN et al., 2018; MAJID et al., 2018).

Com relação aos polissacarídeos, estes são biopolímeros que estão presentes em abundância na natureza, não são tóxicos e alguns podem ser termoformados, esta propriedade é desejável e apresenta demanda no setor de embalagens alimentícias (CAZÓN et al., 2017). Os filmes constituídos principalmente de polissacarídeos, apresentam permeabilidade seletiva aos gases oxigênio e dióxido de carbono, limitando a respiração dos vegetais e frutas e por isso, retardando o amadurecimento destes (ERGINKAYA; KALKAN; ÜNAL, 2014).

A quitina, por exemplo, é um polissacarídeo proveniente de resíduos da produção de crustáceos e precursor da quitosana utilizada no desenvolvimento de filmes. Outros exemplos de pesquisa para produção de filmes, incluem a hemicelulose da palha de trigo; do bagaço da cana de açúcar na produção de filmes e adesivos para um sistema de liberação de medicamentos na mucosa, dentre outros estudos (HUANG et al., 2022; PEREIRA et al., 2017; SERRANO-LEÓN et al., 2018).

Contudo, os atributos físicos, estruturais, térmicos e mecânicos dos filmes de biopolímeros muitas vezes não são adequados para as necessidades do mercado, apresentando propriedades com desempenho inferior às propriedades das embalagens usuais (AZEREDO; WALDRON, 2016; DE VARGAS et al., 2022).

Desta maneira, existe a necessidade de melhorar as características dos filmes de biopolímeros por meio de técnicas como a introdução de compostos capazes de realizar ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas (*crosslinking*) e, conseqüentemente, melhorar as propriedades mecânicas, de barreira a gases e de vapor de água. Outra estratégia que tem sido utilizada no aprimoramento dos filmes é a adição de nanopartículas que funcionam como reforço do material (AZEREDO, 2009; AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017). Ou ainda, o

desenvolvimento de filmes com multicamadas visando alcançar as propriedades desejáveis do material a ser produzido (HASSAN et al., 2018).

3.1.2 MÉTODOS DE FORMAÇÃO DE FILMES POR INVERSÃO DE FASES

O método utilizado no presente trabalho para formação de filmes é o processo de separação de fases também conhecido como inversão de fases e é amplamente utilizado para desenvolver membranas poliméricas. O método consiste em perturbar o sistema composto pelos polímeros e solvente promovendo a separação de fases, sendo uma rica em polímeros (estrutura da membrana) e outra fase pobre em polímeros (poros da membrana) (HILAL; FAUZI; WRIGHT, 2015).

Uma das vantagens deste método é que ele permite a preparação de membranas de diversos tipos de polímeros com propriedades e morfologias variadas, desde que o polímero seja solúvel em um solvente e o sistema formado possibilite a separação de fases em uma faixa de concentração e temperatura predefinidos (HABERT, 2006). Para induzir a instabilidade do sistema e consequentemente, a separação de fases, existem duas técnicas mais comumente utilizadas, separação de fases por indução térmica e separação de fases induzida por difusão.

A primeira técnica é alcançada reduzindo a temperatura do sistema e provocando o processo de separação de fases líquido-líquido (HABERT, 2006). O solvente pode ser removido por evaporação ou liofilização (LALIA; KOCHKODAN, V.; HASHAIKEH; HILAL, 2013). A segunda técnica, separação de fase induzida por difusão abrange três diferentes métodos: precipitação por evaporação do solvente, precipitação utilizando vapor como não-solvente (NS), e precipitação por imersão (PI) (HILAL; FAUZI; WRIGHT, 2015).

O método por evaporação do solvente consiste na dissolução do polímero de interesse em um solvente, formando uma solução polimérica. Então, o solvente é induzido a evaporar quando em contato com uma atmosfera inerte como o gás nitrogênio, permitindo a formação de uma membrana densa (MULDER, 1996). A segunda técnica utiliza uma atmosfera saturada de vapor como NS juntamente com o solvente. Devido à alta concentração do solvente na forma de vapor, a evaporação do mesmo não ocorre e parte do NS difunde para a solução polimérica e a desestabiliza, promovendo a separação das fases e a precipitação da estrutura rica em polímeros para formação da matriz da membrana (LALIA; KOCHKODAN, V.; HASHAIKEH; HILAL, 2013; MULDER, 1996).

Por fim, a terceira técnica é conhecida como precipitação por imersão e foi utilizada no presente trabalho para o desenvolvimento dos filmes, por isso, é discutida com mais detalhes a seguir.

A separação de fases via precipitação por imersão também conhecida como técnica de Loeb – Sourirajan é o método mais utilizado na produção de membranas comerciais, principalmente para a grande maioria das membranas de osmose reversa, ultrafiltração e separação de gases (BAKER, 2012). A técnica consiste basicamente da aplicação da solução polimérica em um suporte, o qual é imerso em um banho de coagulação com um não-solvente (geralmente água ou etanol) (HABERT, 2006; MULDER, 1996; REN, J.; WANG, 2011). O solvente (ou a mistura de solventes) e o NS devem ser miscíveis, ao passo que o polímero deve ser imiscível no não-solvente. Conforme ocorre a difusão do solvente para o banho e do não-solvente para a solução, o sistema torna-se termodinamicamente instável e ocorre a separação das fases que produz uma fase densa e rica em polímeros dando origem a uma membrana com estrutura assimétrica e uma fase pobre em polímeros que dá origem aos poros da matriz.

Filmes ou membranas assimétricos são estruturas em camadas em que a porosidade muda do topo a base da superfície do material (BAKER, 2012). As membranas assimétricas apresentam uma região superior conhecida como pele (2 % da espessura global) que é responsável pela seletividade e fluxo do sistema, ao passo que a subcamada é uma região porosa que oferece resistência mecânica ao material e dá suporte à pele (HABERT, 2006; MULDER, 1996).

A morfologia e as propriedades da membrana são dependentes das condições do sistema na produção da mesma, assim como a escolha do polímero, do solvente e do meio de precipitação (BAKER, 2012). Variando adequadamente um ou mais parâmetros do processo de inversão de fases, a técnica pode ser utilizada para produzir membranas de osmose reversa, nanofiltração ou microfiltração (MULDER, 1996). Desta maneira, polímeros que apresentam baixa solubilidade no solvente dão origem a filmes mais densos, ao passo que polímeros altamente solúveis produzem filmes mais porosos (LALIA; KOCHKODAN, V.; HASHAIKEH; HILAL, 2013). A resistência à tração e as propriedades de barreira ao gás oxigênio e ao vapor de água também podem ser afetados pelas características do sistema, tendendo a diminuir quando a temperatura do banho de coagulação é aumentada (JIN, Z.; WANG, S.; WANG, J.; ZHAO, M.; GAO, 2010; LIU, S.; ZHANG, 2009).

3.1.3 CROSSLINKING EM FILMES

Como supracitado, *crosslinking* é uma técnica utilizada como estratégia para melhorar propriedades de interesse nos filmes como as propriedades mecânicas e barreira a gases, visto que forma uma rede tridimensional mais coesa da matriz do filme. O presente trabalho utilizou dois tipos de ligações cruzadas que interagem quimicamente com a matriz polimérica de diferentes formas, a primeira dá origem a um complexo composto por polímeros (polissacarídeos) e íons Ca^{2+} , ao passo que a segunda ligação cruzada ocorre por meio da formação de ligações covalentes entre o agente de *crosslinking* e as cadeias poliméricas do filme (AZEREDO; WALDRON, 2016).

Materiais de biopolímeros originados principalmente de polissacarídeos ou proteínas apresentam melhores propriedades de barreira ao vapor de água quando formam ligações cruzadas (*crosslinking*) entre as cadeias poliméricas dos filmes (AZEREDO; WALDRON, 2016; GARAVAND et al., 2017). As ligações cruzadas reduzem a mobilidade das estruturas poliméricas, aumentando a temperatura de transição vítrea; tornam a estrutura mais resistente ao calor e a solventes, aumentando a estabilidade química dos materiais (BALAGUER et al., 2011; BHATTACHARYA; RAWLINS; RAY, 2008; GHANBARZADEH; ALMASI; ENTEZAMI, 2011). Além disso, as ligações cruzadas conferem ao material melhores propriedades mecânicas, o que o torna mais competitivo quando comparados aos materiais convencionais encontrados no mercado provenientes de petróleo (GARAVAND et al., 2017).

A possibilidade de introduzir agentes de *crosslinking* na rede biopolimérica depende da estrutura química do material, presença de grupos ativos e massa molecular dos polímeros, assim como da capacidade do agente e do polímero de formar as interações moleculares de interesse (GARAVAND et al., 2017).

O método *crosslinking* envolve a formação de ligações químicas entre as cadeias moleculares da matriz gerando uma coesa rede tridimensional (BALAGUER et al., 2013). As ligações formadas entre as cadeias poliméricas e a substância adicionada para a formação da rede tridimensional podem ser de origem covalente, iônica, de hidrogênio ou Van der Waals. As interações também podem ser do tipo íon-dipolo em filmes com ligações cruzadas entre polissacarídeos neutros como os filmes desenvolvidos por Xu et al. (2016) formados por celulose microcristalina e íons Ca^{2+} .

3.1.3.1 CROSSLINKING – CLORETO DE CÁLCIO

Ligações covalentes formadas por agentes de *crosslinking* diminuem a permeabilidade a gases e aumentam a resistência à tração em filmes biopoliméricos, em contrapartida, geralmente diminuem a biodegradabilidade dos mesmos (PAVLATH et al., 1999). As ligações com íons podem ser reversíveis dependendo do pH do meio e de outros fatores, minimizando impactos negativos em relação à biodegradabilidade do material.

As propriedades dos filmes são influenciadas pelo processo utilizado para formação de ligações cruzadas com íons (LI et al., 2015), como ocorreu com o trabalho realizado por Rhim (2004) em que estudou duas técnicas para realizar ligações cruzadas com adição de CaCl_2 em filmes de alginato, o primeiro método consistiu em adicionar CaCl_2 diretamente na solução de preparo do filme, ao passo que o segundo método se baseou na imersão dos filmes de alginato em solução de cloreto de cálcio (RHIM, 2004). A concentração da solução e o tempo de exposição do polímero ao cloreto de cálcio podem ser manipulados para controlar ou influenciar as propriedades filmogênicas (PAVLATH et al., 1999).

Rhim (2004) relatou que não houve diferença nas propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água (PVA) entre o controle (sem CaCl_2) e o filme que recebeu CaCl_2 diretamente na solução de preparo, ao passo que o filme imerso em solução de cloreto de cálcio apresentou maior resistência à tração, menor PVA e menor solubilidade a água. O resultado do ensaio mecânico indicou que quanto maior a concentração de CaCl_2 na solução de imersão, maior foi o valor de resistência à tração, isso foi relacionado principalmente ao desenvolvimento de ligações cruzadas entre os grupos carboxilas do alginato e os íons Ca^{2+} . Além disso, o filme controle e *mixing film* (filme com adição de cloreto de cálcio na solução filmogênica) desintegraram na análise de solubilidade em água, por outro lado, os filmes imersos em solução de CaCl_2 permaneceram intactos em temperaturas mais baixas (25 °C) e mais altas (80 °C). O teor de umidade dos filmes também foi influenciado pelo tipo de método usado para formar as ligações cruzadas, de maneira que a umidade dos filmes submetidos à imersão foi menor que a umidade nas demais amostras de filmes. As amostras *mixing film* apresentaram maior teor de umidade entre todas as amostras.

A formação de ligações cruzadas entre íons cálcio e moléculas de alginato ocorre mais rapidamente no método de adição de cloreto de cálcio na solução que no método de imersão do filme em solução iônica. No primeiro método, as ligações cruzadas formadas não foram

distribuídas de forma homogênea na matriz, o que provavelmente afetou as propriedades físicas e mecânicas destes.

Crossingham; Kerr & Kennedy (2014) compararam as diferenças entre dois métodos de formação de ligações cruzadas em filmes de gel iônico. O primeiro método, conhecido como gelificação interfacial (IFG), consistiu na separação da solução de alginato de sódio da solução de ligação cruzada iônica por meio de uma membrana permeável, o que induziu a gelificação do material polimérico; e o segundo é chamado de gelificação por moldagem seca (DCG), a solução de alginato de sódio foi evaporada até formar um filme seco, o qual foi exposto a uma solução iônica para formação das ligações cruzadas (solução de cloreto de cálcio). De acordo com os autores, DCG produziu filmes mais densos que IFG, visto que a secagem da solução de alginato de sódio pode ter promovido o emaranhamento das cadeias poliméricas antes da gelificação. Ao passo que em IFG, os íons cálcio possibilitaram a formação de ligações cruzadas entre as moléculas de alginato em solução, isso produziu géis em que as cadeias poliméricas estão menos fortemente associadas, dado que quando estes géis são secos, as ligações cruzadas já formadas reduzem a mobilidade das cadeias poliméricas, dificultando a aproximação das mesmas e a formação de filmes mais densos. Por isso, provavelmente, os filmes de DCG são menos sujeitos à reidratação e menos permeáveis que os filmes da técnica de IFG.

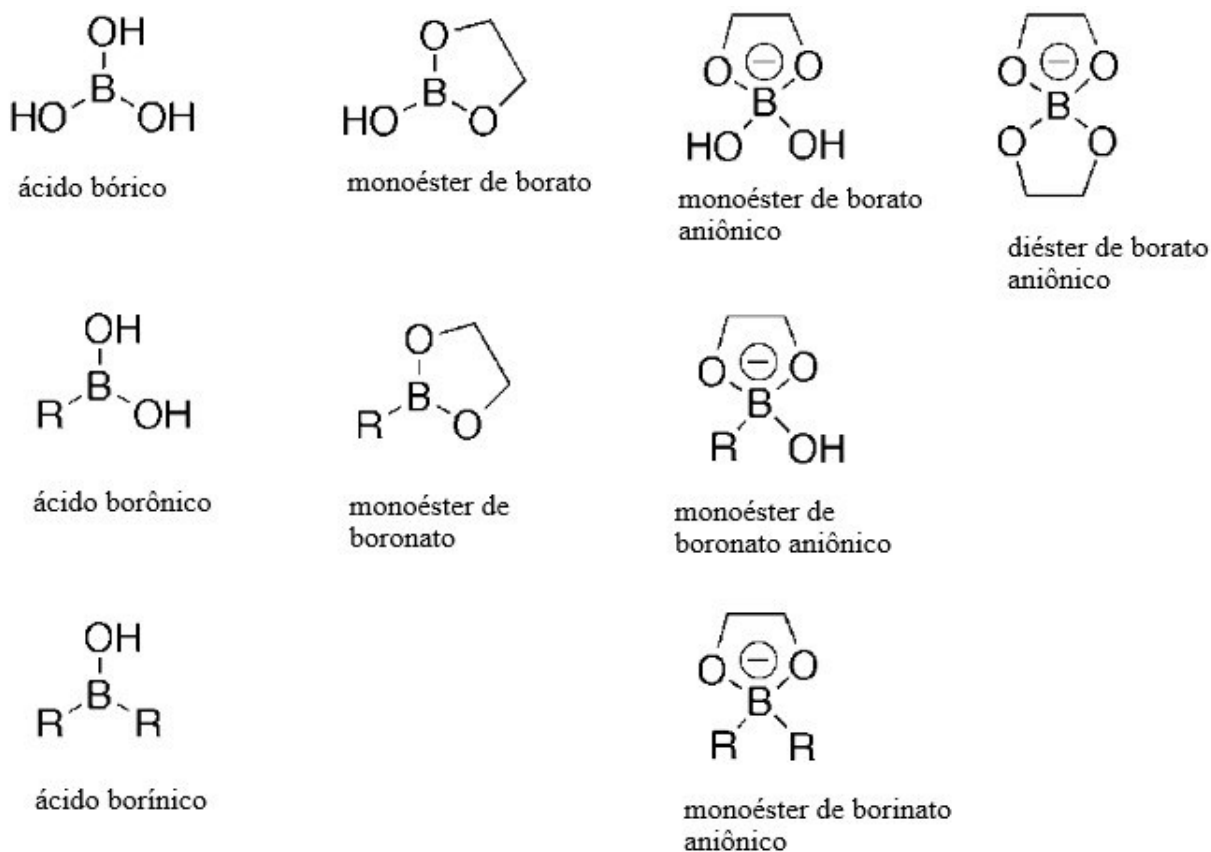
Skjåk-bræk; Grasdalen & Smidsrød (1989) produziram filmes de alginato de cálcio por uma técnica semelhante a IFG. Eles relataram que o resultado é a formação de um gel não homogêneo e com alta concentração de polímeros nas regiões periféricas dos filmes. Rhim (2004) sugeriu que os filmes que foram imersos em solução de cloreto de cálcio depois de secos apresentaram melhor distribuição de ligações cruzadas na matriz. Crossingham *et al.* (2014) concluíram que filmes formados por DCG apresentaram maior densidade de ligações cruzadas e mais interações entre as moléculas de alginato, e provavelmente, por isso, apresentaram melhor desempenho nos testes de resistência à perfuração. Por meio da análise de microscopia eletrônica de varredura, os autores concluíram que os filmes de DCG apresentaram maior densidade que os filmes IFG, os quais apresentaram estrutura mais aberta.

3.1.3.2 CROSSLINKING – ÁCIDO DE BORO (ÁCIDO 1,4-FENILENODIBORÔNICO)

Éster de boronato é o produto da reação entre um ácido de boro e um diol, podendo ser um éster neutro ou aniônico a depender do pH da solução da reação (PAPPIN; J.; A., 2012). A interação

entre um ácido de boro e um carboidrato formando um éster com a perda de molécula de água pode ocorrer por meio de um ácido bórico, borônico ou borínico (Figura 3.1).

Figura 3.1 - Ácidos e ésteres de boro.



Fonte: PAPPIN; J.; A., 2012.

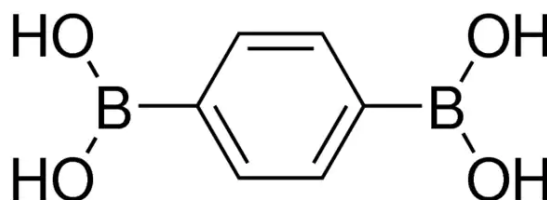
A ligação do diol por ácidos de boro é favorecida em pH básico, contudo, é o ácido borônico trigonal que reage mais rapidamente com dióis, independentemente do pH. A afinidade relativa de boronatos para dióis na maioria dos carboidratos é da ordem: cis-1,2-diol > 1,3-diol >> trans-1,2-diol.

Atualmente, as pesquisas sobre a interação de carboidratos e ácidos de boro são direcionadas a área da biologia que utiliza os boronatos como marcadores no organismo humano, um exemplo é a interação de boronatos e glicose para monitorar diabetes, ou a interação de boronatos e oligossacarídeos para diagnosticar câncer distinguindo células em fase de metástase, ou ainda

podendo ser usados em medicamentos que levam o princípio ativo na célula alvo (PAPPIN; J.; A., 2012). Ademais, outros trabalhos têm sido realizados com bórax (tetraborato de sódio) e dióis na área de biopolímeros, como a pesquisa desenvolvida por Thombare *et al.*(2017) em que os autores produziram um hidrogel formado a partir do *crosslinking* entre a goma guar e o bórax para ser aplicado na purificação de água. Liu *et al.*(2020) utilizaram o bórax para realizar ligações cruzadas entre as galactomananas feno-grego para formar um hidrogel que absorve e retém água no solo para agricultura.

O presente trabalho utilizou o ácido 1,4 fenilenodiborônico (FDB) para realizar as ligações cruzadas entre os polissacarídeos presentes na matriz da borra de café deslignificada. A estrutura química de FDB está representada na Figura 3.2. As hidroxilas da molécula reagem com os dióis de carboidratos formando ligações cruzadas quimicamente covalente. Atualmente, são escassos os trabalhos que envolvem o desenvolvimento de filmes de biopolímeros utilizando o ácido 1,4 fenilenodiborônico como agente de *crosslinking*.

Figura 3.2 - Representação da estrutura química da molécula ácido 1,4 fenilenodiborônico.



Fonte: Sigma Aldrich®

Com base no que foi mencionado, este capítulo teve como principal objetivo apresentar a metodologia e os resultados do desenvolvimento de filmes biopoliméricos provenientes da borra de café *espresso* utilizando agentes de ligações cruzadas como estratégias para melhorar as propriedades dos filmes. Desta maneira, foram apresentadas metodologias para a produção de filmes com ligações com cloreto de cálcio e filmes com 1,4-fenilenodiborônico e comparados e discutidos os resultados dos materiais desenvolvidos.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 PREPARAÇÃO DOS FILMES

Os filmes desenvolvidos foram produzidos de acordo com a metodologia descrita por Xu *et al.* (2016) com algumas modificações. Primeiramente, para a produção de filmes testou-se dissolver a borra deslignificada (BE-PHA) com diferentes concentrações 5,0; 7,5 e 10,0 % (m/m) em solução de ZnCl₂ (67 % m/m). A partir disso, foi observado que apenas 5,0 % de BE-PHA dissolveram nas condições estabelecidas, ou seja, em solução com 67 % de ZnCl₂ sob agitação a 65°C por no máximo 3 h.

Desta maneira, os filmes do presente trabalho foram produzidos com 5,0 % (m/m) de BE-PHA e 67 % (m/m) de cloreto de zinco. Então, para a preparação dos filmes, foram colocados 39,38 g de ZnCl₂ em 16,5 mL de água em chapa com aquecimento a 65 °C e agitação constante por 10 min. Separadamente, 2,94 g de BE-PHA foram misturados com 3,5 mL de água e adicionados na solução de cloreto de zinco a 65 °C sob agitação constante por 1 h ou até dissolução da amostra. Sequencialmente, verteu-se a solução sobre um suporte de vidro, o qual foi imerso em 250 mL de etanol anidro por 30 min a 8 °C. Após a coagulação do filme, este foi colocado em um banho de água destilada (400 mL) por 2 min a 75 °C para retirar os sais em excesso. Em seguida, o filme foi colocado em solução de glicerol a 10 % (v/v) por 15 min. Finalmente, o filme foi seco a 21 °C com umidade relativa em torno de 50 % por 48 horas e armazenado em saco de plástico de polietileno de baixa densidade com fecho hermético (*zip lock*) e mantido a temperatura ambiente. O filme preparado como descrito foi nomeado como filme controle (FC) e utilizado como referência para comparar os filmes que foram produzidos com ligação cruzada a partir dos agentes cloreto de cálcio ou ácido 1,4 fenilenodiborônico como relatado nas seções 3.2.2 e 3.2.3, respectivamente.

3.2.2 *CROSSLINKING* – CLORETO DE CÁLCIO

A metodologia para realizar o *crosslinking* nos filmes utilizando o cloreto de cálcio foi baseada em Pavlath *et al.* (1999) e Rhim (2004) com algumas modificações. Para a produção dos filmes foi utilizada a mesma metodologia do filme controle, descrita na seção anterior 3.2.1. Os filmes secos foram imersos em solução de CaCl₂ com concentração e tempo determinados de acordo com o Quadro 3.1. Em seguida, foram secos novamente a 21 °C em ambiente com umidade relativa em torno de 50 % por 48 horas. Por fim, os filmes foram acondicionados em sacos

plásticos de polietileno de baixa densidade com fecho hermético (*zip lock*), mantidos a temperatura ambiente para análises posteriores.

Quadro 3.1 - Tratamentos dos filmes com banho de imersão com solução de CaCl₂.

Filmes	Concentração do banho de imersão (% m/v)	Tempo de imersão (min)
F111	6	17,5
F211	10	5
F311	2	30
F411	10	30
F511	2	5

3.2.3 *CROSSLINKING* – ÁCIDO 1,4 FENILENODIBORÔNICO

O presente estudo utilizou o ácido de boro 1,4-fenilenodiborônico (FDB) para formar as ligações cruzadas entre os polímeros da matriz dos filmes desenvolvidos. Diante disso, foram testadas as concentrações de 2,5; 3,5; 5,0; e 7,5% (m/m de BE-PHA) de ácido 1,4-fenilenodiborônico para produção dos filmes. A solução com 7,5 % de FDB, resultou em um filme com partículas do reagente não dissolvidas, em decorrência de uma solução saturada, por isso, não foram realizadas análises com o mesmo. A metodologia utilizada para o desenvolvimento dos filmes foi baseada nos experimentos descritos por Thombare *et al.*(2017) com algumas modificações.

Os filmes com FDB foram desenvolvidos a partir da metodologia do filme controle descrita na seção 3.2.1 com algumas alterações explicadas a seguir. Após BE-PHA ser dissolvida em solução de cloreto de zinco, formando uma solução filmogênica homogênea, adicionou-se a esta uma suspensão aquosa contendo ácido 1,4 fenilenodiborônico. Para adicionar a suspensão de FDB na solução filmogênica, primeiramente, a suspensão foi agitada em vórtex, colocada em banho ultrassônico a 50°C por 20 min, e por fim, novamente agitada em vórtex.

Em seguida, a suspensão de FDB foi adicionada à solução filmogênica que foi agitada por 30 min. Então, esta foi vertida em um suporte de vidro e foram seguidos os mesmos passos que foram realizados na produção do filme controle descritos na seção 3.2.1. Por fim, os filmes

secos foram armazenados em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade com fecho hermético (*zip lock*), mantidos a temperatura ambiente para análises posteriores. As amostras foram nomeadas considerando a concentração de FDB, desta maneira, os filmes foram identificados como F2.5, F3.5 e F5.

3.2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes desenvolvidos com *crosslinking* com CaCl_2 e com ácido 1,4 fenilenodiborônico foram caracterizados por meio de espectroscopia no infravermelho médio, análise termogravimétrica, ressonância magnética nuclear de estado sólido, e por meio das análises de teor de umidade, solubilidade em água, estabilidade em diferentes potenciais de hidrogênio, permeabilidade ao vapor de água, teste de biodegradabilidade e microscopia eletrônica de varredura visando avaliar as propriedades dos filmes e as ligações cruzadas formadas. A partir dos resultados, foram selecionados os filmes para avaliação da resistência à tração

Para realização das análises de caracterização dos filmes, estes foram condicionados de acordo com a norma D618 (ASTM, 2021), sob a temperatura de 23°C, umidade relativa de 50%, por pelos menos 40 h antes das respectivas análises.

3.2.4.1 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Todas as amostras foram analisadas por meio do acessório de refletância total atenuada (ATR, do inglês *Attenuated Total Reflectance*) em cristal de ZnSe, no espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modelo IRAffinity-1 (marca Shimadzu), detector DLATGS (Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine). As leituras foram realizadas na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , com 20 *scans* e resolução de 4 cm^{-1} . Foram realizadas medidas de referência com o prisma do cristal vazio (*background*). As análises foram realizadas sob atmosfera controlada e à temperatura de 20 °C. O software Shimadzu IR Solution (versão 1.50) corrigiu a atmosfera em todos os espectros (ZHANG et al., 2019).

3.2.4.2 ANÁLISE TÉRMICA - TERMOGRAVIMETRIA

A análise termogravimétrica (TGA) dos filmes foram realizadas pela termobalança da modelo DTG60 (marca Shimadzu) do Departamento de Química/UFMG, com sistema de registro de curvas TGA/DTA simultâneo. As corridas foram realizadas entre a temperatura ambiente e 600 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min com gás nitrogênio com fluxo de 50 mL/min (ZHANG et al., 2019). Foram pesados de 1,5-3 mg, de amostra e colocados em cadinho de

alumina como porta amostra para a realização das análises termogravimétricas. O software Ta60, versão 2.21, foi utilizado para calcular a perda de massa, a primeira derivada (DTG) e as temperaturas de decomposição das amostras.

3.2.4.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C (RMN)

Os espectros dos filmes foram gerados seguindo os mesmos passos e parâmetros da metodologia descrita na seção 2.2.3.8. Sendo assim, para coletar os espectros de RMN de estado sólido foi utilizado o equipamento Avance III 400 MHz (marca Bruker) com rotação da amostra em torno do ângulo mágico (MAS – do inglês *magic-angle-spinning*), padrão Bruker de 4 mm, operando a 100,57 MHz para núcleo ^{13}C . As amostras em pó foram colocadas em rotores de zircônio de 4 mm de diâmetro. Todos os experimentos foram realizados a 25 °C a uma taxa de rotação de 5 kHz. Os espectros de RMN ^{13}C foram adquiridos com uma sequência de pulsos de polarização cruzada com supressão total de banda lateral, coletando 2048 varreduras com tempo de defasagem de 3 s, tempo de contato de 2 ms e tempo de aquisição de 34 ms.

3.2.4.4 TEOR DE UMIDADE

Para medir o teor de umidade dos filmes, foram pesados em torno de 0,5 g de cada amostra. Em seguida, os corpos de prova foram secos a 105 °C por 24 horas, sequencialmente, foram colocados em um dessecador até alcançarem a temperatura ambiente e enfim, pesados (SELIGRA et al., 2016). O teor de umidade foi calculado de acordo com a Equação 3.1:

$$U \% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad \text{Eq. 3.1}$$

em que m_i é a massa inicial da amostra e m_f é a massa do filme após a secagem. O experimento foi realizado em triplicata.

3.2.4.5 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

Para avaliar o percentual do material solúvel em água, foi utilizado o método descrito por Antoniou *et al.* (2015) com algumas modificações. Para tal, as amostras foram cortadas em quadrados (2x2 cm²), secas e pesadas. Então, os filmes foram imersos em 30 mL de água destilada a 25 °C sob agitação por 24 h, em seguida, o material foi filtrado e a parte insolúvel seca a 105 °C por 24 h. O experimento foi realizado em triplicata. Para cálculo do percentual de solubilidade em água (S%) do material foi utilizado a Equação 3.2:

$$S \% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad \text{Eq. 3.2}$$

em que m_i é a massa inicial do filme e m_f é a massa do material seco insolúvel.

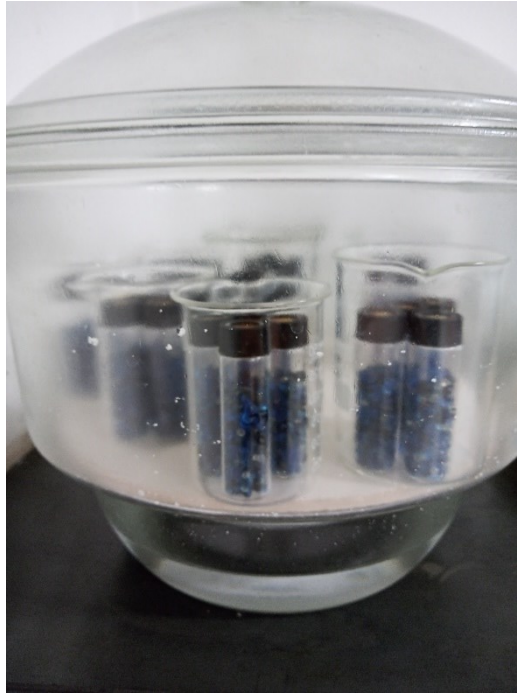
3.2.4.6 ESTABILIDADE DOS FILMES EM SOLUÇÕES ÁCIDA E ALCALINA

Para avaliar a estabilidade e o comportamento dos filmes desenvolvidos em soluções com diferentes pH, ácido, básico e neutro baseou-se na metodologia de Medina Jaramillo *et al.*(2016) com algumas modificações. Para tal, foram cortadas amostras com $16 \pm 0,1$ mm de diâmetro e imersas em placas de Petri com 10 mL de água destilada, ou de solução com ácido clorídrico (pH = 3) ou de solução com hidróxido de sódio (pH = 12). As amostras foram mantidas imersas nas soluções por 10 dias a 21 °C. As mudanças foram analisadas por meio da medição do diâmetro das amostras. Para tal, foi utilizado um paquímetro com resolução de $\pm 0,01$.

3.2.4.7 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada baseada na norma ASTM E96 (2015) com algumas modificações propostas por Do Lago *et al.*(2020). Frascos de vidro de 16 mL, 71 mm de altura e tampa com abertura de 11 mm de diâmetro interno foram utilizados para a determinação de PVA das amostras. O volume de cada frasco foi preenchido com $\frac{3}{4}$ de sílica previamente seca a 150 °C por 24 h. As amostras foram cortadas e encaixadas entre o frasco e a tampa. Para garantir que o frasco estivesse vedado entre o mesmo e o filme, utilizou-se graxa de silicone nas bordas das tampas. Inicialmente, os frascos foram pesados e imediatamente colocados em um dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio para promover umidade relativa de 75 % como pode ser observado na Figura 3.3. Então, os frascos foram pesados diariamente por 7 dias consecutivos e foram mantidos em temperatura controlada de 21 °C. O experimento foi conduzido com quatro repetições para cada tratamento.

Figura 3.3- Experimento para determinação da permeabilidade ao vapor de água dos filmes.



Fonte: Autor.

A permeabilidade ao vapor de água foi calculada de acordo com a Equação 3.3:

$$PVA = \frac{G}{t.A} \times \frac{e}{P_{sat} \cdot (UR_1 - UR_2)} \quad \text{Eq. 3.3}$$

em que PVA é permeabilidade ao vapor de água, G/t representa o coeficiente angular da reta ganho de massa (g) *versus* tempo (d) e A é área de permeação de cada filme (m²), e é a espessura média (mm) de cada corpo de prova, (UR1 – UR2) representa a diferença da umidade relativa entre o interior do sistema frasco/filme e o dessecador, e P_{sat} representa a pressão de saturação do vapor de água (kPa) na temperatura do ensaio.

3.2.4.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A morfologia dos filmes desenvolvidos foi visualizada utilizando o microscópio eletrônico de varredura, modelo Quanta 200 FEG (FEI) no Centro de Microscopia da UFMG. Com esse propósito, as amostras foram metalizadas com fita de carbono. Foram utilizadas as voltagens de aceleração de 2,0 e 20 KV para obtenção das imagens da morfologia da superfície e da interface dos filmes, respectivamente.

3.2.4.9 TESTE DE BIODEGRADABILIDADE

A composição do solo foi baseada na ASTM G160 (2003). Desta maneira, o solo foi elaborado com três partes iguais: solo fértil com baixo teor de argila, esterco e areia. O pH e a umidade do solo foram monitorados e mantidos entre 6,5 e 7,5, e entre 20 e 30 %, respectivamente. Após três meses de monitoramento, as amostras foram enterradas no solo para avaliar a biodegradabilidade delas.

O teste de biodegradabilidade foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Medina Jaramillo *et al.*(2016). Primeiramente, recipientes de profundidade de 12,5 cm foram preenchidos com solo até 4,0 cm de altura. Os corpos de prova (2,0 x 2,0 cm²) foram enterrados no solo a uma profundidade com cerca 1,0-2,0 cm em condições aeróbicas. Os recipientes foram mantidos a temperatura ambiente. Periodicamente, borrifou-se água no solo para manter a umidade deste. Em diferentes períodos as amostras foram removidas e avaliadas (5, 10, 30, 90 e 180 dias).

3.2.4.10 ENSAIO DE TRAÇÃO

Os ensaios mecânicos de tração foram realizados de acordo com a norma ASTM D882 (2018) com algumas modificações e conduzidos no Laboratório de Embalagens da Universidade Federal de São João Del Rey no Campus de Sete Lagoas, Minas Gerais.

Para a realização dos testes, utilizou-se o equipamento texturômetro Stable Micro Systems (TAXTPLUS) com célula de carga 25 N, distância entre as garras de 40 mm, garras presas a 20 mm e velocidade de teste de 2 mm/s. Foram testados cinco corpos de prova para cada tratamento com dimensões de 80 x 10 mm². A espessura dos filmes foi medida por meio do micrômetro N° 103-137 (Mitutoyo), em três pontos distintos e aleatórios em cada corpo de prova para efetuar os cálculos referentes às propriedades mecânicas de tração.

3.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

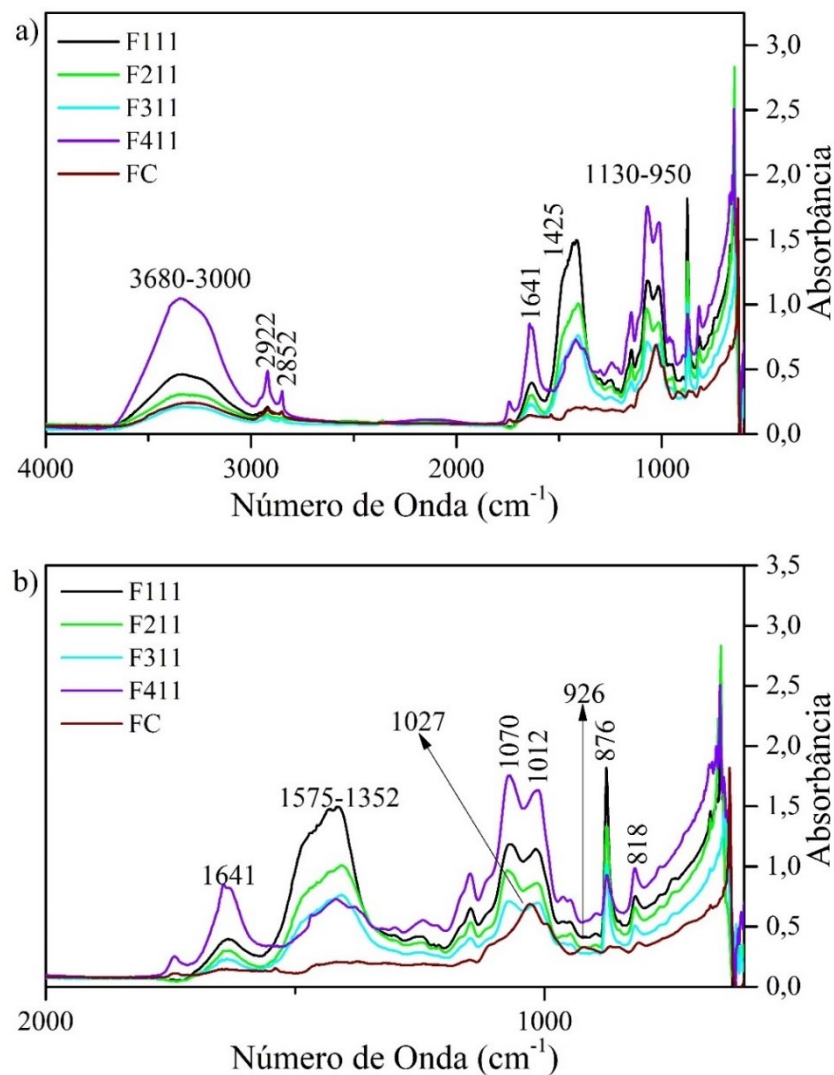
Os dados referentes aos experimentos realizados foram analisados estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de significância por meio do software Minitab® 16 1.0 para avaliar se havia diferença entre as amostras dos filmes desenvolvidos.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

A composição de grupos funcionais e ligações químicas dos filmes desenvolvidos neste trabalho foram analisadas utilizando a espectroscopia no infravermelho médio. Os espectros das amostras dos filmes com ligações cruzadas por meio dos íons Ca^{2+} estão apresentados nas Figura 3.4a e b. Os filmes F511 não foram analisados por FTIR, pois apresentaram aspecto altamente quebradiço, impossibilitando a análise realizada com o acessório ATR.

Figura 3.4 - Espectros das amostras de filmes com ligações cruzadas por meio de íons Ca^{2+} e do filme controle.



Espectro FTIR do filme controle (FC) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl_2 por 17.5 min; F211 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 5 min; F311 – imersão de solução com 2% CaCl_2 por 30 min; F411 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 30 min.

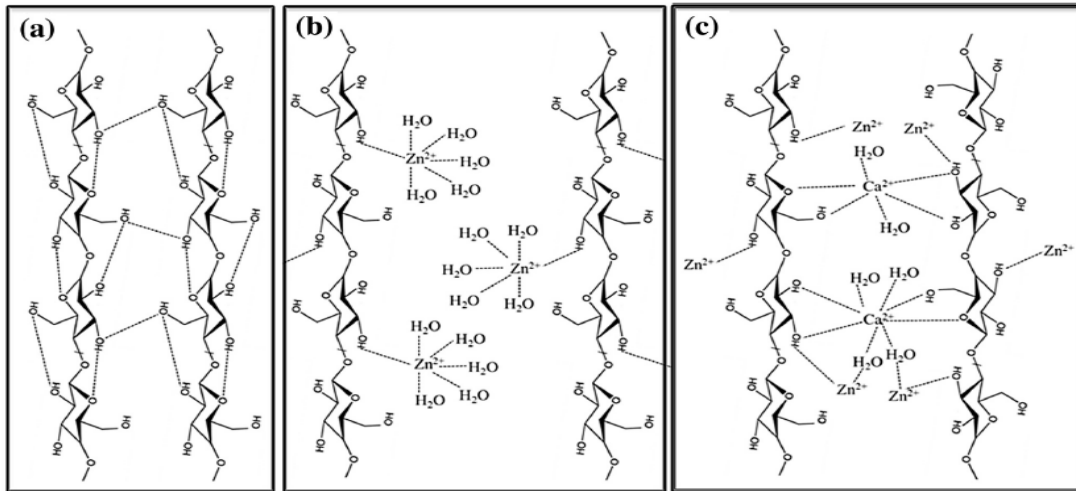
A banda de 3600-3000 cm^{-1} está relacionada a vibrações de estiramento dos grupos O-H e geralmente, apresenta banda larga devido às ligações de hidrogênio inter e intramoleculares (LOMBO VIDAL *et al.*, 2020). Esta região foi atribuída à presença de água e polissacarídeos (BATISTA *et al.*, 2020; RIBEIRO; SALVA; FERREIRA, 2010). O espectro do filme F411 apresentou maior intensidade nesta região que as demais amostras. A força molecular entre as cadeias poliméricas pode ter sido diminuída pela presença de íons Ca^{2+} que atuaram como plastificantes, resultando em um filme com maior absorção de água (CAO; LIU; WANG, 2018).

Diferentemente das demais amostras, F411 apresentou intenso pico em 1641 cm^{-1} que também pode estar associado à presença de água ligada aos polímeros da matriz (JIANG *et al.*, 2012; MARECHAL; CHANZY, 2000), corroborando a hipótese de que os íons Ca^{2+} juntamente com as moléculas de água promoveram o efeito de plastificação em F411. A interação entre os íons e os polissacarídeos estão envolvidos nas ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, contudo, se o teor de água nos filmes tiver aumentando, pode ser uma indicação de que os íons estão atraindo moléculas de água e juntamente com estas, causando o efeito plastificante na matriz polimérica (HIRASE *et al.*, 2010; JIANG *et al.*, 2012). Os plastificantes diminuem a temperatura de transição (T_g) e aumentam a mobilidade molecular nos filmes. A água é um dos mais eficientes plastificantes em filmes de polissacarídeos ou proteínas, pois ambos são hidrofílicos, desta maneira, possibilitam o aumento do teor de umidade nos materiais e conseqüentemente, as propriedades de barreira ao vapor de água são significativamente reduzidas (OLSSON *et al.*, 2013). Além disso, o espectro do corpo de prova F411 também apresentou picos mais definidos e com mais intensidades em 2922 e 2852 cm^{-1} , os quais foram atribuídos aos estiramentos assimétricos e simétricos das ligações de C-H do grupo metil ($-\text{CH}_3$). De acordo com Coelho *et al.* (2021), que também trabalharam com filmes provenientes da borra de café, a maior intensidade nesses picos no espectro de F411 pode ter ocorrido devido ao aumento da mobilidade dos polímeros, ao passo que a baixa intensidade desses picos em F311 sugere que as ligações entre as cadeias poliméricas são mais fortes e rígidas.

A banda de 1575-1352 cm^{-1} provavelmente envolve a sobreposição de picos referentes à vibração de diversas ligações atribuídas aos diferentes polímeros da matriz, isto é, a celulose, a hemicelulose, as melanoidinas e a lignina. Assim como o pico em 1434 cm^{-1} , que pode ser atribuído à vibração no plano de O-H e que é associado à presença de holocelulose e lignina (XU *et al.*, 2016). O pico em 1434 cm^{-1} é intensificado na presença de íons Zn^{2+} e Ca^{2+} interagindo com as hidroxilas presentes no grupo C-O-H (COELHO *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2016).

A região de 1300-900 é a região de *fingerprint* e é caracterizada pela complexidade dos picos e bandas nela presentes, como a banda de 1150-950 cm^{-1} que é típica de vibrações da ligação C-O no grupo funcional C-O-H e da vibração simétrica e assimétrica de ligações C-O-C, característico de hemicelulose e celulose (JIANG *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2016). Os espectros dos filmes apresentaram picos e bandas semelhantes, no entanto, o espectro do filme controle é o que exibiu menor proximidade entre as amostras. Na região de 1150-950 cm^{-1} , FC apresentou pico em 1027 cm^{-1} , enquanto nos demais filmes na mesma região, os espectros apresentaram dois picos, sendo estes em 1070 e 1012 cm^{-1} . O pico em FC e o pico em 1012 cm^{-1} estão associados às vibrações de estiramento assimétrico de ligações de C-O em C-O-C e o pico em 1070 cm^{-1} está associado às vibrações da ligação C-O de álcoois (CERQUEIRA *et al.*, 2012). A mudança nos picos da banda de 1150-950 cm^{-1} , sugere que houve interação dos grupos funcionais mencionados com íons Ca^{2+} como representado no esquema na Figura 3.5 (JIANG *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2016). O deslocamento do pico em 1027 cm^{-1} para menor frequência no infravermelho indica que o átomo oxigênio do grupo C-O-C do álcool primário do anel do açúcar começou a interagir com Ca^{2+} com ligações mais fortes que aquelas que estavam estabelecidas anteriormente, no caso, ligações de hidrogênio (JIANG *et al.*, 2012; MA; YU, 2004).

Figura 3.5 - Esquema da interação das cadeias de celulose e os íons Zn^{2+} e Ca^{2+} . a) Ligações inter e intramolecular entre as cadeias glicosídicas da celulose; b) Interação entre as cadeias poliméricas da celulose com os íons Zn^{2+} ; c) interação entre as cadeias poliméricas da celulose com os íons Zn^{2+} e Ca^{2+} .

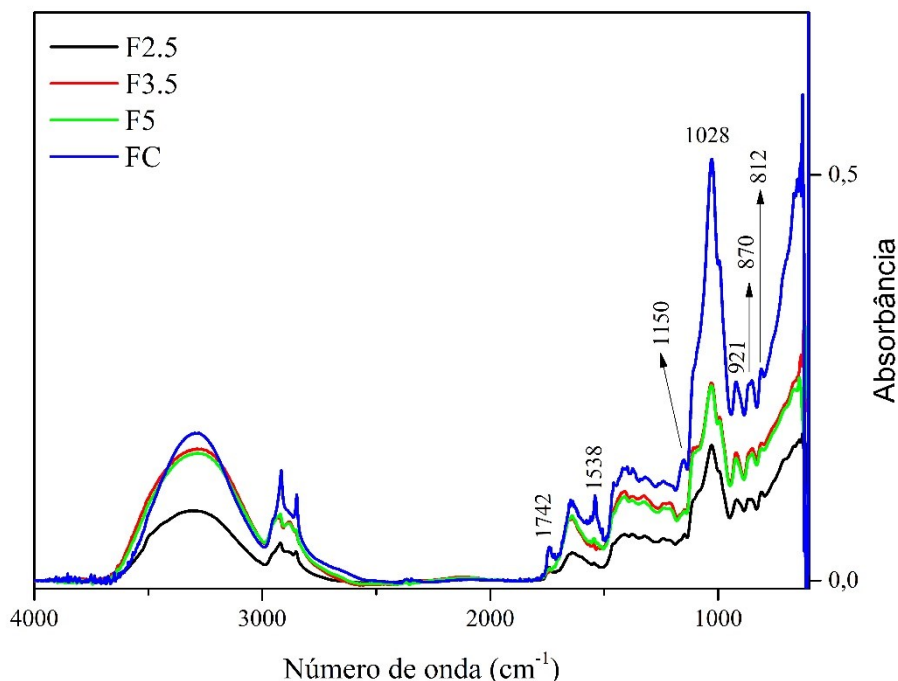


Fonte: Xu *et al.* (2016) (modificado)

Os picos em 818 e 875 cm^{-1} estão presentes em todos os filmes ainda que com intensidades diferentes, eles estão associados às ligações α e β -glicosídicas e são indicadores da presença de α -D-galactopiranosose e β -D-manopiranosose, respectivamente, ambas características de galactomananas (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2017; FIGUEIRÓ *et al.*, 2004). O pico em 926 cm^{-1} presente no espectro do filme controle, está relacionado a ligações glicosídicas na celulose (XU *et al.*, 2013), o deslocamento do mesmo nos espectros das demais amostras indica que os íons Ca^{2+} têm interagido com as cadeias poliméricas da celulose.

Quanto aos espectros dos filmes desenvolvidos com ligações cruzadas por meio do ácido de boro 1,4-fenilenodiborônico, observa-se que em relação ao espectro do filme controle não apresentaram muitas diferenças, apenas poucos picos que diferenciaram as amostras com FDB de FC como pode ser observado na Figura 3.6 e serão discutidos a seguir.

Figura 3.6 - Espectros das amostras de filmes com ligações cruzadas com 1,4-fenilenodiborônico e da amostra do filme controle.



O pico em 1742 cm^{-1} presente no espectro de FC fica atenuado em F2.5 e desaparece nas amostras F3.5 e F5, sugerindo que o grupo funcional $\text{C}=\text{O}$ de grupos ésteres, aldeídos e cetonas, que pode ser atribuído à presença de acetilações da hemicelulose, mas também pode ser atribuído à presença do ácido glicurônico nas arabinogalactanas do café, interagiu por meio de ligações covalentes com as hidroxilas de FDB (COELHO *et al.*, 2021; KEMSLEY; RUAULT; WILSON, 1995; REIS *et al.*, 2017; WANG; LIM, 2012).

O deslocamento e mudanças que ocorreram no pico em 1641 cm^{-1} podem indicar que as hidroxilas dos polissacarídeos deixaram de interagir com as moléculas de água e formaram ligações com as hidroxilas de FDB (LIU *et al.*, 2020; THOMBARE *et al.*, 2017). Além disso, o desaparecimento de 1150 cm^{-1} e de 1457 cm^{-1} , os quais são atribuídos aos estiramentos das $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel piranosídico e das ligações $\text{C}-\text{H}$ indicam a interação dos polissacarídeos com FDB, respectivamente.

A banda em 1645 cm^{-1} e a banda em 1528 cm^{-1} podem ser associadas às vibrações dos estiramentos do grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e às vibrações das ligações $\text{C}=\text{C}$ de anéis aromáticos, respectivamente, sendo ambas atribuídas à presença de melanoidinas e lignina (KIM *et al.*,

2020; WANG; LIM, 2012), Desta maneira, FDB pode ter interagido com a lignina e as melanoidinas que permaneceram na matriz após o tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino. Principalmente, com o grupo catecol presente nas melanoidinas do café, visto que estas são ricas nos grupos 1,2 – dihidroxibenzeno (catecol), os quais são derivados de ácidos clorogênicos que reagiram com os polissacarídeos e as proteínas durante a Reação de Maillard para formação das melanoidinas. Além disso, o grupo catecol também pode ter interagido com os íons cálcio dos filmes submetidos ao banho de imersão com cloreto de cálcio, visto que as melanoidinas apresentam potencial quelante e que os polifenóis incorporados a sua estrutura se ligam fortemente a íons multivalentes (KIM et al., 2020)..

Ademais, as bandas de 1641 e 1560–1465 cm^{-1} encontradas nos espectros também podem estar associadas às deformações angular de N-H e axial de C=O, respectivamente (BATISTA *et al.*, 2020; CRAIG *et al.*, 2014). Ambas podem ser atribuídas à presença de proteínas na matriz e indicam interação de FDB com essas macromoléculas que podem estar associadas as arabinogalactanas do café, visto que as mesmas são associadas a proteínas.

3.3.2 ANÁLISE TÉRMICA

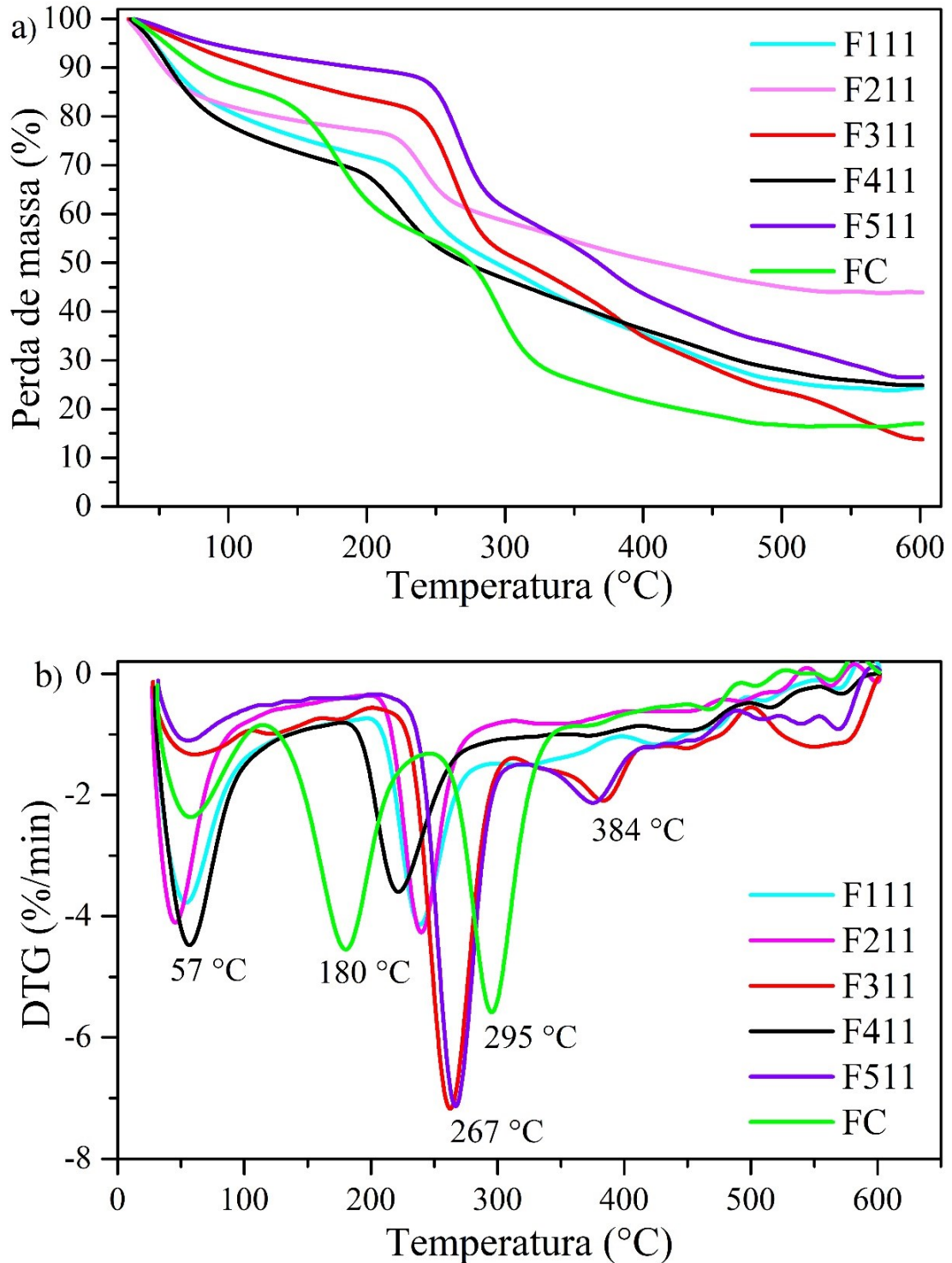
Para avaliar inicialmente os filmes com CaCl_2 e selecionar aqueles com propriedades desejáveis, utilizou-se a análise termogravimétrica como técnica para indicar os filmes com maior densidade de ligações cruzadas, visto que geralmente o aumento da densidade de *crosslinking* confere ao material polimérico maior estabilidade térmica, a qual depende de características inerentes na matriz, mas também da interação entre as macromoléculas (ABDOLAHZADEH *et al.*, 2014; JIANG *et al.*, 2012; MATHEW; PACKIRISAMY; THOMAS, 2001).

As curvas de TGA das amostras apresentaram comportamentos distintos, resultado dos efeitos da concentração e do tempo em que os filmes foram expostos ao banho com solução de cloreto de cálcio. Além disso, pode-se observar dentro da faixa avaliada, que ambos o tempo e a concentração tiveram efeito negativo sobre a estabilidade térmica do material, visto que quanto maior o tempo e maior a concentração, menor foi o valor da temperatura do pico principal da DTG. FC é visivelmente o mais distinto de todos, o que já era esperado, visto que não foi submetido ao banho com CaCl_2 (Figura 3.7a e b).

De forma geral, a perda de massa no primeiro estágio na região de 30–120 °C que está presente com algumas variações em todas as amostras corresponde à evaporação de moléculas de água

adsorvidas no material (BALLESTEROS *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019). O filme F411 apresentou maior perda de massa no primeiro estágio, em torno de 25 %, o que corrobora o espectro de FTIR da amostra exposto na seção 3.3.1 (Figura 3.4). Ao passo que entre as curvas de TGA, a amostra F511 foi aquela que apresentou menor percentual de umidade, seguidos dos filmes F311. Os dados da análise termogravimétrica dos filmes F511 não puderam ser comparados com os espectros dos mesmos, visto que não foi possível fazer as análises de F511, pois a amostra estava quebradiça (Figura 3.9) tornando inviável o uso do acessório ATR na mesma. Os espectros de F311 está entre aqueles que apresentaram menor intensidade na região de $3700-3000\text{ cm}^{-1}$, o que é coerente com o aspecto quebradiço da amostra como pode ser observado na Figura 3.8.

Figura 3.7 - Análise térmica dos filmes com CaCl_2 : a) curvas da análise de termogravimetria; b) curvas da primeira derivada.



Curvas de TGA do filme controle (FC) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl_2 por 17.5 min; F211 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 5 min; F311 – imersão de solução com 2% CaCl_2 por 30 min; F411 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 30 min.

Figura 3.9 - Amostra F511, filme imerso em 2 % de CaCl₂ (m/v) por 5 min.



Fonte: Autor.

Figura 3.8 - Amostra F311, filme imerso em 2 % de CaCl₂ (m/v) por 30 min.



Fonte: Autor.

Diferente das demais amostras, FC apresentou dois picos pronunciados na DTG, o primeiro ocorreu a 180 °C e o segundo a 295 °C, com perda de massa em torno de 30 % em cada pico (Tabela 3.1). Ambos estão relacionados a decomposição e a despolimerização dos polissacarídeos presentes na borra de café, o primeiro pico provavelmente está relacionado, principalmente, à degradação das arabinogalactanas que apresentam menor estabilidade térmica entre os principais carboidratos da matriz, ao passo que o segundo pico provavelmente envolveu a degradação das galactomananas e celulose (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2017; SIMÕES *et al.*, 2019).

Geralmente, com algumas variações, a temperatura de decomposição da hemicelulose e da celulose ocorre de 250-300 °C e 300-350 °C, respectivamente (CARRIER *et al.*, 2011; DAMARTZIS *et al.*, 2011). Contudo, na análise de filmes, é preciso considerar dois fatores que diminuem a estabilidade térmica dos polissacarídeos. Primeiramente, as ligações intermoleculares e a cristalinidade dos polissacarídeos foram afetadas durante a dissolução dos polímeros no solvente, desta maneira, a reorganização dos polímeros foi diferente da configuração original. Segundo, precisa ser considerado que durante o preparo do filme, a solução de cloreto de zinco pode ter degradado parcialmente os polímeros presentes na matriz afetando a estabilidade térmica desta (ZHANG *et al.*, 2019).

As amostras F311 (2 % CaCl₂, 30 min) e F511 (2 % CaCl₂, 5 min) apresentaram comportamento térmico similar como pode ser notado pelos termogramas na Figura 3.7 a. Os dois tratamentos também apresentaram os picos com as maiores temperaturas nas curvas da DTG entre as demais amostras (Figura 3.7 b). No entanto, ambos os tratamentos apresentaram filmes com estrutura rígida e quebradiça, além de aparência opaca (Figura 3.9 e Figura 3.8). Esta última característica pode indicar entrelaçamento entre as cadeias durante a formação de filme, o que conseqüentemente reduziu a mobilidade das cadeias, ou pode estar associada à presença de lipídeos adicionados à formulação do filme (CERQUEIRA *et al.*, 2012). Ademais, uma estrutura rígida e quebradiça pode indicar que houve forte interação intermolecular devido à alta densidade de ligações cruzadas (JIANG *et al.*, 2012).

Tabela 3.1 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada dos filmes de borra de café deslignificada com ligações cruzadas com íons Ca^{2+} .

Filmes	Estágio	Faixa de degradação (°C)	Picos da DTG (°C)	Perda de massa (%)
F111	1°	30,48 – 108,92	53,90	19,65
	2°	108,92 – 286,95	238,58	28,81
		286,95- 601,63		26,29
	Resíduo			25,25
F211	1°	28,43 – 105,38	45,13	17,98
	2°	105,38 – 302,79	239,26	23,37
		302,79 – 601,75		14,38
	Resíduo			44,27
F311	1°	28,26 – 105,14	60,10	8,67
	2°	105,14 – 309,63	262,27	40,63
	3°	309,63 – 419,91	383,99	18,30
		419,91 – 601,72		18,41
F411	1°	31,03 – 124,36	56,73	24,28
	2°	124,36 – 294,37	221,35	27,75
		294,37 – 601,08		22,30
	Resíduo			25,67
F511	1°	34,08 – 103,24	55,46	5,86
	2°	103,24 – 311,65	266,65	34,62
	3°	311,65 – 416,48	375,26	17,89
		416,48 – 601,11		14,90
Resíduo			26,73	
FC	1°	31,46 – 115,38	57,30	14,29
	2°	115,38 – 245,95	180,10	30,76
	3°	245,95 – 359,61	295,25	29,71
		359,61 – 600,39		7,97
Resíduo			17,27	

Filme controle (FC) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl_2 por 17,5 min; F211 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 5 min; F311 – imersão de solução com 2% CaCl_2 por 30 min; F411 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 30 min.

Ademais, as amostras F311 (2 % CaCl_2 , 30 min) e F511 (2 % CaCl_2 , 5 min) apresentaram um estágio de decomposição extra que as demais amostras que foram imersas em banho com CaCl_2 (Tabela 3.1). Isso provavelmente está relacionado às interações entre as cadeias poliméricas promovidas pelos íons Ca^{2+} presentes na matriz, ou seja, o terceiro pico da DTG nas amostras F311 e F511 sugerem que foram formadas ligações que precisam de mais energia para serem decompostas.

Os filmes F411 (10 % CaCl_2 (m/v), 30 min) apresentaram pico intenso de degradação em torno de 220 °C, a menor temperatura no pico da DTG entre os tratamentos. São filmes que pela técnica de análise térmica e FTIR (seção 3.3.1) apresentaram maior teor de água, o que pode estar relacionado ao maior percentual de íons Ca^{2+} na matriz das amostras que não estão envolvidos nas ligações cruzadas. A partir disso, pode-se dizer que os íons Ca^{2+} e as moléculas de água livres funcionaram como plastificantes nos filmes, reduzindo as forças intermoleculares, o que vai ao encontro do que é observado visualmente, isto é, um filme mais flexível que os demais (Figura 3.10) (ABEDINI; PIRCHERAGHI; KAVIANI, 2023; JIANG *et al.*, 2012).

Figura 3.10 - Amostra F411, filme imerso em 10 % de CaCl_2 (m/v) por 30 min.



Fonte Autor.

Em relação aos filmes F111 (6 % CaCl_2 (m/v), 17,5 min) e F211 (10 % CaCl_2 (m/v), 5 min), foi observado que ambos apresentaram perfis térmicos similares e visualmente não são tão quebradiços e nem tão flexíveis quando comparados às demais amostras, além disso, são filmes translúcidos.

Quando os filmes F311 e F511 são comparados com FC, observa-se que este apresentou maior teor de água. Provavelmente tal diferença ocorre devido ao fato que os íons Ca^{2+} promoveram ligações cruzadas na matriz filmogênica, aproximando as cadeias poliméricas dos filmes F311

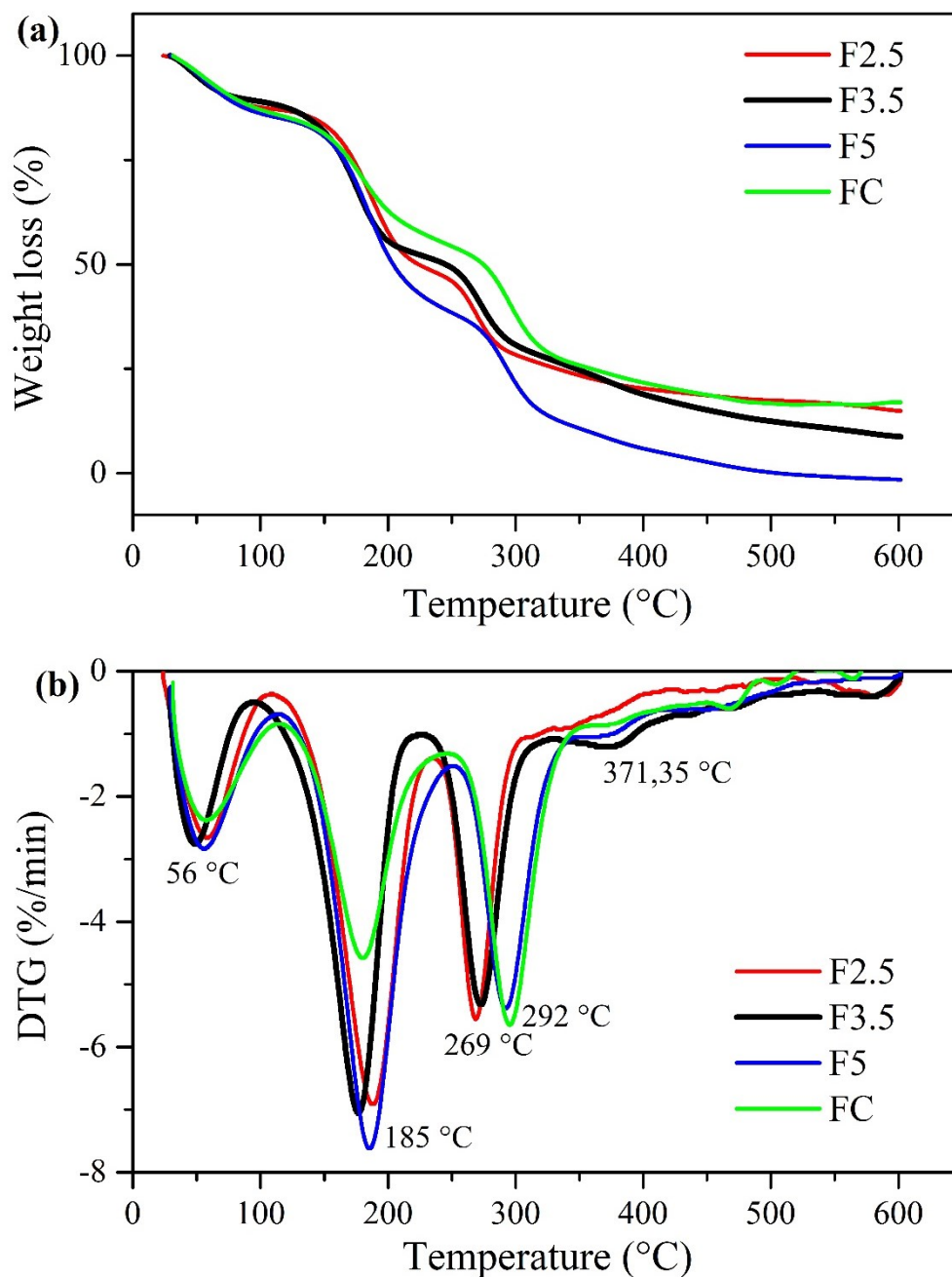
e F511 e impedindo a entrada de moléculas de água na estrutura da matriz. Ao passo que quando se observa os demais filmes, principalmente F411, percebe-se que o teor de água é maior que no filme controle. O aumento da umidade nos filmes é um indício do efeito plastificante causado pelo aumento da concentração dos íons Ca^{2+} nas amostras (JIANG *et al.*, 2012).

Com relação aos resultados da análise térmica dos filmes com *crosslinking* por meio do reagente FDB, observou-se que as curvas de TGA apresentaram comportamento térmico similar ao filme controle com três eventos de degradação e três picos na DTG em temperaturas próximas àqueles encontrados nas curvas da DTG de FC como pode ser verificado pela Tabela 3.2 e Figura 3.11.

Tabela 3.2 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada dos filmes de borra de café deslignificada com ligações cruzadas com 1,4 fenilenodiborônico.

Filmes	Estágio	Faixa de degradação (°C)	Picos da DTG (°C)	Perda de massa (%)
F2.5	1°	23,69 - 111,95	58,14	12,84
	2°	111,95 - 236,34	187,99	38,90
	3°	236,34 - 311,36	268,61	21,07
		311,36 - 600		12,10
	Resíduo			15,09
F3.5	1°	29,68 – 91,70	48,17	10,44
	2°	91,70 – 220,66	176,73	36,45
	3°	220,66 – 326,67	272,57	25,16
		326,67 – 429,13	371,35	10,67
	429,13 - 600		7,67	
Resíduo			9,46	
F5	1°	30,22 - 110,73	55,65	14,49
	2°	110,73 - 248,55	185,35	46,39
	3°	248,55 - 345,16	292,20	27,16
		345,16 - 600		12,64
Resíduo			-	
FC	1°	31,46 – 115,38	57,30	14,29
	2°	115,38 – 245,95	180,10	30,76
	3°	245,95 – 359,61	295,25	29,71
	4°	359,61 – 600,39		7,97
	Resíduo			17,27

Figura 3.11- Análise térmica dos filmes com ligações cruzadas com ácido 1,4 fenilenodiborônico: a) curvas da análise de termogravimetria; b) curvas da primeira derivada.



Além da semelhança entre os perfis de degradação entre os filmes com ligação cruzada com FDB e o filme controle, F3.5 apresentou mais um estágio de degradação entre 326 °C e 429 °C com pico na DTG em 371 °C e perda de massa de 11 %. Este estágio foi relacionado à degradação das ligações entre o ácido 1,4-fenilenodiborônico e as hidroxilas presentes nos

polissacarídeos da matriz dos filmes. Desta maneira, o quarto evento de degradação presente na curva de TGA de F3.5 é um indício da formação das ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas e FDB. Comportamento térmico parecido foi encontrado por Thombare *et al.* (2017) que adicionaram bórax como agente de *crosslinking* em hidrogéis de goma guar e observaram o aparecimento de mais um estágio com faixa de degradação de 330 °C a 508 °C antes da região da combustão completa.

No entanto, as amostras F2.5 e F5 não apresentaram este estágio adicional que sugere a formação de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas e FDB. Provavelmente, o percentual de *crosslinking* desse tipo nas matrizes de ambos os filmes foi inferior ao percentual formado em F3.5, sendo tal evento imperceptível nas curvas de TGA e DTG. Liu *et al.* (2020) produziram hidrogéis de goma de feno-grego e bórax com diferentes concentrações e observaram um pico extra nas curvas de DTG confirmando as ligações cruzadas formadas entre as hidroxilas das galactomananas e o bórax. Os autores relataram que em concentrações mais elevadas de goma e bórax no hidrogel, o mesmo apresentou menor estabilidade térmica.

3.3.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³C (RMN)

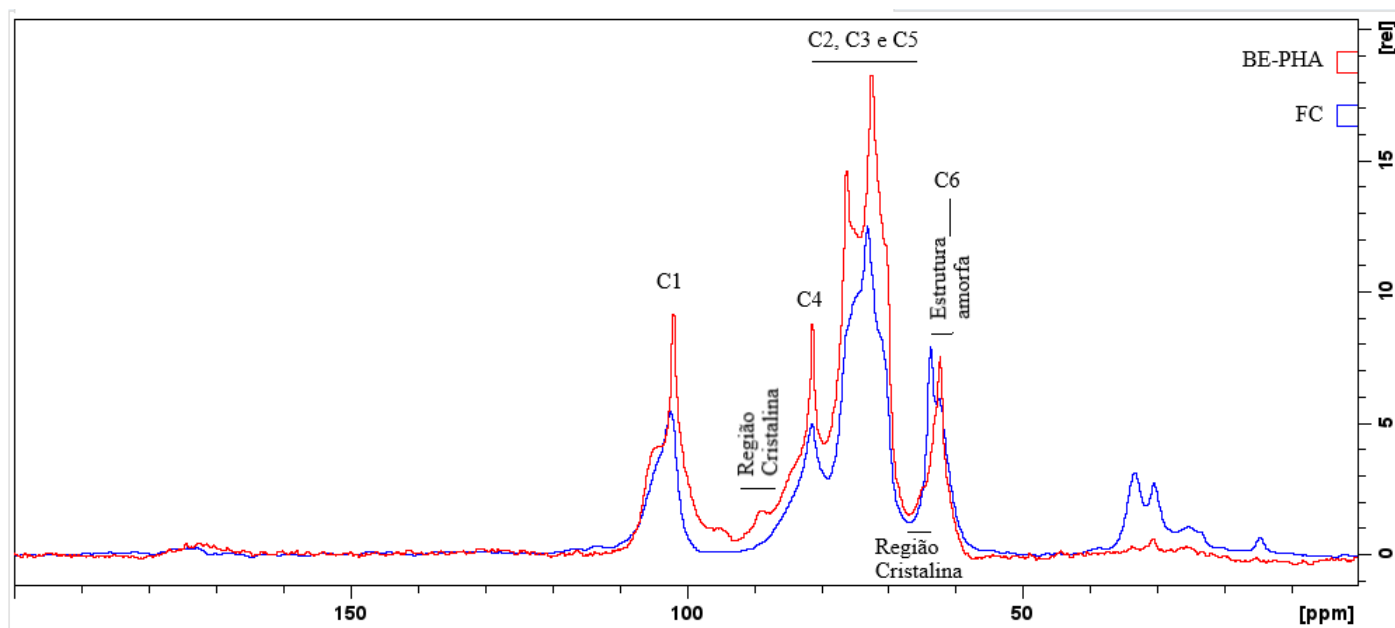
O RMN de estado sólido permite a análise de materiais poliméricos assim como filmes sem precisar realizar algum tratamento, preservando a estrutura original das amostras e assim, possibilitando a comparação entre os diferentes filmes desenvolvidos.

Como discutido na seção 2.3.3 do capítulo 2, o espectro de BE-PHA apresentou bandas e picos na região de δ 50 a δ 120 ppm que foram atribuídas principalmente à presença de celulose, galactomananas e arabinogalactanas. Os sinais localizados de δ 58 a δ 66 ppm são referentes a C6, de δ 66 a δ 79 ppm são referentes aos carbonos C2, C3 e C5, de δ 79 a δ 92 ppm são referentes a C4 e de δ 96 a δ 108 ppm são referentes ao carbono anomérico C1 (ESPIRITO SANTO *et al.*, 2018; JIN CHO *et al.*, 2022; SABET *et al.*, 2021).

O processo para preparar os filmes promoveu mudanças na matriz polimérica que podem ser observadas na Figura 3.12 pela diferença entre os espectros de BE-PHA e FC. Assim como, os picos referentes a cristalinidade e região amorfa presentes no espectro da matriz de BE-PHA que sofreram mudanças que podem ser vistas no espectro de FC. Em relação às frações amorfa e menos ordenada, pode-se notar que o pico em δ 62,3 ppm (característico de C6) foi deslocado para δ 63,8 ppm e δ 84,1 ppm (80 a 86) (atribuído ao C4) sofreu uma pequena variação que pode ser notada no espectro de FC na Figura 3.12 (ESPIRITO SANTO *et al.*, 2018;

SANNIGRAHI; MILLER; RAGAUSKAS, 2010). Estes resultados sugerem que a hidroxila de C6 da região amorfa do material está interagindo com íons Zn^{2+} presentes entre as cadeias dos polissacarídeos de celulose.

Figura 3.12 - Espectro de RMN de ^{13}C de BE-PHA e do filme controle.



Quanto aos picos em δ 65 e δ 88.9 ppm (86 a 92), típicos de C6 e C4 da região cristalina da celulose presentes em BE-PHA, respectivamente, é possível observar modificações no espectro de FC, sendo mais evidente o desaparecimento na região de δ 86 a 92 ppm, indicando alterações na estrutura do material, isto é, provável perda de cristalinidade em virtude da dissolução de BE-PHA em solução de $ZnCl_2$ e da reorganização menos ordenada dos polímeros da matriz no filme (ESPIRITO SANTO *et al.*, 2018; SANNIGRAHI; MILLER; RAGAUSKAS, 2010; XU *et al.*, 2016).

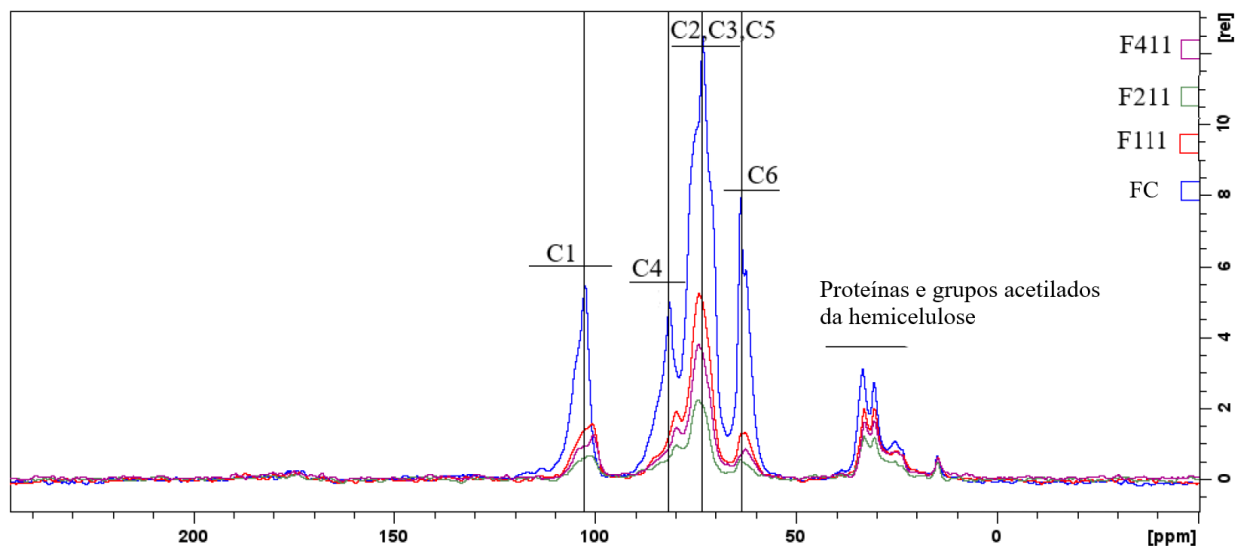
Comparando os espectros de FC com os espectros das amostras F111, F211 e F411 na Figura 3.13, pode-se observar que os últimos perderam resolução em relação ao primeiro provavelmente devido a menor mobilidade dos polímeros da matriz promovidas pelas ligações cruzadas dos íons adicionados (LATTNER; FLEMMING; MAYER, 2003; VIEIRA; GIL, 2005). Ademais, a redução da intensidade dos picos nos filmes com ligações cruzadas indica o grau de afinidade entre os íons e os polímeros presentes na matriz, portanto, o resultado sugere

que F211 é o tratamento que possibilitou melhor a formação das ligações cruzadas na amostra, reduzindo a incompatibilidade entre os diferentes compostos da matriz (WANG *et al.*, 2020).

A mudança de intensidade e deslocamento químico para o alto ou baixo campo de carbono-13 associado aos monossacarídeos indicam que os íons cálcio afetaram as ligações de toda a cadeia do polissacarídeo, sugerindo que mesmo que as unidades destes não sejam carregadas, pois trata-se de polissacarídeos predominantemente neutros, os resíduos principalmente de manose, glicose e galactose apresentaram tendência a interagir com os íons adicionados à matriz (LATTNER; FLEMMING; MAYER, 2003).

Os sinais observados em δ 12 ppm e na banda larga de δ 18 a δ 45 ppm que apresentavam sinais muito baixos em BE-PHA, apresentaram aumento significativo de intensidade no espectro de FC. O aumento do sinal em δ 12 ppm pode estar associado à presença de grupos metil de moléculas de etanol que interagiram com a matriz e permaneceram nela depois do banho de imersão em álcool etílico absoluto. Em relação à banda larga intensificada de δ 18 a δ 45 ppm pode ser associada à ressonância do carbono de grupos acetil na hemicelulose e grupos carbonila da lignina (JIN CHO *et al.*, 2022). O pico em δ 30 ppm também pode ser associado à presença de proteínas e fibras, resultado que vai ao encontro das análises de determinação de proteína discutido na seção 2.3.1 (NOGUEIRA *et al.*, 2011). Pode-se inferir que a razão para intensificação desta banda pode ser atribuída a maior mobilidade destes polímeros que foi aumentada pela ação da solução de cloreto zinco, o qual foi o responsável por as quebrar ligações intermoleculares de tais polímeros.

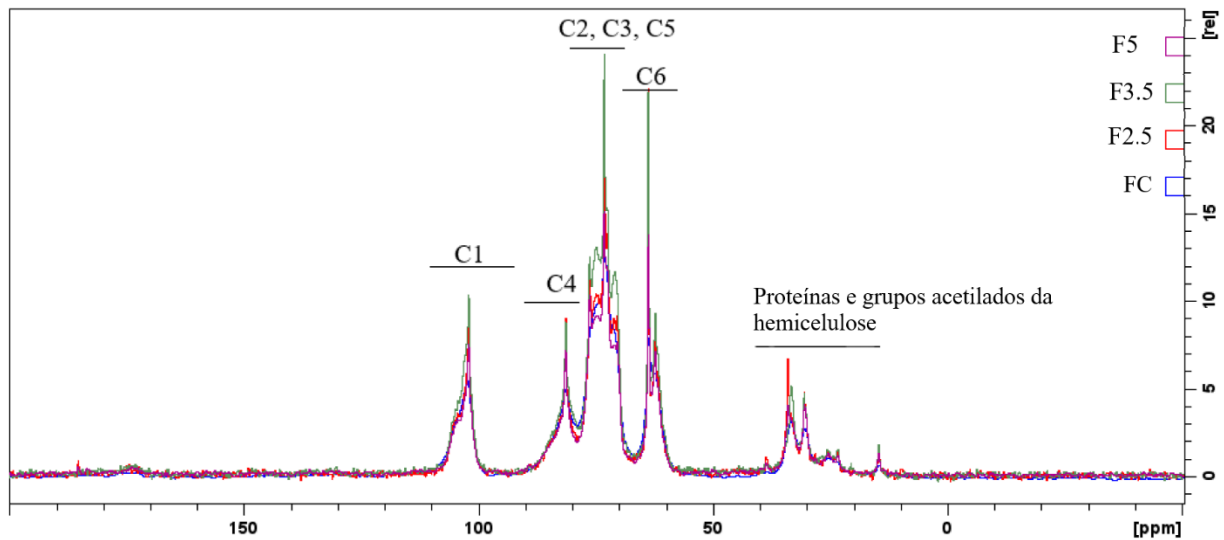
Figura 3.13 - Espectros de RMN de ^{13}C do filme controle e dos filmes submetidos ao banho de imersão com cloreto de cálcio.



Quanto aos espectros dos filmes com FDB, pode-se observar que estes apresentaram maior resolução provavelmente em razão da maior mobilidade das cadeias presentes nas amostras quando comparados a FC (Figura 3.14) e demais filmes (VIEIRA; GIL, 2005).

Além disso, os espectros de RMN sugerem que as moléculas de FDB interagiram com os dióis dos carboidratos pelas mudanças ocorridas na região dos carbonos C2 e C3, principalmente no espectro da amostra F3.5 corroborando os resultados da análise térmica em que a curva da DTG da amostra apresenta um evento adicional foi atribuído às ligações cruzadas formadas entre FDB e os polissacarídeos da matriz do filme (seção 3.3.2).

Figura 3.14 - Espectros de RMN de ^{13}C do filme controle e dos filmes com adição de ácido 1,4-fenilenodiborônico.



3.3.4 TEOR DE UMIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA

O teor de umidade e de solubilidade em água são parâmetros que contribuem para direcionar a aplicação do material desenvolvido. O teor de umidade está relacionado às moléculas de água que ocupam os espaços vazios na microestrutura da matriz, enquanto que a solubilidade em água está relacionada à afinidade do material com as moléculas de água (DE VARGAS *et al.*, 2022).

Os dados referentes ao teor de umidade sugerem que de fato os íons Ca^{2+} promoveram ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, pois diminuíram significativamente o teor de umidade nas amostras em relação ao filme controle como pode ser observado na Tabela 3.3. O mesmo foi relatado em outros trabalhos como a pesquisa realizada por Seligra *et al.*(2016) que utilizaram o ácido cítrico para fazer ligações cruzadas entre as cadeias de amido e glicerol e observaram a diminuição do teor de umidade nos filmes com ligações cruzadas. De acordo com Jiang *et al.*(2012), a diminuição do teor de umidade na amostra é um indicativo que os íons metálicos atuaram como agentes de ligação cruzada, ao passo que o aumento do teor de umidade sugere que tais íons tiveram função de plastificante na matriz.

Tabela 3.3 – Percentuais de umidade e solubilidade dos filmes com íons Ca²⁺.

Amostras	Umidade (%)	Solubilidade (%)
FC	42,60 ± 0,52 ^a	45,32 ± 3,77 ^c
F111	20,30 ± 0,11 ^c	52,48 ± 1,40 ^b
F211	27,83 ± 2,34 ^b	50,91 ± 3,67 ^{bc}
F411	25,23 ± 1,88 ^b	61,00 ± 1,94 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

Filme controle (FC) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl₂ por 17.5 min; F211 – imersão de solução com 10% CaCl₂ por 5 min; F411 – imersão de solução com 10% CaCl₂ por 30 min.

De maneira geral, os dados do teor de umidade das amostras corroboram os resultados da análise térmica (Figura 3.7 e na seção 3.3.2), exceto os valores de umidade para o filme controle que apresentou resultado superior ao que foi indicado pela curva de TGA da amostra, isto é, em torno de 15 %.

No que diz respeito à análise de teor de umidade, materiais com elevada solubilidade em água são relevantes para o encapsulamento de produtos alimentícios ou farmacêuticos, ao passo que para a produção de embalagens com o objetivo de proteção e integridade dos produtos de interesse, é mais adequado o desenvolvimento de materiais resistentes à água, ou seja, com baixa solubilidade em água (DE VARGAS *et al.*, 2022).

Analisando os dados da Tabela 3.3, FC apresentou o menor percentual de solubilidade em relação aos filmes com ligação cruzada com íons Ca²⁺, além disso, o valor do percentual de solubilidade foi muito próximo ao teor de umidade. Em relação às demais amostras, o resultado provavelmente se deve em grande parte aos íons cálcio que aumentaram a hidroflicidade das matrizes quando adicionados nas ligações cruzadas e que possivelmente migraram para a água durante o ensaio de solubilidade, visto que o tipo de ligação cruzada estabelecida nos filmes desenvolvidos com íons Ca²⁺ pode ser reversível (CERQUEIRA *et al.*, 2012; PAVLATH *et al.*, 1999). Contudo, o teor de solubilidade em água das amostras é reduzido pela rede tridimensional formada pelas ligações entre os polímeros e os íons cálcio. Portanto, quanto mais forte e bem estabelecidas forem as ligações formadas na rede do filme promovida pelas condições de *crosslinking* como tempo e concentração do banho, menor será o teor de solubilidade dos filmes (ABEDINI; PIRCHERAGHI; KAVIANI, 2023).

A partir disso, pode-se inferir que em F411 a migração dos íons cálcio para o meio aquoso foi favorecida, visto que provavelmente um percentual dos íons cálcio presentes na matriz da amostra agiram como plastificante como foi discutido nos resultados de FTIR e análise térmica

nas seções 3.3.1 e 3.3.2, respectivamente. Ademais, os plastificantes reduzem a intensidade das ligações inter e intramolecular entre as cadeias poliméricas, o que por sua vez, facilita a entrada de moléculas de água e conseqüentemente, aumenta a solubilidade do material na água (JIANG *et al.*, 2012).

Em relação às amostras com *crosslinking* por meio do ácido 1,4 fenilenodiborônico, os filmes FC e F2.5 não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$), ao passo que F3.5 e F5 apresentaram teor de umidade inferior a FC como pode ser observado na Tabela 3.4. Assim como supracitado, quando ocorre a formação de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas do material, a tendência é a redução do teor de umidade como ocorreu em F3.5 e F5, pois o decréscimo no teor de umidade está relacionado à redução das hidroxilas livres nas cadeias poliméricas (SELIGRA *et al.*, 2016). Desta maneira, esse resultado indica que ligações cruzadas por meio de FDB foram formadas nas matrizes das amostras F3.5 e F5.

Tabela 3.4 - Percentuais de umidade e solubilidade dos filmes com FDB.

Amostras	Umidade (%)	Solubilidade (%)
FC	42,60 ± 0,52 ^a	45,32 ± 3,77 ^b
F2.5	49,01 ± 2,54 ^a	53,26 ± 3,54 ^a
F3.5	30,71 ± 3,78 ^b	39,37 ± 2,90 ^b
F5	30,75 ± 4,26 ^b	51,68 ± 4,02 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

Os valores de solubilidade em ambos os grupos e no filme controle podem indicar que os compostos que são solúveis em água presentes nas matrizes não são os mesmos que interagem com os agentes de *crosslinking*. Por esta razão, em nenhum dos casos, foi observada a diminuição do percentual de solubilidade como o comumente esperado em decorrência das ligações cruzadas formadas na estrutura dos filmes (AZEREDO; WALDRON, 2016).

3.3.5 ESTABILIDADE DOS FILMES EM SOLUÇÕES ÁCIDA E ALCALINA

O teste de estabilidade dos filmes em diferentes condições de pH é relevante visto que o objetivo do desenvolvimento de materiais à base de biopolímeros é substituí-los em áreas em que tais materiais ficarão em contato com produtos com ampla faixa de pH como no caso da utilização dos filmes na indústria de alimentos, farmacêutica ou de cosméticos.

A amostra FC não apresentou aumento nítido do diâmetro em solução com pH 3,0 e 10,0 e estatisticamente não houve diferença significativa entre as amostras de FC em pH ácido ou

alcalino ($p > 0,05$), ao passo que em pH neutro, as amostras do filme controle intumesceram alcançando o diâmetro de cerca de 20 mm, indicando a natureza hidrofílica de alguns compostos da matriz (Tabela 3.5). Em relação às amostras com ligações cruzadas com íons Ca^{2+} não foi observado aumento de diâmetro em solução com pH ácido, neutro ou alcalino durante o tempo avaliado. Portanto, as ligações cruzadas conferiram aos filmes maior resistência a intumescerem em pH neutro, provavelmente por aproximarem as cadeias poliméricas, diminuir o volume livre e o tamanho dos espaços vazios na matriz dos filmes (ALMEIDA *et al.*, 2013; BALAGUER *et al.*, 2013). Desta maneira, as amostras de filme controle e as amostras de ligações cruzadas com íons Ca^{2+} demonstraram ser resistentes aos diferentes valores de pH não se desintegrando durante o período de 10 dias em que estiveram imersas em soluções ácidas, neutras ou alcalinas como pode ser observado na **Figura 3.15**.

Tabela 3.5 – Dados referentes à análise de estabilidade em meios com diferentes valores de pH dos filmes FC e dos filmes com ligações cruzadas com íons cálcio.

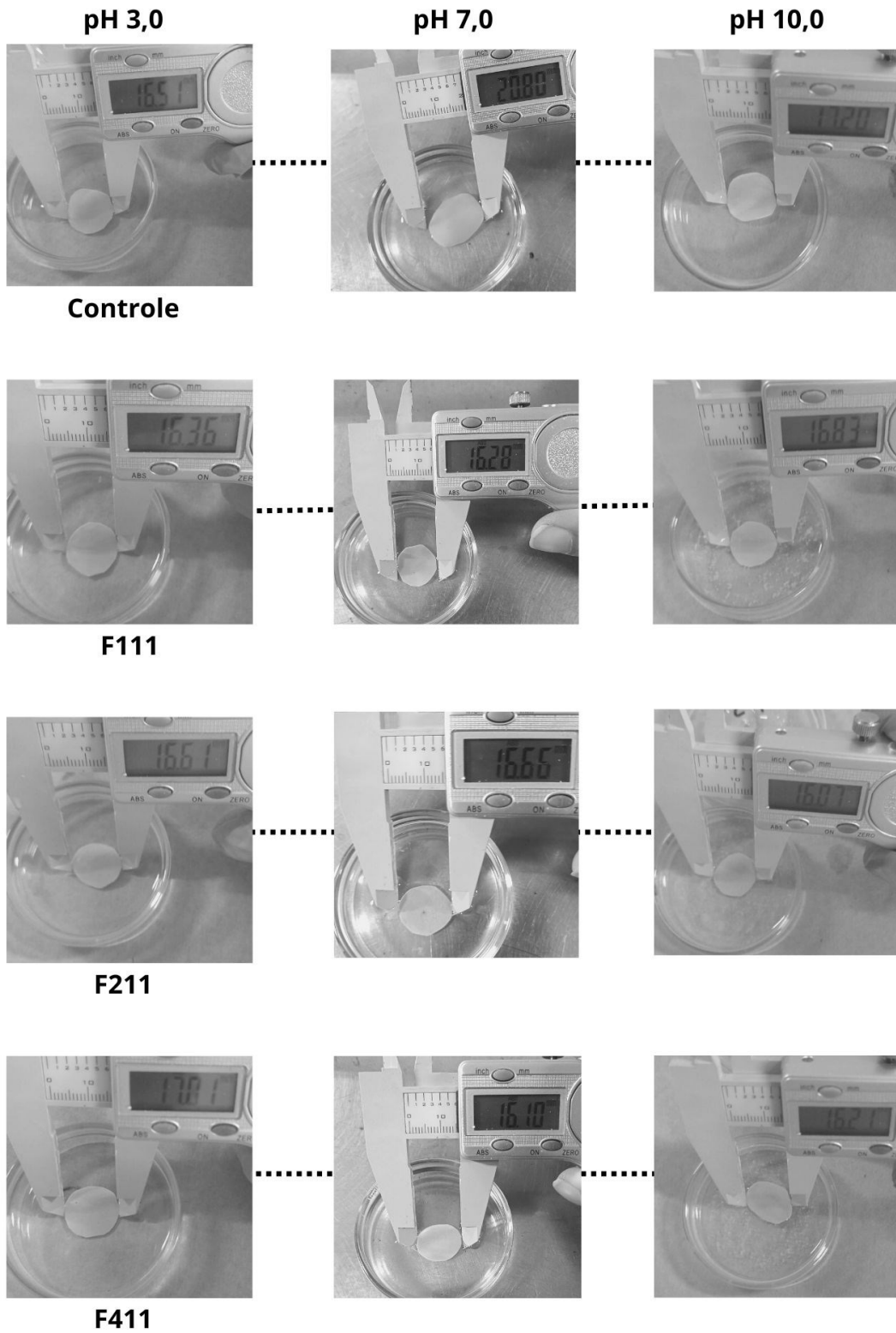
Amostras	Diâmetro das amostras (mm)		
	pH 3,0	pH 7,0	pH 10,0
Controle	16,6 ± 0,2 ^{Ba}	20,2 ± 0,6 ^{Aa}	17,3 ± 0,2 ^{Ba}
F111	16,2 ± 0,1 ^{Aa}	16,1 ± 0,2 ^{Ab}	16,5 ± 0,4 ^{Ab}
F211	16,3 ± 0,3 ^{Aa}	16,4 ± 0,2 ^{Ab}	16,0 ± 0,3 ^{Ab}
F411	16,5 ± 0,4 ^{Aa}	16,5 ± 0,5 ^{Ab}	16,2 ± 0,1 ^{Ab}

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância. Letras maiúsculas comparam linhas e letras minúsculas comparam colunas.

Filme controle (FC) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl_2 por 17.5 min; F211 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 5 min; F411 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 30 min.

Figura 3.15 - Diâmetro das amostras com ligações cruzadas com íons Ca^{2+} em diferentes valores de pH ao final de 10 dias exposto a solução ácida, neutra ou alcalina.



Fonte: Autor.

Por outro lado, de modo geral, os filmes com *crosslinking* com 1,4-fenilenodiborônico apresentaram aumento mais acentuado no diâmetro das amostras que os filmes supracitados (Tabela 3.6). Ainda assim, ao final do experimento todos os filmes permaneceram íntegros e sem fissuras perceptíveis visualmente, sendo resistentes aos valores de pH testados como pode ser observado na Figura 3.16. Os filmes foram resistentes inclusive em solução alcalina em que as hidroxilas do meio podem destruir as ligações de hidrogênio e diminuir as interações intra e intermoleculares entre os polímeros (HU; CHEN; GAO, 2009).

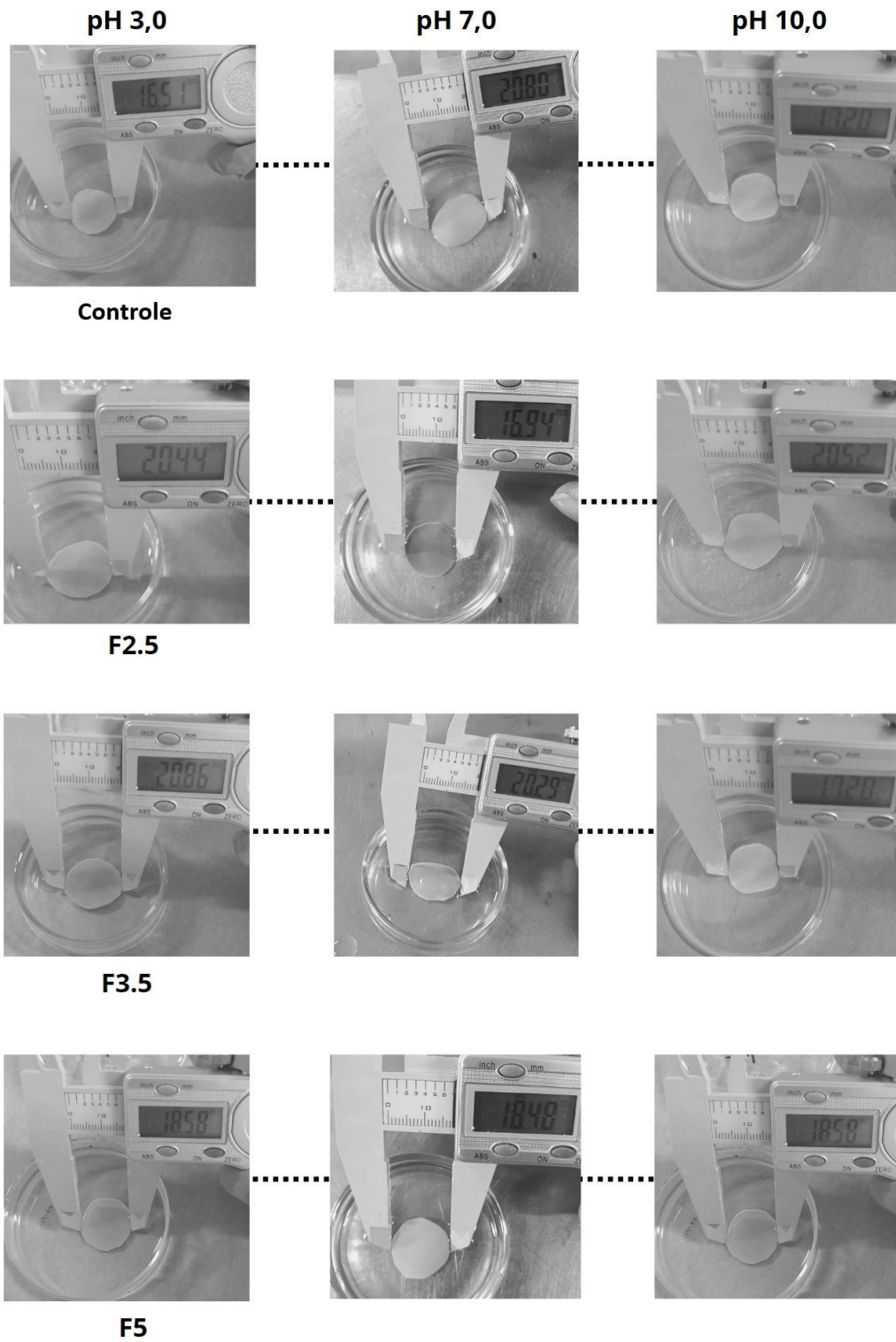
Tabela 3.6 - Dados referentes à análise de estabilidade em meios com diferentes valores de pH dos filmes FC e dos filmes com ligações cruzadas com ácido 1,4-fenilenodiborônico.

Amostras	Diâmetro das amostras (mm)		
	pH 3,0	pH 7,0	pH 10,0
Controle	16,6 ± 0,2 ^{Ba}	20,2 ± 0,6 ^{Aa}	17,3 ± 0,2 ^{Bb}
F2.5	19,3 ± 1,5 ^{ABa}	17,3 ± 0,5 ^{Bb}	20,6 ± 0,8 ^{Aa}
F3.5	18,9 ± 1,8 ^{ABa}	16,5 ± 0,2 ^{Bb}	20,1 ± 0,6 ^{Aa}
F5	18,8 ± 0,2 ^{Aa}	19,9 ± 1,3 ^{Aa}	19,1 ± 0,5 ^{Aa}

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância. Letras maiúsculas comparam linhas e letras minúsculas comparam colunas.

Figura 3.16 - Diâmetro das amostras com ligações cruzadas com agente 1,4-fenilenodiborônico em diferentes valores de pH.



Fonte Autor.

Portanto, o que se pode concluir com esta análise é que os filmes demonstraram resistência aos diferentes valores de pH avaliados, isto é, não se desintegraram durante período observado, indicando a possibilidade de utilização dos filmes mesmo em contato com materiais ácidos ou básicos.

3.3.6 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

Dos filmes desenvolvidos neste trabalho, aqueles envolvendo a complexação íon cálcio/polissacarídeo apresentaram os menores valores de PVA como pode ser observado na Tabela 3.7 e na Tabela 3.8, indicando que as ligações cruzadas com íons cálcio promoveram o aumento da barreira de vapor de água dos filmes, contudo, não houve diferença entre as amostras com íons cálcio a nível de 5 % de significância. A redução da permeabilidade pode ser atribuída às ligações cruzadas formadas que permitiram a formação de uma rede polimérica mais reticulada, a qual reduz a mobilidade entre as cadeias das macromoléculas e assim, diminui a difusividade das moléculas de água e os espaços vazios na matriz polimérica, o que resulta no aumento das propriedades de barreira dos filmes (AZEREDO; WALDRON, 2016).

Tabela 3.7 – Coeficiente de permeabilidade ao vapor de água dos filmes desenvolvidos usando íons cálcio como agente de ligação cruzada.

Amostras	PVA (g.mm/m ² .dia.kPa)
FC	32,234 ± 0,612 ^a
F111	19,658 ± 6,965 ^b
F211	18,168 ± 2,226 ^b
F411	20,424 ± 5,369 ^b

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

Filme controle (FC) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl₂ por 17.5 min; F211 – imersão de solução com 10% CaCl₂ por 5 min; F311 – imersão de solução com 2% CaCl₂ por 30 min; F411 – imersão de solução com 10% CaCl₂ por 30 min.

Por outro lado, os filmes com ligações cruzadas via FDB F2.5 e F5 apresentaram os maiores coeficientes de PVA entre todas as amostras, enquanto o valor de PVA para a amostra F3.5 não apresentou diferença significativa entre a amostra controle e as demais amostras com ligações cruzadas com FDB (Tabela 3.8). As hidroxilas livres presentes nas moléculas de FDB em virtudes de ligações cruzadas que não foram estabelecidas de forma efetiva e o espaço vazio da estrutura gerado em decorrência do tamanho das moléculas de FDB possivelmente contribuíram

com o aumento do coeficiente de solubilidade e de difusividade favorecendo a permeabilidade de moléculas de água por meio da matriz do filme (BALAGUER *et al.*, 2013).

Tabela 3.8 - Coeficiente de permeabilidade ao vapor de água dos filmes desenvolvidos com adição de ácido 1,4-fenilenodiborônico.

Amostras	PVA (g.mm/m ² .dia.kPa)
FC	32,234 ± 0,612 ^b
F2.5	45,339 ± 4,074 ^a
F3.5	36,633 ± 3,091 ^{ab}
F5	42,820 ± 7,922 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

Todas as amostras apresentaram desvio padrão mais elevado que FC, o que está relacionado com maior dispersão dos dados. Provavelmente, isso está associado a uniformidade e a distribuição das ligações cruzadas ao longo da matriz polimérica dos corpos de prova, que pode ter sido influenciada pela complexidade de uma matriz como a borra de café que apresenta diversos compostos como os polissacarídeos celulose, galactomananas e arabinogalactanas, além de proteínas, lipídeos, compostos fenólicos e melanoidinas. A partir disso, a matriz dos filmes sendo heterogênea pode interferido na distribuição homogênea das ligações cruzadas ao longo filme, desta maneira, a densidade das ligações cruzadas não é a mesma em todos os pontos da amostra (BATISTA *et al.*, 2020).

3.3.7 MORFOLOGIA DOS FILMES

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura exibem imagens de filmes heterogêneos com sulcos e ondulações que podem ser em resposta a espessura e taxa de secagem das amostras durante a formação dos filmes (RODRIGUEZ; TORRES; LÓPEZ, 2017). Além disso, a força motriz de tais imperfeições podem ter sido causada pelo grau da força intermolecular entre as cadeias poliméricas que provocou aglomerações desordenadas de macromoléculas como as galactomananas durante a formação do filme (FARHAN; HANI, 2017).

Ademais, a heterogeneidade dos filmes presentes em todas as amostras também pode ter ocorrido em função da complexa matriz do café que ainda que deslignificada apresenta diferentes polímeros presentes como a celulose, as galactomananas, as arabinogalactanas, além

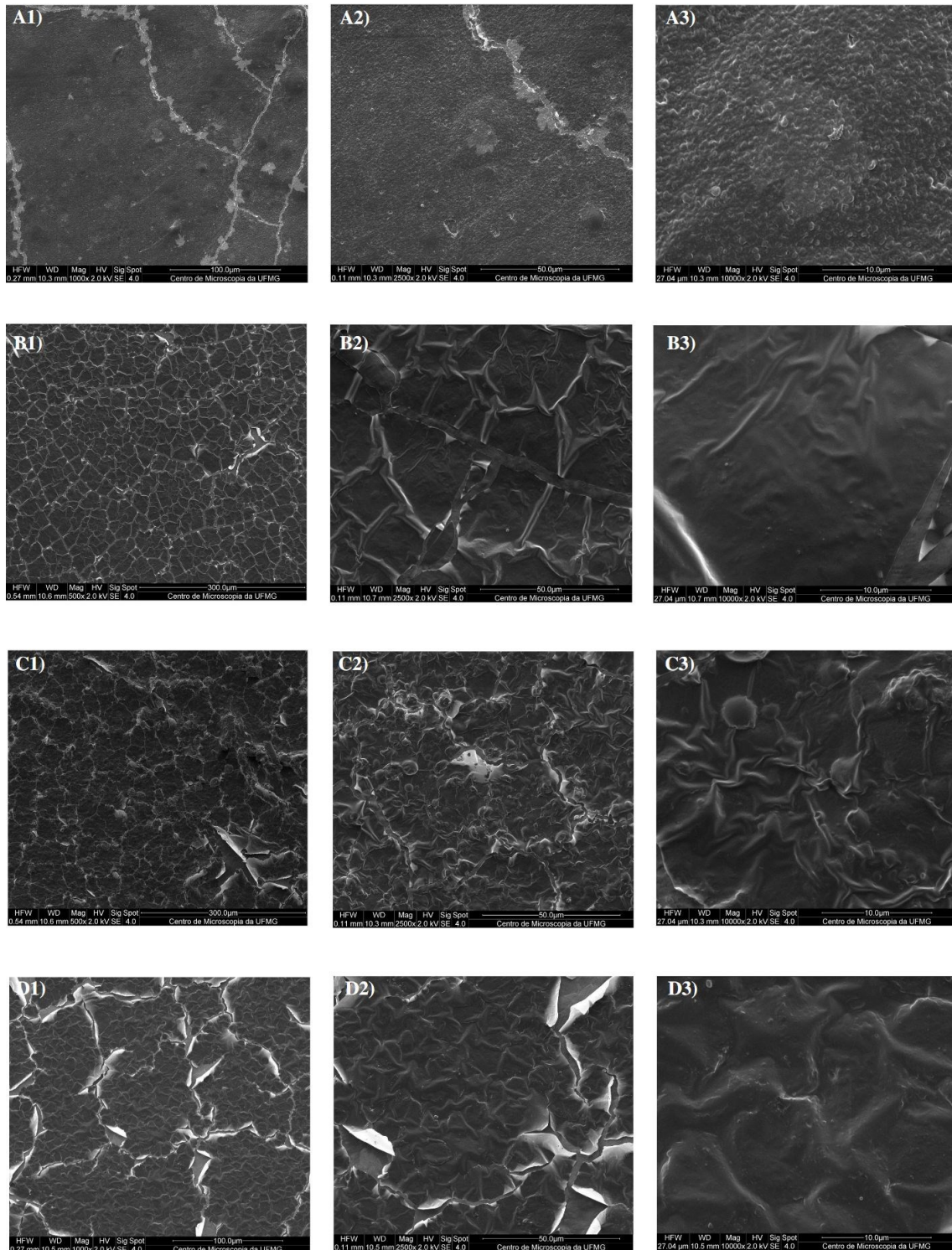
de melanoidinas, lipídeos, proteínas e compostos fenólicos como relatado no Capítulo 2 deste trabalho. Tais compostos podem ter tido incompatibilidade durante a formação da matriz polimérica no processo de preparo do filme, e os polímeros com mais afinidade podem ter formado aglomerados como observado no filme controle na Figura 3.17-A3.

As Figura 3.17 e Figura 3.18 apresentam as imagens da superfície e da interface, respectivamente, dos filmes FC e com ligação cruzada com íons Ca^{2+} . Pode-se observar que os tratamentos promoveram mudanças na morfologia dos filmes, pois ao contrário do filme controle que apresentou superfície com sulcos que podem ser vistos em magnitude de 1000x (Figura 3.17-A1) e de 2000x (Figura 3.17-A2) e rugosidade vista com magnitude 10000x (Figura 3.17-A3), os filmes com tratamento com cloreto de cálcio exibiram estrutura com muitas fendas e apresentaram aspecto como se houvesse uma fina camada do filme sobrepondo a matriz.

As imagens da interface dos filmes sugerem que os tratamentos com cloreto de cálcio em F111 e principalmente em F211 promoveram a formação de uma estrutura em multicamadas provavelmente induzida pela atração eletrostática dos íons adicionados à matriz (Figura 3.18) (CHEN *et al.*, 2016). Xu *et al.* (2016) também observaram mudança de morfologia em filmes dissolvidos em cloreto de zinco após a adição de cloreto de cálcio, os autores avaliaram o material em imagens com magnitude de 40000x e perceberam a formação de nanofibrilas provavelmente relacionada às ligações cruzadas formadas pelo complexo íons e polímeros.

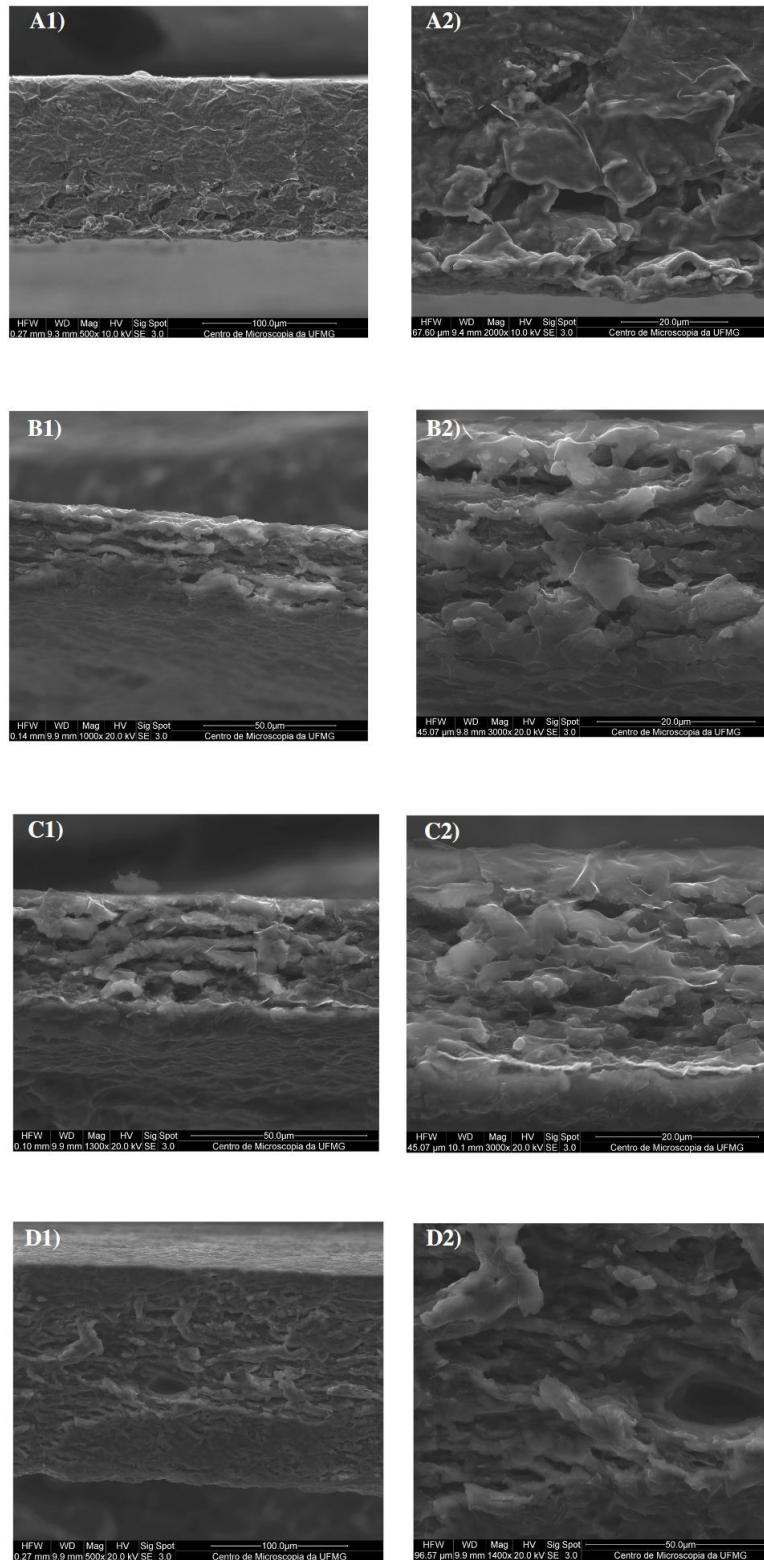
Com relação à amostra F411, observa-se uma interface com topo e base mais densos e uniformes que F111 e F211, provavelmente em virtude dos íons Ca^{2+} terem agido não somente como agente de ligação cruzada, mas também como plastificante reduzindo as forças intermoleculares e melhorando o arranjo entre as cadeias poliméricas, produzindo uma microestrutura com aspecto mais uniforme (ABEDINI; PIRCHERAGHI; KAVIANI, 2023).

Figura 3.17 - Micrografias da superfície do filme controle e dos filmes com íons cálcio.



Micrografia eletrônica de varredura de filme controle (FC)(A) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl_2 por 17.5 min (B); F211 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 5 min (C); F411 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 30 min (D). Magnitudes: 500x (1), 2500x (2) e 10000x (3).

Figura 3.18 – Micrografias da seção transversal do filme controle e dos filmes com íons cálcio.



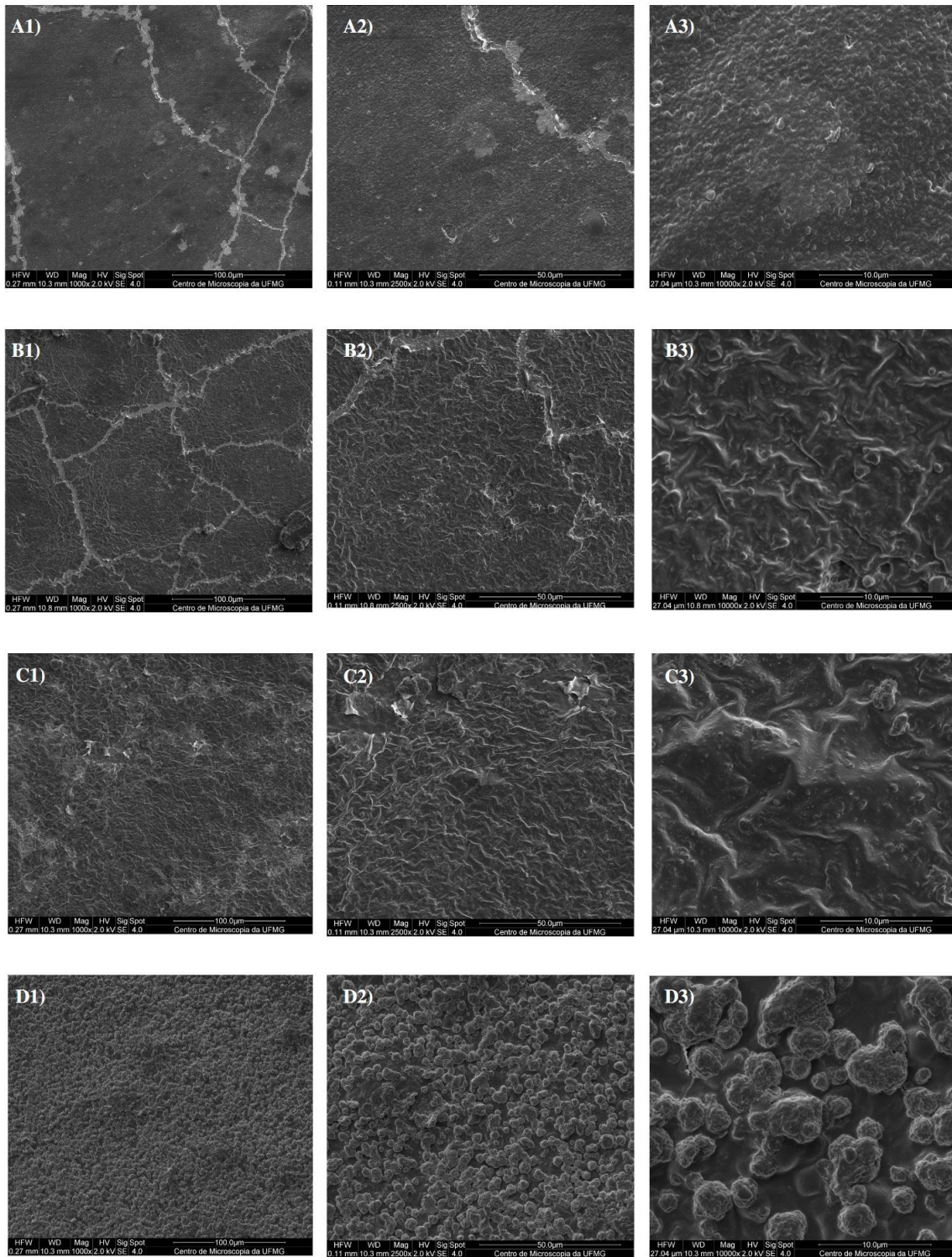
Micrografia eletrônica de varredura da interface do filme controle (FC)(A) e amostras com íons cálcio: F111 – imersão de solução com 6% CaCl_2 por 17.5 min (B); F211 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 5 min (C); F411 – imersão de solução com 10% CaCl_2 por 30 min (D).

O estudo realizado por Jiang *et al.* (2012) utilizou íons Ca^{2+} como plastificante em filmes de amido e álcool polivinílico (PVA), CaCl_2 quebrou as ligações intermoleculares e intramoleculares do amido, permitindo que este interagisse melhor com o PVA, e assim, conseqüentemente, melhorasse a compatibilidade do amido e PVA. Isso pode ter ocorrido principalmente com os filmes F411, mas também em menor grau com as amostras F111 e F211.

Ademais, FC apresentou seção transversal com uma fase densa e rica em polímeros e uma fase pobre em polímeros onde estão concentrados os poros da matriz. Ambas as amostras FC e F411 (Figura 3.18A1 e D1) apresentaram interface que mudou ao longo da seção transversal, da base para o topo do material, tal estrutura é típica de filmes produzidos por inversão de fases por precipitação via imersão como explicado na seção 3.1.2. O filme F2.5 também apresentou estas características morfológicas da interface (Figura 3.20), sendo mais similar a FC que as demais amostras com FDB, apresentando o topo mais denso e compacto e a base com mais poros. diferentemente de F3.5 e F5 que apresentaram seção transversal mais uniforme e com poros menores.

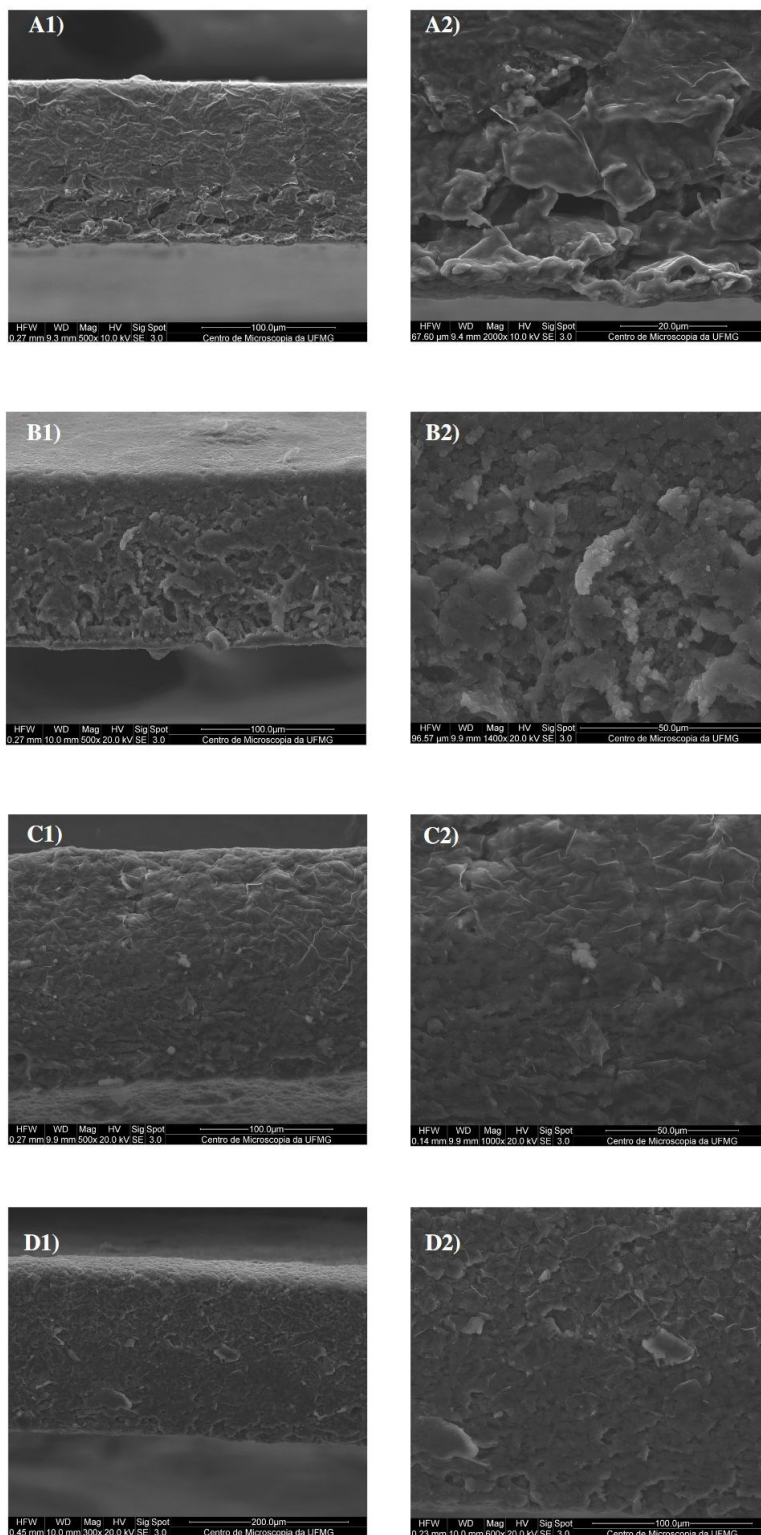
Com relação às superfícies dos filmes com ligação cruzada por FDB apresentados na Figura 3.19, estes exibiram estrutura diferente dos filmes com Ca^{2+} em virtude da natureza das ligações cruzadas formadas. As superfícies de F2.5 e F3.5 apresentaram estrutura mais irregular e com mais rugosidade que em FC. Em relação a F5, não foi possível avaliar a face da matriz, visto que aglomerados provavelmente de FDB estão distribuídos por toda a superfície do material como pode ser observado nas Figura 3.20 Figura 3.19-D1/D2/D3. Isso deve ter ocorrido devido à concentração de 5 % (m/m) de FDB que possivelmente saturou a solução filmogênica, desta maneira, um percentual de moléculas de FDB provavelmente, não participou da formação de uma rede tridimensional entre os polímeros da matriz, se ligando a superfície do material.

Figura 3.19 - Micrografias da superfície do filme controle e dos filmes com FDB.



Micrografia eletrônica de varredura de filme controle (FC)(A) e amostras com 1,4-fenilenodiborônico (FDB): F2.5 – amostra com 2,5 % de FDB (B); F3.5 – amostra com 3,5 % de FDB (C); F411 – amostra com 5 % de FDB (D). Magnitudes: 500x (1), 2500x (2) e 10000x (3).

Figura 3.20 – Micrografias da seção transversal do filme controle e dos filmes com FDB.



Micrografia eletrônica de varredura de filme controle (FC)(A) e amostras com 1,4-fenilenodiborônico (FDB): F2.5 – amostra com 2,5 % de FDB (B); F3.5 – amostra com 3,5 % de FDB (C); F411 – amostra com 5 % de FDB (D).

3.3.8 TESTE DE BIODEGRADABILIDADE

Os ensaios de biodegradabilidade são importantes para determinar o potencial do material desenvolvido a ser utilizado como alternativa a embalagens sintéticas que demandam muito tempo para a degradação (DA SILVA FILIPINI; ROMANI; GUIMARÃES MARTINS, 2020). A biodegradabilidade de um material pode ser influenciada pela presença de gases, pelo teor de umidade do meio, luz incidente e pode ser confirmada pela perda das propriedades mecânicas, fragmentação do material ou modificação química provocada pela ação de microrganismos e enzimas presentes na natureza

Os filmes desenvolvidos no presente trabalho foram enterrados por 180 dias a fim de avaliar a biodegradabilidade dos mesmos e o impacto que as ligações cruzadas provocaram na biodegradabilidade das amostras. O esquema da Figura 3.21, foi realizado para ilustrar as mudanças macroscópicas que ocorreram em função do tempo em que os filmes permaneceram enterrados. A perda de massa dos filmes enterrados ao longo do tempo não foi possível de ser registrada, pois partículas do solo aglomeraram nas amostras e isto superestimou os valores de massa registrados, enquanto a remoção das partículas do solo danificou os materiais, desta maneira, optou-se apenas pelo registro visual das amostras desenterradas.

As amostras do filme controle foram registradas apenas até o 5º dia, pois no 10º dia não foi possível encontrar fragmentos dos corpos-de-prova. Em busca de rastrear quando o filme ainda poderia ser encontrado no solo, foram realizados testes para desenterrar as amostras de FC no 7º dia, então, foi encontrado pequenos fragmentos dos filmes, contudo, a separação das amostras do solo foi inviável devido à desintegração dos filmes em pequenas partículas, dificultando o registro do teste nesse período.

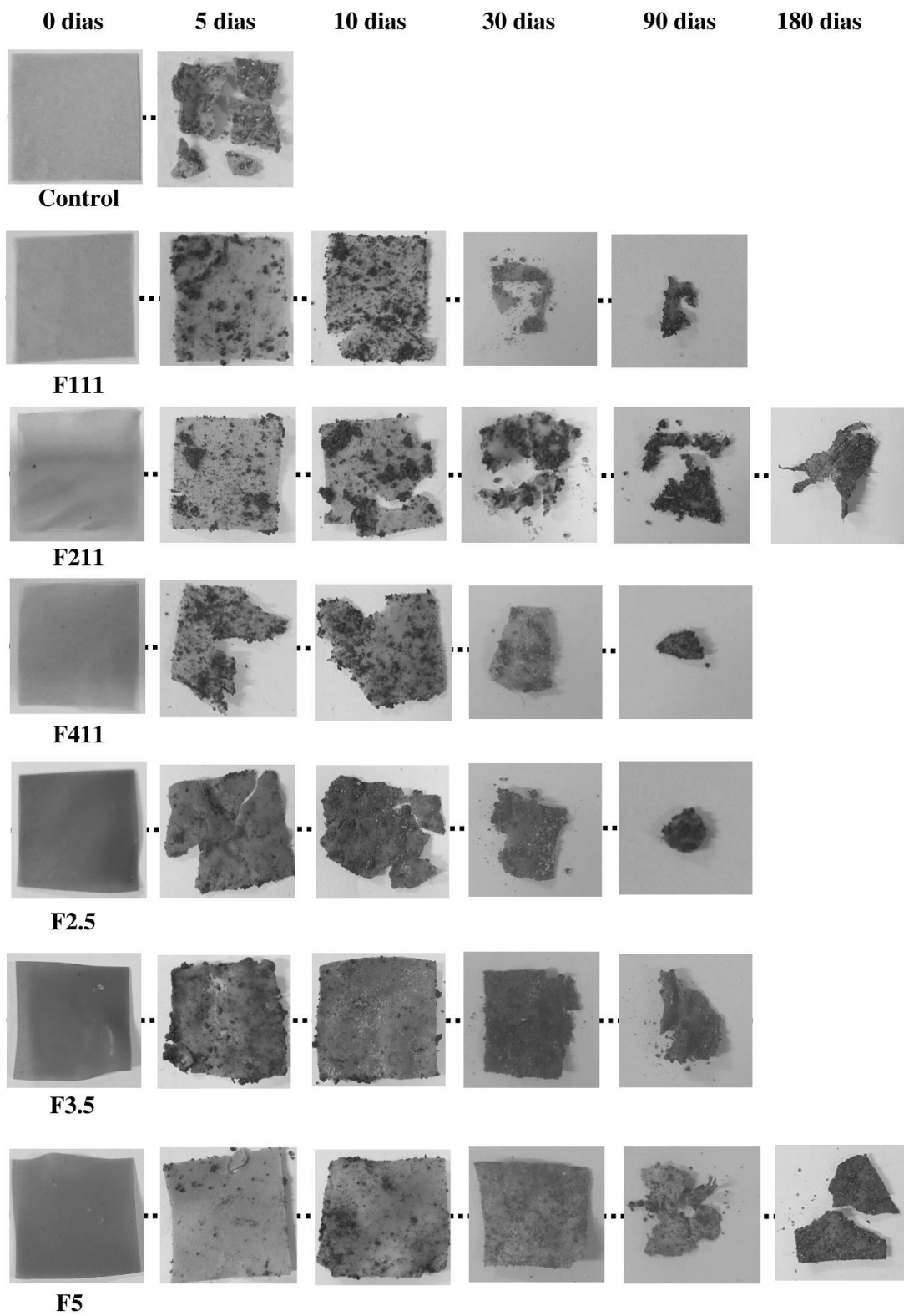
Desta maneira, considerou-se que o processo de degradação do filme controle ocorreu entre o 7º e o 10º dia, quando não foi possível encontrar partes das amostras de FC para avaliação da aparência macroscópica. Por outro lado, todas as amostras que foram reticuladas precisaram de mais tempo para serem degradadas, apontando para as ligações cruzadas formadas nos filmes.

Os filmes com ligações cruzadas com íons Ca^{2+} com tratamento em banho de imersão com solução de 10 % de CaCl_2 (m/v) por 30 min (amostra F411) apresentaram sinais significativos de degradação das amostras desde a primeira análise realizada no 5º dia, o resultado corroborou os dados da análise térmica que sugere que parte dos íons Ca^{2+} agiram como plastificantes e diminuíram a estabilidade térmica dos filmes F411. Provavelmente, os plastificantes

aumentaram a mobilidade entre as cadeias poliméricas favorecendo a difusão de moléculas de água em solo úmido para dentro da matriz, possibilitando o crescimento microbológico e assim, aumentando a biodegradação das amostras (MEDINA JARAMILLO *et al.*, 2016).

Em contrapartida, foram encontrados fragmentos da amostra F211 referente ao tratamento com 10 % de CaCl_2 (m/V) e 5 min após 6 meses de análise. Este resultado deve ter ocorrido em função das ligações cruzadas formadas na matriz do filme como sugere os espectros de RMN (seção 3.3.3) que apontam F211 como a amostra com maior compatibilidade entre os compostos em virtude das ligações cruzadas promovidas pelo banho em cloreto de cálcio. Além disso, os resultados da análise térmica corroboram o teste de biodegradabilidade, visto que entre as amostras analisadas, F211 é aquela que apresentou maior resíduo e maior DTG para decomposição dos principais compostos da matriz.

Figura 3.21 - Teste de biodegradabilidade dos filmes em função do tempo enterrado.



Fonte: Autor.

Com relação aos filmes com ligações cruzadas com FDB, pode-se perceber que as amostras que receberam 5 % do agente de *crosslinking* demoraram mais tempo para serem totalmente degradadas, sendo ainda possível encontrar fragmentos do corpo de prova inclusive após 180 dias de análise.

Exceto as amostras F211 e F5, as demais não foram encontradas na última avaliação proposta na metodologia, sugerindo que tais amostras foram provavelmente degradadas entre 3 e 6 meses.

Comparando os resultados do teste de biodegradabilidade dos filmes reticulados e do filme controle, pode-se inferir que houve formação de ligações cruzadas em todos os filmes ainda que em diferentes graus, pois todas as amostras foram degradadas em mais tempo que o filme controle. Tal resultado corrobora os dados da literatura que reporta que as ligações cruzadas entre os polímeros aumentam o tempo de biodegradabilidade dos filmes, visto que dificultam os ataques microbiológicos que a matriz pode sofrer (AZEREDO; WALDRON, 2016; MEDINA JARAMILLO *et al.*, 2016).

A norma europeia EN 13432 descreve os requisitos e processos de biodegradabilidade e de acordo com a mesma, uma embalagem é considerada biodegradável se pelo menos 90 % dela for decomposto em até 6 meses (VINCOTTE, 2014). A partir disso, pode-se dizer que todos os filmes desenvolvidos no presente trabalho podem ser considerados biodegradável, com exceção das amostras F211 e F5. À vista disso, os materiais considerados biodegradáveis podem ser descartados sem intervenção industrial (MEDINA JARAMILLO *et al.*, 2016).

3.3.9 PROPRIEDADES MECÂNICAS

O ensaio de tração foi realizado para as amostras que foram consideradas biodegradáveis, por isso, F211 e F5 foram excluídas. Além disso, em relação aos filmes de FDB foram excluídas as amostras que não foram identificadas formação de ligações cruzadas mais pronunciadas como sugere a análise térmica na sessão 3.3.2, por isso, apenas a amostra F3.5 foi considerada. Portanto, as propriedades mecânicas foram analisadas nas amostras FC, F111, F411 e F3.5 (Tabela 3.9).

Tabela 3.9 – Dados do ensaio mecânico de filmes desenvolvidos.

Amostras	Espessura (mm)	Resistência à tração (MPa)	Alongamento (%)
FC	0,215 ± 0,067	2,448 ± 0,387 ^{ab}	48,067 ± 10,399 ^a
F111	0,178 ± 0,010	3,087 ± 0,418 ^a	15,182 ± 1,367 ^{bc}
F411	0,228 ± 0,019	2,041 ± 0,266 ^b	9,790 ± 1,160 ^c
F3.5	0,231 ± 0,035	1,341 ± 0,281 ^c	25,527 ± 2,587 ^b

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

A amostra F111 apresentou maior resistência à tração entre os demais tratamentos para formação de ligações cruzadas, contudo, do ponto de vista estatístico, não apresentou diferença em relação ao filme controle. Além disso, em relação a F411, o resultado indica que menor concentração de cloreto de cálcio e menor de tempo de imersão na solução formadora de *crosslinking*, parece ser mais adequado para aumentar a resistência à tração dos filmes, visto que F411 foi submetida ao banho de imersão com 10 % (m/v) de cloreto de cálcio por 30 min e F111 foi submetida ao banho de imersão com 6 % (m/v) de cloreto de cálcio por 17,5 min.

Geralmente, a adição de grandes quantidades de agentes de *crosslinking* aumenta a resistência à tração e diminui a capacidade de alongamento dos filmes, contudo, neste caso, o tratamento com maior concentração do agente e maior tempo não teve este efeito (AZEREDO *et al.*, 2015; DE VARGAS *et al.*, 2022; GARAVAND *et al.*, 2017). Como já discutido nas demais seções deste capítulo, parte dos agentes de *crosslinking* atuaram como agentes plastificantes em F411. Geralmente, os plastificantes diminuem a resistência à tração e aumentam o percentual de alongamento do material, todavia, não foi o que ocorreu com a amostra F411 (OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2008). Diferentemente, F3.5 apresentou a menor resistência à tração e valor intermediário de percentual de alongamento entre os valores encontrados.

As amostras F3.5 e FC apresentaram os maiores valores de teor de umidade entre as amostras submetidas ao ensaio mecânico (seção 3.3.4), indicando que ambas as amostras apresentaram comportamento típico de matrizes de natureza hidrofílica em que a água proveniente do processo de preparação do filme permaneceu no material. O teor de umidade afeta diretamente as propriedades mecânicas dos filmes, principalmente de filmes provenientes de polissacarídeos e proteínas, visto que as moléculas de água atuam como plastificante na matriz, reduzindo a interação molecular e aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas, tornando os filmes mais flexíveis (FARHAN; HANI, 2017; OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2008).

3.4 CONCLUSÃO

Neste capítulo, foram desenvolvidos filmes biopoliméricos a partir da borra de café deslignificada utilizando os agentes de ligações cruzadas cloreto de cálcio e 1,4-fenilenodiborônico. Os resultados sugerem que ambos os agentes de ligações cruzadas provavelmente interagiram com diversos compostos presentes no material, como os polissacarídeos e as melanoidinas, visto que estas apresentam potencial quelante.

As ligações cruzadas realizadas por meio dos íons Ca^{2+} nos filmes poliméricos provenientes da borra de café submetida ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino aproximaram as cadeias poliméricas aumentando as propriedades de barreira ao vapor de água em todos os tratamentos. De modo geral, pôde-se perceber que os íons Ca^{2+} puderam melhorar a compatibilidade dos filmes em função da redução das forças das ligações intermoleculares e intramoleculares entre as cadeias poliméricas.

A amostra F111 submetida ao banho de imersão com 6 % de cloreto de cálcio por 17,5 min apresentou maior resistência à tração que o filme controle e F411 (10 % CaCl_2 e 30 min). Os resultados das análises sugerem que os íons Ca^{2+} produziram efeito plastificante nos filmes submetidos à imersão em solução com 10 % de CaCl_2 por 30 min.

Em relação aos filmes desenvolvidos com ácido 1,4-fenilenodiborônico, os resultados sugerem que os percentuais de 3,5 e 5,0 % do reagente em relação à massa da borra deslignificada formaram ligações cruzadas, porém apenas F3.5 pôde ser considerado um material biodegradável. Todas as amostras apresentaram menor barreira ao vapor de água que o filme controle e a avaliação realizada em F3.5 demonstrou maior percentual de alongamento que os filmes com cloreto de cálcio.

4 EFEITO DA SOLUÇÃO DE $ZnCl_2$ ASSISTIDA POR ULTRASSOM SOBRE OS POLISSACARÍDEOS DA BORRA DE CAFÉ

4.1 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1.1 SOLVENTE – SOLUÇÃO DE CLORETO DE ZINCO

A borra de café é composta por 60 a 65 % pelos polissacarídeos celulose (12 %), arabinogalactanas (21-26 %) e galactomananas (34 %) em base seca (SIMÕES *et al.*, 2019). Por esta razão, a borra de café pode ser fonte de biopolímeros na produção de materiais como embalagens, filmes e membranas (BALLESTEROS *et al.*, 2018; CANAVARRO; ALVES; RANGEL, 2017; COELHO *et al.*, 2021).

A celulose é um polímero abundante na natureza, facilmente encontrado em árvores, resíduos agrícolas, além de ser produzido por bactérias (ZHANG *et al.*, 2019). Apresenta diversas vantagens na produção de biomateriais, visto que além de ser abundante, ter baixo custo, é biocompatível e biodegradável. Contudo, a celulose é insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos devido ao empacotamento das cadeias formado pelas inúmeras ligações de hidrogênio inter e intramoleculares que tornam a estrutura do polímero cristalina.

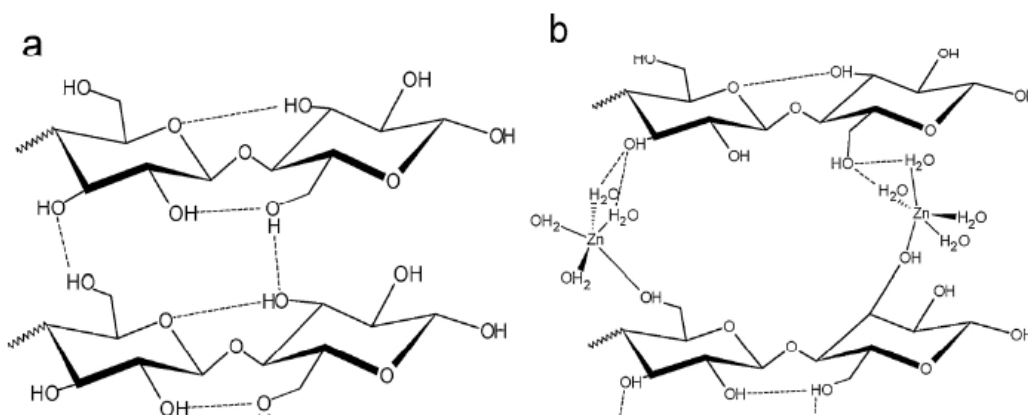
De acordo com um estudo realizado por Fischer *et al.*(2001), diferente das galactomananas encontradas comercialmente como goma guar e de alfarroba, que apresentam razão molar manose/ galactose de 1,6 -1,8 e 3,9 – 4,0, respectivamente, as galactomananas do café verde analisadas apresentaram grau de ramificação em torno de uma galactose na cadeia lateral para 30 unidades de manose na cadeia principal (M/G = 30) (FISCHER *et al.*, 2001; OOSTERVELD *et al.*, 2003). As galactomananas do café apresentam regiões lineares e cristalinas que dificultam a solubilidade destas em solventes comumente utilizados como no caso da celulose (BATISTA *et al.*, 2020; COELHO *et al.*, 2021).

Os solventes utilizados para dissolver a celulose são categorizados como derivativos e não-derivativos. Desta forma, os solventes mais comuns para promover modificações químicas são dimetilsufóxido em paraformaldeído, ácido trifluoroacético, dioxano entre outros (SEN; MARTIN; ARGYROPOULOS, 2013; ZHANG *et al.*, 2019). Ao passo que os solventes mais usados na categoria de não-derivativos são a solução de NaOH, N, N-dimetilacetamida em cloreto de lítio, N-óxido de N-metilmorfolina (NMMO), sais inorgânicos hidratados e outros.

Diferente da maioria dos solventes que dissolvem a celulose, que geralmente apresentam custo elevado, são tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente, os sais inorgânicos hidratados são conhecidos por não exigirem pré-tratamento da celulose, pela facilidade do preparo de dissolução do polímero e pela recuperação dos mesmos para reciclar (FISCHER *et al.*, 2003).

A solução de cloreto de zinco é um tipo de sal inorgânico hidratado que é utilizado pela capacidade de dissolver a celulose, além disso, pode ser empregado na dissolução de outros polissacarídeos como amido e polímeros da borra de café (BATISTA *et al.*, 2020; LIN *et al.*, 2016; LU; SHEN, 2011; XU *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2019). O cloreto de zinco não é tóxico e não requer o uso de compostos voláteis para dissolução dos polissacarídeos. Os íons Zn^{2+} penetram na estrutura interna do polissacarídeo, enfraquecendo as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares da região cristalina, separando as cadeias poliméricas e formando um complexo Zn-celulose como esquematizado na Figura 4.1.

**Figura 4.1 - Esquema das ligações de hidrogênio das cadeias de celulose (a).
Interação dos íons Zn^{2+} com as cadeias de celulose (b).**



Fonte: Zhang *et al.* (2019).

A eficácia do $ZnCl_2$ para dissolver a celulose está intimamente ligada à concentração de água na solução, sendo utilizada em torno de 63 % de $ZnCl_2$ na solução nos primeiros estudos com este sal, contudo, alguns trabalhos utilizaram concentrações mais altas para aumentar a eficiência deste (WU *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2016). No entanto, algumas pesquisas têm demonstrado que o cloreto de zinco dependendo da concentração e da temperatura de

dissolução degrada o polímero de interesse (LIN *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2019). Sendo assim, o desafio é diminuir a degradação do material polimérico causada pelo cloreto de zinco e, concomitantemente, manter a completa dissolução do polissacarídeo a fim de garantir as propriedades mecânicas e térmicas dos filmes a serem desenvolvidos em trabalhos futuros.

4.1.2 EFEITO DO ULTRASSOM NA DISSOLUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS

O ultrassom é um processo basicamente físico que é utilizado como ferramenta em diversas áreas como a médica, a farmacêutica e a alimentícia (SAYYED *et al.*, 2018). As ondas ultrassônicas não estão localizadas na amplitude de ondas sonoras audíveis, apresentando frequência entre 20 kHz - 10 MHz, as quais geram um efeito de compressão e descompressão nas partículas do meio por onde as mesmas se propagam. À vista disso, o meio se torna turbulento e aumenta a transferência de massa (BHARGAVA *et al.*, 2021). O princípio está na similaridade da reflexão e da dispersão das ondas sônicas com as ondas da luz.

Baseado na intensidade e frequência das ondas ultrassônicas, a aplicação dessa tecnologia é diferente, sendo dividida em duas categorias: ultrassom de alta intensidade e de baixa intensidade. Em alimentos, como tecnologia emergente, o ultrassom de baixa intensidade ($< 1 \text{ W/cm}^2$) e de frequência alta ($> 100 \text{ kHz}$), pode ser utilizado para avaliar a estrutura de alimentos, como a forma, o tamanho e a dimensão, sendo uma análise não invasiva e não destrutiva, podendo ser aplicada por exemplo para avaliar a maturidade de frutos e vegetais.

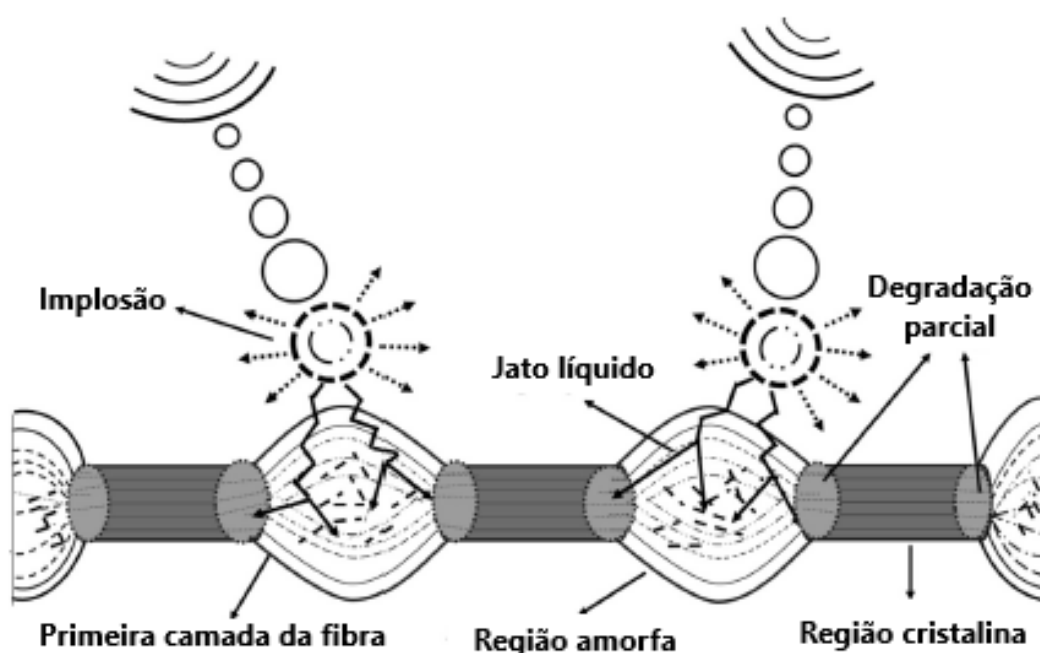
Ao passo que a tecnologia de ultrassom que utiliza alta intensidade (de 10 a 1000 W/cm^2) e frequências mais baixas (faixa de 20 a 100 kHz) são responsáveis por promover mudanças nas propriedades físicas, bioquímicas e mecânicas dos alimentos. Essa técnica é empregada para emulsificação de sistemas, em alimentos ricos em gordura para modificar textura, remoção de bolhas, ademais pode ser aplicado em operações unitárias como congelamento, secagem e concentração de solutos.

O ultrassom de alta intensidade é caracterizado por produzir o fenômeno conhecido como cavitação, isto é, a formação e a expansão de bolhas microscópicas que implodem sucessivamente e liberam grande quantidade de energia no sistema (SAYYED *et al.*, 2018). Ademais, quando essa tecnologia é combinada com temperatura e/ou pressão, produz um efeito sinérgico, que aumenta a eficácia do processo (BHARGAVA *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, o tratamento com ultrassom tem sido aplicado na dissolução de polímeros e na diminuição do empacotamento entre as cadeias (SAYYED *et al.*, 2018). Contudo, dependendo das condições empregadas, o tratamento de alta intensidade pode provocar a degradação de polímeros e a fragmentação das cadeias poliméricas. De acordo com Montalbo-Lomboy & Grewell (2015), a dissolução da celulose assistida por ultrassom pode ser justificada pela energia liberada no processo que fica aproximadamente entre 10 e 100 kJ/mol e que é suficiente para romper ligações de hidrogênio.

O esquema na Figura 3.2, ilustra como ocorre a ação do ultrassom por meio da cavitação quando microbolhas colidem com a fibra da celulose. A energia local é proporcional ao número de bolhas durante a cavitação, sendo que a magnitude do fenômeno é equivalente ao tempo de sonificação que produz energia mecânica e térmica na solução. O fenômeno produz a formação de jatos que propagam na direção da superfície da biomassa de celulose, resultando em mudanças morfológicas (MOHD ISHAK *et al.*, 2020; SAYYED *et al.*, 2018). Ademais, o ultrassom aumenta a porosidade na superfície das fibras de celulose e diminui a tensão da superfície do material, facilitando a entrada do solvente na região cristalina da celulose.

Figura 4.2 - Esquema da ação do ultrassom por meio do fenômeno de cavitação sob as fibras de celulose.



Fonte: Sayyed *et al.* (2018) (modificado)

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 DISSOLUÇÃO DE BE-PHA EM SOLUÇÃO DE CLORETO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Com o objetivo de diminuir a concentração de cloreto de zinco utilizada na dissolução da borra de café submetida a tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino (BE-PHA) na produção dos filmes que foi descrita no Capítulo 3 foram realizados experimentos assistidos por ultrassom como ferramenta para impulsionar a dissolução das amostras BE-PHA em solução de $ZnCl_2$ com diferentes concentrações.

Para tal, inicialmente, foram adicionados 5 % (m/m) de BE-PHA à solução de cloreto de zinco. A partir disso, dois tratamentos foram realizados. No primeiro, a mistura foi colocada em contato com a ponteira do reator ultrassônico (marca Ultronique, potência 500W e frequência de 20KHz) com 90 % de amplitude, até a temperatura atingir em torno 65 °C, a qual foi mantida por meio de um banho de gelo. A dissolução da amostra foi obtida no final do processo, permitindo que a temperatura alcançasse 90 °C e fosse mantida por 1 min para completar a dissolução de BE-PHA na solução de $ZnCl_2$. No segundo tratamento, a mistura, em contato com o ultrassom de ponteira a 90 % de amplitude, foi aquecida até 90 °C e assim foi mantida até a dissolução completa da amostra. O primeiro tratamento foi nomeado de dissolução em baixa temperatura no ultrassom (DBTU) e o segundo chamado de dissolução em alta temperatura no ultrassom (DATU).

Além disso, um terceiro tratamento foi realizado, a mistura BE-PHA e água foi colocada em contato com o ultrassom de ponteira por 2 min com amplitude de 90 % do equipamento e posteriormente, a mistura foi adicionada à solução de cloreto de zinco nas seguintes concentrações de 53, 60 e 67 % e mantida a 65 °C em chapa de aquecimento com agitação constante. Esse tratamento foi chamado de BE-PHA com tratamento em ultrassom (BTU).

Para avaliar os tratamentos, a solução polimérica utilizada na produção dos filmes do Capítulo 3 deste trabalho, foi considerada a amostra controle e após o material insolúvel ser recuperado foi nomeada de BE-PHAr. Desta maneira, BE-PHAr foi obtida pela dissolução de BE-PHA em 67 % (m/m) de solução de zinco utilizando chapa de aquecimento a 65 °C com agitação constante, e então recuperada como descrito na seção 4.2.2. A nomeação de cada amostra está representada no Quadro 4.1. Além disso, o grupo das amostras dissolvidas em solução de cloreto de zinco assistidas por ultrassom foram chamadas de amostras $ZnCl_2$ -ultrassom.

Quadro 4.1 - Dissolução das amostras BE-PHA utilizando ultrassom e solução de ZnCl₂.

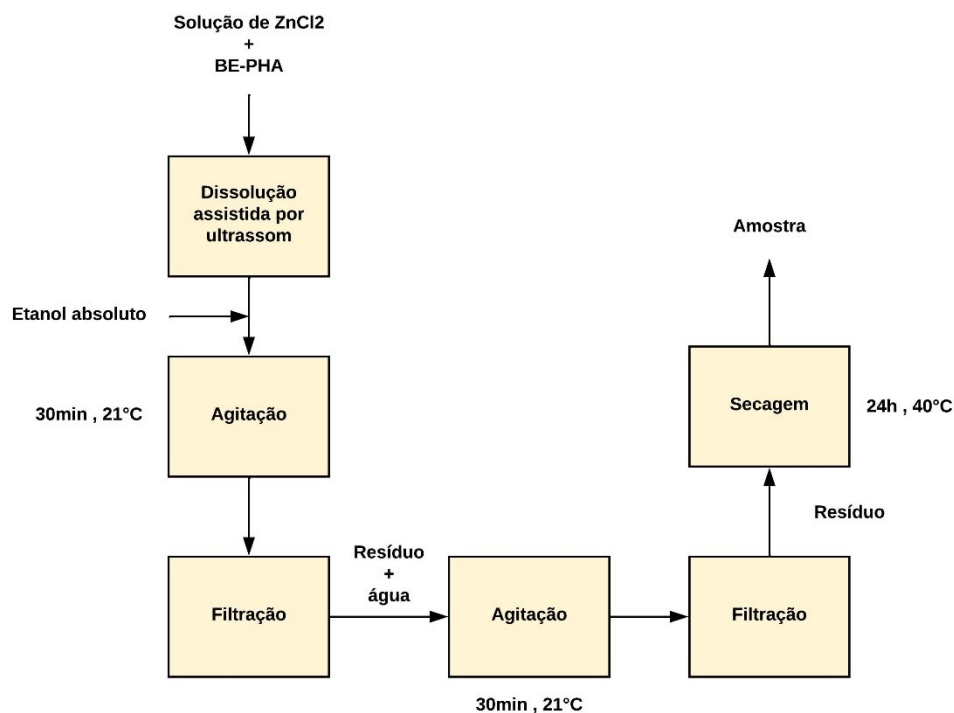
Amostras	Concentração (m/m)
BE-PHAr	67 % de ZnCl ₂
DATU - 67	67 % de ZnCl ₂
DBTU - 67	67 % de ZnCl ₂
BTU - 67	67 % de ZnCl ₂
DATU - 60	60 % de ZnCl ₂
DBTU - 60	60 % de ZnCl ₂
BTU - 60	60 % de ZnCl ₂
DATU - 53	53% de ZnCl ₂
DBTU - 53	53 % de ZnCl ₂
BTU - 53	53 % de ZnCl ₂

BE-PHAr: amostra controle recuperada proveniente da dissolução convencional utilizada na produção dos filmes. DATU; DBTU e BTU: amostras dissolvidas em cloreto de zinco a 90 °C no ultrassom; a 65 °C no ultrassom e BE-PHA com tratamento em ultrassom antes da dissolução, respectivamente.

4.2.2 RECUPERAÇÃO DE BE-PHA DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE ZINCO

Para avaliar se o cloreto de zinco degrada BE-PHA durante o preparo do filme e se há alguma diferença da mesma com as amostras dissolvidas assistidas por ultrassom de ponteira em diferentes concentrações (Quadro 4.1), as amostras foram recuperadas em estado sólido utilizando a metodologia descrita por Lin *et al.*(2016) com algumas modificações como ilustrado na Figura 4.3.

Figura 4.3: Fluxograma da metodologia realizada para recuperar as amostras depois da dissolução em cloreto de zinco.



Fonte: Autor.

Para tal, foram adicionados 10 vezes o volume de etanol absoluto na solução polimérica (mistura de BE-PHA e solução de $ZnCl_2$) em relação ao volume da mesma. A mistura ficou em agitação constante a 21 °C por 30 min. Em seguida, esta foi filtrada e o resíduo foi colocado em um frasco Becker com água destilada (10 vezes o volume do resíduo) sob agitação constante a 21 °C por 30 min. A suspensão foi filtrada e o resíduo foi seco a 40 °C por 24 h em estufa convectiva (marca New Lab, modelo NL82-64). As amostras foram cominuídas em moedor de lâminas (marca Cadence, modelo moedor de café Di Grano 127V) e classificadas por peneiras ($D < 0,250$ mm, passante de 60 mesh).

4.2.3 CARACTERIZAÇÃO

Para avaliar se a degradação provocada pela solução de cloreto de zinco sob os polissacarídeos do café e analisar se o ultrassom favoreceu a dissolução da matriz da borra de café designificada em menor concentração que a metodologia utilizada na preparação dos filmes do Capítulo 3, as amostras foram caracterizadas por meio espectroscopia no infravermelho, análise termogravimétrica, difração de raio-X e microscopia eletrônica de varredura.

4.2.3.1 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

As amostras foram analisadas por meio da espectroscopia no infravermelho médio como descrito no Capítulo 2 na seção 2.2.3.9. Para tal, foi utilizado o equipamento de FTIR, (marca Shimadzu, modelo IRAffinity-1) com detector DLATGS (Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine) e capacidade de leitura do espectro de 7800 a 370 cm^{-1} . As leituras foram realizadas na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} , com 20 *scans* e resolução de 4 cm^{-1} (BELCHIOR; FRANCA; OLIVEIRA, 2016). Utilizou-se o acessório de refletância total atenuada (ATR, do inglês Attenuated Total Reflectance) em cristal de ZnSe, em atmosfera controlada e à temperatura de 20 °C. Por meio do software IR-Solution (versão 1.50 – Shimadzu) foram realizadas a correção da atmosfera e os ruídos foram suavizados, caso necessário.

4.2.3.2 ANÁLISE TÉRMICA

Para realização da análise de termogravimetria, as amostras foram analisadas por meio de uma termobalança (marca Shimadzu, modelo TGA-51). Para realização da análise foi utilizada a mesma metodologia descrita no Capítulo 2 na seção 2.2.3.10, com algumas modificações. Para isso, foram pesados aproximadamente 20 mg de amostra em cadinho de alumina, avaliou-se desde a temperatura ambiente até 800 °C sob razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e atmosfera de gás nitrogênio (N₂) com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (CERQUEIRA *et al.*, 2011b).

Para avaliar a diferença entre os tratamentos, utilizou-se o pico da primeira derivada da curva termogravimétrica das amostras (DTG), visto que o mesmo indica a temperatura com maior taxa de perda de massa, geralmente, por isso, sendo a temperatura em que ocorre a degradação dos principais compostos da amostra. Desta maneira, a partir do pico da DTG, foi inferido o quanto a estabilidade térmica da amostra foi afetada pela solução de cloreto de zinco.

4.2.3.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

As amostras foram analisadas em difratômetro Panalytical (modelo Empyrean) no Laboratório de Raios X do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal de Minas Gerais. O equipamento operou com tubo de radiação $\text{CuK}\alpha = 1,5406 \text{ \AA}$ e ângulos de difração variando na faixa 2θ de 10 a 50° com velocidade de varredura de 0,06 °/s (COELHO *et al.*, 2021). O software utilizado foi o Data Collector. A deconvolução dos espectros foi realizada usando o software OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA) e a função aplicada foi a Gaussian-LorenCross para o processo de ajuste de curva.

4.2.3.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para analisar o efeito dos tratamentos sobre a morfologia das amostras foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura FEI (modelo FEI Quanta 200) com detector de elétrons secundários e voltagem de 15kV. As amostras foram cobertas com uma camada de carbono em torno de 30 nm de espessura para serem analisadas. As amostras avaliadas foram BE-PHA, BE-PHAr, DATU-67 e DBTU-53.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os espectros de BE-PHA e BE-PHAr apresentaram similaridade, contudo, existem diferenças em algumas regiões como será abordado a seguir e pode ser observado na Figura 4.4. Não muito diferente, os espectros das amostras dissolvidas em solução de $ZnCl_2$ assistidas por ultrassom de ponteira e BE-PHAr (Figura 4.5), também apresentaram posições das bandas e picos são similares.

Figura 4.4 - Espectros de FTIR das amostras BE-PHA e BE-PHAr.

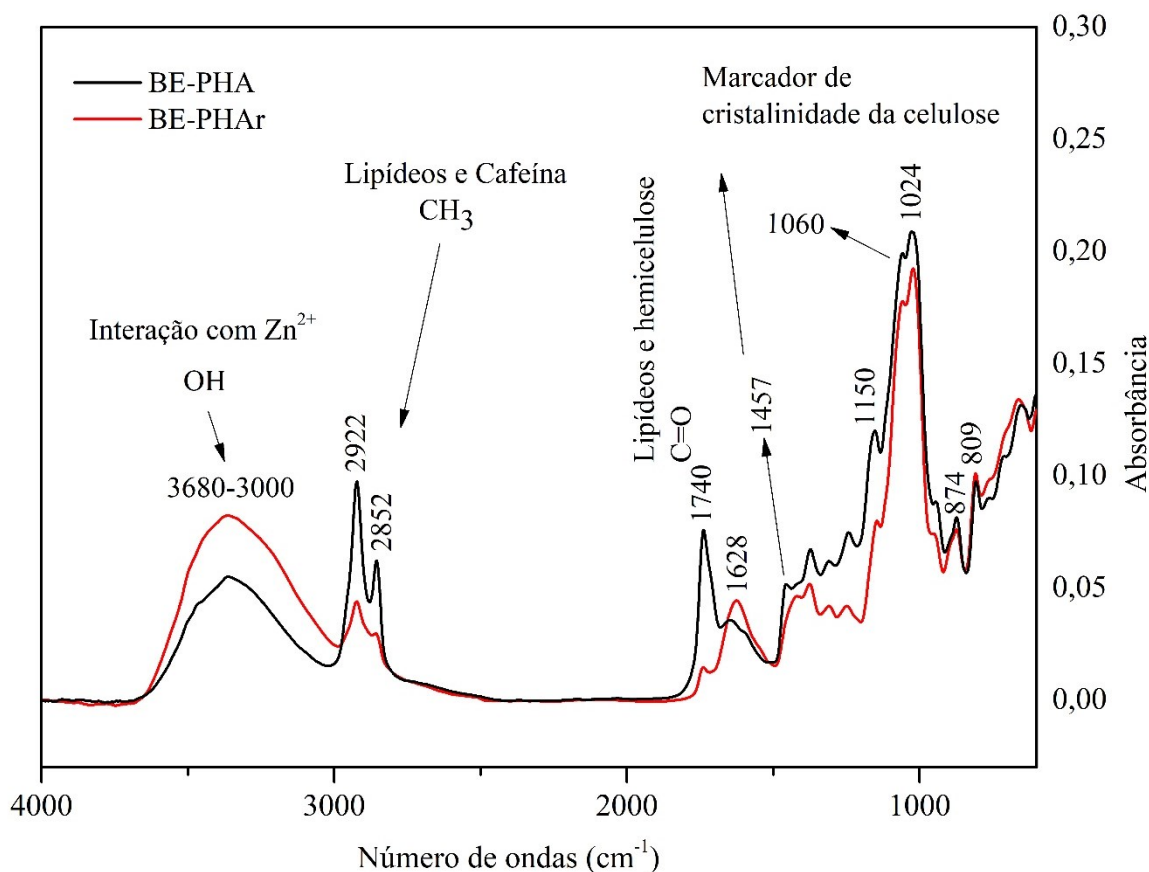
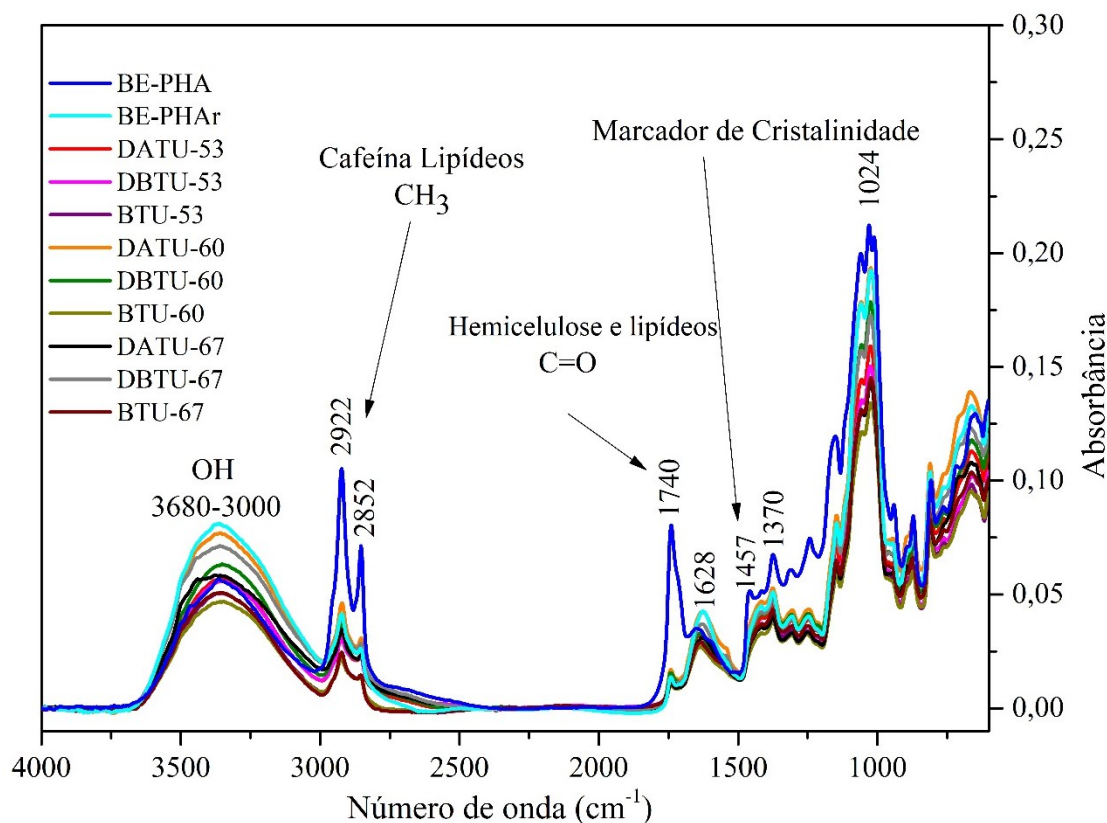


Figura 4.5 - Espectros de FTIR de BE-PHA, BE-PHAr e das amostras dissolvidas em $ZnCl_2$ assistida por ultrassom.



A região de 3680-3000 cm^{-1} está relacionada ao estiramento do grupo O-H em ligações de hidrogênio e apresentou mudanças que podem estar associadas às interações entre as cadeias poliméricas dos polissacarídeos com os íons Zn^{2+} e com moléculas de água por meio de ligações de hidrogênio (JIANG *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2016).

Quando os espectros de BE-PHA e as demais amostras são comparados, observa-se um decréscimo na intensidade dos picos em 2922 e 2852 cm^{-1} e do pico em 1740 cm^{-1} (Figura 4.4 e Figura 4.5). Os picos em 2922 e 2852 cm^{-1} são atribuídos aos estiramentos assimétricos e simétricos de ligações C-H do grupo C-H₃, respectivamente, e são associados à presença de cafeína e lipídeos no café (BARBOSA, 2011; CRAIG; FRANCA; OLIVEIRA, 2012). O pico em 1740 cm^{-1} está associado à vibração de C=O do grupo éster em triglicerídeos ou ésteres alifáticos indicando que este pico pode ser atribuído à presença de lipídeos. À vista disso, os dados sugerem que os lipídeos foram removidos por cavitação pela ação do US e consequente

destruição dos vacúolos, de forma a liberar os lipídeos no meio ou o cloreto oxidou a carbonila presente nas amostras ZnCl_2 -ultrassom e BE-PHAr (ZHANG *et al.*, 2019).

O pico em 1645 cm^{-1} no espectro de BE-PHA sugere a presença de moléculas de água na matriz, pois tal pico pode ser atribuído à vibração de ligações de hidroxilas (ARNATA *et al.*, 2020; MOHAMED *et al.*, 2015). O deslocamento do pico para 1628 cm^{-1} pode indicar que as moléculas de água interagem com as cadeias poliméricas das amostras ZnCl_2 -ultrassom e de BE-PHAr, visto que a dissolução do material em solução de cloreto de zinco, expõem os grupos funcionais dos polímeros da matriz e assim, as moléculas de água interagem com as cadeias poliméricas por meio de ligações de hidrogênio.

A diminuição da intensidade e o desaparecimento de picos na região de $1500\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ indicam redução da cristalinidade do material (SYNYTSYA; NOVAK, 2014), como pode ser observado pelos espectros da Figura 4.5. O desaparecimento ou deslocamento do pico em 1457 cm^{-1} implica que a celulose I (cristalina) presente no material foi convertida em celulose tipo II após dissolução em ZnCl_2 , indicando o rompimento da estrutura cristalina da celulose (ZHANG *et al.*, 2019). O mesmo foi observado por Zhang *et al.* (2019) por meio das análises de FTIR e difração de raio X em amostras de celulose dissolvidas em solução de cloreto de zinco em concentrações de 45, 55 e 65%, os autores relataram que a celulose recuperada apresentou celulose tipo II devido ao rompimento das ligações da região cristalina durante a dissolução das amostras. O grupo também reportou que houve redução de 17 e 25 % do índice de cristalinidade da celulose regenerada dissolvida em 45 e 65 %, respectivamente, quando as mesmas foram comparadas com a celulose nativa. O resultado do trabalho pelo grupo demonstra que quanto maior a concentração de ZnCl_2 , mais ligações de hidrogênio são rompidas e reconstruídas.

Ademais, a região de $1450\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuída a vibrações de ligações características dos ácidos clorogênicos presentes na matriz do café (CRAIG; FRANCA; OLIVEIRA, 2012). Sendo que a região de $1300\text{-}1000$ pode ser atribuída às ligações éster C-O-C e a região de $1420\text{-}1330\text{ cm}^{-1}$, a qual compreende o pico em 1370 cm^{-1} , pode estar relacionada à deformação angular das ligações O-H presentes em compostos fenólicos (CRAIG *et al.*, 2014; CRAIG; FRANCA; OLIVEIRA, 2012). Desta maneira, pode-se inferir que estes compostos permanecem na matriz mesmo após o tratamento com PHA e a dissolução em cloreto de zinco, e provavelmente estão associados a polissacarídeos na forma de melanoidinas, sendo estas as responsáveis pela coloração amarronzada que pode ser observada na solução filmogênica e nos filmes do presente trabalho (MOREIRA *et al.*, 2012, 2015; NUNES; COIMBRA, 2007). Com

estrutura não elucidada plenamente, as melanoidinas são macromoléculas complexas constituídas por polissacarídeos (galactomananas e arabinogalactanas) ligadas a proteínas, ou fragmentos de proteínas e ácidos clorogênicos.

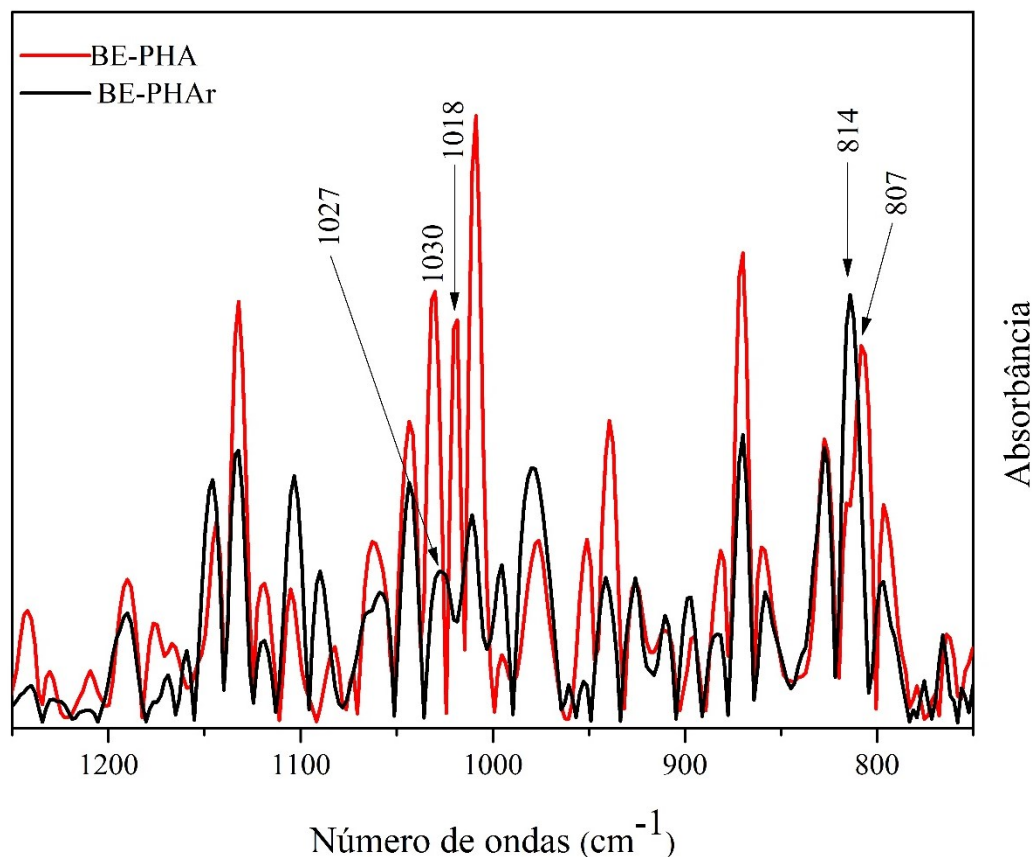
Além disso, a região de $1700\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ pode ser relacionada a vibrações de estiramento simétricas e assimétricas do grupo C=O na lignina, no entanto também tem sido relacionada à presença de ácidos clorogênicos na matriz (PANDEY; THEAGARAJAN, 1997; RIBEIRO; SALVA; FERREIRA, 2010; XU *et al.*, 2013). Como todas as amostras são provenientes do café, e este, por sua vez, apresenta teores relevantes de lignina e ácidos clorogênicos, essa banda pode ser atribuída à presença de ambos compostos.

Embora, a solução de cloreto de zinco tenha reduzido a cristalinidade do material, não foi observado o surgimento de picos que indicassem mudanças na estrutura das moléculas nos espectros de BE-PHAr e nas amostras ZnCl₂-ultrassom, sugerindo que o processo não promoveu a derivatização dos compostos. À vista disso, os espectros das amostras apresentaram bandas típicas da presença de polissacarídeos na região de impressão digital do material que está compreendida entre $1200\text{ e }900\text{ cm}^{-1}$. Esta região apresenta diversos picos sobrepostos, pois diferentes polissacarídeos apresentam grupos funcionais e tipos de ligações em comum. Desta maneira, foi realizada a segunda derivada dos espectros para buscar entender o efeito da solução de cloreto de zinco e do ultrassom sobre os polissacarídeos específicos das amostras.

Comparando os espectros da segunda derivada de BE-PHA e BE-PHAr, pode-se observar que a maioria dos picos foram conservados em BE-PHAr mesmo após a dissolução em solução de cloreto de zinco, porém com intensidade menor que na matriz original como pode ser observado na Figura 4.6. Tais picos podem ser associados aos polissacarídeos presentes na borra de café, os quais são celulose, arabinogalactanas e galactomananas (SIMÕES *et al.*, 2019). Desta maneira, a presença da celulose em BE-PHA pode-se inferida pela presença dos picos em 1208, 1165, 1103, 1060, 1030, 994 e 897 cm^{-1} . Ao passo que a presença das arabinogalactanas podem ser associadas aos picos em 1132, 1073, 1044, 1018, 978 e 884. E os picos em 1147, 1081, 1060, 1030, 1008, 938, 884, 870 e 807 cm^{-1} são atribuídos à presença das galactomananas

(CANGUSSU *et al.*, 2021; CANTERI *et al.*, 2019; ESTEVEZ *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2021; SZYMANSKA-CHARGOT *et al.*, 2015).

Figura 4.6 - Segunda derivada dos espectros das amostras BE-PHA e BE-PHAr na região típica dos polissacarídeos.



Da mesma maneira, pode-se inferir que BE-PHAr também é composta pelos mesmos polissacarídeos que a amostra precursora, BE-PHA. As bandas mantidas e os deslocamentos estão apresentados na Tabela 4.1 e indicam que a matriz polissacarídica interagiu com os íons Zn^{2+} . O deslocamento de 1030 para 1027 cm^{-1} sugerem que os íons Zn^{2+} interagiram com o oxigênio do anel na ligação O-C na celulose e nas galactomananas (JIANG *et al.*, 2012). Ademais, o deslocamento e a diminuição da intensidade dessa banda apontam que houve interações entre íons Zn^{2+} e O3H da unidade do monossacarídeo na cadeia dos polissacarídeos em vez de ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas estabelecidas por meio de O3H e O5, as quais são responsáveis pelas estrutura empacotada das regiões cristalinas dos polissacarídeos (XU *et al.*, 2016). Além disso, o pico em 1018 cm^{-1} relacionado à presença das

arabinogalactanas exibiu redução em intensidade e deslocamento, apontando quebra das interações entre as cadeias.

Tabela 4.1 – Principais picos da segunda derivada dos espectros de FTIR das amostras BE-PHA, BE-PHAr, DATU-67 e DBTU-53.

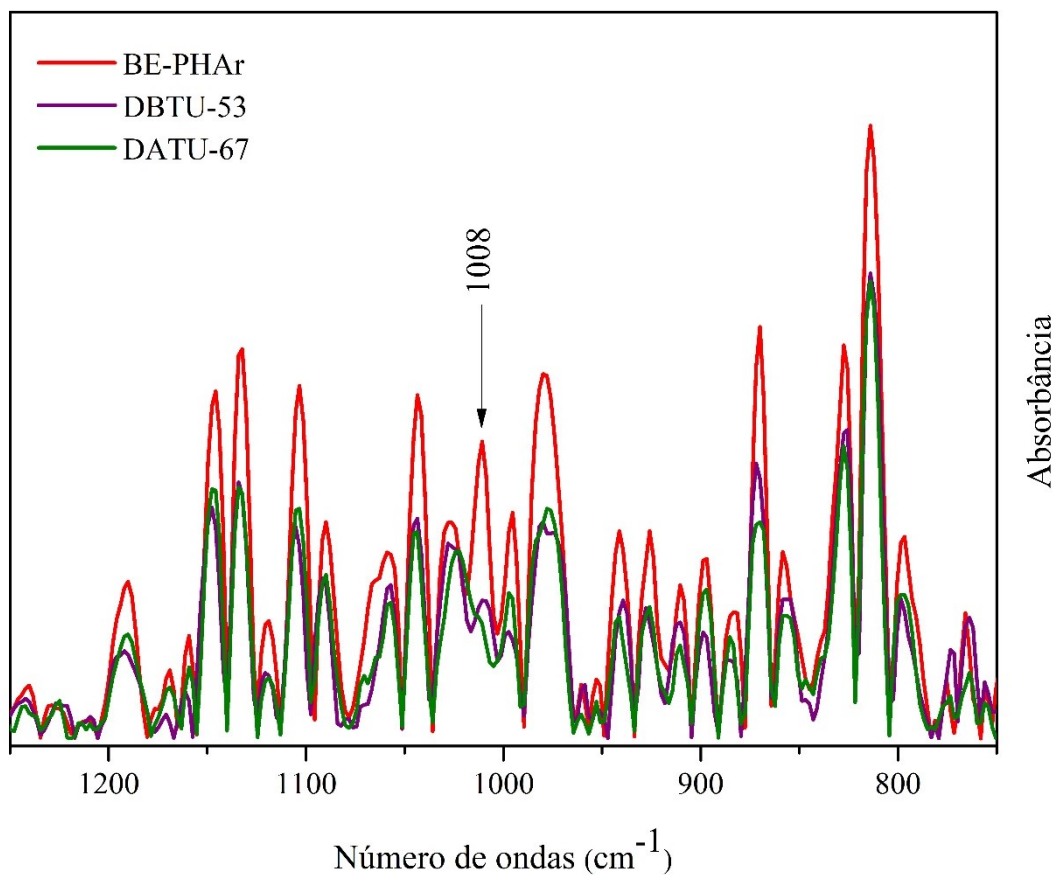
Amostras	Número de ondas (cm⁻¹)	Atribuições das bandas	Polissacarídeos	Referências
BE-PHA	1165	ligações glicosídicas (O–C–O)	celulose	(LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1160 (shift)	ligações glicosídicas (O–C–O)	celulose	(LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1147	ligações glicosídicas (O–C–O) de β (1-4) - D-mananas	galactomananas	(ESTEVEZ <i>et al.</i> , 2008)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1132	ligações glicosídicas da cadeia lateral de tipo α (1-3) (arabinose)	arabinogalactanas	(CANGUSSU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1103	vibração da ligação C-O	celulose	(QASIM <i>et al.</i> , 2020)
BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1090 (shift)	estiramento das ligações C–O–C em β (1-4) de ligações de mananas	galactomananas	(CANGUSSU <i>et al.</i> , 2021; ESTEVEZ <i>et al.</i> , 2008)
BE-PHA	1081	estiramento das ligações C–O–C em β (1-4) de ligações de mananas	galactomananas	(CANGUSSU <i>et al.</i> , 2021; ESTEVEZ <i>et al.</i> , 2008)
BE-PHA	1073	vibração da cadeia principal de galactanas	arabinogalactanas	(CANGUSSU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1065 (shoulder)	estiramento de C–O, de C–C e de C6–H2–O6	celulose	(SZYMANSKA-CHARGOT <i>et al.</i> , 2015)
BE-PHA	1060	estiramento de C–O, de C–C e de C6–H2–O6	celulose, galactomananas	(CANTERI <i>et al.</i> , 2019; LIU <i>et al.</i> , 2021; SZYMANSKA-CHARGOT <i>et al.</i> , 2015)

Tabela 4.1 (continuação)

Amostras	Número de ondas (cm ⁻¹)	Atribuições das bandas	Polissacarídeos	Referências
BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1058	estiramento de C–O, de C–C e de C6–H2–O6	galactomananas	((ESTEVEZ <i>et al.</i> , 2008; LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1044	cadeia lateral de arabinose	arabinogalactanas	(CANGUSSU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA	1030	estiramento de C–O, de C–C e de C6–H2–O6	cellulose, galactomananas	((ESTEVEZ <i>et al.</i> , 2008; LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	1027 (shift)	estiramento de C–O, de C–C e de C6–H2–O6	celulose, galactomananas	((ESTEVEZ <i>et al.</i> , 2008; LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHAr, DBTU-53	1012 (shift)	estiramento de C–O e de C–C (mananas)	galactomananas	(LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA	1008	estiramento de C–O e de C–C (mananas)	galactomananas	(LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	994	estiramento de C–O e de C–C	celulose	(SZYMANSK A-CHARGOT <i>et al.</i> , 2015)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	978	ligações glicosídicas da cadeia lateral de tipo α (1-3) (arabinose)	arabinogalactanas	(CANGUSSU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	938	vibração do anel da estrutura de unidades de açúcar	galactomananas	(LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	897	ligações β -glicosídicas em unidades de açúcar	celulose	(LIU <i>et al.</i> , 2021; SZYMANSKA-CHARGOT; ZDUNEK, 2013)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	884	ligação C1–H (galactanas)	galactomananas, arabinogalactanas	(LIU <i>et al.</i> , 2021)
BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	870	unidades de β -D-manopiranosose	galactomananas	(CERQUEIRA <i>et al.</i> , 2011b; PAWAR; LALITHA, 2014)
BE-PHAr, DBTU-53, DATU-67	814 (shift)	ligações de α (1-6)-D-galactopiranosil	galactomananas	(PAWAR; LALITHA, 2014)
BE-PHA	807	ligações de α (1-6)-D-galactopiranosil	galactomananas	(PAWAR; LALITHA, 2014)

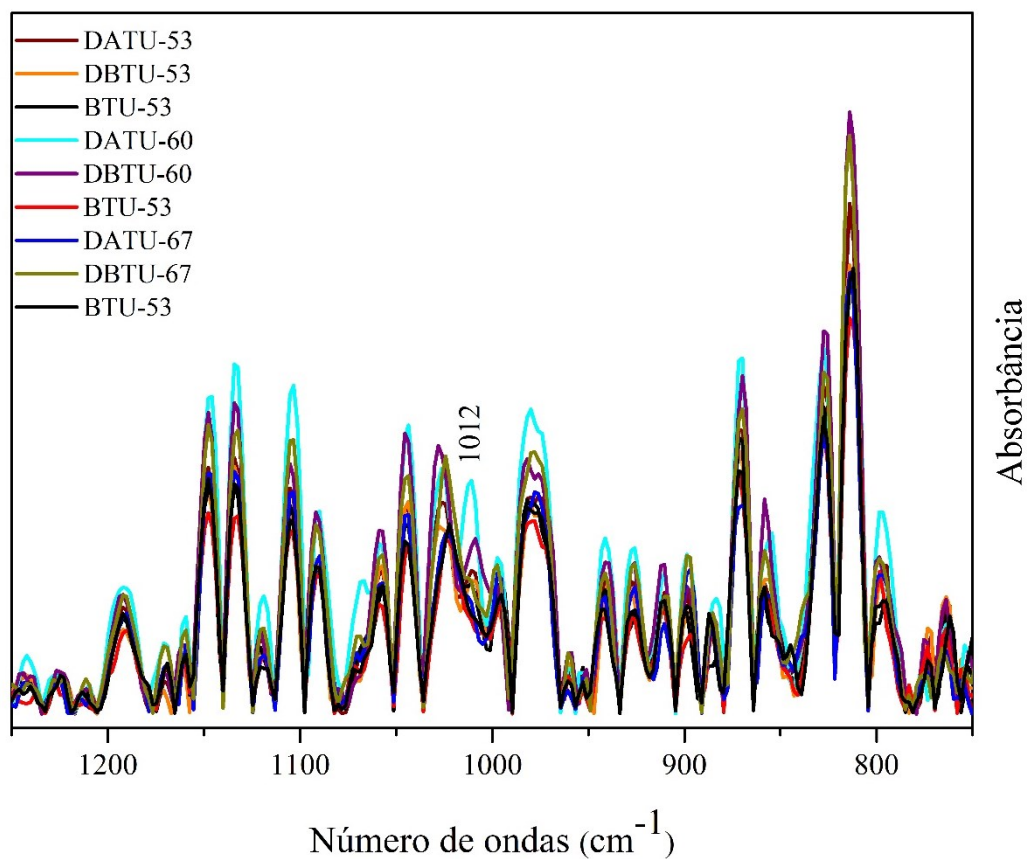
BE-PHA: borra de café *espresso* deslignificada; BE-PHAr: BE-PHA dissolvida em 67 % ZnCl₂ a 65 °C e recuperada como material insolúvel; DBTU-53: BE-PHA dissolvida em 53 % ZnCl₂-ultrassom a 65 °C; DATU-67: BE-PHA dissolvida em 67 % ZnCl₂-ultrassom a 90 °C.

Para facilitar a compreensão dos dados e o efeito da solução de cloreto de zinco assistido por ultrassom sobre os polissacarídeos das matrizes, foram selecionados os espectros DBTU-53 e DATU-67 para comparar com o espectro da amostra BE-PHAr. Como pode ser observado na Figura 4.7, DBTU-53 e DATU-67 mantiveram praticamente todos os picos que foram encontrados no espectro da segunda derivada de BE-PHAr. As principais mudanças foram o desaparecimento em DATU-67 e o deslocamento em DBTU-53 do pico em 1008 para 1012 cm^{-1} , o qual está associado ao estiramento de C-O e C-C de mananas (LIU *et al.*, 2021). Portanto, pode-se inferir que a solução de cloreto de zinco associada ao ultrassom possibilitaram inclusive a quebra das interações entre as cadeias poliméricas da região das galactomananas com baixo grau de substituição com características de estrutura cristalina que podem apresentar razão de manose: galactose de 30:1 (OOSTERVELD *et al.*, 2003). Diferente da estrutura da celulose que apresenta as hidroxilas de C2 e C3 em configuração *trans*, as galactomananas apresentam os pares de hidroxilas em configuração *cis*. Esta configuração permite que a interação entre as manoses do polissacarídeo forme uma estrutura tridimensional tipo zíper por meio de ligações de hidrogênio. Tais ligações exigem mais energia para serem rompidas que as ligações de hidrogênio simples (MATHUR, 2016)

Figura 4.7 - Segunda derivada dos espectros de BE-PHAr, DBTU-53 e DATU-67.

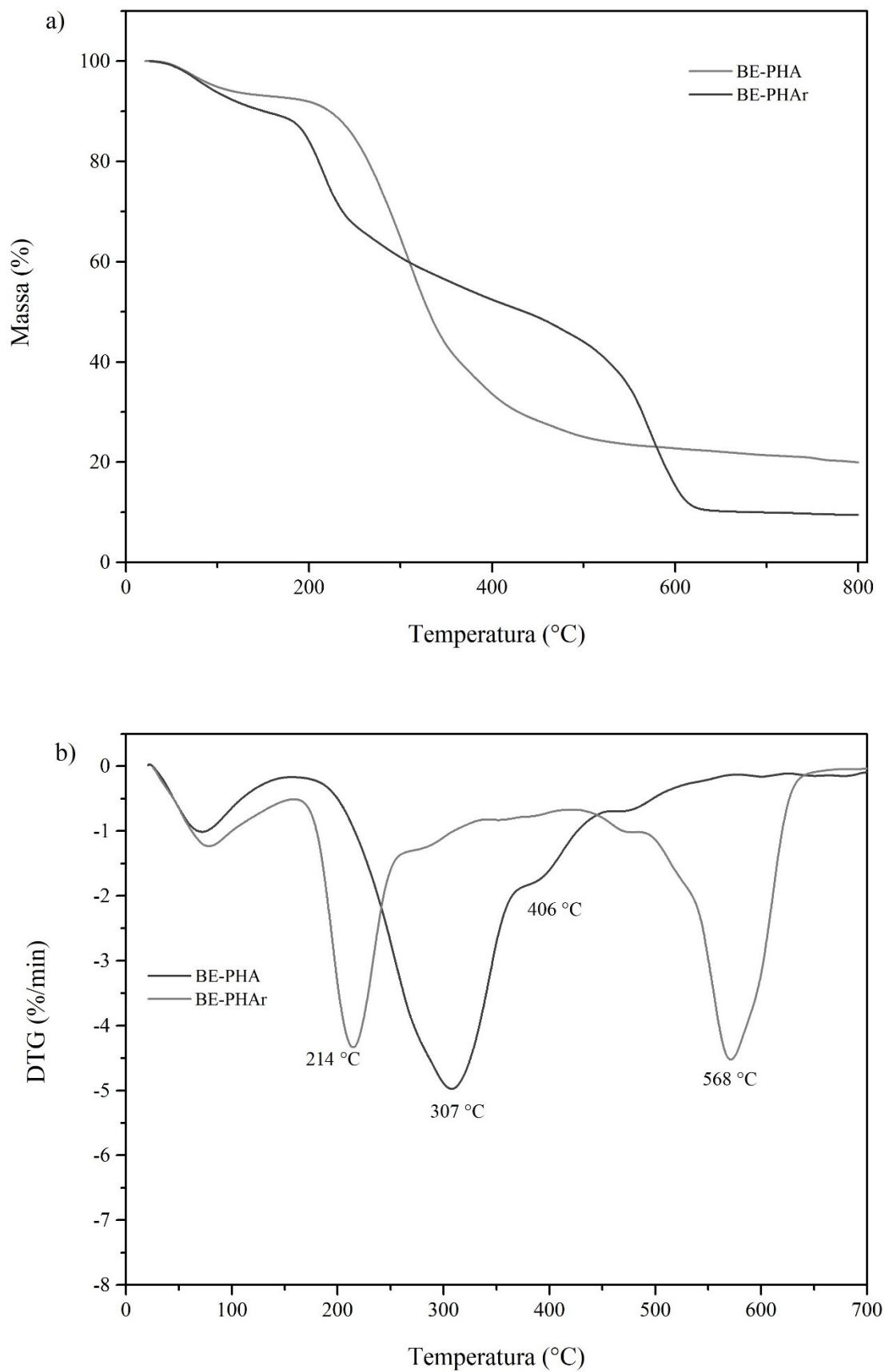
A segunda derivada dos demais espectros pertencentes às amostras ZnCl_2 -ultrassom também mantiveram a maioria dos picos em comparação com BE-PHAr e apresentaram o deslocamento ou desaparecimento do pico em 1008 cm^{-1} como pode ser notado na Figura 4.8, indicando que o ultrassom possibilitou o rompimento das ligações das mananas do café.

Figura 4.8 - Segunda derivada dos espectros das amostras dissolvidas com solução de cloreto de zinco assistidas por ultrassom.



4.3.2 ANÁLISE TÉRMICA

As curvas de TGA e DTG de BE-PHA e BE-PHAr apresentaram algumas diferenças, as quais podem ser observadas pelas Figura 4.9a e Figura 4.9b e serão discutidas a seguir.

Figura 4.9 - Curvas TGA (a) e DTG (b) das amostras BE-PHA e BE-PHAr.

O primeiro estágio de perda de massa foi relacionado principalmente à evaporação de moléculas de água adsorvidas em todas as amostras (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2014).

No segundo estágio ocorreu a decomposição dos principais compostos das amostras, tais como a degradação dos polissacarídeos, celulose e hemicelulose (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2014). Para BE-PHA e BE-PHAr, o segundo evento ocorreu em faixas de temperaturas distintas (Tabela 4.2) com picos na DTG em 311 e 214 °C, respectivamente. Além disso, nesse estágio ocorre a degradação da lignina, que é mais pronunciada na curva da DTG de BE-PHA em que o pico apresenta um ombro em torno de 375 a 460 °C, compreendendo a região em que a lignina apresenta perda de massa de forma mais acentuada, com provável sobreposição de pico em torno de 405 °C (MOHAN; PITTMAN; STEELE, 2006).

Em um estudo realizado por Lin *et al.* (2016) em que o amido foi dissolvido em solução com 65, 43 ou 35 % de cloreto de zinco, as amostras recuperadas apresentaram perda de massa com picos em 250, 253 e 271 °C, respectivamente, em contrapartida o amido nativo apresentou pico localizado em 337 °C. Assim também no presente estudo, o pico referente a temperatura de decomposição dos polissacarídeos dissolvidos nas concentrações em torno de 65 % de ZnCl₂ passa a ser localizado quase 100 °C a menos quando comparado ao polissacarídeo nativo, sugerindo a diminuição da cristalinidade e do grau de polimerização das amostras (LIN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2019).

Tabela 4.2 - Dados das curvas da análise de termogravimetria e da primeira derivada das amostras BE-PHA e BE-PHAr.

Amostras	Estágio	Faixa de degradação (°C)	Picos da DTG (°C)	Perda de massa (%)
BE-PHA	1°	23,44 - 139,18	71,80	6,68
	2°	139,18- 461,68	307,59	65,92
	3°	461,68 - 800,00		7,47
	Resíduo			19,93
BE-PHAr	1°	26,73 - 141,73	78,22	9,81
	2°	141,73 - 338,41	214,06	33,41
	3°	338,41 – 800,00	568,82	45,82
	Resíduo			10,95

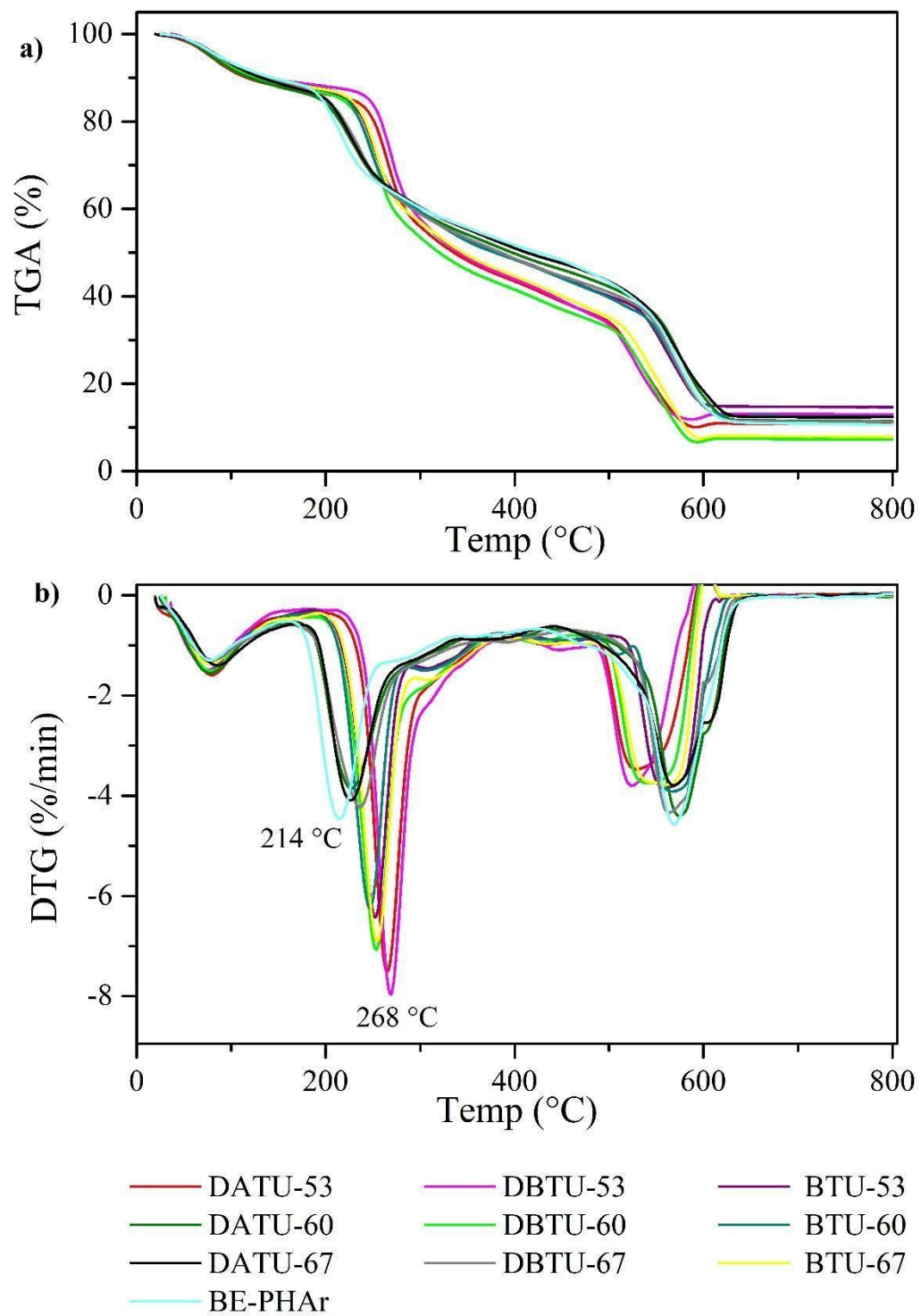
Tabela 4.2 (continuação)

Amostras	Estágio	Faixa de degradação (°C)	Picos da DTG (°C)	Perda de massa (%)
DATU – 53	1°	19,59 - 144,78	80,06	11,62
	2°	144,78 - 389,25	265,21	43,92
	3°	389,25 - 797,68	529,60	33,24
	Resíduo			11,22
DBTU – 53	1°	37,75 -152,65	75,83	10,46
	2°	152,65 - 371,26	268,78	42,59
	3°	371,26 - 799,81	523,66	33,11
	Resíduo			13,85
BTU - 53	1°	26,37- 130,35	77,17	10,18
	2°	130,35 - 368,70	252,33	38,45
	3°	368,70 - 800,01	559,21	36,11
	Resíduo			15,26
DATU – 60	1°	26,37 - 145,21	77,73	11,68
	2°	145,21 - 342,54	227,26	33,41
	3°	342,54 -799,92	574,13	43,22
	Resíduo			11,69
DBTU – 60	1°	30,59 - 154,23	77,40	11,52
	2°	154,23 - 363,50	253,24	43,50
	3°	363,50 - 799,16	539,91	37,25
	Resíduo			7,74
BTU - 60	1°	20,88 - 157,79	79,16	10,97
	2°	157,79 - 368,52	246,45	38,18
	3°	368,52 - 799,92	567,37	38,34
	Resíduo			12,51
DATU - 67	1°	21,04 - 154,60	85,06	11,50
	2°	154,60 -351,26	226,58	33,12
	3°	351,26 -799,93	568,22	42,87
	Resíduo			12,50
DBTU - 67	1°	31,26 - 153,49	81,55	10,82
	2°	153,49 - 351,23	236,29	35,39
	3°	351,23 -799,99	563,8	41,37
	Resíduo			12,42
BTU - 67	1°	27,79 - 161,83	75,56	11,14
	2°	161,83 - 382,80	254,55	42,49
	3°	382,80 - 799,16	563,33	37,95
	Resíduo			8,43

BE-PHAR: amostra controle recuperada proveniente da dissolução convencional utilizada na produção dos filmes. DATU; DBTU e BTU: amostras dissolvidas em cloreto de zinco a 90 °C no ultrassom; a 65 °C no ultrassom e BE-PHA com tratamento em ultrassom antes da dissolução, respectivamente.

As amostras ZnCl_2 -ultrassom e a amostra BE-PHAr apresentaram de forma geral comportamentos de decomposição térmica distintos como pode ser observado nas Figura 4.10a e 4.9b. DBTU-53 apresentou o principal pico de perda de massa em 269 °C, sendo a amostra com maior temperatura de decomposição dos polissacarídeos entre as amostras dissolvidas em cloreto de zinco, em contrapartida, BE-PHAr apresentou menor estabilidade térmica, com pico de decomposição dos polissacarídeos em 214 °C (BALLESTEROS *et al.*, 2015). A variação entre as concentrações de cloreto de zinco para dissolução das amostras pode explicar a diferença da estabilidade térmica de BE-PHAr em relação DBTU-53, pois sabe-se que quanto maior a concentração de cloreto de zinco, maior será a degradação dos polissacarídeos (XU *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2019).

Figura 4.10 - Curvas TGA (a) e DTG (b) das amostras que foram dissolvidas em solução de cloreto de zinco assistidas por ultrassom.



A diferença entre as curvas TGA e DTG das amostras BE-PHAr e BTU-67 pode ser atribuída ao efeito da cavitação que facilitou a penetração do solvente na matriz. A implosão de microbolhas gerou uma grande quantidade de energia local, o que ocasionou a formação de jatos em direção às fibras do material, resultando em mudanças morfológicas na superfície, e conseqüentemente, provocando a diminuição da tensão da superfície do material, o que por sua vez, facilitou a entrada do solvente na matriz (SAYYED *et al.*, 2018). Desta maneira, BTU-67 apresentou maior estabilidade térmica que BE-PHAr, demonstrando que o uso do ultrassom em BE-PHA com água por 2 min antes da dissolução do material em solução de cloreto de zinco a 67 %, possibilita a dissolução da amostra envolvendo menor degradação.

Em relação às amostras dissolvidas em 53 % de $ZnCl_2$, DBTU-53 e DATU-53 apresentaram as temperaturas mais elevadas de decomposição dos polissacarídeos entre todas as amostras inclusive em relação à BTU-53 (252 °C), com picos na DTG localizados em 269 e 265 °C, respectivamente. Esse resultado corrobora os dados encontrados na literatura que afirmam que quanto menor a concentração de cloreto de zinco, maior estabilidade térmica do material (LIN *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2019).

O tratamento DBTU com temperaturas mais baixas que DATU provavelmente possibilitou que DBTU-53 exibisse maior estabilidade térmica que DATU-53, embora ambas tenham apresentado valores de temperatura e comportamento de decomposição térmica muito próximos; e o tempo de exposição nessas condições (em torno de 65 °C) provavelmente foi o fator limitante para que BTU-53 apresentasse menor estabilidade entre as amostras dissolvidas, visto que foi o tratamento que demandou maior tempo para dissolução da amostra.

A amostra DATU-67 apresentou a menor estabilidade térmica entre as amostras $ZnCl_2$ -ultrassom, esse resultado provavelmente está relacionado ao fato que a concentração da solução em 67 % de $ZnCl_2$ assistida por ultrassom juntamente com o uso de temperaturas mais elevadas (90 °C) potencializaram a ação do sal inorgânico hidratado e conseqüentemente a degradação dos polímeros presentes no material. Xu *et al.* (2016) realizaram testes utilizando até 3 % de celulose em solução de $ZnCl_2$ variando a concentração de 50 a 78 % a 65 °C e a 80 °C, e relataram que a celulose foi hidrolisada quando o material foi exposto a 80 °C, principalmente em concentrações mais altas como 78 %. Provavelmente, pelo mesmo motivo, DATU-67 apresentou a menor temperatura no segundo pico da DTG. Além disso, o tratamento com US promove a cavitação que aumenta a penetração do solvente a nível molecular na matriz do material, facilitando a dissolução deste.

Sayyed *et al.*(2018) intumesceram a celulose em solução de N-óxido de N-metilmorfolina assistida por ultrassom e reportaram que as fibras de celulose submetidas a temperaturas acima de 50 °C degradavam gradualmente, e que abaixo dessa temperatura, em 30 °C, o polímero intumescceu o equivalente ao tratamento sem US a 75 °C. Segundo os autores, o aumento da temperatura durante o uso do ultrassom diminuiu o índice de polidispersidade e o número de viscosidade limitante (viscosidade intrínseca) da solução polimérica.

Zhang *et al.* (2019) pesquisaram a influência de diferentes concentrações de ZnCl₂ para dissolver a celulose para o preparo de filmes. A solução filmogênica evaporava durante o preparo do material, o que aumentava a concentração de cloreto de zinco na solução e facilitava a dissolução da celulose. O grupo realizou os testes para dissolver a celulose em concentrações de 45, 55 e 65% de cloreto de zinco e observou o pico da DTG em 307, 283 e 231 °C, respectivamente. A celulose nativa do interior do caule do milho (fonte de celulose utilizada pelos autores) apresentou decomposição em 352 °C. O resultado demonstrou a influência da concentração da solução de ZnCl₂ para diminuir a cristalinidade da celulose por meio do rompimento das ligações de hidrogênio. A diferença entre os tratamentos pode ser percebida nas propriedades dos filmes como o resultado da resistência à tração que foi de 30, 13 e 7 MPa para a celulose dissolvida em 45, 55 e 65% de cloreto de zinco, respectivamente. Desta maneira, Zhang *et al.* (2019) pôde demonstrar a importância da concentração de cloreto de zinco nos resultados do material desenvolvido.

Em relação às amostras com tratamento BTU, pode-se observar pelo Quadro 4.2, que conforme a concentração de ZnCl₂ aumentava na solução, as amostras foram apresentando melhor estabilidade térmica dentro do próprio grupo.

Quadro 4.2 - Relação da concentração da solução de ZnCl₂ e da estabilidade térmica das amostras conforme o tratamento.

Concentração da solução com ZnCl ₂ (%)	Estabilidade Térmica
53	DBTU > DATU > BTU
60	DBTU > BTU > DATU
67	BTU > DBTU > DATU

DATU; DBTU e BTU: amostras dissolvidas em cloreto de zinco a 90 °C no ultrassom; a 65 °C no ultrassom e BE-PHA com tratamento em ultrassom antes da dissolução, respectivamente.

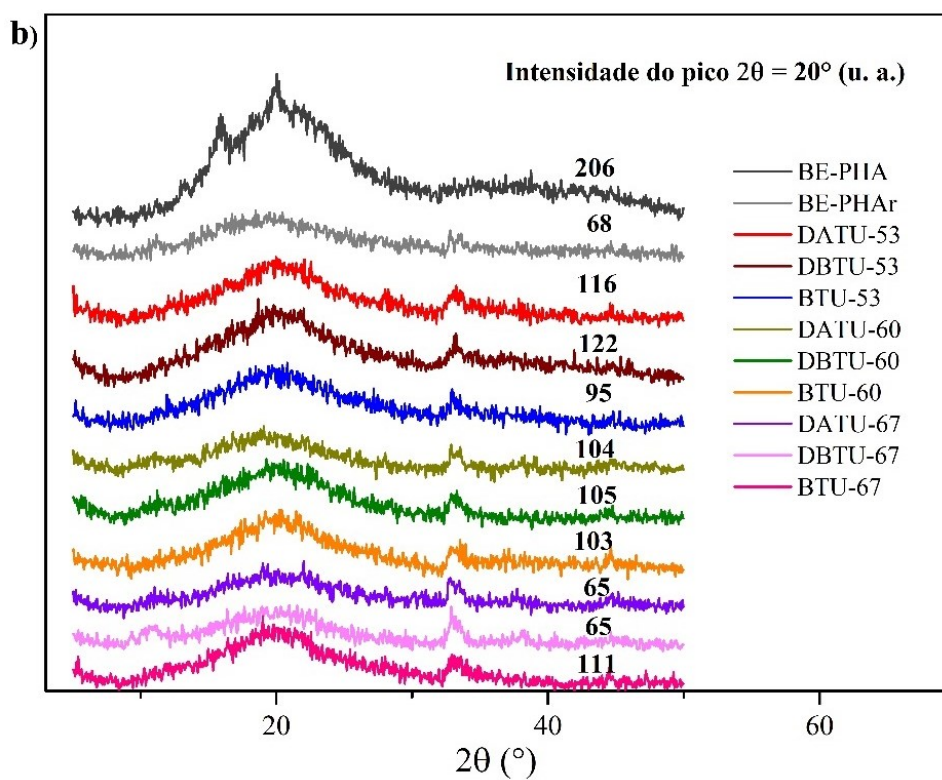
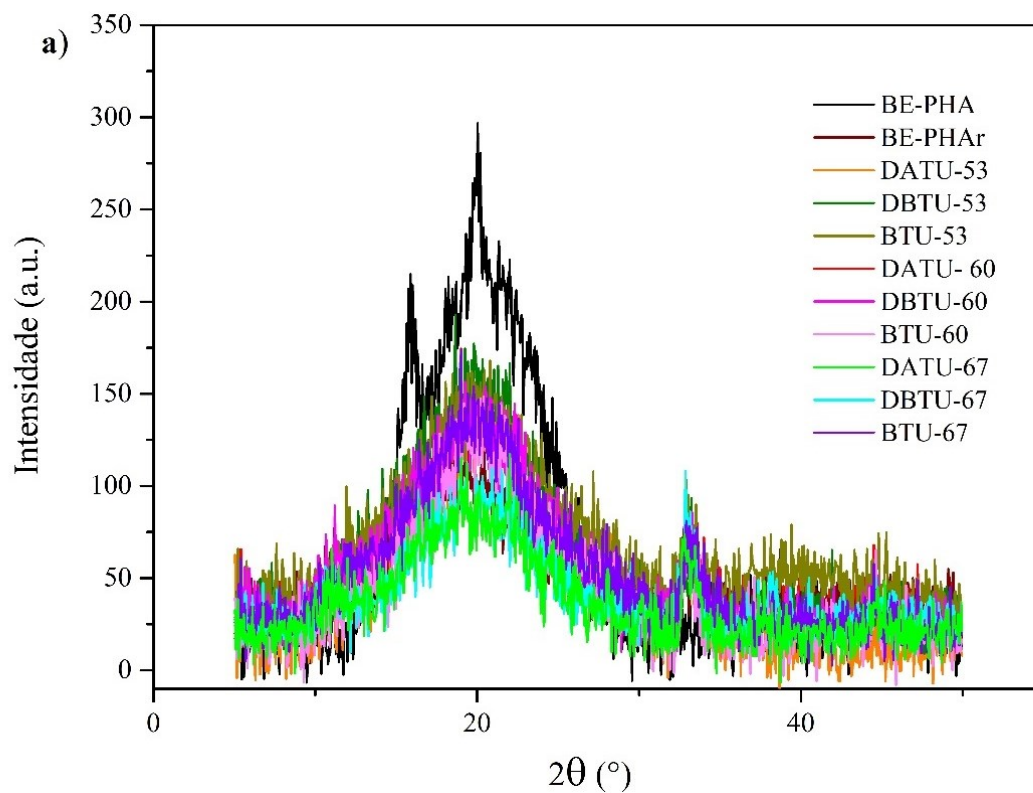
Em relação ao terceiro estágio presente em todas as amostras dissolvidas em cloreto de zinco, DBTU-53 exibiu a menor temperatura no terceiro pico em 524 °C entre as amostras, enquanto DATU-60 apresentou a maior temperatura com pico em 574 °C. O terceiro evento presentes

nessas amostras provavelmente está relacionado a interação dos íons Zn^{2+} e as cadeias poliméricas das matrizes, considerando que ele não ocorre nas demais amostras deste trabalho BE-PHA e borra de café *espresso*, as quais não foram dissolvidas em cloreto de zinco.

4.3.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

A técnica de difração de raios X foi empregada com o objetivo de avaliar a diferença entre as fases cristalinas entre as amostras diante dos tratamentos empregados. Os difratogramas de BE-PHA, BE-PHAr e das amostras $ZnCl_2$ -ultrassom estão presentes nas Figuras 4.11a e 4.10b. Os picos em $2\theta \approx 15$ e em $2\theta \approx 20^\circ$ são característicos da fração amorfa e da celulose cristalina (COELHO *et al.*, 2021).

Figura 4.11 - Difração de raio-X das amostras BE-PHA, BE-PHAr e amostras ZnCl₂-ultrassom (a) e a intensidade dos picos referente a cristalinidade da celulose (b).



A intensidade dos picos de difração apresentou intensidade inferior a BE-PHA, sugerindo que a solução de cloreto de zinco efetivamente reduz a cristalinidade do material, pois quebra as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares presentes entre as cadeias dos polissacarídeos. Na Figura 4.11b foram adicionados os valores das intensidades dos picos das amostras para avaliar o efeito dos tratamento sobre a matriz de BE-PHA, visto que a medida de tal pico pode ser utilizada para comparar o grau de cristalinidade entre as amostras (JIANG *et al.*, 2012). Os resultados indicam que a celulose tipo I foi convertida em celulose tipo II depois da dissolução em solução de $ZnCl_2$ indo ao encontro dos resultados da análise do infravermelho discutido na seção 4.2.3.1. Os espectros de FTIR das amostras $ZnCl_2$ -ultrassom apresentam um ombro em 1417 cm^{-1} em vez do pico em 1457 cm^{-1} , o qual ocorre em BE-PHA corroborando os difratogramas que indicam perda ou redução de cristalinidade da matriz (SYNYTSYA; NOVAK, 2014; ZHANG *et al.*, 2019).

Os resultados da análise térmica também estão em acordo com os espectros do DRX, visto que a amostras DBTU-53 e DATU-53 apresentaram maior estabilidade térmica e estrutura mais cristalina que as demais amostras dissolvidas em solução de cloreto de zinco. Da mesma maneira, assim como BE-PHAr e DATU-67 apresentaram menor estabilidade térmica, também apresentaram menor pico de cristalinidade que as demais amostras.

O pico em $2\theta \approx 33^\circ$ presente em todas as amostras dissolvidas em $ZnCl_2$ indica que os íons Zn^{2+} permanecem nas matrizes assim como os dados de FTIR e análise térmica, os quais sugerem que há uma interação entre os íons Zn^{2+} e as cadeias poliméricas mesmo após o processo de recuperação das amostras que utiliza água e etanol para precipitar a amostra e remover os sais presentes nela (RAMAJO; TAUB; CASTRO, 2014).

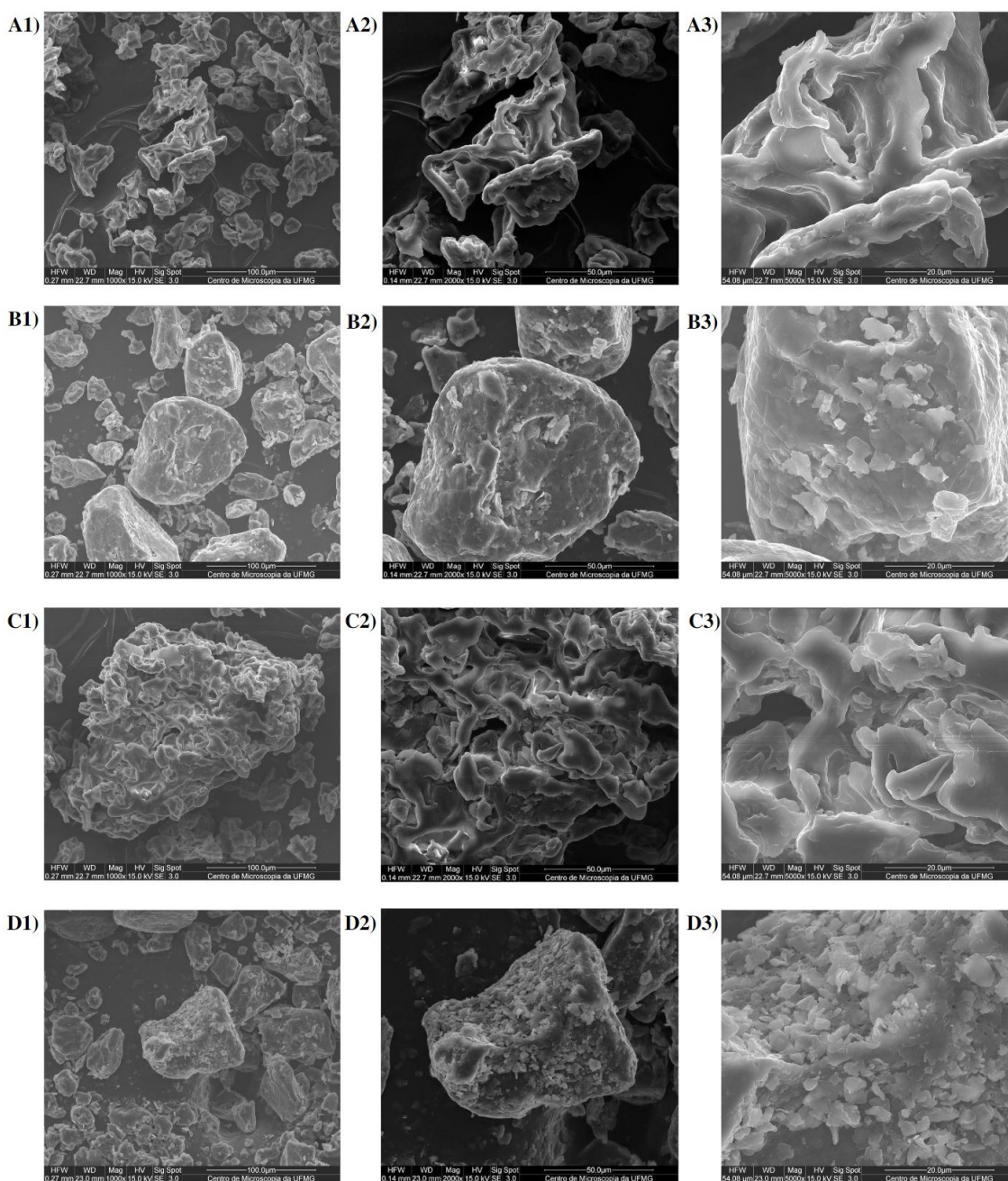
4.3.4 MORFOLOGIA DAS AMOSTRAS

As micrografias das amostras BE-PHA, BE-PHAr, DBTU-53 e DATU-67 com magnitudes de 1000x, 2000x e 5000x na Figura 4.12 revelaram as diferenças entre as morfologias das superfícies das amostras estudadas.

DBTU-53 e BE-PHAr apresentaram imagem similar visualmente com aspecto de partículas aglomeradas, dando a impressão de serem maiores que o tamanho real. Por outro lado, DATU-67 e BE-PHA apresentaram aspectos mais próximos visualmente que as demais, no entanto, DATU-67 é composta por partículas menores.

De modo geral, ocorreu redução no tamanho das partículas após a dissolução utilizando cloreto de zinco e verifica-se inclusive maior redução das partículas que foram submetidas a dissolução do cloreto de zinco juntamente com o ultrassom, isso é, DATU-67 e DBTU-53. Além disso, observa-se que principalmente nas amostras dissolvidas em solução de $ZnCl_2$ ocorre aglomeração das partículas, o que deve ter ocorrido devido ao processo de recuperação do material em estado sólido que induziu a interação entre as partículas de forma menos ordenada que a forma original.

Figura 4.12 - Micrografias das amostras BE-PHA, BE-PHAr, DATU-67 e DBTU-53.



Micrografia eletrônica de varredura de BE-PHA (borra deslignificada com peróxido de hidrogênio alcalino) (A); BE-PHAr (BE-PHA dissolvida em 67 % solução de cloreto de zinco a 65 °C) (B); DATU-67 (BE-PHA dissolvido em 67 % solução de cloreto de zinco assistido por ultrassom a 90 °C) (C) e DBTU-53 (BE-PHA dissolvido em 53 % solução de cloreto de zinco assistido por ultrassom a 65 °C) (D). Magnitude: 1000x, 2000x e 5000x (1,2, e 3, respectivamente).

4.4 CONCLUSÃO

O uso do ultrassom de ponteira como mecanismo adicional ao processo de dissolução das amostras em cloreto de zinco demonstrou ser eficaz diminuindo a concentração do sal inorgânico nas soluções e o tempo do tratamento. Além disso, o tratamento assistido por ultrassom demonstrou diminuir a degradação das amostras principalmente utilizando a concentração de 53 % de $ZnCl_2$ com dissolução em temperaturas entre 65-70 °C e temperatura de 90 °C. As amostras provenientes dos dois tratamentos, DBTU-53 e DATU-53, apresentaram maior estabilidade térmica em comparação com as demais amostras dissolvidas em cloreto de zinco. Em contrapartida, a amostra submetida ao tratamento convencional, ou seja, BE-PHA dissolvido em 67 % de $ZnCl_2$ a 65 °C (BE-PHAr) apresentou menor estabilidade térmica, provavelmente em decorrência de ter sido utilizada maior concentração de cloreto de zinco em solução e maior tempo de exposição da matriz ao tratamento com o sal inorgânico hidratado.

Para avaliar melhor os resultados dos tratamentos e aplicação dos materiais, sugere-se que em trabalhos futuros sejam desenvolvidos filmes e biomateriais com as amostras $ZnCl_2$ -ultrassom e comparados com os filmes desenvolvidos com solução filmogênica utilizada no presente trabalho.

5 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados demonstraram que a deslignificação da borra de café *espresso* com peróxido de hidrogênio alcalino a 35 % (v/v) foi efetivo, atingindo o objetivo principal do tratamento, pois promoveu a concentração dos polissacarídeos e aumentou a cristalinidade da amostra, ao passo que reduziu o percentual de lignina. Além disso, o tratamento também removeu parcialmente as melanoidinas presentes na matriz. Contudo, é preciso realizar experimentos mais específicos para avaliar quais foram os percentuais de lignina e de melanoidinas removidos separadamente. O tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino tornou viável a utilização da borra de café na produção de biomateriais como filmes e biopolímeros.

O tipo de agente de *crosslinking* utilizado promoveu o desenvolvimento de filmes com características distintas, pois os filmes com cloreto de cálcio apresentaram maior barreira ao vapor de água e maior resistência à tração que o filme controle e os filmes com ácido 1,4-fenilenodiborônico, os quais apresentaram matriz de natureza hidrofílica mais evidente que aqueles com íons Ca^{2+} , com elevado teor de umidade, maior permeabilidade ao vapor de água e maior percentual de alongamento.

Entre os tratamentos realizados para diminuir a degradação do cloreto de zinco, as amostras dissolvidas com 53 % de ZnCl_2 assistidas por ultrassom apresentaram maior estabilidade térmica. Além disso, o tempo de dissolução diminuiu de 1 h para aproximadamente 30 min. Desta maneira, segure-se para trabalhos futuros que o tratamento com 53 % de ZnCl_2 assistidas por ultrassom possa ser aplicado para a dissolução da borra de café deslignificada para esta ser utilizada no desenvolvimento de filmes e outros biomateriais.

Desta maneira, os resultados do estudo mostram o potencial da borra de café *espresso* na produção de biomateriais, assim como o potencial do tratamento utilizado para deslignificação do resíduo agroindustrial, pois reduziu os condensados fenólicos e promoveu a concentração dos polissacarídeos. Ademais, o tipo de agente de *crosslinking* utilizado influenciou nas características dos filmes produzidos possibilitando aplicações em diferentes áreas. Todos os filmes foram considerados biodegradáveis, exceto o filme com 5 % de ácido 1,4-fenilediborônico e filme submetido ao banho com 10 % (m/v) de cloreto de cálcio por 5 min. E o desenvolvimento de uma metodologia para produzir materiais que requeresse menor teor de cloreto de zinco também mostrou ser promissora, além de diminuir a degradação dos polissacarídeos e reduzir o tempo de dissolução. Esses resultados abrem caminho para futuros

trabalhos que buscam utilizar a borra de café deslignificada no desenvolvimento de filmes e outros biomateriais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis of the AOAC**. International. Virginia: AOAC, 2007.

ABDOLAHZADEH, M. et al. Healable dual organic-inorganic crosslinked sol-gel based polymers: Crosslinking density and tetrasulfide content effect. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 52, n. 14, p. 1953–1961, 15 jul. 2014.

ABEDINI, A. A.; PIRCHERAGHI, G.; KAVIANI, A. The role of calcium crosslinking and glycerol plasticizing on the physical and mechanical properties of superabsorbent: Alginate/Quince Seed Gum films. **Journal of Polymer Research**, v. 30, n. 1, p. 1–14, 2023.

AGUIRRE-JOYA, J. A. et al. Basic and Applied Concepts of Edible Packaging for Foods. In: **Food Packaging and Preservation**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 1–61.

ALMEIDA, D. M. et al. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polimeros**, v. 23, n. 4, p. 538–546, 2013.

ANDUEZA, S. et al. Influence of extraction temperature on the final quality of espresso coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 3, p. 240–248, 1 fev. 2003.

ANGELONI, G. et al. What kind of coffee do you drink? An investigation on effects of eight different extraction methods. **Food Research International**, v. 116, p. 1327–1335, 1 fev. 2019.

ANTONIOU, J. et al. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 309–319, 2015.

ARNATA, I. W. et al. Cationic modification of nanocrystalline cellulose from sago fronds. **Cellulose**, v. 27, n. 6, p. 3121–3141, 1 abr. 2020.

ARYA, M.; RAO, L. J. M. An Impression of Coffee Carbohydrates. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 1, p. 51–67, 1 jan. 2007.

ASTM. ASTM - G160 - Standard Practice for Evaluating Microbial Susceptibility of Nonmetallic. **Materials By Laboratory Soil Burial**, v. i, n. Reapproved 2019, p. 2019–2021, 2003.

ASTM. ASTM INTERNATIONAL. ASTM E96/E96M–16: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. **American Society for Testing and Materials**, p. 1–13, 2015.

ASTM. D618: Standard Practice for Conditioning Plastics for Testing. **American Society for Testing and Materials**, 2021.

ASTM D 882-18. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International. **Www.Astm.Org**, p. 1–12, 2018.

AZEREDO, H. M. C. et al. Wheat straw hemicellulose films as affected by citric acid. **Food Hydrocolloids**, v. 50, p. 1–6, 2015.

AZEREDO, H. M. C. D. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, n. 9, p. 1240–1253, 2009.

AZEREDO, H. M. C.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 664–671, 2017.

AZEREDO, H. M. C.; WALDRON, K. W. Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 52, p. 109–122, 2016.

BAKER, R. W. (RICHARD W. **Membrane Technology and Applications**. 3rd. ed. [s.l.] Wiley, 2012.

BALAGUER, M. P. et al. Functional properties of bioplastics made from wheat gliadins modified with cinnamaldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6689–6695, 22 jun. 2011.

BALAGUER, M. P. et al. Mass transport properties of gliadin films: Effect of cross-linking degree, relative humidity, and temperature. **Journal of Membrane Science**, v. 428, p. 380–392, 2013.

BALLESTEROS, L. F. et al. Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 347–354, 2015.

BALLESTEROS, L. F. et al. Production and physicochemical properties of carboxymethyl

cellulose films enriched with spent coffee grounds polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 647–655, 1 jan. 2018.

BALLESTEROS, L. F.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 12, p. 3493–3503, 1 dez. 2014.

BALLESTEROS, L. F.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 258–266, 10 fev. 2017.

BATISTA, M. J. P. A. et al. Polysaccharide-rich fraction of spent coffee grounds as promising biomaterial for films fabrication. **Carbohydrate Polymers**, v. 233, n. November 2019, p. 115851, 2020.

BELCHIOR, V.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Potential of Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy and Chemometrics for Coffee Quality Evaluation. **ETP International Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2016.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. Complex Carbohydrates Are Formed by Linkage of Monosaccharides. 2002.

BHATTACHARYA, A.; RAWLINS, J. W.; RAY, P. **Polymer Grafting and Crosslinking**. [s.l.] John Wiley and Sons, 2008.

CAMPOS-VEGA, R. et al. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 24–36, 1 set. 2015.

CANAVARRO, V.; ALVES, J. L.; RANGEL, B. **Coffee powder reused as a composite material**. (L. F. M. da Silva, Ed.)Advanced Structured Materials. **Anais...Porto, Portugal: Springer International Publishing**, 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-50784-2_9>

CANGUSSU, L. B. et al. Chemical characterization of coffee husks, a by-product of coffea arabica production. **Foods**, v. 10, n. 12, 2021.

CANTERI, M. H. G. et al. ATR-FTIR spectroscopy to determine cell wall composition: Application on a large diversity of fruits and vegetables. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, n.

February, p. 186–196, 2019.

CAO, L.; LIU, W.; WANG, L. Developing a green and edible film from Cassia gum: The effects of glycerol and sorbitol. **Journal of Cleaner Production**, v. 175, p. 276–282, 2018.

CARRIER, M. et al. Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 1, p. 298–307, 2011.

CAZÓN, P. et al. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136–148, 2017.

CERQUEIRA, M. A. et al. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 12, p. 662–671, 2011a.

CERQUEIRA, M. A. et al. Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 179–185, 2011b.

CERQUEIRA, M. A. et al. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films - A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 175–184, 2012.

CHEN, G. G. et al. High Strength Hemicellulose-Based Nanocomposite Film for Food Packaging Applications. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 4, p. 1985–1993, 2016.

COELHO, G. O. et al. Development and characterization of biopolymeric films of galactomannans recovered from spent coffee grounds. **Journal of Food Engineering**, v. 289, n. April 2020, p. 110083, 2021.

CONAB. **Levantamento da Safra de Café**. Minas Gerais, 2022. Disponível em: <www.conab.gov.br>

CRAIG, A. P. et al. Application of elastic net and infrared spectroscopy in the discrimination between defective and non-defective roasted coffees. **Talanta**, v. 128, p. 393–400, 2014.

CROSSINGHAM, Y. J.; KERR, P. G.; KENNEDY, R. A. Comparison of selected physico-chemical properties of calcium alginate films prepared by two different methods. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1–2, p. 259–269, 2014.

CRUZ, R. et al. Espresso coffee residues: A valuable source of unextracted compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 32, p. 7777–7784, 2012.

CUI, S. W.; IKEDA, S.; ESKIN, M. N. A. Seed polysaccharide gums. In: **Functional Food Carbohydrates**. [s.l.] CRC Press, 2006. p. 127–166.

DA SILVA FILIPINI, G.; ROMANI, V. P.; GUIMARÃES MARTINS, V. Biodegradable and active-intelligent films based on methylcellulose and jambolão (*Syzygium cumini*) skins extract for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 109, n. June, 2020.

DAMARTZIS, T. et al. Thermal degradation studies and kinetic modeling of cardoon (*Cynara cardunculus*) pyrolysis using thermogravimetric analysis (TGA). **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 6230–6238, 1 maio 2011.

DE OLIVEIRA PETKOWICZ, C. L. Polysaccharides in Coffee and Their Relationship to Health: An Overview. In: **Coffee in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier Inc., 2014. p. 163–172.

DE VARGAS, V. H. et al. Advanced Technologies Applied to Enhance Properties and Structure of Films and Coatings: a Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, n. 6, p. 1224–1247, 2022.

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipid-Based Edible Films and Coatings. In: **Edible Films and Coatings for Food Applications**. [s.l.] Springer New York, 2009. p. 135–168.

DEGRUSON, M. L. Biobased packaging. **Reference Module in Food Science**, 2016.

DEL CASTILLO, M. D. et al. CHAPTER 12. Coffee By-products. In: **Coffee**. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2019. p. 309–334.

DO LAGO, R. C. et al. Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. **Industrial Crops and Products**, v. 148, n. February, 2020.

DONNAN, R. **Black Honey Skin Care**.

DOS SANTOS, V. R. F. et al. Relationship between galactomannan structure and physicochemical properties of films produced thereof. **Journal of Food Science and**

Technology, v. 52, n. 12, p. 8292–8299, 1 dez. 2015.

ERGINKAYA, Z.; KALKAN, S.; ÜNAL, E. Use of antimicrobial edible films and coatings as packaging materials for food safety. In: **Food Engineering Series**. [s.l.] Springer, 2014. p. 261–295.

ESPIRITO SANTO, M. et al. Structural and compositional changes in sugarcane bagasse subjected to hydrothermal and organosolv pretreatments and their impacts on enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 113, n. October 2017, p. 64–74, 2018.

ESTEVEZ, J. M. et al. Chemical and in situ characterization of macromolecular components of the cell walls from the green seaweed *Codium fragile*. **Glycobiology**, v. 19, n. 3, p. 212–228, 2008.

FARHAN, A.; HANI, N. M. Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. **Food Hydrocolloids**, v. 64, p. 48–58, 2017.

FERNANDES, F. CHAPTER 8. Roasting. In: **Coffee**. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2019. p. 230–257.

FIGUEIRÓ, S. D. et al. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan-collagen films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 3, p. 313–320, 8 jul. 2004.

FISCHER, M. et al. Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. **Carbohydrate Research**, v. 330, n. 1, p. 93–101, 10 jan. 2001.

FISCHER, S. et al. Inorganic molten salts as solvents for cellulose. **Cellulose**, v. 10, n. 3, p. 227–236, set. 2003.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. **Circular Técnica**, v. 4, p. 1–9, 2006.

GARAVAND, F. et al. Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 687–707, 2017.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A. A. Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 1, p. 229–235, 2011.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, J. S. et al. Mechanochemical synthesis of the catechol-theophylline cocrystal: Spectroscopic characterization and molecular structure. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 9, 2021.

GOULD, J. M. Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 1, p. 46–52, 1984.

GOULD, J. M. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, n. 3, p. 225–231, 1985.

GUO, T. X. et al. **Decomposition characteristics of hydrogen peroxide in sodium hydroxide solution**. Advanced Materials Research. **Anais...**2013.

HABERT, A. C. **Processos de separação por membranas**. [s.l: s.n.].

HALE, R. C. et al. A Global Perspective on Microplastics. **Journal of Geophysical Research: Oceans**, v. 125, n. 1, p. e2018JC014719, 1 jan. 2020.

HASSAN, B. et al. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1095–1107, 2018.

HILAL, N.; FAUZI, A.; WRIGHT, C. J. **Membrane Fabrication**. [s.l: s.n.].

HIRASE, R. et al. Hydrated salts as both solvent and plasticizer for chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 993–996, 5 maio 2010.

HO, M. C.; ONG, V. Z.; WU, T. Y. Potential use of alkaline hydrogen peroxide in lignocellulosic biomass pretreatment and valorization – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, n. May, p. 75–86, 2019.

HU, G.; CHEN, J.; GAO, J. Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 291–298, 2009.

HUANG, H. et al. Intelligent films of marine polysaccharides and purple cauliflower extract for

food packaging and spoilage monitoring Han-Lun. **Carbohydrate Polymers**, p. 120133, 2022.

HUANG, M.; ZHANG, M. **Tea and coffee powders**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2013.

ICO. **Total production by exporting countries - Trade Statistics Tables**. Disponível em: <https://www.ico.org/trade_statistics.asp>. Acesso em: 23 mar. 2021.

ILLY, E.; NAVARINI, L. **Neglected Food Bubbles: The Espresso Coffee Foam**. **Food Biophysics** Springer, , 30 set. 2011. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11483-011-9220-5>>. Acesso em: 29 maio. 2021

JANISSEN, B.; HUYNH, T. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 128, p. 110–117, 1 jan. 2018.

JANJARASSKUL, T.; KROCHTA, J. M. Edible packaging materials. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 415–448, 4 abr. 2010.

JIANG, X. et al. The plasticizing mechanism and effect of calcium chloride on starch/poly(vinyl alcohol) films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1677–1684, 2012.

JIMÉNEZ-ZAMORA, A.; PASTORIZA, S.; RUFÍAN-HENARES, J. A. Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, n. 1, p. 12–18, 1 abr. 2015.

JIN, Z.; WANG, S.; WANG, J.; ZHAO, M.; GAO, S. **Effect of Coagulation Bath Conditions on the Properties of Cellulose Packaging Films From Ionic Liquid [BMIM] Cl**. Proceedings of the 17th IAPRI world conference on packaging. **Anais...**2010.

JIN CHO, E. et al. An integrated process for conversion of spent coffee grounds into value-added materials. **Bioresource Technology**, v. 346, n. December 2021, p. 126618, fev. 2022.

JUNG, H. Y. et al. Lignin-Based Materials for Sustainable Rechargeable Batteries. p. 1–23, 2022.

KAFEEFORM. **Kafee Form**. Disponível em: <<https://www.kaffeeform.com/de/>>. Acesso em: 23 mar. 2021.

KANAI, N.; YOSHIHARA, N.; KAWAMURA, I. Solid-state NMR characterization of triacylglycerol and polysaccharides in coffee beans. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 83, n. 5, p. 803–809, 2019.

KARMEE, S. K. A spent coffee grounds based biorefinery for the production of biofuels, biopolymers, antioxidants and biocomposites. **Waste Management**, v. 72, p. 240–254, 2018.

KEMSLEY, E. K.; RUAULT, S.; WILSON, R. H. Discrimination between *Coffea arabica* and *Coffea canephora* variant robusta beans using infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 54, n. 3, p. 321–326, 1 jan. 1995.

KHALID, M. Y.; ARIF, Z. U. Novel biopolymer-based sustainable composites for food packaging applications: A narrative review. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 33, n. June, p. 100892, 2022.

KIM, J. Y. et al. Coffee Melanoidin-Based Multipurpose Film Formation: Application to Single-Cell Nanoencapsulation. **ChemNanoMat**, v. 6, n. 3, p. 379–385, 2020.

LABCONCO, C. **A guide to Kjeldahl nitrogen determination methods and apparatus**. Houston, EUA, 1998.

LALIA, B. S. .; KOCHKODAN, V.; HASHAIKEH, R. .; HILAL, N. A review on membrane fabrication: Structure, properties and performance relationship. **Desalination**, v. 326, p. 77–95, 2013.

LATTNER, D.; FLEMMING, H. C.; MAYER, C. ¹³C-NMR study of the interaction of bacterial alginate with bivalent cations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 33, n. 1–3, p. 81–88, 2003.

LE, H. T. et al. Impact of Hydrogen Peroxide on the Activity, Structure, and Conformational Stability of the Oxidized Protein Repair Enzyme Methionine Sulfoxide Reductase A. **Journal of Molecular Biology**, v. 393, n. 1, p. 58–66, 2009.

LEYVA-JIMÉNEZ, F. J. et al. Comprehensive review of natural based hydrogels as an upcoming trend for food packing. **Food Hydrocolloids**, v. 135, n. August 2022, 2023.

LI, J. et al. Improving surface and mechanical properties of alginate films by using ethanol as a co-solvent during external gelation. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 208–216, 2015.

LIANG, N. et al. Application of Attenuated Total Reflectance-Fourier Transformed Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy to Determine the Chlorogenic Acid Isomer Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 681–689, 2016.

LIN, M. et al. Zinc chloride aqueous solution as a solvent for starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 266–273, 2016.

LIU, S.; ZHANG, L. Effects of polymer concentration and coagulation temperature on the properties of regenerated cellulose films prepared from LiOH/urea solution. **Cellulose**, v. 16, n. 2, p. 189–198, 2009.

LIU, C. et al. Borax crosslinked fenugreek galactomannan hydrogel as potential water-retaining agent in agriculture. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, n. December 2019, p. 116100, 2020.

LIU, Q. et al. Interactions of biomass components during pyrolysis: A TG-FTIR study. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 90, n. 2, p. 213–218, 2011.

LIU, X. et al. Revisiting the contribution of ATR-FTIR spectroscopy to characterize plant cell wall polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 262, n. March, p. 117935, 2021.

LOMBO VIDAL, O. et al. Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 146, p. 730–738, 2020.

LOPES, G. R. et al. Carbohydrates as targeting compounds to produce infusions resembling espresso coffee brews using quality by design approach. **Food Chemistry**, v. 344, p. 128613, 15 maio 2021.

LU, F.; YUE, F. **LIGNIN BIOSYNTHESIS, FUNCTIONS AND ECONOMIC SIGNIFICANCE**. New York: Nova Science Publishers, 2019.

MA, X.; YU, J. Formamide as the plasticizer for thermoplastic starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93, n. 4, p. 1769–1773, 2004.

MAJID, I. et al. Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 4, p. 454–462, 2018.

MARECHAL, Y.; CHANZY, H. The Hydrogen Bond Network in I β as observed by IR spectrometry. **Journal of Molecular Structure**, p. 183–196, 2000.

MARTINEZ-SAEZ, N. et al. Use of spent coffee grounds as food ingredient in bakery products. **Food Chemistry**, v. 216, p. 114–122, 2017.

MARTO, J. et al. The green generation of sunscreens: Using coffee industrial sub-products. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 93–100, 2016.

MASINO, F. et al. Sensory evaluation and mixture design assessment of coffee-flavored liquor obtained from spent coffee grounds. **Food Quality and Preference**, v. 96, n. March 2021, p. 104427, 2022.

MATHEW, A. P.; PACKIRISAMY, S.; THOMAS, S. Studies on the thermal stability of natural rubber/polystyrene interpenetrating polymer networks: Thermogravimetric analysis. **Polymer Degradation and Stability**, v. 72, n. 3, p. 423–439, 1 jun. 2001.

MATHUR, N. K. **Industrial galactomannan polysaccharides**. [s.l: s.n.].

MCNUTT, J.; HE, Q. (SOPHIA). **Spent coffee grounds: A review on current utilization**. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry** Korean Society of Industrial Engineering Chemistry, , 25 mar. 2019.

MEDINA JARAMILLO, C. et al. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, out. 2016.

MELLINAS, C. et al. Active edible films: Current state and future trends. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 2, 1 jan. 2016.

MENDES, J. F. et al. Development and physical-chemical properties of pectin film reinforced with spent coffee grounds by continuous casting. **Carbohydrate Polymers**, v. 210, n. January, p. 92–99, 2019.

MOEENFARD, M. et al. Quantification of diterpenes and their palmitate esters in coffee brews by HPLC-DAD. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 10, p. 2284–2299, 2015.

MOHAMED, M. A. et al. Physicochemical properties of “green” nanocrystalline cellulose isolated from recycled newspaper. **RSC Advances**, v. 5, n. 38, p. 29842–29849, 27 mar. 2015.

MOHAN, D.; PITTMAN, C. U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: A critical review. **Energy and Fuels**, v. 20, n. 3, p. 848–889, 2006.

MONDAL, S. Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 163, p. 301–316, 2017.

MOREIRA, A. S. P. et al. Coffee melanoidins: Structures, mechanisms of formation and potential health impacts. **Food and Function**, v. 3, n. 9, p. 903–915, 2012a.

MOREIRA, A. S. P. et al. Coffee melanoidins: Structures, mechanisms of formation and potential health impacts. **Food and Function**, v. 3, n. 9, p. 903–915, 2012b.

MOREIRA, A. S. P. et al. Transglycosylation reactions between galactomannans and arabinogalactans during dry thermal treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 48–55, 4 nov. 2014.

MOREIRA, A. S. P. et al. Galactomannans in Coffee. In: **Coffee in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. p. 173–183.

MORRISON, L. **BBC - Capital - The people getting rich off the discards of our addiction**. Disponível em: <<https://www.bbc.com/worklife/article/20160818-the-people-getting-rich-off-the-discards-of-our-addiction>>. Acesso em: 31 maio. 2021.

MULDER, J. **Basic principles of membrane technology**. 2^a ed. [s.l.] Springer Science & Business Media, 1996.

MUSSATTO, S. I. et al. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 368–374, 10 jan. 2011.

NOGUEIRA, R. F. et al. The Use of Solid State NMR to Evaluate the Carbohydrates in Commercial Coffee Granules. **Food and Nutrition Sciences**, v. 02, n. 04, p. 350–355, 2011.

NUNES, F. M. et al. Rhamnoarabinosyl and rhamnoarabinoarabinosyl side chains as structural features of coffee arabinogalactans. **Phytochemistry**, v. 69, n. 7, p. 1573–1585, 1 maio 2008.

NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A. Chemical characterization of the high molecular weight material extracted with hot water from green and roasted arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 1773–1782, 2001.

NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A. Chemical characterization of the high-molecular-weight material extracted with hot water from green and roasted robusta coffees as affected by the degree of roast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 24, p. 7046–7052, 2002.

NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A. **Melanoidins from coffee infusions. Fractionation, chemical characterization, and effect of the degree of roast.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **Anais...** 16 maio 2007.

NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A. Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 1, p. 171–185, 2010.

O'RIGHT. O'RIGHT. Disponível em: <<http://www.orient.com.tw/web/index.php?lang=en>>. Acesso em: 23 mar. 2021.

OESTREICH-JANZEN, S. Chemistry of Coffee. In: **Comprehensive Natural Products II**. Oxford: Elsevier Ltd, 2010. p. 1085–1117.

OLIVAS, G. I.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Alginate-calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 2, p. 359–366, 2008.

OLSSON, E. et al. The effect of pH on hydrolysis, cross-linking and barrier properties of starch barriers containing citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1505–1513, 2013.

OOSTERVELD, A. et al. Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 3, p. 285–296, 15 maio 2003.

ORECCHIO, S.; AMORELLO, D.; BARRECA, S. Analysis of contaminants in beverages. In: **Quality Control in the Beverage Industry: Volume 17: The Science of Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 225–258.

PANDELE, A. M. et al. Synthesis and characterization of cellulose acetate-hydroxyapatite micro and nano composites membranes for water purification and biomedical applications. **Vacuum**, v. 146, p. 599–605, 2017.

PAPPIN, B.; J., M.; A., T. Boron-Carbohydrate Interactions. In: **Carbohydrates - Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology**. [s.l.] InTech, 2012. v. 59p.

577–584.

PARADKAR, M. M.; IRUDAYARAJ, J. Rapid determination of caffeine content in soft drinks using FTIR-ATR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 261–266, 2002.

PASSOS, C. P. et al. Sequential microwave superheated water extraction of mannans from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 333–338, 2014.

PASSOS, C. P.; COIMBRA, M. A. Microwave superheated water extraction of polysaccharides from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 626–633, 2013.

PAVLATH, A. E. et al. Ionomeric films of alginic acid. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 61–63, 1999.

PAWAR, H. A.; LALITHA, K. G. Isolation, purification and characterization of galactomannans as an excipient from Senna tora seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 167–175, 2014.

PEREIRA, P. H. F. et al. Wheat straw hemicelluloses added with cellulose nanocrystals and citric acid. Effect on film physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 317–324, 2017.

PETRACCO, M. Technology IV: Beverage Preparation: Brewing Trends for the New Millennium. In: **Coffee: Recent Developments**. [s.l.] wiley, 2008. p. 140–164.

PIÑEIRO-GARCÍA, A. et al. Reduced graphene oxide coating with high performance for the solid phase micro-extraction of furfural in espresso coffee. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 14, n. 1, p. 314–321, 1 fev. 2020.

PRAJAPATI, V. D. et al. **Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide**. **International Journal of Biological Macromolecules** Elsevier, , 1 set. 2013.

PUJOL, D. et al. The chemical composition of exhausted coffee waste. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 423–429, 2013.

QASIM, U. et al. Isolation of Cellulose from Wheat Straw Using Alkaline Hydrogen Peroxide and Acidified Sodium Chlorite Treatments: Comparison of Yield and Properties. **Advances in Polymer Technology**, v. 2020, 2020.

RAGUSA, A. et al. Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. **Polymers**, v. 14, n. 13, p. 1–14, 2022.

RAMAJO, L. A.; TAUB, J.; CASTRO, M. S. Effect of ZnO addition on the structure, microstructure and dielectric and piezoelectric properties of K_{0.5}Na_{0.5}NbO₃ Ceramics. **Materials Research**, v. 17, n. 3, p. 728–733, 2014.

REDGWELL, R. J. et al. Coffee bean arabinogalactans: Acidic polymers covalently linked to protein. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 3, p. 239–253, 11 fev. 2002a.

REDGWELL, R. J. et al. Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 5, p. 421–431, 1 mar. 2002b.

REIS, N. et al. Simultaneous Detection of Multiple Adulterants in Ground Roasted Coffee by ATR-FTIR Spectroscopy and Data Fusion. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 8, p. 2700–2709, 2017.

REIS, N.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics. **Talanta**, v. 115, p. 563–568, 2013a.

REIS, N.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Discrimination between roasted coffee, roasted corn and coffee husks by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 715–722, 2013b.

REN, J.; WANG, R. Preparation of Polymeric Membranes. In: WANG, L. K.; CHEN, J. P. (Ed.). **Membrane and Desalination Technologies**. [s.l.] Totowa, NJ: Humana Press, 2011. p. 47–100.

RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 323–330, 2004.

RIBEIRO, J. S.; SALVA, T. J.; FERREIRA, M. M. C. Chemometric studies for quality control of processed brazilian coffees using drifts. **Journal of Food Quality**, v. 33, n. 2, p. 212–227, 2010.

RODRIGUEZ, S.; TORRES, F. G.; LÓPEZ, D. Preparation and characterization of

polysaccharide films from the cyanobacteria *Nostoc commune*. **Polymers from Renewable Resources**, v. 8, n. 4, p. 133–150, 2017.

ROTJAN, R. D. et al. Patterns, dynamics and consequences of microplastic ingestion by the temperate coral, *Astrangia poculata*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 286, n. 1905, 26 jun. 2019.

RUIZ-DUEÑAS, F. J.; MARTÍNEZ, Á. T. Microbial degradation of lignin: How a bulky recalcitrant polymer is efficiently recycled in nature and how we can take advantage of this. **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 2 SPEC. ISS., p. 164–177, 2009.

SABET, S. et al. The interactions between the two negatively charged polysaccharides: Gum Arabic and alginate. **Food Hydrocolloids**, v. 112, n. September 2020, p. 106343, 2021.

SALAMANCA, C. A. et al. Extraction of espresso coffee by using gradient of temperature. Effect on physicochemical and sensorial characteristics of espresso. **Food Chemistry**, v. 214, p. 622–630, 1 jan. 2017.

SAMPAIO, A. et al. Production, chemical characterization, and sensory profile of a novel spirit elaborated from spent coffee ground. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 557–563, 1 dez. 2013.

SANNIGRAHI, P.; MILLER, S. J.; RAGAUSKAS, A. J. Effects of organosolv pretreatment and enzymatic hydrolysis on cellulose structure and crystallinity in Loblolly pine. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 7, p. 965–970, 2010.

SAYYED, A. J. et al. Effect of ultrasound treatment on swelling behavior of cellulose in aqueous N-methyl-morpholine-N-oxide solution. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 49, n. July, p. 161–168, 2018.

SCHENKER, S. et al. Pore structure of coffee beans affected by roasting conditions. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 452–457, 2000.

SELIGRA, P. G. et al. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 66–74, 2016.

SEN, S.; MARTIN, J. D.; ARGYROPOULOS, D. S. Review of cellulose non-derivatizing solvent interactions with emphasis on activity in inorganic molten salt hydrates. **ACS**

Sustainable Chemistry and Engineering, v. 1, n. 8, p. 858–870, 2013.

SERRANO-LEÓN, J. S. et al. Chitosan active films containing agro-industrial residue extracts for shelf life extension of chicken restructured product. **Food Research International**, v. 108, p. 93–100, 1 jun. 2018.

SILLS, D. L.; GOSSETT, J. M. Using FTIR to predict saccharification from enzymatic hydrolysis of alkali-pretreated biomasses. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 2, p. 353–362, 1 fev. 2012.

SILVA, D. J. .; QUEIROZ, A. C. **Anáise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3^a ed. Viçosa: Editora UFV, 2002.

SIMÕES, J. et al. Immunostimulatory properties of coffee mannans. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 53, n. 8, p. 1036–1043, 1 ago. 2009.

SIMÕES, J. et al. Extractability and structure of spent coffee ground polysaccharides by roasting pre-treatments. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n. 1, p. 81–89, 2013.

SIMÕES, J. et al. Thermal stability of spent coffee ground polysaccharides: Galactomannans and arabinogalactans. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 256–264, 2014.

SIMÕES, J. et al. Polysaccharides and Other Carbohydrates. In: **Coffee: Production, Quality and Chemistry**. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2019. p. 445–457.

SKJÅK-BRÆK, G.; GRASDALEN, H.; SMIDSRØD, O. Inhomogeneous polysaccharide ionic gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 10, n. 1, p. 31–54, 1 jan. 1989.

SLAVUTSKY, A. M.; BERTUZZI, M. A. Improvement of water barrier properties of starch films by lipid nanolamination. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 7, p. 41–46, 1 mar. 2016.

SLUITER, A. et al. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. **Biomass Analysis Technology Team Laboratory Analytical Procedure**, n. August, p. 1–14, 2012.

SUDARSHAN SINGH; WARANGKANA CHUNGLOK. **Biopolymers Towards Green and Sustainable Development**. Singapore: Bentham Books, 2022.

SYNYTSYA, A.; NOVAK, M. Structural analysis of glucans. **Annals of Translational**

Medicine, v. 2, n. 2, p. 1–14, 2014.

SZYMANSKA-CHARGOT, M. et al. Combining FT-IR spectroscopy and multivariate analysis for qualitative and quantitative analysis of the cell wall composition changes during apples development. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 93–103, 2015.

SZYMANSKA-CHARGOT, M.; ZDUNEK, A. Use of FT-IR Spectra and PCA to the Bulk Characterization of Cell Wall Residues of Fruits and Vegetables Along a Fraction Process. p. 29–42, 2013.

TAPPI. Lignin in Wood and Pulp. **T222 Om-02**, p. 1–7, 2006.

THOMBARE, N. et al. Borax cross-linked guar gum hydrogels as potential adsorbents for water purification. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 274–281, 15 jul. 2017.

TOBIMATSU, Y. et al. Coexistence but independent biosynthesis of catechyl and guaiacyl/syringyl lignin polymers in seed coats. **Plant Cell**, v. 25, n. 7, p. 2587–2600, 2013.

VALENCIA-CHAMORRO, S. A. et al. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 9, p. 872–900, out. 2011.

VIEIRA, M. C.; GIL, A. M. A solid state NMR study of locust bean gum galactomannan and Konjac glucomannan gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 4, p. 439–448, 2005.

VINCOTTE. Requirements of the EN 13432 Standard. v. 32, n. 0, p. 13432, 2014.

WANG, L. F.; SHANKAR, S.; RHIM, J. W. Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 201–208, 2017.

WANG, N.; LIM, L. T. Fourier transform infrared and physicochemical analyses of roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 21, p. 5446–5453, 2012.

WANG, Q. et al. Characterization and functional assessment of alginate fibers prepared by metal-calcium ion complex coagulation bath. **Carbohydrate Polymers**, v. 232, n. November 2019, p. 115693, 2020.

WASUPALLI, G. K.; VERMA, D. Polysaccharides as biomaterials. In: **Fundamental**

Biomaterials: Polymers. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 37–70.

WEI, F.; TANOKURA, M. Organic Compounds in Green Coffee Beans. In: **Coffee in Health and Disease Prevention.** [s.l.] Elsevier Inc., 2015a. p. 149–162.

WEI, F.; TANOKURA, M. Chemical Changes in the Components of Coffee Beans during Roasting. In: **Coffee in Health and Disease Prevention.** [s.l.] Elsevier Inc., 2015b. p. 83–91.

XU, F. et al. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review. **Applied Energy**, v. 104, p. 801–809, 2013.

XU, H.; LI, B.; MU, X. Review of Alkali-Based Pretreatment to Enhance Enzymatic Saccharification for Lignocellulosic Biomass Conversion. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 55, n. 32, p. 8691–8705, 2016.

XU, Q. et al. A facile route to prepare cellulose-based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 274–281, 20 set. 2016.

YANG, H. et al. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. **Fuel**, v. 86, n. 12–13, p. 1781–1788, 2007.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos.** IV ed. São Paulo: [s.n.].

ZHANG, H. et al. Improved thermal stability of regenerated cellulose films from corn (*Zea mays*) stalk pith using facile preparation with low-concentration zinc chloride dissolving. **Carbohydrate Polymers**, v. 217, n. May 2018, p. 190–198, 2019.