

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA

MICHELLE J. P. DE AZEVEDO BATISTA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES DERIVADOS DA BORRA DE CAFÉ
SUBMETIDA A TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO ALCALINO

Belo Horizonte
2017

MICHELLE J. P. DE AZEVEDO BATISTA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES DERIVADOS DA BORRA DE CAFÉ
SUBMETIDA A TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO ALCALINO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial à obtenção do grau
de Mestra em Ciência dos Alimentos.
Área de Concentração: Química e
Bioquímica de Alimentos
Orientador: Leandro de Oliveira Soares –
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte
2017

B333d Batista, Michelle J. P. de Azevedo.
Desenvolvimento e caracterização de filmes derivados da
borra de café submetida a tratamento com peróxido de
hidrogênio alcalino / Michelle J. P. de Azevedo Batista. –
2017.
106 f. : il.

Orientador: Leandro de Oliveira Soares.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas
Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Borra de café – Teses. 2. Peróxido de hidrogênio –
Teses. 3. Biopolímeros – Teses. 4. Polissacarídeos – Teses.
5. Celulose – Teses. I. Soares, Leandro de Oliveira. II.
Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Farmácia. III. Título.

CDD: 663.93



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

FOLHA DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DERIVADOS DA BORRA DE CAFÉ SUBMETIDA A TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO

MICHELLE JENNIFER PEREIRA DE AZEVEDO BATISTA

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

Aprovada em 03 de agosto de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Dr. Leandro Soares de Oliveira (Orientador)
Escola de Engenharia - UFMG

Prof. Dr. Antonio Ferreira Avila
Escola de Engenharia - UFMG

Profa. Dra. Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia
Faculdade de Farmácia - UFMG

Profa. Dra. Camila Argenta Fante
Faculdade de Farmácia - UFMG

Belo Horizonte, 3 de agosto de 2017.

Dedico a minha família.
Meus pais, Antônio e Maria, meu marido, Heide, e
meus irmãos, Amanda e Vitor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me sustentou até aqui e me deu forças para continuar, a meu marido pelo suporte e incentivo nos momentos mais difíceis, a minha família pelo carinho e apoio desde sempre, principalmente meus pais que fizeram tudo que puderam por mim.

Agradeço a meu orientador Leandro pela oportunidade, aprendizado e desenvolvimento profissional e pessoal.

Agradeço a Adriana pelo aprendizado e apoio no laboratório.

Agradeço aos meus amigos que são como minha família por me escutarem e me apoiarem durante todo o mestrado.

Agradeço aos meus amigos do laboratório por tornarem os dias de pesquisa mais alegres. Agradeço em especial a Andréia, ao Fernando, a Daniela e ao Vitor pelas ideias e suporte durante todo o trabalho.

Agradeço ao Professor Antônio Ferreira Ávila (DEMEC) por possibilitar a realização dos ensaios de tração e pela ajuda com as análises.

Agradeço a Professora Maria Irene Yoshida (DQ) por possibilitar a realização das análises de TGA/DSC e pela ajuda com as mesmas.

Agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O café é umas das bebidas mais populares do mundo. Apenas em 2016, foram consumidas cerca de 9,3 milhões de toneladas. Desta maneira, o descarte da borra de café se torna um problema ambiental, pois todo ano são produzidos cerca de 7 milhões de toneladas deste resíduo. Só o Brasil, maior produtor mundial de café e segundo maior consumidor, descartou quase um milhão de toneladas de borra de café em 2016. Contudo, este resíduo é rico em compostos orgânicos, como ácidos graxos, aminoácidos, polifenóis e principalmente em polissacarídeos, os quais representam cerca de 50 % da matéria seca em massa, sendo capaz de gerar produtos de valor agregado se lhes forem dados destinos adequados. As galactomananas e a celulose do café são excelentes polissacarídeos para o desenvolvimento de embalagens de biopolímeros, as quais, por sua vez, têm sido estudadas amplamente nos últimos anos, visto que o descarte de embalagens sintéticas tem causado sérios problemas ambientais. As galactomananas do café foram determinadas como sendo de baixo grau de ramificação e elevado grau de polimerização, características desejáveis para polissacarídeos formadores de biomateriais. Neste trabalho, por meio de tecnologia sustentável, foram desenvolvidos filmes derivados de materiais provenientes da borra de café deslignificada com peróxido de hidrogênio alcalino. As diferenças de tratamentos consistiram em variar as concentrações da solução de peróxido alcalino: 15, 25, 35 e 45 % (v/v). Os materiais deslignificados foram caracterizados para a elaboração dos filmes. Foi utilizada solução de cloreto de zinco para dissolver o material rico em galactomananas e celulose, além disso, adicionou-se cloreto de cálcio à solução de preparo do filme com o objetivo de melhorar as propriedades do biomaterial como permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas, produzindo um filme mais coeso. O material proveniente da borra de café submetida a tratamento com solução 35 % H_2O_2 proporcionou filmes com as propriedades mais desejáveis para a produção dos biomateriais, os quais apresentaram resistência à tração de $5,971 \pm 2,107 \text{ N/mm}^2$, valor de permeabilidade ao vapor de água igual a $1,44 \pm 0,10 \text{ g.mm/m}^2.\text{h.kPa}$, e temperatura de transição vítrea igual a $-2,26^\circ\text{C}$. Os filmes apresentaram características promissoras, contudo mais pesquisas são necessárias para o aprimoramento das propriedades dos filmes desenvolvidos e viabilidade da produção.

Palavras chaves: Galactomananas. Celulose. Precipitação por imersão. Cloreto de Zinco. Filmes de biopolímeros.

ABSTRACT

Coffee is one of the world's most popular beverages. Its consumption was about 9.3 million tons in 2016. Because of that, spent coffee grounds constitute a huge environmental issue, since about 7 million tons are generated annually and appropriate treatments for such residues are yet to be developed. Brazil is the largest coffee producer and the second consumer in the world, thus have produced almost a million tons of spent coffee grounds in 2016. Spent coffee grounds contain large amounts of organic compounds such as fatty acids, amino acids, polyphenols, minerals, and polysaccharides must amounts to approximately 50 % of the total mass. Therefore, coffee residues must be exploited as a source of value-added products. Coffee polysaccharides are excellent for biopolymer packaging development, for they are comprised mostly of galactomannans and cellulose. Researchers have been conducting plenty of studies on biomaterials in the last decades, since the accumulation of synthetic polymers has been causing serious environmental problems. Coffee galactomannan has low degree of branching and high degree of polymerization, which are good characteristics for making biopolymer films. In this research were developed films from delignified spent coffee grounds treated with alkaline peroxide hydrogen. Solutions with varied concentrations: 15, 25, 35 and 45 % (v/v). The delignified material was characterized and analysed. A zinc chloride solution was employed to dissolve the extracted galactomannans and cellulose and calcium chloride improved film properties, such as water vapour permeability and mechanical. The material from delignified spent coffee grounds treated with 35 % H_2O_2 has provided a better film than the others. That biomaterial presented tensile strength value of $5,971 \pm 2,107 \text{ N/mm}^2$, water vapor permeability of $1,44 \pm 0,10 \text{ g.mm/m}^2\text{.h.kPa}$ and glass transition temperatura of $-2,26 \text{ }^\circ\text{C}$. The films presented promising characteristics, besides more researches should be done to the improvement of the properties of these biomaterials.

Key words: Galactomannans. Cellulose. Precipitation by immersion. Zinc Chloride. Biopolymer films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Foto dos frutos café cereja	16
Figura 2.2: Fotos do café fruta. a) polpa (mucilagem e casca) parcialmente removidos e b) seção transversa do fruto.....	17
Figura 2.3: Estrutura molecular das galactomananas goma guar e goma de alfarroba. Fonte: adaptado de Dufficy <i>et al.</i> (2015).	20
Figura 2.4: Representação esquemática de galactomananas isoladas do grão de café cru. Fonte: Preedy (2015).....	21
Figura 2.5: Representação esquemática de uma das possíveis estruturas de arabinogalactanas que foi isolada do grão de café cru por extração com água quente. Fonte: Preedy (2015).	23
Figura 2.6: Estrutura molecular da celulose. Fonte: adaptado de Poletto <i>et al.</i> (2003).	24
Figura 2.7: Arranjo estrutural da celulose, hemicelulose e lignina nas paredes celulares de materiais lignocelulósicos. Fonte: adaptado de Brandt <i>et al.</i> (2013)	25
Figura 2.8: Formação de interações intermoleculares entre o polissacarídeos e água. Fonte: Nieto (2009).....	30
Figura 2.9: Transferência de massa durante a formação de membranas poliméricas via precipitação por imersão. Fonte: adaptado de Habert <i>et al.</i> (2006).	34
Figura 3.1: Foto de amostra proveniente de tratamento da borra de café com H ₂ O ₂ alcalino.	36
Figura 3.2: Foto de cromatógrafo gasoso Varian 3900	43
Figura 3.3: Diagrama do sólido de cor no espaço L*, a*, b*. Fonte: Machado <i>et al.</i> (1997)	45
Figura 3.4: Foto de preparação do filme em banho maria e sob agitação mecânica....	47
Figura 3.5: Foto do ensaio de tração, momento da ruptura do corpo de prova.....	51
Figura 4.1: Foto da borra de café e dos materiais provenientes desta, representados nesta ordem da esquerda para esquerda para direita: borra de café, P15, P25, P35 e P45.	57
Figura 4.2: Círculo cromático CIELAB. Fonte: Konica Minolta	58
Figura 4.3: Espectros da borra de café e das amostras P15, P25, P35 e P45.....	59
Figura 4.4: Curvas de TGA das amostras de borra de café, P15, P25, P35 e P45.	63
Figura 4.5: Curvas de DTG das amostras de borra de café, P15, P25, P35 e P45.	63

Figura 4.6: Foto de filme coagulado por técnica de inversão de fase via precipitação por imersão.	66
Figura 4.7: Exemplo de filme com ondulação.	67
Figura 4.8: Foto de filme desenvolvido (F35)	67
Figura 4.9: Foto dos filmes desenvolvidos (amostra F15).....	70
Figura 4.10: Análise dos filmes (a) Curvas de TGA; (b) Curvas da DTG; (c) Curvas da DTG adaptadas para comparação das amostras.	72
Figura 4.11: Esquema das interações dos íons Zn^{2+} e Ca^{2+} com a celulose na solução de preparo dos filmes.	73
Figura 4.12: Curvas da TGA das amostras (a) P15 e F15; (b) P25 e F25; (c) P35 e F35; (d) P45 e F45.	74
Figura 4.13: Curvas da DTG das amostras (a) P15 e F15; (b) P25 e F25; (c) P35 e F35; (d) P45 e F45.	74
Figura 4.14: Espectros dos filmes desenvolvidos F15, F25, F35 e F45.	77
Figura 4.15: Espectros das amostras P15, P25, P35 e P45.	78
Figura 4.16: Esquema das principais interações das cadeias de celulose. (a) Forte interação entre as cadeias de celulose nativa por meio de ligação de hidrogênio. (b) Ligação entre íons Zn^{2+} e cadeias de celulose. (c) <i>Crosslinking</i> entre cadeias de celulose e íons Ca^{2+} . Fonte: Xu <i>et al.</i> (2016).....	79
Figura 4.17: Curvas da tensão versus deformação das amostras dos filmes; (a) filmes F15; (b) filmes F25; (c) filmes F35; (d) filmes F45.....	82
Figura 4.18: Estão destacadas porções mais escuras no filme e são exemplos de inclusões.	82
Figura 4.19: Foto da amostra F156, rompido causado por inclusões.....	83
Figura 4.20: Foto de amostra F152, rompimento na inclusão.	83
Figura 4.21: Foto da amostra F153 (rompimento por falha no corte).....	83
Figura 4.22: Foto da amostra F353, não rompeu durante o ensaio de tração.	84
Figura 4.23: Foto da amostra F456, maior concentração de inclusões próximo à região de rompimento.....	84
Figura 5.1: Protetor de frutos. Fonte: Página de Cultura Mix.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Determinação do rendimento dos tratamentos realizados sobre a borra de café.....	52
Tabela 4.2: Composição físico-química do material proveniente da borra de café. ...	53
Tabela 4.3: Composição dos monossacarídeos das amostras P15, P25, P35 e P45.....	55
Tabela 4.4: Resultados dos parâmetros L^* , h^* e c^* das amostras de BC, P15, P25, P35 e P45.....	57
Tabela 4.5: Dados das curvas TGA e DTG das amostras de borra de café, P15, P25, P35 e P45.....	64
Tabela 4.6: Espessura e valor de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes desenvolvidos.	68
Tabela 4.7: Resultados dos parâmetros de cor L^* , h^* e c^* das amostras dos filmes. ..	70
Tabela 4.8: Dados das curvas TGA e DTG dos filmes F15, F25, F35 e F45.	71
Tabela 4.9: Temperatura de transição dos filmes.....	76
Tabela 4.10: Média dos valores da resistência a tração dos filmes.	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a* - Parâmetro CIELAB relacionado a tonalidades de vermelho a verde
AGP - Arabinogalactanas-proteínas
AI – Área com inclusões
ANOVA – Análise de variância
ASTM – Sociedade Americana para Testes de materiais
ATR – Reflectância total atenuada
b* - Parâmetro CIELAB relacionado a tonalidades de amarelo a azul
BC - Borra de café
C – Croma
CIELAB – Sistemas de cores substrativas
CMC - Carboximetilcelulose
DCN - Diclorometano
DLATGS – Sulfato de Triglicina Deuterado dopado com L-Alanina
DMSO - Sulfóxido dimetil
DSC – Calorimetria diferencial de varredura
DTG – Derivada da curva da análise de termogravimetria
F15 – Filmes derivados de P15
F25 – Filmes derivados de
F35 – Filmes derivados de P35
F45 – Filmes derivados de P45
FRP - Frações ricas em polissacarídeos
FTIR – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
GG – Goma Guar
ICO - Organização Internacional de Café
L* – Luminosidade
LBG – Goma de alfarroba (locusta bean gum)
M/G - Razão entre os resíduos dos monossacarídeos manose e galactose
NS – Não solvente
P15 - Borra de café submetida a tratamento com solução de 15% de H₂O₂ alcalino
P25 - Borra de café submetida a tratamento com solução de 25% de H₂O₂ alcalino
P35 - Borra de café submetida a tratamento com solução de 25% de H₂O₂ alcalino
P45 - Borra de café submetida a tratamento com solução de 45% de H₂O₂ alcalino
PHA -Peróxido de hidrogênio alcalino
PTFE - Politetrafluoretileno
PVA - Permeabilidade ao vapor de água
PVDF - fluoreto de polivinilideno
TFA - Ácido trifluoro acético
Tg – Temperatura de transição vítrea
TGA – Termogravimetria
TTVA - Taxa de transmissão ao vapor de água

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	BORRA DE CAFÉ (BC).....	16
2.2	PRINCIPAIS POLISSACARÍDEOS DA BORRA DE CAFÉ	18
2.3	DESLIGNIFICAÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS VIA PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO (PHA)	25
2.4	FILMES DE BIOPOLÍMEROS.....	28
2.4.1	FILMES DE POLISSACARÍDEOS.....	29
2.4.2	FORMAÇÃO DE FILMES POR INVERSÃO DE FASES	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1	BORRA DE CAFÉ ESPRESSO	35
3.1.1	PREPARAÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS (FRP)...	35
3.1.2	CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS....	36
3.2	FILMES	46
3.2.1	PREPARAÇÃO DOS FILMES	46
3.2.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS (FRP) 52	
4.1.1	OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS.....	52
4.1.2	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	52
4.1.3	DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES NEUTROS DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS POR CROMATOGRAFIA A GÁS	54
4.1.4	ANÁLISE COLORIMÉTRICA.....	57
4.1.5	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	59
4.1.6	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA - TGA.....	62
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DESENVOLVIDOS.....	66
4.2.1	ANÁLISE DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)	67
4.2.2	ANÁLISE COLORIMÉTRICA.....	69
4.2.3	ANÁLISE TÉRMICA - DSC e TGA/DTG	70
4.2.4	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	76
4.2.5	ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE TRAÇÃO	80
5	CONCLUSÃO E SUGESTÕES.....	85

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
---	---	-----------

1 INTRODUÇÃO

O café é a bebida mais consumida do mundo e o segundo produto mais comercializado, ficando atrás apenas do petróleo (Campos-Vega *et al.*, 2015). Em 2016, a produção de café mundial foi estimada em 9 milhões de toneladas. Neste mesmo ano, apenas o Brasil como maior produtor e exportador mundial, produziu cerca de 3 milhões de toneladas de grãos de café (International Coffee Organization, 2017). Estima-se que, para cada tonelada de grão de café produzido, uma tonelada de resíduos, casca e polpa, são gerados. Para a produção da bebida, cerca de 90% do fruto torna-se resíduo e conseqüentemente, em 2016, de modo geral, produziu-se cerca de 15 milhões de toneladas de resíduos, sendo que a borra de café decorrente da extração aquosa dos grãos torrados representa aproximadamente 7,5 milhões de toneladas (Campos-Vega *et al.*, 2015). Muitos estudos, atualmente, têm sido direcionados para o descarte adequado desses resíduos, que é uma preocupação ambiental e além disso, existem outros problemas específicos, como a utilização da borra de café para adulterar o café em pó (Cruz *et al.*, 2012; Reis *et al.*, 2013).

Embora a borra de café seja direcionada para compostagem, crescimento de cogumelos e até para produção de bioenergia, esta é rica em compostos orgânicos como ácidos graxos, lignina, celulose, hemicelulose e outros polissacarídeos e por isso a utilização da mesma como matéria-prima para produtos com maior valor agregado é mais interessante economicamente, além de ser uma alternativa que contribui para reduzir os impactos ambientais causados pela produção de café (Campos-Vega *et al.*, 2015).

Entre os principais polissacarídeos da borra de café estão as galactomananas e a celulose que podem ser fontes naturais para a produção de filmes ou revestimentos biodegradáveis, pois não apresentam toxicidade, são quimicamente estáveis e biodegradáveis (Mikkonen *et al.*, 2007; Cerqueira, Bourbon, *et al.*, 2011; Dos Santos *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2016; Canavaro *et al.*, 2017).

Os filmes de biopolímeros têm sido considerados uma importante opção para substituir alguns materiais e embalagens sintéticos, principalmente em países com aterro sanitário, visto que muitos biomateriais são biodegradáveis (Ballesteros *et al.*, 2015; Moreira, 2015). As embalagens plásticas convencionais são derivadas principalmente do petróleo e geralmente causam problemas ambientais, pois são resistentes a degradação e, para as respectivas manufaturas, consomem-se recursos não-renováveis (Degruson, 2016). Em 2015, foram produzidos 49 milhões de toneladas de materiais plásticos na Europa, sendo que as embalagens representaram 40 % da produção total (Plastics Europe, 2015).

Os biopolímeros podem ser extraídos da biomassa tais como polissacarídeos e proteínas, produzidos por micro-organismos ou ainda quimicamente sintetizados usando monômeros de fonte agrícola (Galgano, 2015; Degruson, 2016). O uso de biopolímeros em embalagens vem sendo pesquisado, uma vez que contribui para o desenvolvimento sustentável de materiais e reservas de petróleo são recursos não-renováveis, além disso, as regulamentações têm se tornado mais rigorosas, a fim de reduzir os impactos ambientais causados pelas embalagens convencionais (Cruz-Romero & Kerry, 2008).

Em busca de reduzir os problemas causados pela produção e descarte dos materiais convencionais e tendo em vista a grande quantidade de resíduos gerados pela produção de café anualmente, com destaque para borra de café, o principal objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um biomaterial, mais especificamente a produção de filmes provenientes da borra de café. À vista disso, os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- obter material a partir da borra de café que possa ser utilizado na elaboração de filmes de biopolímeros;
- caracterizar e comparar os materiais produzidos a partir da borra de café submetida ao tratamento com peróxido hidrogênio alcalino;
- desenvolver e caracterizar filmes derivados dos materiais provenientes da borra de café submetida ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BORRA DE CAFÉ (BC)

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (International Coffee Organization, 2017). No ano de 2016, apenas o Brasil foi responsável pela produção de cerca de 3 milhões de toneladas de café comercializado (mercado interno e externo), o equivalente a um terço da produção mundial, seguido pelo Vietnã, que produziu 1,5 milhão de toneladas. No âmbito nacional, o estado de Minas Gerais se destaca como o maior produtor de café, responsável por quase 2 milhões de toneladas de café produzido no Brasil em 2016 (CONAB, 2017).

Além disso, o Brasil é o segundo maior consumidor da bebida, segundo dados da Organização Internacional de Café (ICO). No ano de 2016, o País consumiu cerca de 1,2 milhão de toneladas de grãos de café, ficando atrás somente dos EUA (Estados Unidos da América) cujo consumo foi de 1,5 milhão de toneladas. A partir desses dados, conclui-se que, além de grande produtor de café, o Brasil, consequentemente, é um dos países que mais geram resíduos da produção cafeeira, pois além dos resíduos comuns aos países produtores provenientes do café fruta (Figura 2.1), como casca e polpa (Figura 2.2) o Brasil também é responsável pela produção da película prateada, resíduo gerado durante a torração, e da borra de café, resíduo gerado durante o preparo da bebida (Cruz *et al.*, 2012). Enquanto as substâncias extraídas do grão torrado para a produção da bebida representam cerca de 5 a 10 % do café cereja, a borra é responsável por 45 a 50 % (m/m), o que corresponde a quase um milhão de toneladas de resíduos para o Brasil, apenas em 2016.



Figura 2.1: Foto dos frutos café cereja

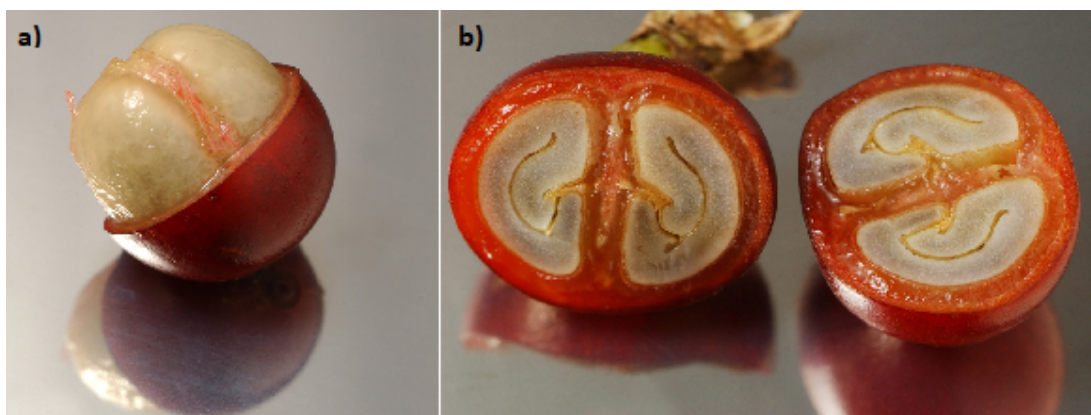


Figura 2.2: Fotos do café fruta. a) polpa (mucilagem e casca) parcialmente removidos e b) seção transversa do fruto.

O descarte da borra de café em aterros sanitários ou utilização direta desta para compostagem ou alimentação de animais devem ser evitados, pois a borra apresenta substâncias, como cafeína, taninos e polifenóis, que podem ser tóxicas ao ecossistema dos lençóis freáticos, à agricultura ou ao organismo de animais. Além disso, o alto teor de lignina, em torno de 25% (Ballesteros *et al.*, 2014), é considerado um fator limitante na utilização da BC como ração para ruminantes, suínos, aves e roedores (Murthy e Naidu, 2012).

Desta maneira, assim como a maioria dos resíduos, a borra de café também se revela como um problema ambiental, porém, trata-se de um potencial subproduto, pois é rico em compostos orgânicos, como ácidos graxos, aminoácidos, polifenóis, minerais e principalmente em polissacarídeos (Mussatto *et al.*, 2011a; Campos-Vega *et al.*, 2015), sendo capaz de gerar produtos de valor agregado se lhe for dada um destino adequado.

A composição da matriz da borra de café pode variar dependendo do método utilizado no preparo da bebida, como o café solúvel em que os grãos após a torração e moagem são submetidos à extração com água a 175 °C sob condições pressurizadas para remover de modo eficiente os sólidos solúveis e compostos voláteis (Mussatto *et al.*, 2011b), ou o café *espresso* em que a água, em uma pressão aproximada de 9 bar e temperatura em torno de 92 °C, passa pelo grão de café moído para a produção da bebida (Caprioli *et al.*, 2012). Desta maneira, a borra de café *espresso* é mais rica em compostos orgânicos que a borra industrial que é exaurida.

Como foi mencionado, a BC é um potencial subproduto rico em compostos orgânicos e produzida em larga escala, desta maneira, pesquisas têm sido desenvolvidas, de modo a proporcionar uma aplicação sustentável à borra de café, como a utilização desta sem pré-tratamento no cultivo de cogumelos (Pushpa e Manonmani, 2008), na adsorção de corantes catiônicos para tratamentos de águas residuais (Franca *et al.*, 2009), pode ser utilizada também

como fonte de antioxidantes (Esquivel e Jiménez, 2012). Recentemente, um estudo utilizou a borra de café industrial na formulação de produtos de panificação em função a significativa presença de fibras alimentares antioxidantes na respectiva matriz (Martinez-Saez *et al.*, 2017).

Além disso, pesquisas mais recentes apontam benefícios da borra de café à saúde humana, como uma pesquisa realizada *in vitro* que indica que os polifenóis presentes na fração da BC digerida e fermentada pela microbiota podem inibir a sobrevivência de células de câncer de cólon (García-Gutiérrez *et al.*, 2017). No entanto, apesar dos estudos realizados, a maioria destes resíduos, ricos em compostos orgânicos, permanecem inutilizados, sendo descartados de maneira inadequada e prejudicial ao meio ambiente (Campos-Vega *et al.*, 2015).

2.2 PRINCIPAIS POLISSACARÍDEOS DA BORRA DE CAFÉ

Os grãos de café são uma fonte rica de polissacarídeos, cerca de 30 a 43 % (base seca), dependendo do grau de torração (Redgwell, Trovato, *et al.*, 2002), sendo os principais polissacarídeos as galactomananas, as arabinogalactanas tipo II e a celulose (Campos-Vega *et al.*, 2015).

As galactomananas representam aproximadamente 50 % do total dos polissacarídeos na borra de café *espresso*, ao passo que as arabinogalactanas e a celulose representam, em igual proporção, o restante dos polissacarídeos presentes na BC (Passos e Coimbra, 2013).

O processo de torração afeta a microestrutura dos grãos, aumentando o volume dos poros da parede celular (Schenker *et al.*, 2000) e, conseqüentemente, contribuindo significativamente para o aumento da extração dos polissacarídeos da matriz (Oosterveld *et al.*, 2003). Além disso, o processo de torração modifica consideravelmente as estruturas dos polissacarídeos, provocando a despolimerização e diminuindo o grau de ramificação destes (Redgwell, Trovato, *et al.*, 2002). Em um trabalho realizado por Redgwell, Trovato *et al.* (2002) com grãos de café arábica (*Coffea arabica*), avaliou-se a degradação dos polissacarídeos de acordo com o grau de torração que o grão foi exposto. Segundo os autores da pesquisa, de 12 a 40 % dos polissacarídeos foram degradados, dos quais as arabinogalactanas foram as mais susceptíveis, sendo degradadas em até 60 %, seguidas pelas galactomananas que podem degradar de 6 % em uma torração clara até 36 % em uma torração escura, ao passo que para celulose não se observou modificação estrutural mesmo sob condições mais extremas do processo.

Além das modificações relacionadas aos polissacarídeos, as condições do processo de torração proporcionam a formação de estruturas conhecidas como melanoidinas, formadas por meio da reação de Maillard (Navarini *et al.*, 1999). As melanoidinas são macromoléculas complexas constituídas por polissacarídeos (galactomananas e arabinogalactanas) ligadas a proteínas, ou fragmentos de proteínas e ácidos clorogênicos, sendo que a estrutura destas não é plenamente conhecida (Nunes e Coimbra, 2007; Moreira *et al.*, 2012).

A despolimerização dos polissacarídeos e o aumento do tamanho dos poros da parede celular do grão contribuem para aumentar a solubilidade e a concentração das arabinogalactanas e galactomananas (Redgwell, Trovato, *et al.*, 2002), produzindo uma bebida com maior viscosidade e mais corpo (Sachtlehner *et al.*, 2000; Illy e Viani, 2005).

Apesar disso, ainda permanecem na matriz cerca de 70 % dos polissacarídeos presentes no grão torrado após a extração dos sólidos solúveis durante o preparo da bebida (Oosterveld *et al.*, 2003; Arya e Rao, 2007). Desta maneira, os polissacarídeos continuam sendo o principal constituinte da matriz, representando na BC industrial cerca de 45 – 50 % (m/m) (Mussatto *et al.*, 2011a; Ballesteros *et al.*, 2014), enquanto que na borra de café *espresso*, os polissacarídeos constituem entre 60 – 65 % (Passos e Coimbra, 2013; Simões *et al.*, 2013). Essa variação encontrada no mesmo tipo de borra se deve às diferenças que podem ser atribuídas ao processo de extração, à variedade do grão de café e a origem e safra do café (Ballesteros *et al.*, 2014).

As galactomananas representam a maioria dos polissacarídeos no grão torrado e na borra de café, cerca de 50% em base seca (Passos e Coimbra, 2013; Moreira, 2015). Estas são polissacarídeos de reserva energética, obtidos a partir do endosperma de sementes de dicotiledôneas (Prajapati *et al.*, 2013).

Como não apresentam toxicidade, o uso de galactomananas é largamente permitido na indústria de alimentos, farmacêutica, biomédica, e de cosméticos. As galactomananas, quando dispersas em água, formam uma solução coloidal viscosa e por isso, geralmente, são excelentes aditivos para tecnologia de alimentos, melhorando as propriedades de produtos como geleias, lácteos, formulações para leite infantil, além de molhos, sopas e produtos dietéticos, dentre outros (Prajapati *et al.*, 2013; Campos-Vega *et al.*, 2015). As principais galactomananas no mercado que apresentam esses atributos são goma guar, goma tara e goma de alfarroba (LBG – *locust bean gum*) (Cerqueira, Bourbon, *et al.*, 2011).

Além disso, estudos apontam as galactomananas como uma importante fonte de fibras alimentares, contribuindo para o controle da pressão sanguínea e níveis de insulina, redução de risco de doenças cardíacas e câncer de cólon (Cui *et al.*, 2007). Na literatura, o interesse pela utilização das galactomananas como material precursor para produção de filmes na área de

embalagens tem crescido, pois, como foi mencionado, não apresentam toxicidade. Estudos indicam que as galactomananas podem carrear compostos de embalagens ativas para os alimentos, são resistentes a mudanças de pH, a processamentos térmicos e apresentam propriedades reológicas apropriadas (Cerqueira, Bourbon, *et al.*, 2011; Dos Santos *et al.*, 2015; Galgano, 2015).

De forma geral, as galactomananas são constituídas por cadeias lineares compostas de resíduos de D-manopiranosose unidas por ligações β - (1-4), ramificadas por resíduos unitários de D-galactopiranosose unidos a cadeia principal por ligações α - (1-6) (Cerqueira, Bourbon, *et al.*, 2011). Em geral, o grau de polimerização da cadeia principal das galactomananas está entre 1000 e 1500 unidades de manose (Mikkonen *et al.*, 2007). Na Figura 2.3 estão representadas as estruturas da galactomananas goma guar e goma de alfarroba.

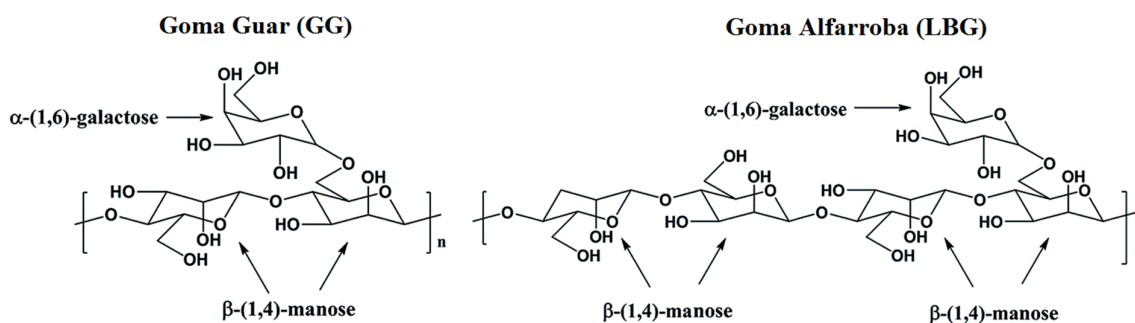


Figura 2.3: Estrutura molecular das galactomananas goma guar e goma de alfarroba. Fonte: adaptado de Dufficy *et al.* (2015).

A principal diferença entre os tipos de galactomananas está na razão entre os resíduos dos monossacarídeos manose e galactose (M/G), na distribuição deste ao longo da cadeia principal, no tamanho da cadeia carbônica e na massa molecular do polissacarídeo (Prajapati *et al.*, 2013; Souza, 2014). A razão molar manose: galactose diverge de acordo com a origem da planta, com variação de 1,6–1,8, 3,0, e 3,9–4,0 para gomas guar, tara e de alfarroba, respectivamente (Cui *et al.*, 2007). Os grupos laterais de galactose conferem certa solubilidade em água às galactomananas. Desta maneira, os polissacarídeos goma guar são prontamente dissolvidos em água fria, ao passo que se faz necessário o aquecimento da mesma para solubilizar a goma de alfarroba.

As características estruturais das galactomananas do café são dependentes da origem do grão, do grau de maturação do café cereja e do processo de torração (Moreira, 2015). Além disso, estudos apontam que existem diversos tipos de galactomananas no café cru com variação do grau de ramificação e da massa molecular destas (Oosterveld *et al.*, 2003; Moreira, 2015), a

partir disso, as características das galactomananas encontradas na bebida são dependentes das condições de extração.



Figura 2.4: Representação esquemática de galactomananas isoladas do grão de café cru. Fonte: Preedy (2015).

Oosterveld *et al.* (2003) analisaram o café arábica cru e relataram que o grau de ramificação das galactomananas é em torno de uma galactose na cadeia lateral para 23 unidades de manose ($M/G = 23$). Além disso, extraíram com água, EDTA e NaOH menos que 10 % de polissacarídeos com $M/G = 8$. Desta maneira, concluíram que na matriz do grão de café há uma diversidade de galactomananas e que estas estão fortemente associadas à parede celular do grão cru.

Simões *et al.* (2014) extraíram polissacarídeos da borra de café por meio água quente e sucessivas extrações com NaOH e caracterizaram as galactomananas extraídas com M/G igual a 12,7, valor consideravelmente superior àqueles das galactomananas comerciais.

Nunes *et al.* (2005) estimaram que 11 % dos resíduos de manose das galactomananas extraídas por infusão com água do grão cru são acetiladas e detectaram que resíduos de arabinose e galactose estão presentes na estrutura destes polissacarídeos acetilados, além de unidades de glicose presentes na cadeia principal (Figura 2.4). Nunes *et al.* (2005) realizaram o mesmo experimento com o café torrado e relataram que 8 % do total de resíduos de manose das galactomananas extraídas são acetiladas, assim também foram encontrados resíduos de galactose e arabinose nas cadeias laterais, no entanto, diferentemente do grão cru, os resíduos de glicose das galactomananas do café torrado aparentemente estão localizados no terminal redutor da cadeia principal.

As galactomananas conferem maior viscosidade à bebida, sendo responsáveis no café *espresso* pela estabilidade da *crema* (espuma) (Moreira, 2015). Além disso, são as principais responsáveis pelo teor de fibra alimentar encontrado na bebida e têm sido apontadas como polissacarídeos com atividades imunomodular no corpo humano (Simões *et al.*, 2009). No

entanto, o potencial uso da borra de café como fonte de galactomananas não tem sido viável devido à dificuldade em extrair esses polissacarídeos.

Embora, durante o processo de torração, ocorra a despolimerização e a diminuição do grau de ramificação das galactomananas, permitindo, desta maneira, a extração destes polissacarídeos em maiores quantidades, apenas entre 6-12 % dos polissacarídeos de modo geral podem ser extraídos durante o preparo da bebida (Nunes e Coimbra, 2002b; Redgwell, Trovato, *et al.*, 2002).

Pesquisadores realizaram um estudo com oligossacarídeos (mananas) sob tratamento térmico seco para simular as reações que, acontecem com as galactomananas no processo de torração do café e verificaram que além de ocorrer despolimerização, reações de desidratação e de isomerização com esses oligossacarídeos, novas ligações glicosídicas foram formadas via transglicosilação, indicando a polimerização de produtos (Moreira *et al.*, 2011). A partir disso, pode-se inferir que galactomananas com maior massa molecular, formadas durante a torração, permaneçam na matriz após a extração dos sólidos solúveis durante o preparo da bebida.

Nos últimos anos, devido à dificuldade na extração dos polissacarídeos da borra de café, principalmente, as galactomananas, pesquisas têm sido desenvolvidas com esse objetivo, como o trabalho realizado por Simões *et al.* (2013) que extraíram 56 % de galactomananas e 54 % de arabinogalactanas por meio de processamento térmico, água quente e extrações alcalinas. Outro estudo realizado por Passos & Coimbra (2013) removeu arabinogalactanas e galactomananas da borra de café *espresso* por meio de sucessivas extrações utilizando micro-ondas, no entanto, diferentemente do primeiro estudo, em que se mantiveram as estruturas dos polissacarídeos extraídos, este, por sua vez, extraiu oligossacarídeos da borra de café.

O segundo polissacarídeo mais abundante na borra de café *espresso* são as arabinogalactanas e correspondem a 25 % da holocelulose na BC (Passos e Coimbra, 2013).

As arabinogalactanas estão presentes em todas as plantas e existem em duas formas: as arabinogalactanas tipo I, pouco ramificadas e com cadeia principal linear de resíduos de D-galactose unidas por ligações β -(1-4), e as arabinogalactanas tipo II, altamente ramificadas, constituídas por cadeia principal de β -D-Galp unidas por ligações (1-3) com cadeia lateral constituída por ligações β -(1-6) de unidades de D-Galp com ramificações de α -L-Araf com ligações de (1-3) e (1-5) e resíduos de outros açúcares menos abundantes (Showalter, 2001).

No café, encontra-se as arabinogalactanas tipo II, sendo quase todas ligadas covalentemente a proteínas, essas glicoproteínas são conhecidas como arabinogalactanas-proteínas (AGP). De acordo com estudos que isolaram cerca de 7 % de AGP do total de

arabinogalactanas encontradas no grão do café cru (Figura 2.5), AGP apresenta teor de proteínas em torno de 4 % (Nunes *et al.*, 2008).

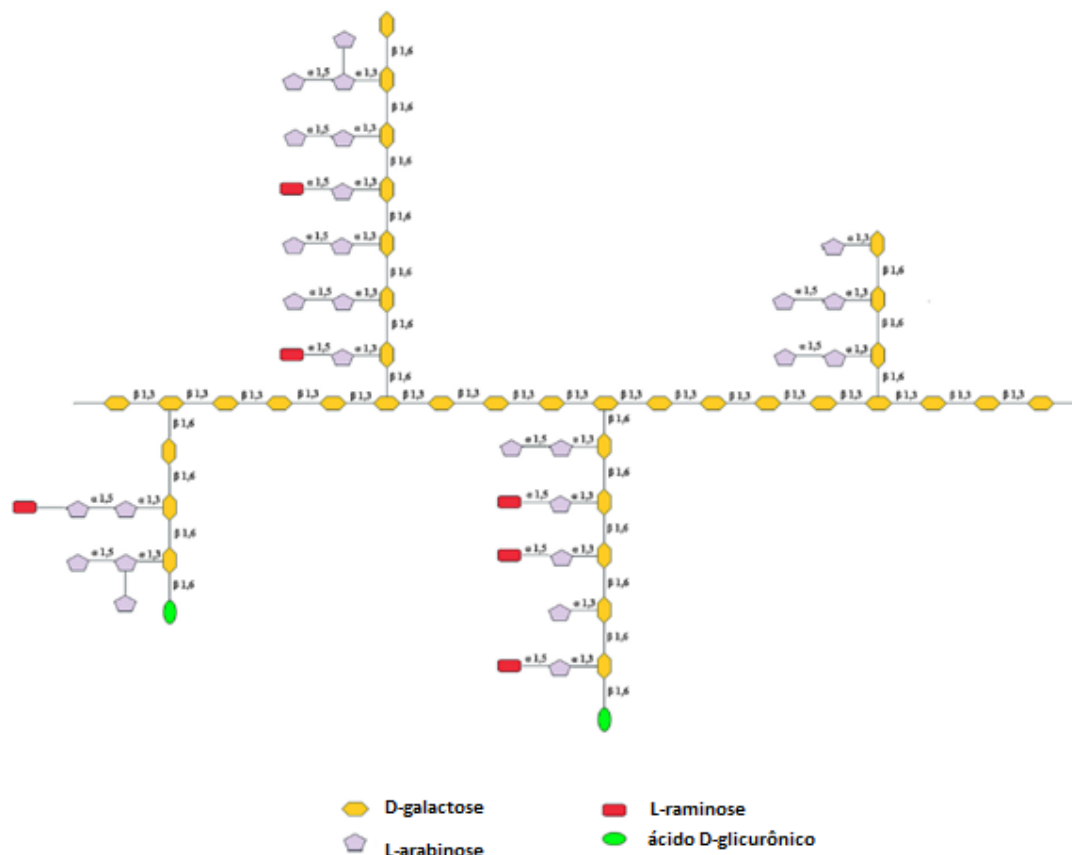


Figura 2.5: Representação esquemática de uma das possíveis estruturas de arabinogalactanas que foi isolada do grão de café cru por extração com água quente. Fonte: Preedy (2015).

A torração diminui a massa molecular das arabinogalactanas, desta maneira, uma fração desses polissacarídeos torna-se solúvel em água e é extraída durante o preparo da bebida. No entanto, assim como ocorre com as galactomananas, a maior parte das arabinogalactanas ainda permanece na matriz (Nunes e Coimbra, 2002a). Apesar das modificações estruturais mencionadas, estudos indicam que parte das ligações entre proteínas e polissacarídeos permanecem intactas nas AGPs mesmo após a degradação de polissacarídeos em processos de torração mais longos (Redgwell, Curti, *et al.*, 2002).

Além da despolimerização que ocorre durante o processo de torração, a redução do grau de ramificação também acontece. Dependendo do grau de torração, cerca de 43 a 80 % das cadeias laterais de arabinose e entre 6 a 50 % da cadeia principal podem ser degradadas nas arabinogalactanas (Redgwell, Trovato, *et al.*, 2002).

Além das galactomananas e arabinogalactanas, a borra de café apresenta 12,4 % de celulose (base seca) (Ballesteros *et al.*, 2014), o que representa cerca de 25 % dos polissacarídeos encontrados na borra de café *espresso* (Passos e Coimbra, 2013).

É o polissacarídeo menos atingido com as reações envolvidas no processo de torração (Simões *et al.*, 2013) e é extremamente difícil de ser extraído, pois a celulose é fortemente associada a parede celular do grão (Oosterveld *et al.*, 2003).

A celulose é constituída por cadeias lineares formadas por ligações β - (1-4) entre unidades de glicose (Janjarasskul e Krochta, 2010) e está representada no esquema da Figura 2.6. O número de unidades de glicose na cadeia depende da fonte, mas são aproximadamente 10.000 unidades em madeiras e 15.000 em algodão nativo (Wang *et al.*, 2016).

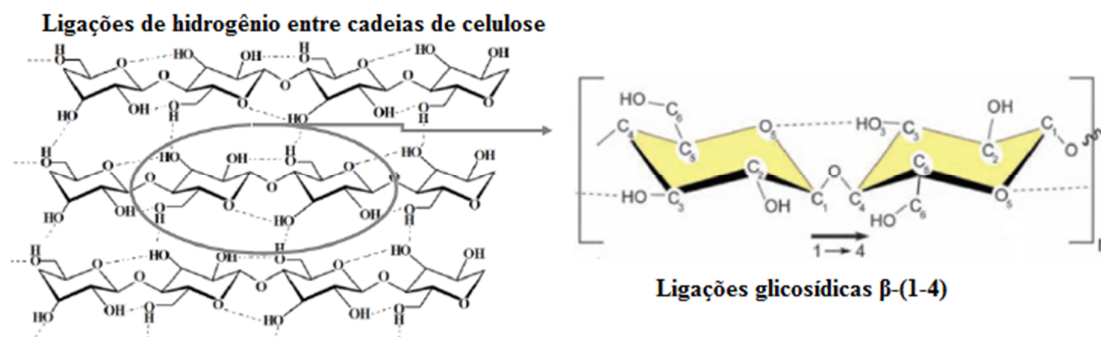


Figura 2.6: Estrutura molecular da celulose. Fonte: adaptado de Poletto *et al.* (2003).

A celulose insolúvel em água e em solventes comuns, provavelmente devido ao comprimento das cadeias e às numerosas ligações de hidrogênio inter – e intramoleculares (Wang *et al.*, 2016), que geram elevado grau de cristalinidade em boa parte das regiões da estrutura da celulose. No entanto, a celulose é solúvel em solventes específicos, não necessariamente com propriedades químicas similares entre si. Como é um polissacarídeo abundante na natureza, com baixo custo, não é tóxico, biodegradável e quimicamente estável, além das características estruturais supramencionadas, é considerado uma excelente opção para a fabricação de filmes de biomaterias. Desta maneira, diversas pesquisas têm buscado opções de solventes que não apresentem toxicidade e não causem prejuízos ao meio ambiente, e que são capazes de dissolver a celulose para a produção de filmes (Roy *et al.*, 2003; Remsing *et al.*, 2006; Fukaya *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2013; Sen *et al.*, 2016; Winkworth-Smith *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2016).

2.3 DESLIGNIFICAÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS VIA PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO (PHA)

Os polissacarídeos de plantas compreendem a principal fonte renovável disponível na biosfera para produção de biomateriais, principalmente resíduos agrícolas de origem alimentar que poderiam ser transformados em produtos de valor agregado. No entanto, a estrutura recalcitrante e heterogênea dos materiais lignocelulósicos dificulta o fracionamento e a exploração dos componentes de polissacarídeos para a concepção de materiais baseados em carboidratos (Alvarez-Vasco e Zhang, 2013; Martínez-Abad *et al.*, 2016).

Os materiais lignocelulósicos são constituídos de uma rede polimérica com microfibrilas de celulose como principal componente estrutural, e uma matriz de hemicelulose (estrutura que compreende diferentes famílias de polissacarídeos) e ligninas polifenólicas (Figura 2.7) (Martínez-Abad *et al.*, 2016). A organização da biomassa lignocelulósica ainda não é totalmente compreendida, embora ligações fortes covalentes, interações intramolecular e intermolecular existam entre todos os diferentes componentes poliméricos.

A lignina protege os tecidos vegetais da parede celular de ataques microbiológicos, além da mesma também conferir rigidez às hastes das plantas e impermeabilização dos tecidos vasculares para a circulação da seiva (Ruiz-Deñás e Martínez, 2009).

Desta maneira, o acesso a hemicelulose e celulose em materiais lignocelulósicos é limitado devido à associação física e química entre a lignina e os polissacarídeos da parede celular (Figura 2.7) (Gould, 1985). Além disso, o grau de cristalinidade da celulose pode ser considerado um fator limitante para o reaproveitamento dos materiais lignocelulósicos.

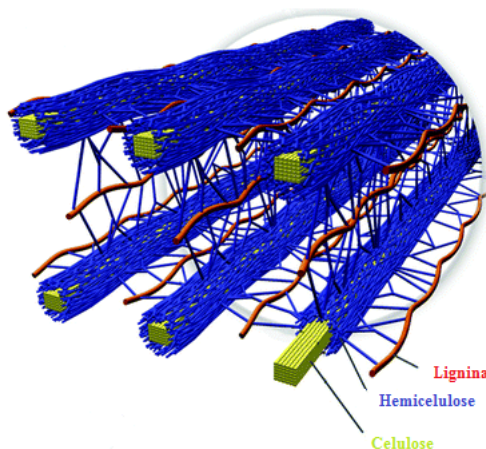
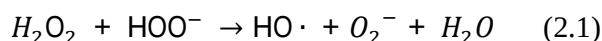


Figura 2.7: Arranjo estrutural da celulose, hemicelulose e lignina nas paredes celulares de materiais lignocelulósicos. Fonte: adaptado de Brandt *et al.* (2013)

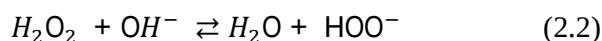
Em um estudo com palha de trigo que apresenta em torno de 14 % de lignina (Gould, 1984; Adapa *et al.*, 2009), verificou-se que soluções diluídas de PHA (1 % H_2O_2) foram capazes de remover em torno 50 % da lignina, porém, parte da hemicelulose foi solubilizada (Gould e Freer, 1984). Ademais, o estudo verificou que, na ausência de peróxido de hidrogênio, foi possível remover menos que 8 % da lignina presente na palha de trigo.

Segundo Gould (1984), o pH alcalino da solução interfere diretamente na eficiência do processo, sendo que a máxima deslignificação ocorre em pH 11,5, contudo, neste pH também ocorre considerável solubilização da hemicelulose da palha de trigo. Neste mesmo trabalho, Gould (1984) verificou que a hemicelulose é completamente solubilizada em pH 13, na presença ou ausência de H_2O_2 .

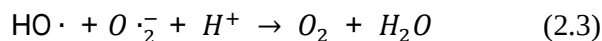
A eficiência do tratamento para remoção de lignina depende diretamente do pH da reação, pois o agente responsável por oxidar a lignina e liberá-la da matriz não é o peróxido de hidrogênio, mas sim, o radical hidroxil ($OH^\cdot$), altamente reativo e forte iniciador de reação de oxidação, e o radical superóxido ($O_2^\cdot$) (Gould, 1984; 1985). Estes radicais são formados pela degradação do H_2O_2 em uma reação com o ânion hidroperoxil (HOO^-):



O ânion HOO^- é proveniente da dissociação do H_2O_2 , em pH alcalino:



Na ausência de outros reagentes, os radicais hidroxil e superóxido reagem entre si e formam O_2 e água:



Desta maneira, a reação global pode ser representada por:



A lignina é o principal alvo de ataque químico na reação do peróxido de hidrogênio alcalino, além disso, como já mencionado, parte da hemicelulose é solubilizada, no entanto,

algumas mudanças estruturais podem ser observadas na celulose, sugerindo que unidades de glicose possam ser modificadas pelo tratamento.

De acordo com estudos realizados por Gould (1984,1985), cerca de menos que 5 % do total de unidades de glicose foi modificada. Tais modificações, ainda que em baixo percentual, seria o suficiente para quebrar as ligações de hidrogênio entre os polímeros de celulose e, conseqüentemente, abrir a estrutura e diminuir as regiões cristalinas desse polissacarídeo.

Uma das vantagens do tratamento de resíduos agrícolas com PHA é que a reação ocorre em temperatura ambiente, minimizando a necessidade do uso de energia no processo. De acordo com Gould (1984), a realização do processo em temperaturas mais elevadas promove maior perda de massa do resíduo.

Além disso, Gould e Freer (1984) demonstraram que os produtos da degradação de lignina não apresentavam toxicidade, pois, por meio de experimentos, demonstraram que leveduras *S. cerevisiae* cresceram diretamente no sobrenadante do tratamento da palha de trigo com PHA (o meio foi neutralizado).

A borra de café apresenta em torno de 25 % de lignina (Ballesteros *et al.*, 2014), limitando o acesso aos polissacarídeos da parede celular da matriz. Apenas uma fração das galactomananas e arabinogalactanas são solubilizadas durante do preparo da bebida, independentemente da espécie e da origem geográfica do café (Nunes e Coimbra, 2001; 2002b), desta maneira, cerca de 70 % dos polissacarídeos do grão de café permanecem na borra de café (Arya e Rao, 2007). Um estudo realizado com extrações alcalinas permitiu remover cerca de 20 % das galactomananas na borra de café (Simões *et al.*, 2009). Em outro estudo do mesmo grupo, extraíram-se 54 % das galactomananas da borra de café *espresso*, por meio de processamento térmico, água quente e extrações alcalinas. Desta maneira, tratamentos mais severos tais como soluções alcalinas mais concentradas ou o uso de outras tecnologias como a utilização de ultrassom ou de micro-ondas (Ebringerová *et al.*, 2005) podem ser necessários, a fim de possibilitar maior acesso aos polissacarídeos da borra de café.

2.4 FILMES DE BIOPOLÍMEROS

Os filmes de biopolímeros têm sido largamente pesquisados nos últimos anos com o propósito de substituir, pelo menos em parte, as embalagens sintéticas provenientes principalmente de materiais de petróleo (Figueiro *et al.*, 2004; Mikkonen *et al.*, 2007; Jin *et al.*, 2010; Balaguer *et al.*, 2011; Falguera *et al.*, 2011; Khanzadi *et al.*, 2015; Dos Santos *et al.*, 2015; Azeredo e Waldron, 2016), as quais geram problemas ambientais, pois são resistentes a degradação e, para as respectivas manufaturas, consomem-se recursos não-renováveis (Degruson, 2016).

Os biomateriais são constituídos por biopolímeros, os quais podem ser classificados como aqueles produzidos por micro-organismos; polímeros naturais de origem agrícola (celulose, proteína), ou ainda quimicamente sintetizados usando monômeros de fonte agrícola.

Contudo, a aplicação dos filmes de biopolímeros é limitada, pois, em geral, apresentam propriedades mecânicas e de barreira a gases e vapor de água (embalagens para alimentos) inferiores quando comparados às embalagens sintéticas do mercado (Azeredo e Waldron, 2016).

As propriedades mecânicas são relevantes, pois protegem o material (Azeredo e Waldron, 2016). Geralmente, os filmes de proteína apresentam menor resistência à tração que a maioria dos filmes de polissacarídeos e filmes derivados de petróleo. As propriedades mecânicas de filmes dependem da coesão estrutural, que é regulada pelo tipo e proporção de materiais utilizados, pelo processo de formação, e pelas condições experimentais (Janjarasskul & Krochta, 2010).

Filmes de proteínas e carboidratos são muitas vezes frágeis e susceptíveis a fissuras, como resultado da forte energia coesiva dos polímeros. Os plasticizantes são geralmente necessários para aumentar a flexibilidade do filme pela redução de ligações de hidrogênio intermolecular ao longo das cadeias poliméricas e pelo aumento do espaçamento intermolecular, além disso interferem na temperatura de transição vítrea dos materiais, possibilitando a utilização destes em diversas temperaturas.

As propriedades de barreira são importantes para a indústria alimentícia, pois são responsáveis por dificultar a entrada de gases e vapor de água que podem encurtar a vida de prateleira dos alimentos (Azeredo e Waldron, 2016).

Por isso, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de melhorar as propriedades dos biopolímeros, como materiais derivados de polissacarídeos ou proteínas que podem incluir lipídeos (Khanzadi *et al.*, 2015) ou óleos essenciais na preparação dos filmes

para melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água, além disso, os óleos essenciais podem agir como antimicrobianos e antioxidantes (Atarés e Chiralt, 2016). A adição de compostos capazes de realizar ligação cruzada (*crosslinking*) entre as cadeias poliméricas também tem sido considerada uma estratégia para melhorar as propriedades de barreira a gases e as propriedades mecânicas dos filmes de biopolímeros (Azeredo e Waldron, 2016). Ademais, dificilmente um material é composto apenas por polímeros naturais (Janjarasskul e Krochta, 2010), de forma que propriedades de outros materiais podem complementar as características necessárias a um filme, como a adição de lipídeos em filmes de proteínas, ou ainda a adição de materiais sintetizados que possam melhorar alguma característica dos filmes.

2.4.1 FILMES DE POLISSACARÍDEOS

Uma variedade de polissacarídeos e seus derivados têm sido testados para serem usados em embalagens biodegradáveis, pois são abundantes, apresentam baixo custo e não são tóxicas (Janjarasskul e Krochta, 2010).

Os polissacarídeos apresentam grande número de grupos hidroxilas e outros grupos hidrofílicos nas respectivas estruturas, o que geralmente permite a solubilidade dos mesmos em água e consequente formação de muitas ligações de hidrogênio (Figura 2.8), o que, por sua vez, influencia diretamente nas características dos filmes.

Os filmes de polissacarídeos exibem boas propriedades de barreira aos gases CO₂ e O₂, além de eficientes barreiras a óleo e lipídeos, mas pouca resistência à migração de água, assim como os filmes de proteínas. Por outro lado, o mesmo não acontece com os filmes à base de lipídeos, devido às propriedades hidrofóbicas destes, especialmente aqueles com maior ponto de fusão, como cera de abelhas e cera de carnaúba (Nieto, 2009; Janjarasskul e Krochta, 2010; Falguera *et al.*, 2011). Para a indústria de alimentos, é interessante filmes com propriedades de barreira, pois prolongam a vida de prateleira dos produtos, retardando algumas reações fisiológicas, enzimáticas ou microbiológicas, além de impedir o contato dos alimentos com solventes não desejáveis.

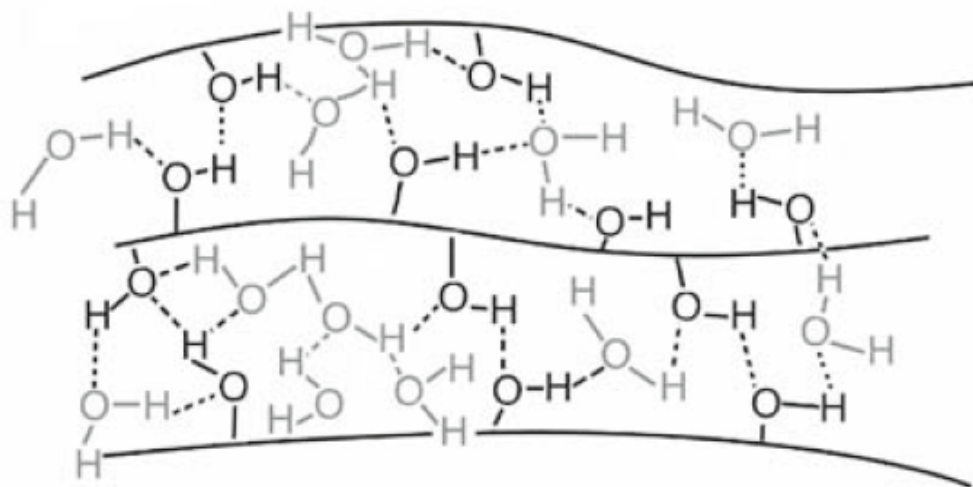


Figura 2.8: Formação de interações intermoleculares entre o polissacarídeos e água. Fonte: Nieto (2009).

Os polissacarídeos que se dissolvem em água à temperatura ambiente, como metilcelulose, alginato, carboximetilcelulose (CMC), produzem filmes que também serão solúveis em água, ao passo que glicanos que são solúveis em temperatura mais altas, como ágar, formam filmes que são insolúveis a temperatura ambiente (Nieto, 2009).

Polissacarídeos como as galactomananas, apresentam a capacidade de carrear e liberar moléculas com funções específicas, tais como agentes antimicrobianos, corantes naturais, *flavors*, nutrientes e outros, tais características interessam às indústrias alimentícias e farmacêuticas (Cerqueira, Bourbon, *et al.*, 2011; Otoni *et al.*, 2014).

As diferenças estruturais entre os polissacarídeos têm impacto sobre as características dos filmes, como a presença ou a ausência de ramificações, carga eléctrica, substituição de unidades de açúcar, bem como a massa molecular. Por regra geral, polissacarídeos lineares, de elevadas massas moleculares, não iônicos, formam filmes mais coesos, por exemplo, os polissacarídeos ágar e metilcelulose, ao passo que os polímeros altamente ramificados, com ou sem carga aniônica, formam filmes fracos, como a goma arábica (Nieto, 2009).

No entanto, os polissacarídeos podem ser modificados com o objetivo de melhorar suas propriedades, por exemplo, por meio de adição de sais, variação de solventes, variação de pH, modificação química de grupos hidroxilas, hidrólises de polissacarídeos, nanotecnologia e ligação cruzada de polissacarídeos (*crosslinking*) (De Moura *et al.*, 2009).

Crosslinking tem sido considerada uma opção para melhorar as propriedades de filmes de biopolímeros, principalmente aqueles derivados de proteínas ou polissacarídeos, por meio de ligações covalentes ou não, formando uma rede tridimensional. As ligações covalentes

podem ser estabelecidas por meio de irradiação e reações químicas, por exemplo. Por outro lado, as ligações que não são covalentes são estabelecidas por meio de ligações iônicas, ligações de hidrogênio ou interações hidrofóbicas (Azeredo e Waldron, 2016). Nos polissacarídeos, essas interações ocorrem por meio dos grupos hidroxilas e carboxilas.

As ligações realizadas via *crosslinking* melhoram as propriedades de barreira a gases dos filmes (Balaguer *et al.*, 2011), reduzem a mobilidade das estruturas poliméricas e, conseqüentemente, melhoram as propriedades mecânicas (Xu *et al.*, 2016), contribuem para a resistência a solventes químicos e retardam a biodegradação dos filmes de polissacarídeos e proteínas (Bhattacharya, 2009; Martucci e Ruseckaite, 2009).

Entre os polímeros naturais, a celulose é vista como um dos polissacarídeos que melhor atende as propriedades desejáveis para fabricação de filmes de biopolímeros, pois é abundante na natureza, não apresenta toxicidade, é quimicamente estável, além disso, apresenta estrutura favorável a formação de um filme coeso, devido ao comprimento das cadeias poliméricas e às numerosas ligações de hidrogênio (Mikkonen *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2016).

No entanto, a dissolução da celulose é um processo que pode ser difícil e tem sido motivo de pesquisas nas áreas que buscam desenvolver filmes de biopolímeros, pois esta é insolúvel na maioria dos solventes orgânicos e inorgânicos comumente conhecidos. O maior desafio é encontrar um solvente que não seja tóxico, de baixo custo, não cause prejuízo ao meio ambiente, dentre outras características.

Assim como a celulose, a maioria das galactomananas da borra de café também apresentam características que as tornam insolúveis em água, pois exibem baixo grau de ramificação, sendo praticamente compostas por cadeias lineares e longas (Oosterveld *et al.*, 2003; Cerqueira, Souza, *et al.*, 2011; Simões *et al.*, 2013; Simões *et al.*, 2014).

Para dissolução da celulose sem modificações químicas à mesma, como esterificação ou eterificação, solventes líquidos iônicos, solventes orgânicos na presença de sais inorgânicos, óxidos de amina, soluções alcalinas e sais inorgânicos hidratados têm sido utilizados (Sen *et al.*, 2013).

Soluções com sais inorgânicos são especialmente interessantes para a dissolução da celulose devido à facilidade de preparação, recuperação destes, baixo custo quando comparados aos outros solventes que não modificam quimicamente a estrutura da celulose (Sen *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2016).

Os sais inorgânicos hidratados de cloreto de zinco são suficientemente fortes para dissolver celulose bacteriana de alta massa molecular, por exemplo. São fortemente dependentes da quantidade de água presente para dissolver a celulose e agem quebrando as

ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas. Contudo a interação solvente e soluto durante a dissolução ainda não é totalmente compreendida (Sen *et al.*, 2016).

Xu *et al.* (2016) dissolveram celulose microcristalina em soluções de ZnCl_2 com concentrações entre 64-72 % a 65 °C. A partir da solução com 68 %, os pesquisadores produziram filmes e sugeriram que este pode ser um caminho para utilização da celulose como biomaterial em áreas farmacêuticas, alimentícias e outras.

2.4.2 FORMAÇÃO DE FILMES POR INVERSÃO DE FASES

O processo de inversão de fases é o método mais comum para desenvolver membranas poliméricas. O método permite a formação de membranas, contanto que, em um dado intervalo de concentrações e temperaturas definidas, o polímero seja solúvel em um solvente. Esse sistema, polímero e solvente, inicialmente homogêneo, é induzido à separação em duas fases distintas, uma fase rica em polímeros, que dará origem à estrutura da membrana, e uma fase pobre em polímeros, que dará origem aos poros da membrana (Hilal *et al.*, 2015).

Para a separação das fases pelo método descrito, existem basicamente dois tipos de técnicas que induzem a instabilidade do sistema e possibilitam a formação de membranas, sendo conhecidos como inversão de fases induzida termicamente e inversão de fases induzida por difusão.

A inversão de fases induzida termicamente é baseada na redução da temperatura da solução polimérica, provocando o processo de separação de fases líquido-líquido (Habert, 2006). Após a separação de fases, o solvente é removido por extração, evaporação ou liofilização (Lalia *et al.*, 2013).

A inversão de fases induzida por difusão é dividida em três tipos de técnicas, precipitação por evaporação de solvente, precipitação pela presença de vapores de não-solvente (NS), e precipitação por imersão (Hilal *et al.*, 2015). A primeira técnica consiste na evaporação do solvente volátil e consequente precipitação do polímero e esta técnica também é conhecida como método de moldagem (*solution casting method*). Ao passo que a precipitação pela presença de vapores de NS baseia-se na exposição da solução polimérica a uma atmosfera contendo um não-solvente, em que a absorção deste pela solução causa a separação de fases e precipitação da estrutura rica em polímeros (Lalia *et al.*, 2013). Por sua vez, a precipitação por imersão ocorre basicamente quando a solução polimérica, aplicada em um suporte previamente, é colocada em um banho de coagulação com um não-solvente (Habert, 2006; Ren e Wang,

2011). A solução precipitará devido a difusão do solvente para o banho e do não-solvente para a solução, proporcionando a formação da membrana.

Para a formação dos filmes desenvolvidos neste presente trabalho, utilizou-se a técnica de inversão de fase via precipitação por imersão, e esta é discutida com mais detalhes na seção seguinte.

2.4.2.1 INVERSÃO DE FASE VIA PRECIPITAÇÃO POR IMERSÃO (IFPI)

Na inversão de fase via precipitação por imersão, a solução polimérica é espalhada com espessura controlada em um suporte, o qual é imerso em um banho de coagulação com um não-solvente (geralmente água). Nesta técnica, sempre ocorre transferência de massa, visto que o solvente difunde para o banho de coagulação e o NS difunde para a solução polimérica (Figura 2.9) (Habert, 2006; Ren e Wang, 2011). O solvente e o NS devem ser miscíveis, ao passo que o polímero deve ser imiscível no não-solvente. Desta maneira, o fenômeno ocorre até a solução se tornar termodinamicamente instável e a separação de fases acontecer, em seguida, a fase rica em polímeros sofre um processo de solidificação, dando origem a um filme polimérico com estrutura assimétrica.

Filmes com estrutura assimétrica apresentam poros gradualmente maiores em sua seção transversal, ao passo que na região superior (“pele”), cerca de 2 % da espessura global, apresenta poros muito pequenos ($< 0,05 \mu\text{m}$) ou uma estrutura não-porosa (Mulder, 1996; Habert, 2006). A “pele” é responsável pela seletividade da membrana, enquanto a região abaixo desta lhe dá suporte e resistência mecânica.

A seleção do sistema solvente e não-solvente afeta a morfologia e as propriedades do filme formado (Lalia *et al.*, 2013). Geralmente, quando o fluxo do solvente (J_1) em direção ao banho de coagulação (Figura 2.9) é muito maior que o fluxo do não-solvente (J_2) em direção à solução polimérica, são obtidas “peles” de membranas de ultrafiltração com poros 1-30 nm, ao passo que se $J_1=J_2$, são formadas, principalmente, membranas de microfiltração com poros de 0,2-0,5 μm .

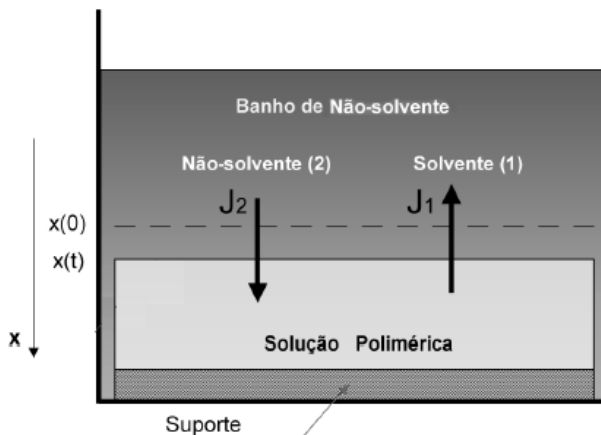


Figura 2.9: Transferência de massa durante a formação de membranas poliméricas via precipitação por imersão. Fonte: adaptado de Habert et al. (2006).

Após o banho de coagulação, pode-se utilizar outros banhos para extração do solvente residual. Em seguida, a membrana pode ser armazenada úmida ou submetida a secagem (Habert, 2006).

A baixa solubilidade do polímero no solvente produz membranas densas, enquanto, membranas mais porosas são obtidas quando a solubilidade é alta (Lalia *et al.*, 2013). A temperatura de precipitação também tem influência sobre as características dos filmes, estudos relatam que a resistência à tração e as propriedades de barreira ao gás oxigênio e ao vapor de água de filmes de celulose diminuíram com o aumento da temperatura do banho de coagulação (Liu e Zhang, 2009; Jin *et al.*, 2010). Além da influência do sistema solvente e não-solvente sobre as propriedades da membrana e da temperatura de precipitação, a escolha dos polímeros e aditivos, tempo de precipitação, e outros parâmetros também influencia nas características finais do filme.

A precipitação por imersão é um dos principais processos de fabricação de membranas de ultrafiltração. Além disso, variando adequadamente um ou mais parâmetros do processo de inversão de fases, a técnica pode ser utilizada para produzir membranas para emprego de osmose reversa, nanofiltração ou microfiltração (Mulder, 1996).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Aproveitamento de Resíduos, localizado no Departamento de Engenharia Mecânica da UFMG. O material e a metodologia utilizada neste trabalho são apresentados a seguir.

3.1 BORRA DE CAFÉ *ESPRESSO*

A borra de café *espresso* foi adquirida na Cafeteria Xocoalt na cidade de Betim. O material foi seco a 105 °C por 16 h (Silva e Queiroz, 2002) e armazenado em embalagem de polipropileno a temperatura ambiente.

3.1.1 PREPARAÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS (FRP)

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

A metodologia baseou-se nos estudos de Vilela *et al.* (2016) e Gould & Freer (1984). A borra de café foi adicionada em solução de peróxido de hidrogênio na proporção de 1:5 (m/v). Em seguida, por meio de uma pipeta de Pasteur, a solução 40 % de hidróxido de sódio (m/v) foi acrescentada gota a gota na suspensão até o aumento da temperatura do sistema e a expansão da mistura pela liberação de O₂ gerado na degradação de H₂O₂ (Guo *et al.*, 2013). Após esta reação exotérmica, esperou-se a mistura esfriar, adicionou-se solução de NaOH até pH 11,5 ± 0,1 (Gould, 1984). Em seguida, a mistura (Figura 3.1) foi acondicionada em incubadora com agitação orbital (marca Quimis) sob agitação de 120 rpm por 18 h a 25 °C.

Concluída esta etapa, a mistura foi neutralizada com solução de ácido acético a 10 % (v/v) e em sequência, filtrada e lavada com água. O sólido separado na filtração, amostra de interesse, foi colocado em estufa convectiva por 16 h a 55 °C (marca New Lab, modelo NL82-64). Em seguida, as frações ricas em polissacarídeos (FRP) foram moídas (marca Cadence, modelo MDR301) e peneiradas em malhas de 42 mesh, utilizou-se o material passante para as análises posteriores e produção de filmes. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade com fecho hermético (zip lock) em ambiente seco e ao abrigo da luz.



Figura 3.1: Foto de amostra proveniente de tratamento da borra de café com H_2O_2 alcalino.

Os tratamentos diferem entre si pela concentração da solução aquosa de peróxido de hidrogênio utilizada no tratamento da borra de café, desta maneira, as concentrações utilizadas foram de 15, 25, 35 e 45% H_2O_2 (v/v). A codificação e a descrição dos tratamentos estão no Quadro 3.1:

Quadro 3.1: Codificação e descrição dos tratamentos que a BC foi submetida.

Grupo Amostral	Descrição dos tratamentos
P15	Borra de café submetida a tratamento com solução de 15% de H_2O_2 alcalino (0,9 g H_2O_2 / g borra de café).
P25	Borra de café submetida a tratamento com solução de 25% de H_2O_2 alcalino (1,5 g H_2O_2 / g borra de café).
P35	Borra de café submetida a tratamento com solução de 35% de H_2O_2 alcalino (2,1 g H_2O_2 / g borra de café).
P45	Borra de café submetida a tratamento com solução de 45% de H_2O_2 alcalino (2,7 g H_2O_2 / g borra de café).

3.1.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS

Para caracterização das frações ricas em polissacarídeos, ou seja, as amostras de borra de café que foram tratadas com peróxido de hidrogênio alcalino, determinou-se o teor de umidade, gordura bruta, proteína, e açúcares totais. Além disso, realizou-se as análises

colorimétrica, de cromatografia a gás para avaliar o perfil de monossacarídeos das amostras, espectroscopia por infravermelho e análise termogravimétrica.

3.1.2.1 *Rendimento das Frações Ricas em Polissacarídeos*

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:

$$R (\%) = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \quad (3.1)$$

A massa final das amostras foi pesada em balança analítica após 16 h a 55 °C em estufa convectiva (marca New Lab, modelo NL82-64) e 30 minutos em dessecador.

3.1.2.2 *Determinação do Teor de Umidade*

Para determinação do teor de umidade nos grupos, cápsulas de porcelana foram identificadas e secas em estufa com circulação de ar a 105°C por uma hora, posteriormente foram colocadas em dessecador por 30 minutos. Em seguida, pesou-se a massa das cápsulas vazias e dois gramas de cada amostra, colocou-se o conjunto em estufa com circulação por três horas. As amostras foram, então, colocadas em dessecador por 30 minutos e pesadas (Zenebon *et al.*, 2008). Para calcular o teor de umidade utilizamos a equação:

$$\% \text{ umidade} = \frac{(ma_i - ma_s)}{ma_i} \times 100 \quad (3.2)$$

em ma_u é a massa da amostra inicialmente e ma_s é a massa da amostra seca.

3.1.2.3 Determinação de Gordura Bruta

Para a determinação do extrato etéreo ou gordura bruta, utilizou-se éter de petróleo (ponto de ebulição de 35-70 °C) P.A. da marca Synth (Diadema – Brasil).

Foi utilizado o método gravimétrico de Soxhlet Modificado (Silva e Queiroz, 2002; Zenebon *et al.*, 2008), equipamento de modelo Q308G26, marca Quimis. O experimento foi efetuado no Laboratório de Bromatologia no Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia, UFMG.

Primeiramente, os copos *reboiler*, recipientes próprios para determinação de gordura, foram identificados e secos por uma hora em estufa convectiva a 100°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 com diâmetro de 12 cm, em seguida, este foi dobrado e grampeado.

Em cada copo *reboiler*, foram adicionados 150 mL de éter de petróleo com ponto de ebulição de 35 a 70°C. As amostras e os copos *reboiler* foram acoplados no extrator Soxhlet Modificado com capacidade para seis amostras. A extração ocorreu em duas etapas, sendo a primeira etapa por imersão com duração de 20 minutos e a segunda, por refluxo contínuo de gotejamento com duração de 40 minutos. Em seguida, o solvente foi parcialmente recuperado, os copos contendo a gordura bruta foram colocados em capela operacional até que praticamente todo o éter de petróleo fosse evaporado. Então, os copos foram colocados em estufa convectiva a 100°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, devidamente pesados. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

Para o cálculo do percentual da gordura bruta nas amostras, utilizou-se a equação:

$$\text{Gordura Bruta (\%)} = \frac{(x-b) \times 100}{ma} \quad (3.3)$$

em que x é a diferença da massa do copo com a gordura extraída (g) e da massa do copo vazio (g), b é o branco da análise (g), e ma é a massa da amostra (g).

3.1.2.4 Determinação de Nitrogênio Total – Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada de acordo com o Método de micro-Kjeldahl, que consiste no teor de nitrogênio encontrado em materiais orgânicos e inorgânicos. O método envolve três etapas: digestão, destilação e titulação (Labconco, 1998; Zenebon *et al.*, 2008).

Para etapa de digestão, foram pesados 0,25 g de amostra em um pedaço de papel manteiga (6 x 6 cm) que foi fechado cuidadosamente. 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. Ambos foram colocados em um tubo digestor com adição de 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Para digestão, os tubos foram levados ao sistema de digestão de proteínas (bloco digestor) e aquecidos gradualmente até atingirem a temperatura de 350 °C (Labconco, 1998; Galvani e Gaertner, 2006). O processo envolve a digestão da matéria orgânica com ácido sulfúrico e transformação do nitrogênio orgânico em sulfato de amônio, e, visualmente, a solução passa de preta para cor verde claro. Toda a digestão aconteceu em 4 h no bloco digestor.

Para a etapa seguinte, foi utilizado o destilador de Kjeldahl (marca Quimis, modelo Q328S21) responsável pela etapa de destilação. No equipamento, o tubo digestor contendo 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 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 a presença do borato de amônio, proveniente da reação entre o ácido bórico e a amônia.

Finalmente, o destilado foi titulado com solução padronizada de ácido clorídrico 0,1 mol/L, utilizando bureta de 25 mL, até a viragem da cor do indicador de verde/azulado para alaranjado.

Para calcular o percentual de nitrogênio total e consequentemente percentual de proteína, segue a equação:

$$NT (\%) = \frac{(Va - Vb) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{ma} \quad (3.4)$$

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 0,01mol/L; e m é a massa da amostra (g).

Para determinar a proteína bruta da amostra, multiplicou-se o valor de nitrogênio total pelo fator de conversão de nitrogênio para proteína (%). O fator de conversão depende da matriz da amostra, neste caso, optou-se por 6,25, classificação em que a borra de café melhor se enquadrrou (Labconco, 1998; Jiménez-Zamora *et al.*, 2015).

3.1.2.5 Determinação dos Açúcares Totais

Para este experimento, utilizou-se os reagentes fenol e ácido sulfúrico 98% (65-66B) comercial, ambos da marca Synth (Diadema – Brasil).

A quantificação dos açúcares totais foi realizada de acordo com o método descrito por Dubois *et al.* (1956) e Melton & Smith (2001). O método pode ser aplicado para açúcares redutores e não-redutores e carboidratos de várias classes, mesmo na presença de sais e resíduos proteicos. O método consiste na desidratação dos carboidratos na presença de ácido sulfúrico, sendo convertidos em furfural ou hidroximetilfurfural, então, forma-se um complexo aromático de coloração amarelo-alaranjado a partir da união entre o furfural ou o hidroximetilfurfural com o fenol (Melton e Smith, 2001; Tiboni, 2011). Este complexo de coloração amarelo-alaranjado é lido no espectrofotômetro UV/Visível e, então, é traçado um gráfico concentração *versus* absorbância para determinar a quantidade de açúcar presente na amostra.

Para a construção da curva de calibração, foi preparada uma solução de 1 mg/mL com açúcares padrão de acordo com o perfil de monossacarídeos das amostras (Melton e Smith, 2001) analisado previamente por cromatografia a gás (análise dos derivados voláteis acetatos de alditol). Foram transferidas alíquotas de 250 a 500 μ L (variação de 50 μ L) para balões volumétricos de 5 mL, cujos volumes foram ajustados com água destilada, conseqüentemente, as soluções correspondentes foram de 50 a 100 μ g/mL (variação de 10 μ g/mL), respectivamente.

Após alguns testes para definição da concentração mais adequada para a leitura das amostras no espectrofotômetro UV/Visível, preparou-se soluções com concentração de 100 μ g/mL. Todas amostras foram preparadas em triplicata.

Foram transferidas alíquotas de 1 mL de cada solução para seus respectivos tubos, para o branco (controle) adicionou-se água destilada. Em seguida, em todos os tubos, acrescentou-se, primeiramente, 500 μ L da solução aquosa 4 % de fenol (m/v), e, logo em seguida, 2,5 mL

de ácido sulfúrico concentrado. Após a homogeneização de cada tubo, as soluções foram mantidas em repouso até atingirem a temperatura ambiente, e então transferidas para cubetas de vidro. As absorbâncias foram determinadas no comprimento de onda de 490 nm no espectrofotômetro UV/VIS (marca Gold, modelo Spectrumbiolab 53). A absorbância do branco foi ajustada para o valor zero do equipamento, e em seguida as soluções foram lidas.

Para calcular a concentração de açúcares presentes nas amostras, um gráfico de absorbância ($\lambda = 490 \text{ nm}$) *versus* massa de açúcares das soluções da curva padrão foi plotado.

Para calcular o percentual de açúcares total nas amostras, utilizou-se a equação:

$$a (\%) = \frac{x}{ma} \quad (3.5)$$

onde **a** representa o percentual de açúcares, **x** é a massa (g) dos açúcares da amostra estimada pela equação da reta e **ma** (g) é a massa da amostra.

3.1.2.6 *Determinação dos Açúcares Neutros das Frações Ricas em Polissacarídeos por Cromatografia a gás*

A análise foi realizada de acordo com Melton & Smith (2001), com algumas adaptações. A mesma consiste na hidrólise ácida dos polissacarídeos presentes nas amostras em monossacarídeos, os quais são convertidos em acetatos de alditóis e, em seguida, identificados por cromatografia a gás.

Os materiais utilizados como reagentes foram ácido trifluoro acético (grau de pureza > 99,9 %), metanol (grau de pureza > 99,9 %), borohidreto de sódio (grau de pureza > 96 %), sulfóxido dimetil (DMSO) (grau de pureza > 99,5 %), 1- metilimidazol, diclorometano (grau de pureza > 99,9 %), ácido acético (grau de pureza > 99 %), padrões de açúcar eritritose, 2-deoxy-D-ribose, raminose, fucose, ribose arabinose, 2-deoxy-D-glicose, xilose, alose, manose, galactose, glicose e mio-inositol. Todos os reagentes citados são da marca Sigma Aldrich. Também foram utilizados hidróxido de amônio (50 %) da Tec-Lab, ácido sulfúrico concentrado (96 %) da marca Neon.

Para a hidrólise dos polissacarídeos das amostras, primeiramente, utilizou-se ácido trifluoro acético (TFA) e, em seguida, ácido sulfúrico para hidrólise do material resistente, o qual é insolúvel em TFA, pois não foi hidrolisado por este.

Em cada frasco com tampa revestida de politetrafluoretileno (PTFE), pesaram-se 5 mg da amostra e adicionou-se 0,5 mL de solução 2 M de TFA, em seguida, foram incubados por 60 min a 121°C em um bloco digestor. Após os frascos esfriarem, adicionaram-se 25 µL de solução de 20 mg/mL de alose (padrão interno).

Em cada frasco, adicionaram-se 2 mL de metanol e aguardaram-se 30 min até a decantação do material insolúvel em TFA. Utilizando uma pipeta de Pasteur, removeu-se o sobrenadante para um novo frasco, adicionou-se mais uma vez o metanol e extraiu-se o sobrenadante, colocando-o no mesmo frasco que o primeiro sobrenadante. Estes frascos foram gentilmente secos com gás nitrogênio. Ao passo que o material insolúvel ao TFA seguiu para etapa de hidrólise com ácido sulfúrico.

Para melhor compreensão do texto, a fração da amostra hidrolisada pelo ácido trifluoro acético será identificada como fração-TFA, e o material insolúvel em TFA será identificado como fração-H₂SO₄, uma vez que este foi hidrolisado com ácido sulfúrico.

Às frações-H₂SO₄, foram acrescentados 125 µL de solução 72 % de ácido sulfúrico, então foram incubadas por 3 h a 30°C em banho maria. Adicionou-se 1,370 mL de água ultrapura em cada frasco, em sequência, foram incubados por 3 h a 100 °C em bloco digestor. Para neutralização da solução, acrescentaram-se 300 µL de solução 15 M de amônia, e em seguida, adicionaram-se, como padrão interno, 50 µL de solução de alose (20 mg/mL).

Em frascos limpos, inseriram-se 200 µL de cada fração-H₂SO₄, que foram previamente filtradas utilizando um sistema de seringa e filtro com membrana de PVDF (fluoreto de polivinilideno) com Ø = 0,13 mm e poros com Ø = 0,22 µm.

Para a etapa de redução dos monossacarídeos aos alditóis correspondentes, foram adicionados nas frações-TFA, nesta ordem, 100 µL de água ultrapura, 20 µL de solução 15 M de amônia e 1 mL de solução 0,5 M de borohidreto de sódio (NaBH₄) em DMSO em cada frasco, então, a mistura foi agitada em vortex e incubada por 90 min a 40 °C em bloco digestor. Para as frações-H₂SO₄, adicionou-se 1 mL de solução de 0,5 M de borohidreto de sódio em DMSO, então a mistura foi agitada e incubada por 90 min a 40 °C. Em seguida, acrescentaram-se a cada frasco, frações-H₂SO₄ e frações-TFA, 100 µL de solução 18 N de ácido acético e assim, o excesso de NaBH₄ foi destruído.

Para a acetilação dos alditóis, adicionaram-se 200 µL do catalisador da reação, 1- metilimidazol, e 2 mL de anidrido acético em cada frasco. As amostras foram agitadas com o vortex e incubadas por 10 min ou até atingir a temperatura ambiente. Acrescentaram-se 5 mL de água ultrapura para destruir o excesso de anidrido acético, incubando os frascos por mais 10 min ou até os frascos alcançarem a temperatura ambiente.

Para a extração dos acetatos de alditóis, adicionou-se 1mL de diclorometano (DCM), agitou-se a mistura com vortex e aguardou-se até a separação das fases para remover com uma pipeta de Pasteur a fase inferior (DCM) para um frasco limpo. Adicionou-se novamente 1 mL de DCM e repetiu-se o processo de extração.

Aos frascos com os extratos de DCM, adicionaram-se 4 mL de água ultrapura e por meio de uma pipeta de Pasteur, descartou-se a fase superior (aquosa). Acrescentou-se água ultrapura novamente e o processo foi repetido mais duas vezes.

Os frascos com as fases com DCM foram gentilmente secos sob atmosfera inerte (gás nitrogênio). Imediatamente antes da corrida no cromatógrafo a gás, adicionaram-se 2 mL de DCM em cada frasco.

Foram preparados frascos controle de água ultrapura, do ácido TFA e do ácido sulfúrico. Para o preparo do controle com os açúcares padrão, pesaram-se 20 mg de cada açúcar e adicionou-se 1 mL de água ultrapura em cada padrão. Em seguida, misturaram-se 100 μ L de cada padrão e obteve-se uma solução com 13 tipos de monossacarídeos: eritritose, 2-deoxy-D-ribose, raminose, fucose, ribose, arabinose, 2-deoxy-D-glicose, xilose, alose, manose, galactose, glicose e mio-inositol.

Os acetatos de alditóis foram separados e identificados utilizando o cromatógrafo a gás Varian 3900 (Figura 3.2) equipado com um detector por ionização de chamas. Utilizou-se uma coluna BPX-70 (30 m de comprimento x 0,75mm) (SGE).



Figura 3.2: Foto de cromatógrafo gasoso Varian 3900

O método foi configurado com temperatura inicial de forno de 38 °C, com rampa de aquecimento de 50 °C.min⁻¹ até atingir a temperatura de 170 °C, em seguida, aumentou-se até 210 °C com rampa de aquecimento de 2 °C.min⁻¹, a temperatura foi mantida por 20 minutos. O

detector trabalhou na temperatura de 230 °C. Cada corrida durou 42 min, como configurado. O gás nitrogênio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1,5 mL.min⁻¹.

A área dos picos no cromatograma foi calculada pelo software de aquisição de dados Galaxie Workstation. Todas as amostras foram realizadas em triplicata.

3.1.2.7 Análise Colorimétrica

Para análise de cor, utilizou-se o colorímetro triestímulo (marca Hunterlab, modelo Colorflex 45/0) com ângulo de observação de 10° e iluminante padrão D65 (luz diurna). As amostras das frações ricas em polissacarídeos foram colocadas no aparelho e as leituras foram realizadas em triplicata. O aparelho quantificou os dados espectrais e apresentou a informação em termos numéricos (Minolta, 2007), utilizando o espaço instrumental CIELAB, que expressa a cor da amostra por meio das coordenadas L* (luminosidade), a* (coordenada de vermelho a verde) e b* (coordenada de amarelo a azul) (Figura 3.3).

Para a obtenção da cor e avaliação comparativa dos resultados foram calculados os parâmetros h*(hue) e c*(croma) que representam, respectivamente, a tonalidade da cor (equação 3.6) e a intensidade da cor (equação 3.7) (Borges *et al.*, 2002):

:

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3.6)$$

$$c^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3.7)$$

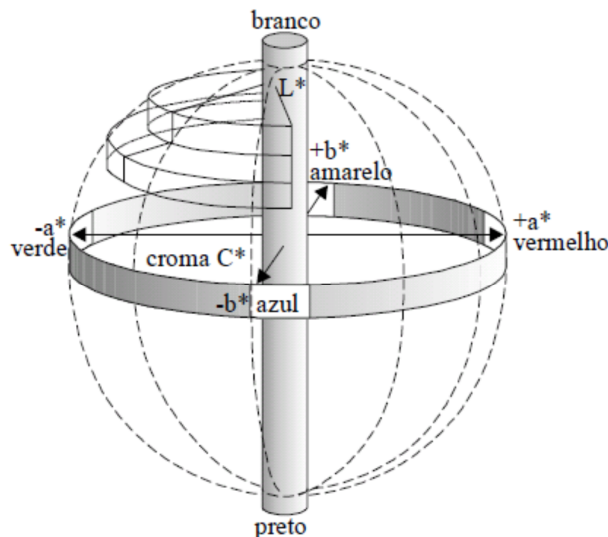


Figura 3.3: Diagrama do sólido de cor no espaço L^* , a^* , b^* . Fonte: Machado *et al.* (1997)

3.1.2.8 Análise por Espectroscopia no Infravermelho

Para análise das amostras, utilizou-se o espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), modelo IRAffinity-1 (Shimadzu, Japão), com o detector DLATGS (Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine), que abrange a faixa de 7800 a 370 cm^{-1} do espectro. As leituras foram realizadas na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} , com 20 *scans* e resolução de 4 cm^{-1} (Belchior *et al.*, 2016). Utilizou-se o acessório de refletância total atenuada (ATR, do inglês *Attenuated Total Reflectance*) em cristal de ZnSe, em atmosfera seca e à temperatura de 20 °C. As análises foram realizadas em triplicata.

3.1.2.9 Análise Termogravimétrica - TGA/DTG

A análise termogravimétrica (TGA) é uma técnica que acompanha a variação da massa da amostra, em função da programação da temperatura (Denari e Cavalheiro, 2012), ao passo que a termogravimetria derivada (DTG) é a derivada primeira da variação da massa em relação ao tempo (dm/dt) e é registrada em função da temperatura ou tempo, logo a DTG é a derivada primeira da TGA (Ionashiro *et al.*, 2014).

As análises térmicas das frações ricas em polissacarídeos foram realizadas pela termobalança da marca Shimadzu (modelo DTG60) do Departamento de Química/UFMG, com sistema de registro de curvas TGA/DTG simultâneo.

A metodologia utilizada foi baseada em Cerqueira, Souza, *et al.* (2011). Para realização da análise, foram pesados aproximadamente 3-5 mg de amostra em cadinho de alumina, avaliou-se desde a temperatura ambiente até 580 °C, sob razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, e atmosfera de gás nitrogênio (N₂) com fluxo de 50 mL.min⁻¹.

3.2 FILMES

3.2.1 PREPARAÇÃO DOS FILMES

Para a produção dos filmes foram utilizadas as frações ricas em polissacarídeos isoladas a partir da borra de café *espresso* com peróxido de hidrogênio em meio alcalino. Os reagentes utilizados foram etanol anidro (Anidrol, Diadema – Brasil), glicerina (Synth, Diadema – Brasil) e os sais cloreto de cálcio (CaCl₂) da marca Anidrol e cloreto de zinco (ZnCl₂) da marca Neon (Suzano – Brasil).

As metodologias adotadas para dissolução das frações ricas em polissacarídeos e para o preparo do filme foram baseadas nas metodologias descrita por Xu *et al.* (2016), com algumas modificações.

Para solubilização dos polissacarídeos em solução de cloreto de zinco, realizaram-se testes variando a concentração de ZnCl₂ em relação a massa total da mistura, assim como da concentração de FRP. A partir disso, preparou-se uma solução com 67 % (m/m) de ZnCl₂ em água destilada e 2,3 % (m/m) de FRP.

Em um béquer, adicionaram-se 210,0 g de cloreto de zinco em 90 mL de água destilada, a solução foi aquecida a 65 °C em banho maria com agitação mecânica por 10 minutos. Separadamente, foi preparada uma pasta com 7,20 g de amostra e 6 mL de água destilada, misturados a temperatura ambiente. A pasta foi adicionada à solução aquosa de ZnCl₂ e aquecida sob a mesma temperatura de 65 °C por 90 minutos (Figura 3.4).



Figura 3.4: Foto de preparação do filme em banho maria e sob agitação mecânica.

Para um filme mais coeso, adicionaram-se 5,0 g de cloreto de cálcio na mistura para realizar ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas (*crosslinking*). A solução foi mantida sob aquecimento e agitação por mais 20 minutos. Sequencialmente, verteu-se a solução sobre duas bandejas de aço inox com dimensões de 30 x 30 cm cada. Em seguida, as bandejas permaneceram por 30 min em estufa à vácuo sob temperatura de 65 °C para remoção das bolhas do filme. A mistura, já gelificada, foi imersa em 300 mL de etanol anidro por 60 min a 8 °C. O filme coagulado foi colocado em um banho de água destilada (800 mL) por 5 min a 75 °C para retirar os sais em excesso. O filme ainda foi imerso em uma solução de glicerol a 10 % (v/v) por mais 15 min, antes de ser seco a 24 °C com umidade relativa em torno de 50 % por 15 horas.

Finalmente, os filmes foram acondicionados em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade com fecho hermético (zip lock), mantidos em ambiente fechado a 24 °C.

Os filmes foram produzidos a partir das frações de polissacarídeos isoladas no tratamento da borra de café com peróxido de hidrogênio em meio alcalino. A identificação dos filmes está no Quadro 3.2:

Quadro 3.2: Codificação dos filmes.

Filmes	Base dos filmes
F15	P15 - tratamento com 15% H ₂ O ₂
F25	P25 - tratamento com 25% H ₂ O ₂
F35	P35 - tratamento com 35% H ₂ O ₂
F45	P45 – tratamento com 45% H ₂ O ₂

3.2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes desenvolvidos, cujos grupos são diferenciados pela concentração da solução de peróxido de hidrogênio alcalina utilizada no tratamento da borra de café, foram caracterizados por meio de determinação da permeabilidade do filme ao vapor de água, análise colorimétrica, análises térmicas (calorimetria diferencial de varredura e análise termogravimétrica), por espectroscopia no infravermelho médio, e por meio da análise de propriedades mecânicas de tração.

Para realização das análises de caracterização dos filmes, estes foram condicionados de acordo com a norma ASTM D618 – 13 (ASTM, 2013), sob a temperatura de 23°C, umidade relativa de 50%, por pelos menos 48 h antes das respectivas análises.

3.2.2.1 *Análise de Permeabilidade ao Vapor de Água*

As análises de permeabilidade dos filmes ao vapor de água foram realizadas de acordo com a norma E96/E96 – 15 (ASTM, 2015), pelo método dessecante, com algumas modificações.

Para a análise, foram utilizadas cápsulas circulares com paredes impermeáveis, contendo cloreto de cálcio anidro, o qual foi seco previamente em estufa com circulação de ar. O sistema cápsula e filme foi vedado com o auxílio de cera de abelha e, em sequência, pesado em balança analítica e acondicionado a 21 °C em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio para manter a umidade relativa em 75 %. Foram registradas entre 8 e 10 pesagens durante cinco horas, sendo o intervalo para pesagem determinado por testes realizados previamente.

A partir do ganho da massa de cada sistema que é associado à umidade permeada pelo filme, calculou-se a taxa de transmissão ao vapor de água (TTVA) e a permeabilidade ao vapor de água das amostras por meio da equação 3.8 e equação 3.9, respectivamente. As análises foram executadas em quadruplicatas.

$$TTVA = \frac{G}{t.A} \quad (3.8)$$

em que G/t representa o coeficiente angular da reta ganho de massa (g) *versus* tempo (h) e A é área de permeação de cada filme (m^2).

$$PVA = \frac{TTVA.e}{P_{sat} \cdot (UR_1 - UR_2)} \quad (3.9)$$

em que PVA é permeabilidade ao vapor de água, e é a espessura média (mm) de cada corpo de prova, $(UR_1 - UR_2)$ representa a diferença da umidade relativa entre o interior do sistema cápsula/filme e o dessecador, e P_{sat} representa a pressão de saturação do vapor de água (kPa) na temperatura do ensaio.

3.2.2.2 Análise Colorimétrica

Assim como foi realizada a análise de cor para as amostras de FRP, realizou-se para as amostras dos filmes desenvolvidos, utilizando o colorímetro triestímulo (marca Hunterlab, modelo Colorflex 45/0) com ângulo de observação de 10° e iluminante padrão D65 (luz diurna) para realizar as medições. As amostras foram recortadas (raio = 29,0 mm), de modo que fossem perfeitamente encaixadas no copo de vidro, acessório do aparelho para leitura das amostras. O equipamento quantificou os dados espectrais e apresentou a informação em termos numéricos (Minolta, 2007), utilizando o espaço instrumental CIELAB, que expressa a cor da amostra por meio das coordenadas L^* (luminosidade), a^* (coordenada de vermelho a verde) e b^* (coordenada de amarelo a azul). A leitura das amostras foi realizada em triplicata. O cálculo da cor foi realizado de acordo com as equações 3.5 e 3.6 (Borges *et al.*, 2002).

3.2.2.3 Análise Térmica

Para as amostras de filmes também foram realizadas as análises térmicas de TGA e DTG sob as mesmas condições que as amostras das frações ricas em polissacarídeos. A análise térmica foi realizada por meio da termobalança modelo DTG60 da Shimadzu, do Departamento de Química/UFMG. A amostra utilizada foi de aproximadamente 3-5 mg, utilizou-se cadinho de alumina como porta-amostra, a análise ocorreu desde a temperatura ambiente até 580°C, sob razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, em atmosfera de gás N₂ com fluxo de 50 mL min⁻¹ (Cerqueira, Souza, *et al.*, 2011).

Para os filmes, além das técnicas termoanalíticas mencionadas, realizou-se a análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC), que consiste no monitoramento das variações de entalpia da amostra em relação a um material de referência termicamente inerte (normalmente,

o cadinho de alumínio vazio), à medida que tais amostras são submetidas a uma programação controlada de temperatura (Denari e Cavalheiro, 2012).

Os corpos de prova foram analisados pelo equipamento DSC60 da marca Shimadzu, do Departamento de Química/UFMG e baseou-se na Norma D3418 (ASTM, 2012). A massa da amostra foi de 3-5 mg e as análises foram realizadas em cadinhos de alumínio. O objetivo da análise de DSC foi encontrar a temperatura de transição vítrea (T_g), por isso, foram realizadas duas corridas, das quais a primeira foi executada com o objetivo de apagar a história térmica do material, ao passo que o segundo aquecimento foi realizado com objetivo de encontrar a T_g . Os filmes foram submetidos ao primeiro aquecimento, à razão de $20\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, da temperatura ambiente até $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, deixando 10 min isotérmico nesta temperatura. Em seguida, as amostras sofreram resfriamento até $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. No segundo aquecimento, a corrida foi realizada de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $20\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$. Os ensaios foram realizados em atmosfera de N_2 com fluxo de gás de $50\text{ mL}.\text{min}^{-1}$.

3.2.2.4 *Análise por Espectroscopia no Infravermelho*

Para os espectros dos filmes, utilizou-se o FTIR, modelo IRAffinity-1 (Shimadzu, Japão), com o detector DLATGS (Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine), que abrange a faixa de 7800 a 370 cm^{-1} do espectro. Utilizou-se a técnica ATR (cristal de ZnSe) para a leitura das amostras, que foram realizadas na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} , com 20 *scans* e resolução de 4 cm^{-1} (Belchior *et al.*, 2016). Foram realizadas medidas de referência com o prisma do cristal vazio (*background*). As análises foram realizadas em atmosfera seca e à temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.2.2.5 *Análise das Propriedades Mecânicas de Tração*

Os ensaios mecânicos de tração foram realizados no Laboratório de Compósitos (DEMEC/UFMG), de acordo com a norma ASTM D 882- 12 (ASTM, 2012).

Para a realização dos testes, utilizou-se a máquina de ensaios universal da marca EMIC, modelo DL, com célula de carga de 20 N e velocidade de separação das garras de $12,5\text{ mm}.\text{min}^{-1}$ (Figura 3.5). Testou-se seis corpos de prova para cada grupo, com dimensões de $10 \times 2,5\text{ cm}$. A espessura dos filmes foi medida por meio do micrômetro Mitutoyo, N° 103-137,

em cinco pontos distintos e aleatórios em cada corpo de prova, assim também foram efetuadas as medidas da largura, com auxílio de uma régua graduada, ambas as medidas foram utilizadas para efetuar os cálculos referentes às propriedades mecânicas de tração.



Figura 3.5: Foto do ensaio de tração, momento da ruptura do corpo de prova.

Foi utilizado o software ImageJ para a calcular o percentual de inclusões nas amostras, que poderiam influenciar no resultado das análises de propriedades mecânicas. As fotos das amostras foram realizadas sob a mesma luz.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS (FRP)

4.1.1 OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS

Para a obtenção das frações ricas em polissacarídeos, a borra de café *espresso* foi submetida a tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino (PHA). A diferença entre os grupos está na variação da concentração da solução de PHA utilizada no tratamento, ou seja, na relação de peróxido de hidrogênio para borra de café (g de H₂O₂/g de borra de café). O tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino promove a remoção parcial de lignina e hemicelulose (Gould, 1985; Alvarez-Vasco e Zhang, 2013; Su *et al.*, 2015).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.1, verifica-se que a amostra P15 exibiu o melhor rendimento, em média 48 % (m/m), ao passo que o tratamento com solução aquosa de 45 % de PHA, apresentou o menor rendimento estatisticamente a 5 % de probabilidade. O resultado já era esperado, considerando que o tratamento referente às amostras P45 foi o mais drástico e o tratamento dado às amostras P15 foi o mais brando.

Tabela 4.1: Determinação do rendimento dos tratamentos realizados sobre a borra de café.

Grupo	Rendimento (%)
P15	48,07 ± 3,17 ^a
P25	45,37 ± 0,56 ^{ab}
P35	42,23 ± 1,96 ^b
P45	36,37 ± 0,56 ^c

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 de Tukey (p<0,05).

4.1.2 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

De modo a caracterizar o material resultante do tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino que a borra de café *espresso* foi submetida, realizou-se as análises de determinação de umidade, gordura bruta, carboidrato e proteína. Os dados das análises estão apresentados na Tabela 4.2:

Tabela 4.2: Composição físico-química do material proveniente da borra de café.

Grupos	Componentes			
	Umidade	Gordura Bruta	Proteínas	Carboidratos
P15	5,84 ± 1,08 ^a	12,34 ± 0,57 ^{ab}	4,52 ± 0,19 ^a	70,48 ± 0,35 ^b
P25	6,48 ± 0,37 ^a	11,97 ± 0,41 ^{ab}	3,57 ± 0,11 ^b	71,99 ± 2,97 ^b
P35	6,55 ± 0,12 ^a	13,22 ± 0,11 ^a	3,27 ± 0,15 ^b	76,13 ± 0,42 ^a
P45	5,05 ± 0,16 ^a	11,08 ± 0,29 ^b	2,68 ± 0,18 ^c	73,30 ± 0,39 ^{ab}

Valores expressos em porcentagem.

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 de Tukey, a 5% de significância.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4.2, o teor de gordura bruta encontrada nos grupos analisados está dentro da faixa descrita por Cruz *et al.* (2012), que realizou um estudo com 50 amostras de 14 marcas de café coletadas de diferentes cafeterias relatando que o teor de gordura bruta encontrado na borra de café *espresso* pode variar de 9,3 a 16,2 %. O grupo P35 apresentou valor significativamente superior em relação ao grupo P45, ao passo que P15 e P25 não diferem entre si e nem em relação aos tratamentos P35 e P45. A redução no teor de lipídeos é justificada pela reação do H₂O₂ com metais de transição reduzidos, presentes na borra de café em pequenas quantidades, produzindo o radical hidroxila (·OH) que promove a oxidação dos lipídeos.

A borra de café apresenta em média 13,6 % de proteína (Campos-Vega et al., 2015), na BC utilizada neste trabalho, foi encontrado um valor ligeiramente inferior, 12,88 % (desvio padrão = 0,03). Desta maneira, pode-se considerar que os tratamentos promoveram relevante redução do teor de proteína nas amostras analisadas (Tabela 4.2). As médias dos grupos apresentaram diferença significativa entre si em 5 % de significância, de maneira que as amostras provenientes do tratamento com solução aquosa 45 % (v/v) peróxido de hidrogênio alcalino apresentaram 2,68 % (m/m) de proteína, o menor percentual entre as amostras, provavelmente o resultado é consequência do tratamento mais intenso realizado nas amostras P45. Por sua vez, o teor de proteína das amostras do grupo P15 foi superior aos demais grupos, apresentando média de 4,52 % (Tabela 4.2). Pode-se, portanto, inferir que o peróxido de hidrogênio atua sobre as proteínas reduzindo a estabilidade conformacional das mesmas (Le *et al.*, 2009), facilitando, portanto, a hidrólise alcalina destas pelo NaOH presente na solução.

Além de proteínas, a borra de café apresenta outros compostos nitrogenados que, embora parte seja extraída durante o preparo do café, ainda permanecem em parte na matriz. Na borra de café *espresso*, continua presente cerca de 15 a 25 % da cafeína do grão de café torrado inicialmente, ou seja, entre 1,3 e 2,4 %, além disso, permanecem na matriz em torno em torno de 3,7 % (base seca) de aminoácidos livres (Oestreich-Janzen, 2010).

Ademais, sabe-se que fragmentos de proteína (< 6 %) e polissacarídeos estão associados a ácidos clorogênicos, compondo macromoléculas de coloração marrom conhecidas como melanoidinas que foram formadas pelas Reações de Maillard durante o processo de torração (Moreira *et al.*, 2012; Campos-Vega *et al.*, 2015). Estudos indicam que o café apresenta cerca de 23 % de melanoidinas, ao passo que a borra de café é constituída por 16 % dessas macromoléculas (Nunes e Coimbra, 2010). Todos os compostos nitrogenados, provavelmente, influenciaram no percentual de proteínas encontrado nas amostras.

As amostras P35 apresentaram 76,13 % de carboidratos, valor superior às amostras P15 e P25, as quais, por sua vez, não diferem significativamente entre si em nível de 5 % de probabilidade. As amostras P45 não diferem significativamente das demais amostras. O tratamento em que a borra de café foi submetida teve como objetivo remover a lignina, possibilitar o acesso a hemicelulose e celulose da parede celular, embora, consequentemente, parte da hemicelulose tenha sido solubilizada (Gould, 1984; Alvarez-Vasco e Zhang, 2013). Considerando que a borra de café *espresso* é constituída de 60 a 65 % (m/m) de polissacarídeos (Passos e Coimbra, 2013; Simões *et al.*, 2013), podemos estimar que em torno de 45 % de holocelulose, sendo a grande maioria hemicelulose, foram removidos da BC com tratamento mais brando, ao passo que para o tratamento mais drástico, P45, estima-se que foi removida cerca de 55 a 60 % (m/m). A degradação de polissacarídeos pela ação de H₂O₂ também se dá pela abstração de hidrogênio da cadeia polimérica pelo radical hidroxila que age diretamente sobre ligações de glicosídicas β -D- (1-4).

4.1.3 DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES NEUTROS DAS FRAÇÕES RICAS EM POLISSACARÍDEOS POR CROMATOGRAFIA A GÁS

Amostras das frações ricas em polissacarídeos P15, P25, P35, P45, assim como a borra de café, foram hidrolisadas em duas etapas, primeiramente com ácido TFA e, em seguida, o resíduo insolúvel foi hidrolisado por H₂SO₄ (mais detalhes em seção 3.1.2.5). Ambas frações foram derivatizadas a acetatos de alditóis para a análise de cromatografia a gás. Na Tabela 4.3, estão dispostos os dados da composição monossacarídica referentes às hidrólises com TFA e H₂SO₄, além da composição total de cada amostra.

Nas amostras analisadas, foram encontrados os monossacarídeos manose, galactose, glicose e arabinose. Este resultado já era esperado, pois os principais polissacarídeos do grão e da borra de café são as galactomananas, as arabinogalactanas e a celulose, os quais são

constituídos principalmente por esses açúcares (Arya e Rao, 2007; Mussatto *et al.*, 2011a; Mussatto *et al.*, 2011b; Ballesteros *et al.*, 2014).

Tabela 4.3: Composição dos monossacarídeos das amostras P15, P25, P35 e P45.

	Composição dos monossacarídeos (% mol)				
Grupos	Arabinose	Manose	Galactose	Glicose	Total
BC					
TFA	10,98 ± 0,59 ^a	48,37 ± 0,98 ^b	38,30 ± 1,27 ^a	2,34 ± 1,39 ^c	61,85 ± 0,62 ^a
H2SO4	-	62,15 ± 5,31 ^A	-	37,85 ± 5,31 ^A	38,15 ± 0,62 ^B
Total	6,86 ± 0,41	54,13 ± 1,62	24,04 ± 0,51	14,97 ± 1,46	100
P15					
TFA	4,89 ± 0,67 ^b	61,06 ± 2,73 ^a	28,33 ± 1,47 ^b	5,72 ± 0,72 ^{abc}	61,21 ± 4,32 ^a
H2SO4	-	64,99 ± 1,99 ^A	-	35,01 ± 1,99 ^A	38,79 ± 4,32 ^B
Total	2,97 ± 0,19	62,68 ± 1,96	17,30 ± 0,37	17,04 ± 2,12	100,00
P25					
TFA	4,59 ± 0,18 ^b	63,62 ± 2,17 ^a	25,26 ± 1,19 ^b	6,52 ± 1,25 ^a	68,15 ± 4,63 ^a
H2SO4	-	67,20 ± 2,99 ^A	-	32,80 ± 2,99 ^A	31,85 ± 4,63 ^B
Total	3,18 ± 0,25	65,45 ± 1,71	17,48 ± 1,94	13,89 ± 2,92	100,00
P35					
TFA	6,76 ± 1,17 ^b	60,52 ± 4,26 ^a	28,84 ± 3,06 ^b	3,88 ± 0,14 ^{abc}	50,01 ± 2,65 ^b
H2SO4	-	66,26 ± 1,14 ^A	-	33,74 ± 1,14 ^A	49,99 ± 2,65 ^A
Total	3,58 ± 0,49	62,88 ± 2,40	15,34 ± 1,92	18,20 ± 2,26	100,00
P45					
TFA	6,89 ± 1,53 ^b	62,43 ± 2,84 ^a	27,62 ± 2,62 ^b	3,06 ± 1,52 ^{bc}	47,36 ± 2,43 ^b
H2SO4	-	67,45 ± 5,84 ^A	-	32,55 ± 5,84 ^A	52,64 ± 2,43 ^A
Total	3,55 ± 0,23	65,44 ± 1,72	14,28 ± 1,07	16,73 ± 1,35	100,00

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

As amostras pertencentes ao grupo TFA são aquelas que foram hidrolisadas por este ácido na preparação da amostra para análise de cromatografia a gás, ao passo que, as amostras pertencentes ao grupo H₂SO₄ foram digeridas pelo ácido sulfúrico. Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância (letras maiúsculas correspondem às frações-TFA e letras minúsculas correspondem às frações-H₂SO₂).

A composição dos açúcares da borra de café pode variar dependendo do grão utilizado, do processo de extração, além da variação do método de análise. Para as amostras de borra de café *espresso* analisadas, foram encontradas cerca de 54 % de manose, 24 % de galactose, 15 % de glicose e 7 % de arabinose (Tabela 4.3). Esses resultados foram similares a outros trabalhos como Simões *et al.* (2013) que encontraram 46 % de manose, 27 % de galactose, 20 % de glicose e 6 % de arabinose na BC *espresso*. Outro exemplo de resultado similar foi realizado por Mussatto *et al.* (2011a) que estudaram a composição química da borra de café industrial e encontraram 46,8 % de manose, 30,4 % de galactose, 19 % de glicose e 3,8 % de arabinose, enquanto, outro estudo com borra de café industrial encontrou 60 % de glicose e 40 % de manose (Pujol *et al.*, 2013), provavelmente, esta última foi mais exaurida que a primeira.

Na metodologia utilizada para preparação das amostras para a análise de cromatografia a gás, o ácido TFA hidrolisou a hemicelulose, ao passo que a celulose e polímeros resistentes

ao TFA foram hidrolisados por H_2SO_4 (Blaschek *et al.*, 1987; Melton e Smith, 2001). As frações digeridas por TFA são chamadas de polissacarídeos não-celulósicos, enquanto, a outra fração é conhecida como parte celulósica, mesmo apresentando polissacarídeos que não são celulose.

Em relação à composição dos açúcares totais (Tabela 4.3), nota-se que a borra de café e os grupos P15 e P25 são constituídos principalmente pela fração de polissacarídeos não-celulósicos, correspondendo a 61,85, 61,21 e 68,15 %, respectivamente, e que estatisticamente, esses valores não diferem entre si. No entanto, quando se observa os resultados referentes a P35 e P45, as frações de TFA e de H_2SO_4 representam cerca de 50 % cada uma do total dos monossacarídeos. Esta mudança nas frações dos grupos mencionados pode ser atribuída à solubilização da hemicelulose que se dá devido ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para remover lignina (Gould, 1984; 1985; Alvarez-Vasco e Zhang, 2013). Logo, diante de um tratamento mais intenso, o percentual da fração de polissacarídeos não-celulósicos diminui quando comparados aos demais grupos, e consequentemente, o percentual da fração celulósica aumenta.

Simões *et al.* (2009) com o objetivo de extrair as galactomananas que permanecem na borra de café *espresso*, realizaram extrações utilizando solução de hidróxido de sódio (4 M NaOH). No entanto, na matriz ainda permaneceram 49 % da quantidade inicial, a qual apresentou composição monossacarídica igual a 60 % de manose, 20 % de galactose, 14 % de glicose e 5 % de arabinose, resultados similares aos das amostras de P15, P25, P35 e P45 (Tabela 4.3), sugerindo que alguns polissacarídeos ou regiões dos mesmos são resistentes a tratamentos para removê-los ou solubilizá-los, como tratamentos alcalinos e com PHA.

A composição dos monossacarídeos da fração de TFA da borra de café difere das demais amostras, de modo que o tratamento com PHA, independente da concentração, removeu parte das unidades de galactose e arabinose dos polissacarídeos da borra de café. Além disso, de acordo com os resultados das frações de TFA, pode-se propor que as galactomananas são os principais polissacarídeos das amostras analisadas, dado que as galactomananas do café são polissacarídeos de cadeia linear de manoses unidas entre si por ligações do tipo $\beta(1-4)$ com substituições em O-6 por unidades de galactose (Navarini *et al.*, 1999).

Ademais, a presença de arabinogalactanas na composição dos grupos P15, P25, P35 e P45 não deve ser desconsiderada, devido ao teor de galactose e de arabinose encontrados nas frações de TFA, visto que esse polímero é formado por resíduos de galactose unidos por ligações $\beta(1-3)$ podendo ser substituídos por arabinose e galactose na posição O-6.

O resultado da composição monossacarídica das frações de H_2SO_4 confirma a presença de celulose na matriz e sugerem a existência de mananas ou de regiões cristalinas nas

galactomananas da borra de café, pois o perfil dos açúcares neutros nas frações de H_2SO_4 foram similares entre os tratamentos e a borra de café, indicando que o processo de deslignificação com tratamento com PHA não solubiliza os polímeros tidos como mais resistentes à digestão ácida.

Segundo estudos realizados por Gould (1984,1985) com palhas de trigo submetidas a tratamento com PHA, cerca de menos que 5 % do total de unidades de glicose da celulose foi modificado, da mesma maneira, provavelmente algumas galactomananas ou regiões cristalinas destas encontradas no café também são resistentes ao tratamento com PHA. Pesquisas realizadas por Fischer *et al.* (2001) inferem que as galactomananas presentes no grão apresentam desde uma região linear até uma região com ramificações em uma razão de manose para galactose de 30:1 até 14:1.

4.1.4 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

Sendo a cor uma questão de percepção, e por isso a interpretação desta é subjetiva, a análise da cor das amostras na foto da Figura 4.1 deve ser realizada por meio de espectrofotômetros e colorímetros, permitindo expressar a cor de forma objetiva (Tabela 4.4).



Figura 4.1: Foto da borra de café e dos materiais provenientes desta, representados nesta ordem da esquerda para esquerda para direita: borra de café, P15, P25, P35 e P45.

Tabela 4.4: Resultados dos parâmetros L^* , h^* e c^* das amostras de BC, P15, P25, P35 e P45.

Grupo	L^*	h^*	c^*
BC	$25,31 \pm 0,35^e$	$57,46 \pm 0,69^e$	$16,82 \pm 1,18^d$
P15	$66,77 \pm 0,10^d$	$74,85 \pm 0,14^d$	$36,28 \pm 0,09^a$
P25	$70,55 \pm 0,23^c$	$76,88 \pm 0,06^c$	$33,33 \pm 0,14^b$
P35	$73,92 \pm 0,10^b$	$78,26 \pm 0,05^b$	$32,85 \pm 0,06^b$
P45	$74,89 \pm 0,05^a$	$79,88 \pm 0,04^a$	$29,16 \pm 0,09^c$

Valores médios $\pm$ desvio padrão ($n=3$).

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

O parâmetro L^* (luminosidade) representa a escala de escuro-claro que varia de 0 a 100, de forma que quanto mais próximo de 100, mais clara é a amostra (Minolta, 2007). Desta maneira, à medida que o tratamento com PHA foi intensificado foram obtidas amostras mais claras. P45 é avaliada como a amostra mais clara e P15 representa a amostra mais escura do grupo em nível de 5% de probabilidade, atrás apenas das amostras de borra de café como esperado. Para a obtenção da cor e avaliação comparativa dos resultados foram utilizados os parâmetros h^* (hue) e c^* (croma) que representam, respectivamente, a tonalidade da cor e a intensidade da cor (Figura 4.2).

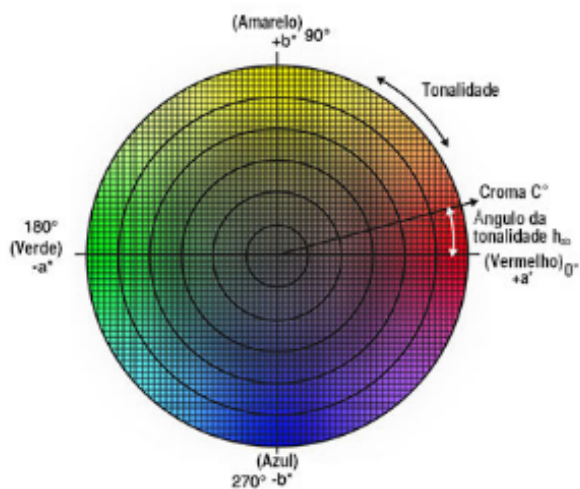


Figura 4.2: Círculo cromático CIELAB. Fonte: Konica Minolta

As amostras avaliadas diferiram entre si em relação aos parâmetros h^* e c^* em 5% de significância, exceto pelas amostras P25 e P35 que não apresentaram diferença de intensidade de cor. Todas as amostras submetidas ao tratamento com PHA tendem a tonalidades amareladas e apresentam intensidade de cor moderada, pois o valor de c^* das amostras está em torno de 30, sabendo que a escala varia de 0 a 60.

4.1.5 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Todos os espectros nesta seção foram obtidos utilizando o acessório ATR e absorbância com corte na região de 3000-600 cm^{-1} , e foram previamente submetidos à correção atmosférica.

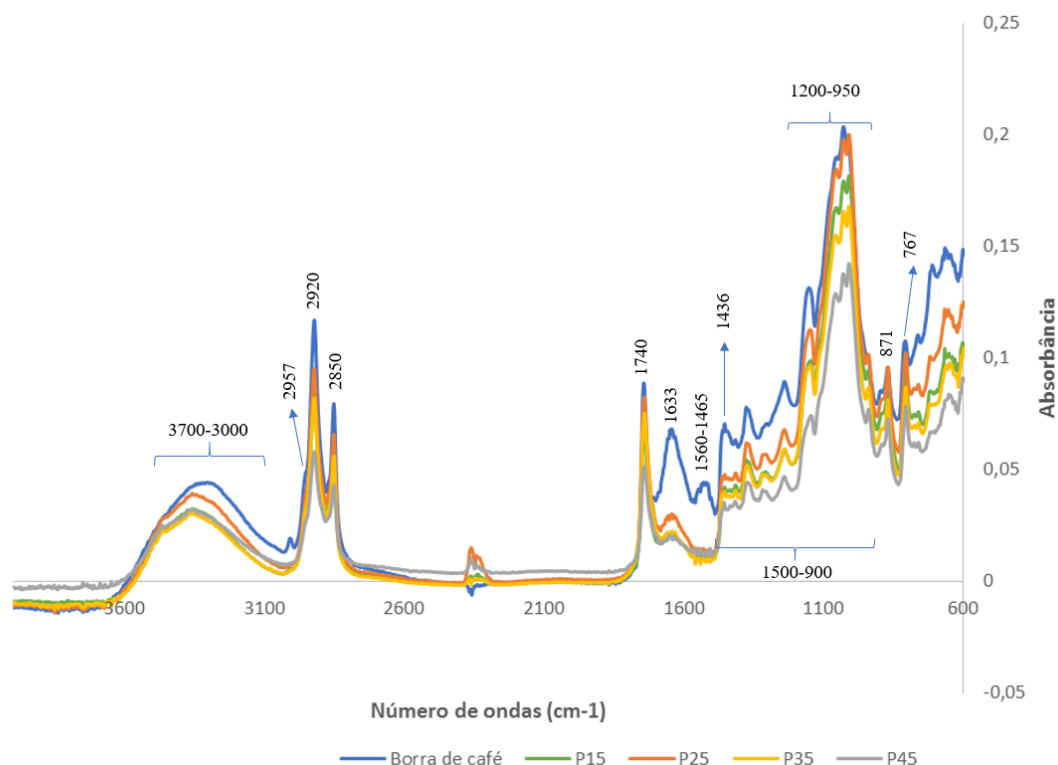


Figura 4.3: Espectros da borra de café e das amostras P15, P25, P35 e P45.

De acordo com Barbosa (2007), a região de 3700-3000 cm^{-1} é característica do estiramento da ligação O-H, associada à presença de água na amostra, além de ser característica do estiramento da ligação N-H. Por meio da Figura 4.3, pode-se verificar a presença de uma banda larga de intensidade fraca nessa região em todas as amostras, contudo a borra de café apresentou uma banda mais acentuada que as demais. De maneira geral, todas as amostras ainda permanecem com alguma umidade residual, mesmo após submetidas ao processo de secagem.

Em todas as amostras, identificou-se bandas na região entre 3000-2850 cm^{-1} , as quais são características de estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-H de grupos CH_3 , CH_2 e CH de alcanos e grupos alquilas. Mais especificamente, os picos identificados nas regiões 2920 e 2850 cm^{-1} estão associados aos estiramentos assimétrico e simétrico das ligações CH_2 , respectivamente (Barbosa, 2007), presentes em todas as amostras.

Paradkar e Irudayaraj (2002) utilizaram a técnica FTIR-ATR para identificar cafeína em refrigerantes e observaram dois picos na região entre 3000 e 2800, sendo um deles, o pico de

2882 cm^{-1} , o qual foi correlacionado às vibrações de estiramento assimétrico de C-H do grupo metil ($-\text{CH}_3$) da cafeína, dado que essa molécula apresenta três grupos metil na respectiva estrutura cíclica. Reis *et al.* (2016) atribuiu o pico em 2852 cm^{-1} parcialmente à presença de cafeína, dado que se apresentou mais intenso nas amostras de café quando comparado às amostras de milho e cevada, pois foi considerado que este mesmo pico juntamente com o pico em 2920 cm^{-1} estavam relacionados à presença de lipídeos nas amostras de milho, cevada, café, casca de café e BC industrial (Reis *et al.*, 2016). Outras pesquisas também atribuíram os picos mencionados à presença de lipídeos (Wang *et al.*, 2011; Wang e Lim, 2012; Belchior *et al.*, 2016). Além disso, o “ombro” observado em 2957 cm^{-1} na borra de café corresponde à absorção de estiramento assimétrico de grupamentos de metila (Barbosa, 2007) pertencente aos lipídeos (Wang *et al.*, 2011)

Cruz *et al.* (2012) relataram que o teor de cafeína encontrado em 50 amostras de borra de café *espresso* de 14 marcas de café coletadas de diferentes cafeterias variou entre 194,0 a 787,7 mg/100 g (base seca), com média de 452,6 mg/100 g. Desta maneira, pode-se considerar que a amostra de BC analisada neste trabalho contém cafeína e, por isso, o pico em 2850 cm^{-1} pode ser atribuído parcialmente à cafeína. No que se refere ao teor de lipídeos, os resultados no item 4.1.2 sobre a análise de determinação de gordura bruta confirmam que os picos mencionados podem ser conferidos à presença de lipídeos na borra de café e nas amostras submetidas aos tratamentos com PHA, visto que a BC *espresso* é rica em lipídeos (Cruz *et al.*, 2012) e as amostras P15, P25, P35 e P45 apresentaram teor de gordura bruta entre 11 e 13 % (m/m).

Em todas as amostras analisadas, verifica-se um pico bastante acentuado na região de 1740 cm^{-1} , o qual é atribuído às vibrações de carbonila ($\text{C}=\text{O}$), possivelmente pertencente ao grupo éster (Barbosa, 2007; Liang *et al.*, 2016) de triglicerídeos presentes nas amostras (Kemsley *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2011; Wang e Lim, 2012; Reis *et al.*, 2017).

As bandas presentes na região de 1700 a 1600 cm^{-1} estão fortemente relacionadas a concentração de ácidos clorogênicos e cafeína em cafés (Ribeiro *et al.*, 2010; Liang *et al.*, 2016). Na Figura 4.3, pode-se observar que há um pico em torno da região de 1630 cm^{-1} em todas as amostras, no entanto, o pico desta região do espectro da borra de café apresenta intensidade de absorbância consideravelmente superior às demais amostras, de forma que se infere que parte desses compostos, ácidos clorogênicos e cafeína, foram removidos durante o tratamento das amostras P15, P25, P35 e P45 com PHA.

Segundo Ren & Wang (2011), a região entre 1700 a 1500 cm^{-1} está relacionada às vibrações simétricas e assimétricas de estiramento de grupos carbonila ($\text{C}=\text{O}$), os quais podem

estar ligados à presença de lignina. Um estudo realizado com materiais lignocelulósicos atribuiu o pico em 1506 cm^{-1} ao anel benzeno da lignina (Pandey e Theagarajan, 1997). Outros estudos também atribuem bandas nessa região associados a grupos que podem pertencer à lignina, como Wang & Lim (2012) que associaram as bandas em 1523 cm^{-1} à vibração de C=C de anéis aromáticos, a qual, por sua vez, foi relacionada à lignina, assim também a banda em 1665 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da carbonila de grupos da lignina (Hergert, 1971).

As bandas nas regiões em 1640 cm^{-1} e $1570\text{-}1515\text{ cm}^{-1}$ são atribuídas às vibrações de deformação angular de N-H e de deformação axial de C=O, respectivamente, os quais podem ser relacionados a amidas secundárias, as quais são constituintes de proteínas (Barbosa, 2007; Craig *et al.*, 2014).

Na região entre 1700 a 1500 cm^{-1} , nos espectros da Figura 4.3, o pico em 1633 cm^{-1} diminuiu em todas as amostras quando comparadas à borra de café, assim também a banda na região de $1560\text{-}1465\text{ cm}^{-1}$ praticamente desapareceu em relação à BC. Os resultados da determinação de nitrogênio, o qual estima o teor de proteína nas amostras, permite inferir que essa região pode estar ligada à presença de proteínas, assim como pode-se inferir que o tratamento com PHA removeu considerável parte da lignina das amostras.

No espectro da borra de café, pode-se observar um pico de intensidade média de absorção na região de 1452 cm^{-1} , enquanto nos espectros das outras amostras observa-se considerável diminuição da intensidade de absorção nesta mesma região. Reis (2016) atribuiu esse pico encontrado nos espectros de BC às vibrações C-H do glicerol, produto de degradação das moléculas de lipídeos. Assim também estudos anteriores realizados com glicerol puro, identificaram os picos de absorção nas regiões de $1462\text{-}1458\text{ cm}^{-1}$ e $1100\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$, os quais foram associados à vibração C-H e ao estiramento C-O, respectivamente, da molécula de glicerol (Nieuwoudt *et al.*, 2004).

A região de $1300\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ é conhecida como *fingerprint* e apresenta um padrão complexo de bandas, sendo responsável pela maior parte de bandas do espectro (Barbosa, 2007). Os carboidratos geralmente apresentam bandas de absorção nessa região. Considerando que tanto as amostras P15, P25, P35 e P45, quanto a borra de café apresentam elevado teor de polissacarídeos, por isso, esta região nos espectros apresenta bandas referentes aos carboidratos.

Esta região, *fingerprint*, é caracterizada por vibrações de vários tipos de ligações, incluindo C-H, C-O e C-N (Silverstein *et al.*, 2007). As bandas entre 1200 e 950 cm^{-1} são resultados das vibrações de estiramento de C-O nas ligações C-O-H e vibrações de banda glicosídica C-O-C, sendo específicas de polissacarídeos (Maréchal e Chanzy, 2000; Figueiro *et*

al., 2004). O pico em torno de 1374 cm^{-1} corresponde a vibrações de deformação angular no plano de C-H em celulose e hemicelulose (Pandey e Theagarajan, 1997).

Ballesteros *et al.* (2017) extraíram polissacarídeos da borra de café e os analisou por meio da técnica de FTIR. No espectro, foram identificados os picos em 884 e 778 cm^{-1} que foram relacionados à presença de ligações β -glicosídicas e α -glicosídicas, atribuídas às unidades de β -D-manopirranose e α -D-galactopirranose, respectivamente, os quais também estão presentes nos espectros da Figura 4.3, nos picos em 871 e 767 cm^{-1} .

A perda da cristalinidade da celulose pode ser relacionada à diminuição ou desaparecimento de algumas bandas na região entre 900 - 1500 cm^{-1} (Synytsya e Novak, 2014), o que pode ser percebido quando se compara a borra de café às demais amostras, as quais sofreram tratamento com PHA. Além disso, a banda de CH_2 em 1430 cm^{-1} é conhecida como um marcador de cristalinidade, logo, a queda da intensidade desse pico indica a redução no grau de cristalinidade.

4.1.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA - TGA

As curvas de TGA da Figura 4.4 demonstram a perda de massa da borra de café e das amostras provenientes do tratamento da BC com PHA quando expostas a aquecimento até $580\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob atmosfera dinâmica de nitrogênio. Todas as amostras apresentaram curvas de TGA similares, exceto a borra de café que apresentou comportamento menos parecido às demais amostras, isso pode ser confirmado pelas curvas de DTG da Figura 4.5.

A borra de café apresentou três estágios definidos de perda de massa como pode ser verificado pelos dados dispostos na Tabela 4.5. O primeiro estágio é resultado da evaporação de água, momento em que a amostra foi desidratada e ocorre perda de massa de $6,62\%$. No segundo estágio ocorre a maior parte da perda de massa da borra de café em torno de 47% , neste estágio acontece a despolimerização e a decomposição dos polissacarídeos e de alguns óleos (Ballesteros *et al.*, 2014). No terceiro e último estágio, ocorre a decomposição da amostra com perda de $26,55\%$ de massa.

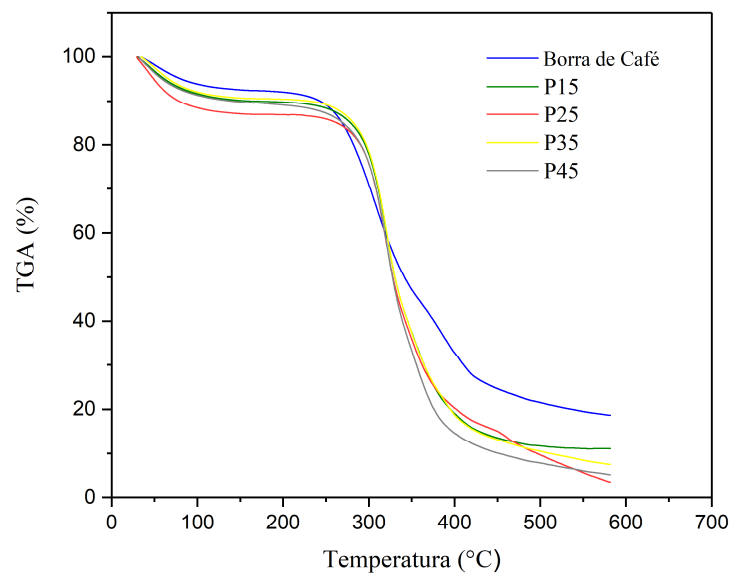


Figura 4.4: Curvas de TGA das amostras de borra de café, P15, P25, P35 e P45.

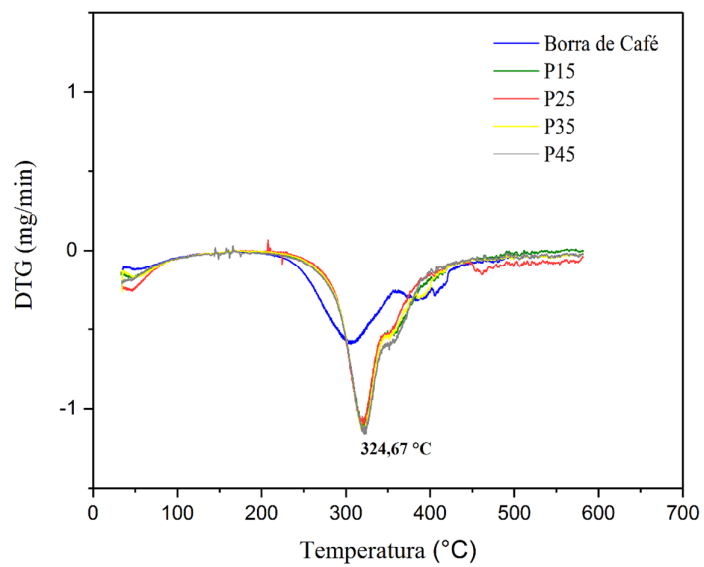


Figura 4.5: Curvas de DTG das amostras de borra de café, P15, P25, P35 e P45.

Tabela 4.5: Dados das curvas TGA e DTG das amostras de borra de café, P15, P25, P35 e P45.

Grupo	Estágio	Temp. (°C)	DTG (Pico intenso)	Perda de massa (%)
Borra de Café	1º	36,23 – 120,08		6,62
	2º	120,08 – 353,90	300,74	46,96
	3º	353,90 – 579,60		26,55
	Resíduo			19,87
P15	1º	32,49 – 109,95		8,40
	2º	109,95 – 343,23	322,99	49,84
	3º	343,23 – 577,43		30,05
	Resíduo			11,71
P25	1º	30,55 – 116,40		11,73
	2º	116,40 – 340,55	320,53	46,55
	3º	340,55 – 423,37		23,85
	4º	423,37 – 580,22		13,67
	Resíduo			4,20
P35	1º	35,62 – 120,68		8,52
	2º	120,68 – 346,39	323,11	51,77
	3º	346,39 – 580,22		31,78
	Resíduo			7,93
P45	1º	33,81 – 117,46		8,79
	2º	117,46 – 341,47	324,67	52,73
	3º	341,47 – 580,03		32,37
	Resíduo			6,11

Todas as curvas de TGA das amostras das frações ricas em polissacarídeos apresentaram três estágios de perda de massa, exceto a curva das amostras P25 que foi caracterizada com quatro estágios, como pode ser verificado na Tabela 4.5.

No primeiro estágio, as amostras perderam entre 8 e 12 % de massa (Tabela 4.5), esta etapa provavelmente está relacionada à desidratação das mesmas. Durante o segundo estágio ocorreu a maior parte das transformações, assim como a maior perda de massa, de 46 a 53 %. De acordo com a literatura, assim como na borra de café, neste estágio ocorrem a despolimerização e decomposição dos polissacarídeos e de alguns óleos presentes nas amostras (Ballesteros *et al.*, 2014).

Segundo as curvas da DTG na Figura 4.5, todas amostras P15, P25, P35 e P45 apresentam banda larga e pico intenso na temperatura em torno de 320 °C, ao passo que o pico mais intenso da BC se encontra em uma temperatura um pouco abaixo, em torno de 300 °C (Tabela 4.5), assim como em outros trabalhos com borra de café (Ballesteros *et al.*, 2014; Simões *et al.*, 2014).

Ballesteros *et al.* (2017) extraíram polissacarídeos da borra de café, galactomananas e arabinogalactanas, durante 10 min a 160 °C utilizando uma relação de 15 mL de água/g de borra de café e, por meio de análises termogravimétrica, verificaram que em torno de 300 °C cerca de 50 % da massa das amostras foram decompostas.

Em um estudo realizado por Simões *et al.* (2014), compararam-se as curvas de TGA e DTG da borra de café *espresso* com frações extraídas da mesma por meio de soluções alcalinas concentradas. Os autores verificaram perda de massa de 56 % da borra de café com pico intenso em 309 °C, ao passo que as frações ricas em galactomananas tiveram perda de 48 % em torno de 323 °C. Esta diferença de temperatura deve-se principalmente ao fato que as arabinogalactanas são mais termolábeis que as galactomananas e estão em maiores concentrações na borra de café que nas frações extraídas por Simões *et al.* (2014).

Desta maneira, pode-se sugerir que a diferença entre os picos da DTG da borra de café e das amostras FRP, no segundo estágio, está relacionada ao teor de arabinogalactanas presentes nas mesmas. Além disso, o resultado das análises de cromatografia a gás no item 4.1.4 indica que a porção de polissacarídeos menos resistentes (fração-TFA) diminui conforme o grau de intensidade do tratamento com PHA aumenta.

Em outra pesquisa, analisou-se três tipos de galactomananas: *Gleditsia triacanthos* com grau de polimerização (GP) igual a 224 resíduos de manose e grau de ramificação igual a 0,24; *Caesalpinia pulcherrima* com 252 resíduos de manose e grau de ramificação igual a 0,30 e *Adenanthera pavonina* que apresentou GP igual a 475 e grau de ramificação igual a 0,60. Na análise termogravimétrica, as galactomananas apresentaram diferenças entre si, sendo que no segundo estágio ocorreu perda de massa em torno de 45 % com picos nas curvas da DTG em 309,81, 321,73 e 320,62 °C para as galactomananas *Gleditsia triacanthos*, *Caesalpinia pulcherrima* e *Adenanthera pavonina*, respectivamente. Desta maneira, os autores deduziram que a estrutura das galactomananas tiveram influência na temperatura de decomposição das mesmas (Cerqueira, Souza, *et al.*, 2011). Simões *et al.* (2014) também concluiu isso quando comparou as frações ricas em galactomananas extraídas da borra de café com a locusta de alfarroba e percebeu que a primeira apresentava pico na DTG em 323 °C e a segunda em 317 °C, desta maneira, os autores associaram a razão manose: galactose a este resultado, visto que as galactomananas da borra de café e a LBG apresentaram M/G igual 12,7 e 3,5, respectivamente. Assim também, um estudo com a goma guar comercial relatou pico na DTG em 306 °C (Varma *et al.*, 1997) e a mesma apresenta M/G em torno 1,7 (Dos Santos *et al.*, 2015).

Desta maneira, pode-se inferir que as galactomananas presentes nas amostras tratadas com PHA são pouco ramificadas, resultando em ligações de hidrogênio intermoleculares mais fortes, além de apresentarem maior estabilidade térmica que as comerciais.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DESENVOLVIDOS

Foram realizados diversos testes para o desenvolvimento dos filmes, sendo que inicialmente testou-se alguns solventes como água sob aquecimento, acetona, etanol e butanol para dissolução das frações ricas em polissacarídeos, contudo, entre os solventes testados, obteve-se melhor resultado com a solução de cloreto de zinco sob aquecimento. Assim também, foram realizados testes para avaliar qual seria a melhor concentração da solução de ZnCl_2 para dissolver as amostras de FRP, de modo que foram testadas concentrações desde 50 até 67 % (m/m) (Xu *et al.*, 2016), esta última apresentou melhor resultado.

Além disso, foram realizados testes com variação de temperatura do banho de coagulação do filme, temperatura ambiente e a 8 °C (Liu e Zhang, 2009; Jin *et al.*, 2010), sendo que filmes submetidos a última temperatura (Figura 4.6) apresentaram melhores resultados visualmente. Assim também, foram realizados testes em relação a temperatura do banho de imersão com água, realizou-se experimentos com 25, 50 e 75 °C (Baker, 2012), de modo que a última apresentou melhor resultado.

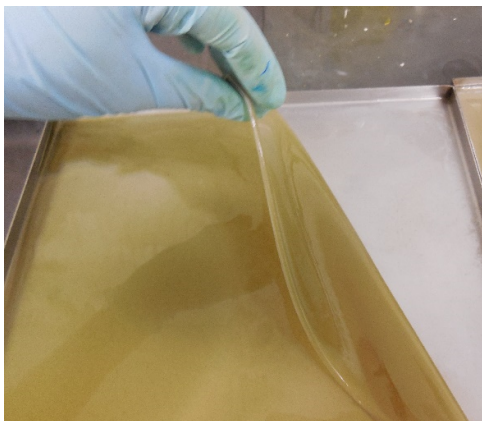


Figura 4.6: Foto de filme coagulado por técnica de inversão de fase via precipitação por imersão.

Os filmes secos à temperatura ambiente apresentaram os melhores resultados, pois experimentos realizados com temperaturas superiores apresentaram filmes com diversas ondulações devido a elevada taxa de evaporação da água nos filmes (Figura 4.7).



Figura 4.7: Exemplo de filme com ondulação.

Enfim, atingiu-se resultado satisfatório após diversos testes, de forma que foram obtidos os melhores resultados com a metodologia que foi descrita na seção 3.2.1. O filme da Figura 4.8 é uma amostra de um dos filmes desenvolvidos e caracterizados neste trabalho.



Figura 4.8: Foto de filme desenvolvido (F35)

Os filmes desenvolvidos foram caracterizados por meio de determinação da permeabilidade do filme ao vapor de água, análise colorimétrica, análises térmicas TGA/DTG/DSC, análise de espectroscopia no infravermelho médio, e análise de propriedades mecânicas de tração.

4.2.1 ANÁLISE DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

De maneira geral, os filmes derivados de polissacarídeos apresentam elevada permeabilidade de vapor de água quando comparados com filmes de materiais sintéticos,

principalmente quando apresentam umidade e altas concentrações de plasticizantes, e isso se deve ao caráter hidrofílico dos polissacarídeos (Janjarasskul e Krochta, 2010).

Na Tabela 4.6, estão apresentados os coeficientes de permeabilidade ao vapor de água dos filmes provenientes das amostras de borra de café que foram submetidas ao tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino (nos anexos A-D estão os gráficos *ganho de peso x tempo de análise* das médias dos valores coletados)

Tabela 4.6: Espessura e valor de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes desenvolvidos.

Grupo	Espessura (mm)	PVA (g.mm/m ² .h.kPa)
F15	0,142 ± 0,038 ^a	1,18 ± 0,24 ^a
F25	0,136 ± 0,004 ^a	1,02 ± 0,05 ^a
F35	0,132 ± 0,029 ^a	1,44 ± 0,10 ^a
F45	0,133 ± 0,047 ^a	1,32 ± 0,26 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n =4)

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

Os dados da Tabela 4.6 indicam que os valores de permeabilidade dos filmes não apresentam diferença significativa independentemente do tratamento realizado na borra café. De acordo com a literatura, estes dados estão acima da média para filmes de polissacarídeos de mananas, como os filmes de goma de alfarroba (LBG – *locust bean gum*) e filmes de glicomananas (*salep*) preparados por metodologia de moldagem e evaporação de solvente que apresentaram PVA de 0,097 e 0,122 g.mm/m².h.kPa, respectivamente (Kurt e Kahyaoglu, 2014).

Dos Santos *et al.* (2015) utilizaram cinco fontes de galactomananas, que apresentam relação M/G distintas, para produzir filmes. De acordo com o estudo, quanto maior a razão M/G, menor será o valor da permeabilidade do filme sob as mesmas condições de produção. Isso acontece devido às lacunas nas interações intermoleculares entre os polímeros provocadas por unidades de galactose nas ramificações da cadeia principal, permitindo a hidratação dos filmes (Chandrasekaran *et al.*, 1998). *Sophora japonica* foi a fonte de galactomananas com maior razão M/G com valor de 5,6 e apresentou permeabilidade de 0,288 g.mm/m².h.kPa, ao passo que a goma guar com razão de M/G igual a 1,7 expôs 0,376 g.mm/m².h.kPa, ambos valores inferiores aos filmes F15, F25, F35 e F45 (Dos Santos *et al.*, 2015).

Os resultados de PVA das amostras apresentaram valores superiores quando comparados aos de muitos filmes de polissacarídeos relatados na literatura, embora as amostras apresentem considerável teor de lipídeos (item 5.1.2) (Yang e Paulson, 2000), os quais

contribuem para as propriedades de barreira ao vapor de água, e apresentem ligações cruzadas (*crosslinking*) entre os íons Ca^{2+} e as cadeias poliméricas, possibilitando a formação de filmes mais coesos (Xu *et al.*, 2016).

Contudo, a adição de sais, como o cloreto de zinco, no preparo de filmes promove a formação de poros maiores. Apesar de parte destes sais serem removidos durante o processo de precipitação com água e lavagem do filme, uma porção permanece presa à matriz, tornando a membrana final mais hidrofílica (Baker, 2012).

Em um estudo, comparou-se a mudança no valor de PVA de filmes derivados de quitosana de acordo com adição de glicerol (Ziani *et al.*, 2008). Desta maneira, foram produzidos filmes com 1% (m/m) de quitosana, e filmes com 1% (m/m) de quitosana e 0,2% (m/m) glicerol, os quais apresentaram PVA de 0,89 e 1,1 g.mm/m².h.kPa, respectivamente. De acordo com Ziani *et al.* (2008), o aumento do valor da PVA ocorre, porque o glicerol é uma pequena molécula hidrofílica que pode inserir entre as cadeias poliméricas, facilitando a migração de moléculas de água. Além disso, os plasticizantes podem alterar a rede polimérica, pois criam regiões com maiores distâncias entre cadeias, promovendo maior mobilidade nestas regiões e assim facilitando o agrupamento de moléculas de água na matriz polimérica (Cerqueira *et al.*, 2012). De maneira similar, aconteceu com as amostras de F15, F25, F35 e F45 devido às adições dos íons Zn^{2+} .

4.2.2 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

As cores dos filmes foram analisadas com auxílio de um colorímetro que possibilitou expressar a cor de forma objetiva por meio de valores numéricos (Tabela 4.7). Os filmes apresentaram diferenças entre si em todos os parâmetros: luminosidade, tonalidade e intensidade da cor. De maneira que, F25 pode ser considerado mais escuro que F45, este por sua vez, apresentou maior tonalidade que F15 e, por fim, F15 exibiu uma cor mais intensa que F45 (Tabela 4.7).

Os filmes apresentaram cor com tonalidade (h^*) próxima a amarelo, visto que h^* variou de 77,97 a 85,37 (Tabela 4.7) e segundo o círculo cromático CIELAB (Figura 4.2 – item 4.1.4), valores mais próximos de 90 correspondem a tonalidades próximas de amarelo, como pode ser observado pela Figura 4.9. A intensidade da cor (c^*) dos filmes pode ser considerada moderada, pois os valores de c^* das amostras resultaram entre 24,70 e 30,78 (considerando que a escala varia de 0 a 60) (Figura 4.2).

Tabela 4.7: Resultados dos parâmetros de cor L*, h* e c* das amostras dos filmes.

Grupo	L*	h*	c*
F15	54,63 ± 1,91 ^{ab}	77,97 ± 1,03 ^b	30,78 ± 0,35 ^a
F25	52,02 ± 4,06 ^b	79,54 ± 1,61 ^{ab}	28,14 ± 0,22 ^{ab}
F35	56,90 ± 4,20 ^{ab}	81,86 ± 3,99 ^{ab}	27,59 ± 2,98 ^{ab}
F45	60,24 ± 0,57 ^a	85,37 ± 0,76 ^a	24,70 ± 1,12 ^b

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 de Tukey, a 5% de significância.

O parâmetro L* representa a escala de escuro-claro que varia de 0 a 100, de forma que quanto mais próximo de 100, mais clara é a amostra (Minolta, 2007). Isto posto, a luminosidade dos filmes variou entre 52,02 a 60,24, ou seja, os filmes apresentaram luminosidade intermediária, próxima a 50.

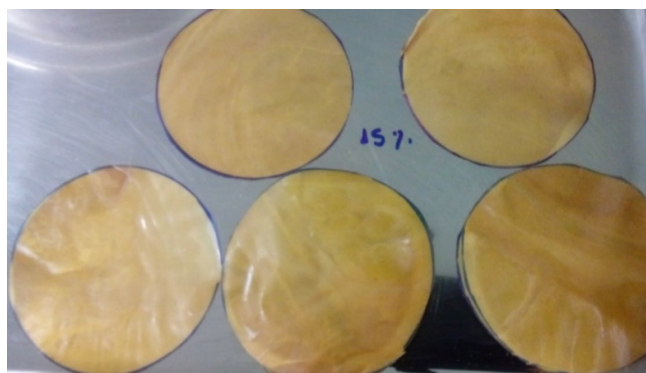


Figura 4.9: Foto dos filmes desenvolvidos (amostra F15).

Além disso, os filmes apresentaram alguma opacidade, provavelmente porque as amostras provenientes da borra de café que foram utilizadas para o desenvolvimento dos filmes apresentaram teor relevante de lipídeos entre 11,08 e 13,22 % (m/m) (Yang e Paulson, 2000).

4.2.3 ANÁLISE TÉRMICA - DSC E TGA/DTG

4.2.3.1 Análise Termogravimétrica (TGA/DTG)

Nas análises termogravimétricas, todas as amostras foram expostas a aquecimento desde da temperatura ambiente até 580 °C sob atmosfera dinâmica de nitrogênio. As curvas de TGA e DTG dos filmes F15, F25, F35 e F45 estão na Figura 4.10 e pode-se notar que apresentaram comportamento similar, no entanto, observa-se que a perda de massa das amostras F35 acontece

de modo mais gradual que as outras amostras no segundo estágio e o pico de maior intensidade ocorre na terceira etapa, ao passo que, nos demais filmes, este pico está identificado no segundo estágio.

Na Tabela 4.8, estão apresentados os dados referentes as curvas de TGA e DTG das amostras analisadas. Todas as curvas de TGA foram caracterizadas com quatro estágios de perda de massa, sendo que as amostras F15, F25 e F45 apresentaram comportamento similar com faixa de temperatura de decomposição próxima e percentual de perda de massa semelhante nos quatro estágios (Tabela 4.8). O maior percentual de perda de massa ocorreu no segundo estágio com 45,84 % para F15 e cerca de 40 % para os filmes F25 e F45, ao passo que os filmes F35 perderam 17,49 % de massa neste estágio e apresentou maior percentual de perda na terceira etapa com diminuição de 27,49 %.

Tabela 4.8: Dados das curvas TGA e DTG dos filmes F15, F25, F35 e F45.

Grupo	Estágio	Temp. (°C)	Picos na DTG	Perda de massa (%)
F15	1º	33,98 - 96,46		11,83
	2º	96,46 - 228,05	195,33	45,84
	3º	228,05 - 286,30	253,66	14,42
	4º	286,30 - 579,07		16,30
	Resíduo			11,61
F25	1º	30,85 - 104,92		14,81
	2º	104,92 - 216,01	185,31	40,15
	3º	216,01 - 268,72	237,41	16,67
	4º	268,72 - 579,32		12,41
	Resíduo			15,96
F35	1º	36,46 - 119,04		10,08
	2º	119,04 - 207,95	186,45	17,49
	3º	207,95 - 278,51	234,43	27,49
	4º	278,51 - 578,76		18,94
	Resíduo			26,00
F45	1º	33,78 - 93,99		14,80
	2º	93,99 - 220,12	194,99	40,35
	3º	220,12 - 267,35	233,99	13,87
	4º	267,35 - 580,17		13,78
	Resíduo			17,20

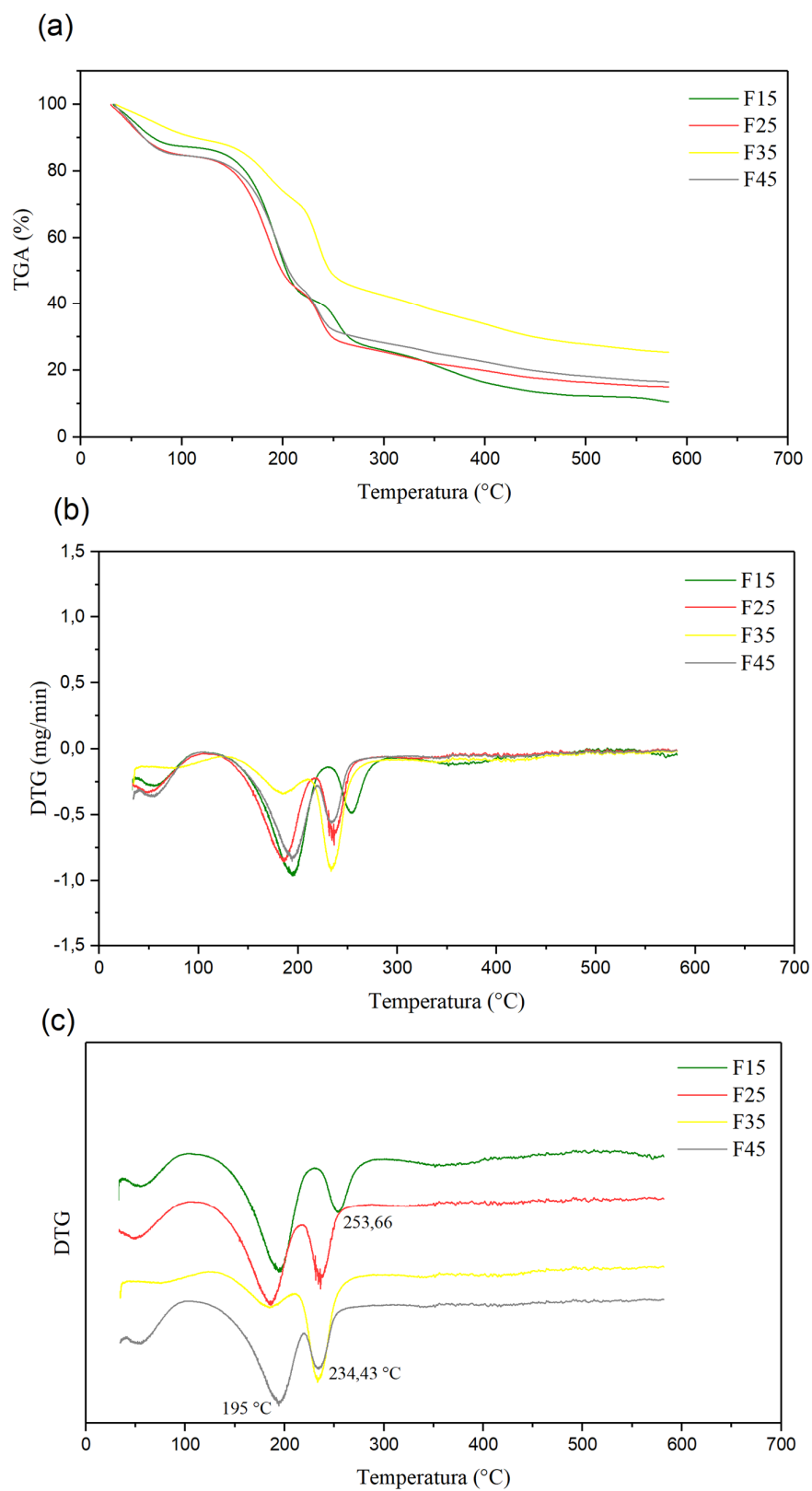
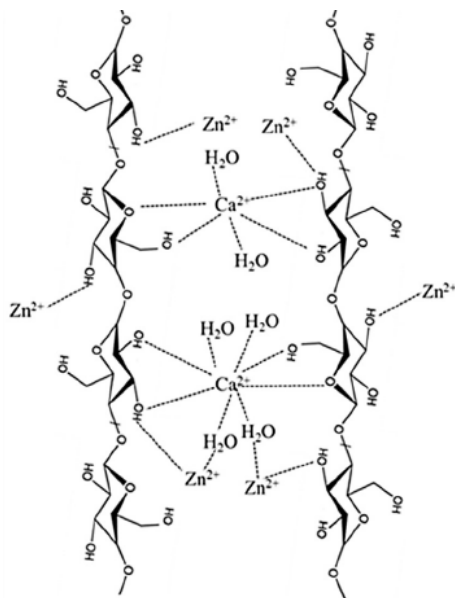


Figura 4.10: Análise dos filmes (a) Curvas de TGA; (b) Curvas da DTG; (c) Curvas da DTG adaptadas para comparação das amostras.

Nas curvas de DTG, se destacam dois picos intensos (Figura 4.10 (c)), os quais correspondem à máxima velocidade de perda de massa (Ionashiro *et al.*, 2014). As amostras F15, F25 e F45 apresentaram picos mais intensos no segundo estágio em 195,33, 186,45 e 194,99 °C, respectivamente (Tabela 4.8). Diferentemente das outras amostras, a reação de perda de massa foi mais lenta na segunda etapa, e o pico mais intenso da curva de F35 ocorreu no terceiro estágio em 234,43 °C.

Desta maneira, conclui-se que F35 degradou mais lentamente que as demais amostras de filmes, provavelmente devido a interações intermoleculares mais fortes e, possivelmente porque Ca^{2+} interagiram melhor com a matriz desta amostra, visto que os íons cálcio são responsáveis por ligações cruzadas entre os polímeros (*crosslinking*) (Xu *et al.*, 2016). O esquema apresentado na Figura 4.11 representa as ligações estabelecidas pelos íons Ca^{2+} quando este é adicionado à solução de preparo do filme.

Figura 4.11: Esquema das interações dos íons Zn^{2+} e Ca^{2+} com a celulose na solução de preparo dos filmes.



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

Nas Figuras 4.12 e 4.13, estão as curvas de TGA e DTG, respectivamente, dos filmes e das frações ricas em polissacarídeos.

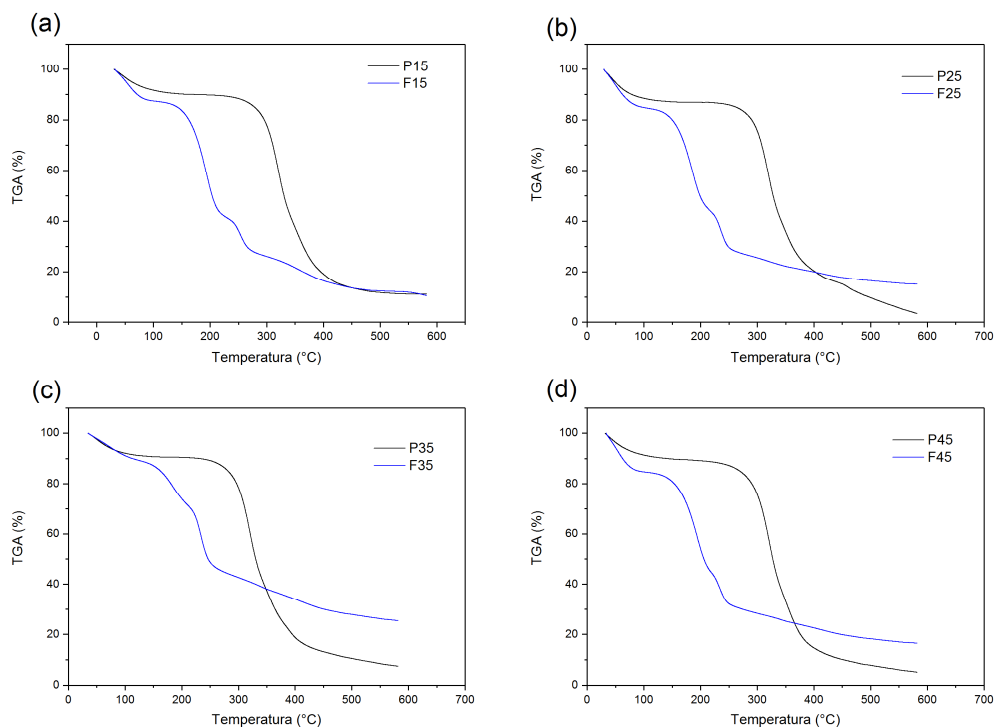


Figura 4.12: Curvas da TGA das amostras (a) P15 e F15; (b) P25 e F25; (c) P35 e F35; (d) P45 e F45.

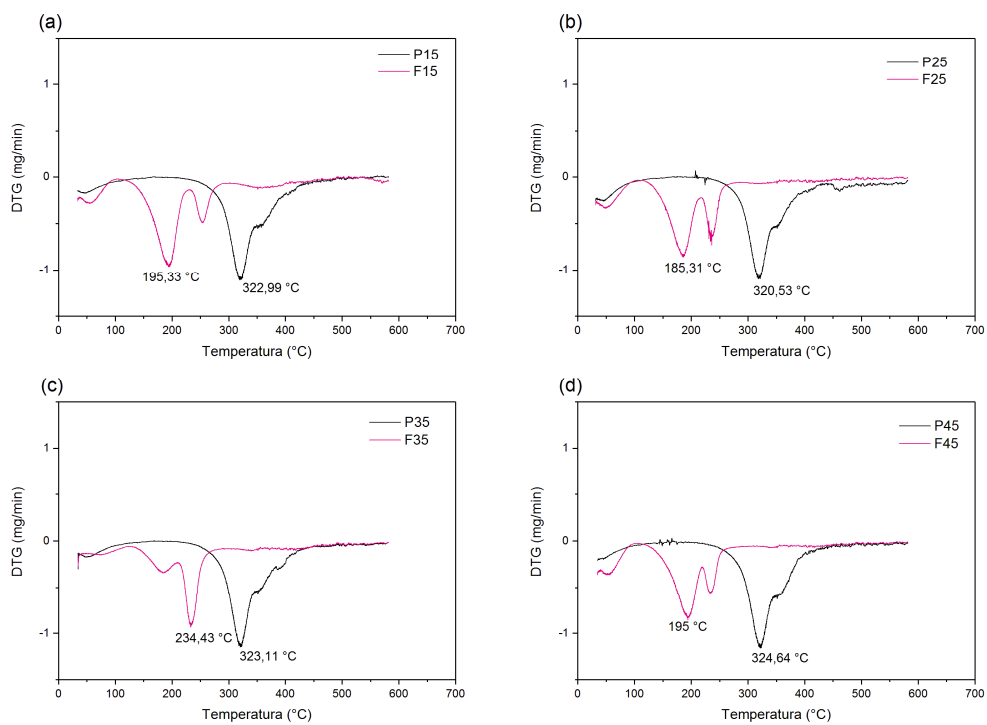


Figura 4.13: Curvas da DTG das amostras (a) P15 e F15; (b) P25 e F25; (c) P35 e F35; (d) P45 e F45.

Na Figura 4.12, verifica-se comportamento diferente entre as curvas dos filmes e amostras que foram utilizadas para o preparo dos mesmos. Isso pode ser melhor observado por meio das curvas de DTG na Figura 4.13. As amostras que geraram os filmes apresentaram maior estabilidade térmica que os mesmos. Provavelmente, essa diferença acontece devido à adição do cloreto de zinco que permitiu a solubilização das amostras provenientes do tratamento com PHA em água por meio da quebra de ligações inter e intramoleculares de hidrogênio entre as cadeias poliméricas (Xu *et al.*, 2016). Quando o filme é formado, mesmo removendo parte dos sais no banho de água, parte permanece na matriz dos filmes, aumentando a distância entre os polímeros e diminuindo a coesão dos filmes (Baker, 2012).

Ademais, estudos realizados utilizando solução de cloreto de zinco para dissolver a celulose em água demonstram que, dependendo das condições, esta pode ser degradada, ainda que pouco (Sen *et al.*, 2016). Outra pesquisa que também que utilizou solução de $ZnCl_2$ para dissolver a celulose, relatou diminuição na temperatura de degradação de 330 para 305 °C da celulose nativa para celulose recuperada, respectivamente (Lu e Shen, 2011).

Um estudo associou a concentração da solução de cloreto de zinco e a temperatura para dissolver os grânulos de amidos como sendo responsáveis pela despolimerização dos polissacarídeos, de forma que quanto mais elevada a concentração e a temperatura, maiores são os efeitos de degradação no amido (Lin *et al.*, 2016). A pesquisa relatou que o pico da DTG do amido nativo ocorreu em 337 °C, ao passo que as amostras de amido recuperado da solução com 35, 43 e 65 % de $ZnCl_2$ apresentaram picos da DTG em 271, 253 e 250 °C, respectivamente.

Isto posto, recomenda-se em estudos futuros analisar se ocorreu alguma degradação dos polissacarídeos das amostras e quais foram as mudanças na estrutura dos mesmos.

4.2.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na Tabela 4.9, estão os dados da Tg dos filmes encontrados nas curvas de DSC (*midpoint*). Todos os materiais apresentaram temperatura de transição vítrea negativa entre -1,19 e -3,62 °C, exceto a amostra F25 com Tg em 5,24 °C (região da Tg ampliada nos termogramas das amostras nos anexos E a H). Desta maneira, os filmes desenvolvidos (exceto F25), se utilizados como embalagens de alimentos, podem acondicionar produtos que precisam ser refrigerados para a conservação destes sem prejuízo da qualidade da embalagem. Um

alimento está sob refrigeração quando submetido à temperatura de 0 a 10 °C, de acordo com as recomendações dos fabricantes ou de critérios de uso (Manzalli, 2006).

Tabela 4.9: Temperatura de transição dos filmes.

Filmes	Tg ₁ (°C)	Tg ₂ (°C)
F15	-1,19	30,87
F25	5,24	43,11
F35	-2,26	–
F45	-3,62	–

As amostras F15 e F25 apresentaram uma segunda temperatura de transição vítrea (Tg₂), o que pode significar que estes filmes não são homogêneos (Kurt e Kahyaoglu, 2014). Segundo Mikkonen *et al.* (2007), dois picos de Tg indicam que a liberação da mobilidade das moléculas aconteceu em dois estágios, o que pode sugerir a presença de interações mais fracas e mais fortes entre os componentes dos filmes. De forma que a mobilidade das interações associadas ao plastificante provavelmente acontece na Tg₁, ao passo que a Tg₂ ocorre em uma temperatura mais elevada que a primeira e está relacionada a mobilidade das moléculas na fase rica em polímeros.

Umidades relativas elevadas e altas concentrações de plasticizantes podem diminuir a temperatura de transição vítrea do material (Janjarasskul e Krochta, 2010). Sabendo que a temperatura da Tg do café é 59 °C (Rivera *et al.*, 2011), o valor da Tg dos filmes pode ter sido influenciado pelos sais adicionado no preparo da solução dos filmes, umidade e glicerol presentes nas amostras. Pois, estes funcionam como plasticizantes e alojam-se entre as cadeias poliméricas, afastando-as e enfraquecendo as interações intermoleculares e, assim, aumentam a mobilidade dos polímeros e consequentemente, diminuem o valor da Tg (Treenate *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2017).

4.2.4 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os espectros dos filmes (Figura 4.14) apresentaram diversos picos semelhantes aos encontrados nos espectros das amostras P15, P25, P35, P45 (Figura 4.15), as maiores mudanças ocorreram na região conhecida como *fingerprint* (1300 a 900 cm⁻¹), que apresenta um padrão

complexo de bandas (Barbosa, 2007). Os carboidratos geralmente apresentam bandas de absorção nessa região, desta maneira, nas Figuras 4.14 e 4.15, as bandas entre 1200 e 950 cm^{-1} são resultados das vibrações de estiramento de C-O nas ligações C-O-H e vibrações de banda glicosídica C-O-C, sendo específicas de polissacarídeos (Maréchal e Chanzy, 2000; Figueiro *et al.*, 2004).

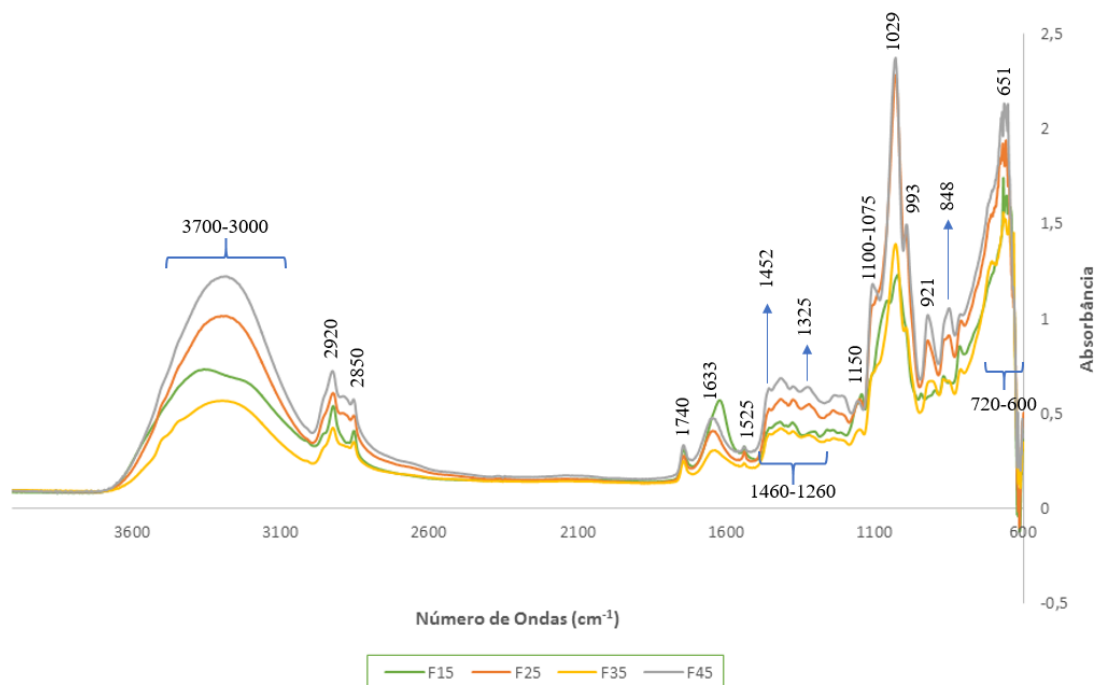


Figura 4.14: Espectros dos filmes desenvolvidos F15, F25, F35 e F45.

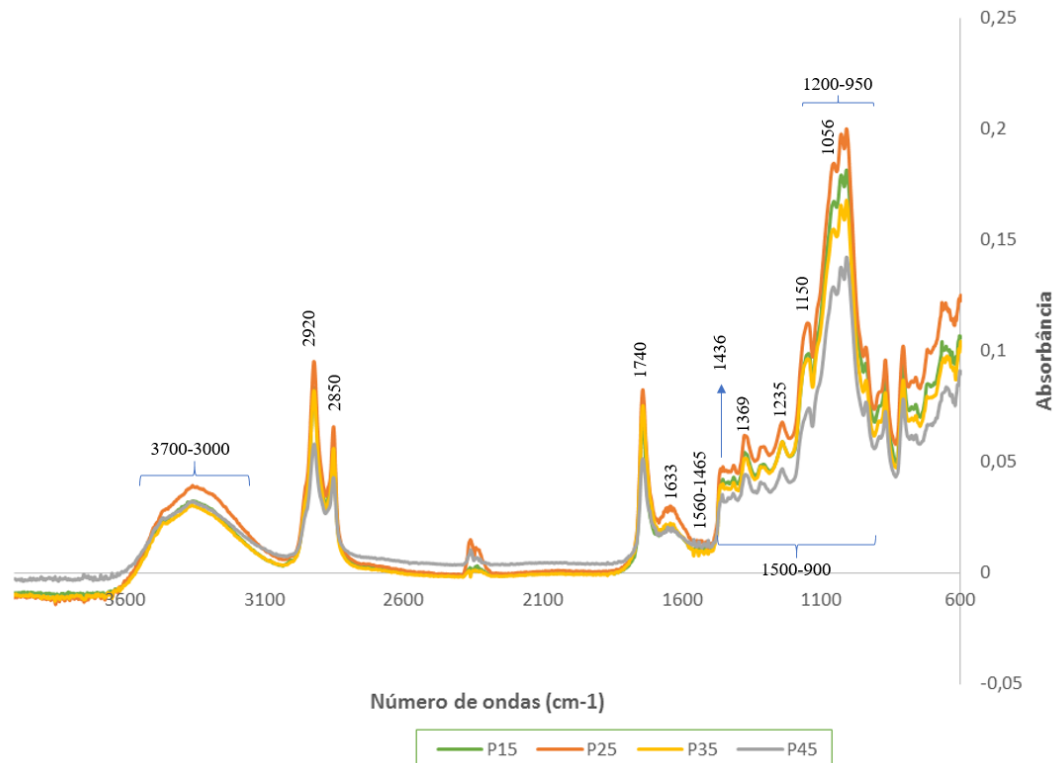


Figura 4.15: Espectros das amostras P15, P25, P35 e P45.

O espectro do filme F15 conservou a maioria dos picos presentes nas amostras P15, de modo que na região de *fingerprint* foram mantidos os picos 1419, 1369, 1235, 1150, 1056, 1029, 945, 898, 813, 866 cm^{-1} e surgiram os picos 1301, 655 cm^{-1} , ao passo que o espectro de F45 manteve o menor percentual de picos, apenas 1417, 1157, 1029, 810 cm^{-1} , e surgiram picos como 1325, 1211, 1107, 993, 921, 848, 651 cm^{-1} .

A banda entre 1460-1260 cm^{-1} pode ser associada à deformação angular no plano de grupos OH (Barbosa, 2007), e mudanças ocorridas nesta banda pode estar relacionada a interações da matriz com Zn^{2+} e Ca^{2+} (Xu *et al.*, 2016). A mudança em algumas bandas na região entre 900-1500 cm^{-1} (Figura 4.14 e 4.15) também pode estar relacionada a perda da cristalinidade da celulose (Synytsya e Novak, 2014) devido à interação dos íons Zn^{2+} com cadeias de celulose por meio de ligação de hidrogênio (Xu *et al.*, 2016).

O pico em 1056 cm^{-1} é atribuído a vibrações C-O principalmente de C3-O3H de alcoóis secundários e o desaparecimento deste nos espectros dos filmes F25, F35 e F45 (Figura 4.14) representa a quebra de ligações de hidrogênio intramolecular dos polissacarídeos possivelmente devido à formação de interações do íon Zn^{2+} com a matriz (Figura 4.16(b)) (Maréchal e Chanzzy, 2000; Xu *et al.*, 2016).

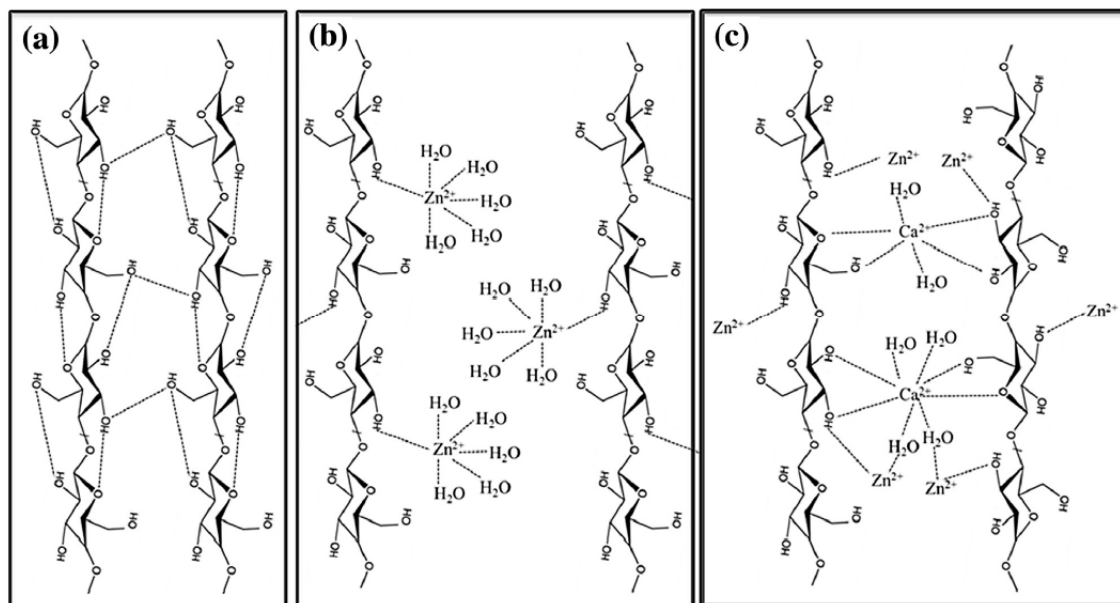


Figura 4.16: Esquema das principais interações das cadeias de celulose. (a) Forte interação entre as cadeias de celulose nativa por meio de ligação de hidrogênio. (b) Ligação entre íons Zn^{2+} e cadeias de celulose. (c) *Crosslinking* entre cadeias de celulose e íons Ca^{2+} . Fonte: Xu *et al.* (2016)

O pico em 1029 cm^{-1} apresenta intensa absorção em todos os espectros dos filmes desenvolvidos e é atribuído a vibrações de C-O principalmente de alcoóis primários. A banda em torno de 1150 cm^{-1} também está presente em todos os espectros e é atribuída às vibrações assimétricas de C-O-C de ligações glicosídicas. Outra banda, que está presente em todos os espectros de filmes, está localizada na região entre $720\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ e pode ser atribuída à deformação angular fora plano de grupos O-H de fenóis, os quais participam de ligações de hidrogênio intermolecular ou intramolecular, no entanto, segundo Barbosa (2007), essa banda tem pouca utilidade em termos de elucidação estrutural.

Xu *et al.* (2016) analisaram as mudanças nos espectros de celulose em relação aos filmes formados com celulose dissolvida em solução de ZnCl_2 com adição de CaCl_2 e percebeu que, embora alguns picos fossem mantidos na região de *fingerprint*, surgiram novos picos que foram relacionados à presença de Zn^{2+} na matriz da celulose e possivelmente a interação de $\text{OH}\cdots\text{Zn}$ (Figura 4.16(b)). Além disso, o estudo relatou que a principal diferença nos espectros das matrizes de Zn-celulose e Ca-Zn-celulose está na intensidade dos picos, que é mais intensa nos filmes com adição de CaCl_2 .

Neste presente trabalho, verificou-se mudanças similares às relatadas por Xu *et al.* (2016), desta maneira, pode-se inferir que essas diferenças entre o espectro dos filmes e das amostras tratadas com PHA estão relacionadas principalmente à presença de Zn^{2+} e Ca^{2+} na matriz dos filmes devido às interações de $\text{OH}\cdots\text{Zn}$ e $\text{OH}\cdots\text{Ca}$ (Figura 4.16(c)).

4.2.5 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE TRAÇÃO

Os resultados das análises dos ensaios mecânicos de tração das amostras apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,05$), de modo que os filmes F35 apresentaram maior resistência à tração (Tabela 4.10) que as demais amostras, ao passo que os filmes F15, F25 e F45 não diferiram entre si.

Tabela 4.10: Média dos valores da resistência a tração dos filmes.

Identificação	Resistência à tração (N/mm ²)
F15	$1,726 \pm 0,535^b$
F25	$2,768 \pm 0,764^b$
F35	$5,971 \pm 2,107^a$
F45	$1,266 \pm 0,852^b$

Valores médios $\pm$ desvio padrão (n=6).

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Xu *et al.* (2016) desenvolveram filmes à base de celulose microcristalina com adição de ZnCl₂ e CaCl₂ e relataram que as amostras desenvolvidas apresentaram resistência à tração entre 0,069 a 0,088 N/mm², além disso, o grupo também desenvolveu filmes sem adição de CaCl₂, o qual é responsável pelas ligações cruzadas (crosslinking) entre os polímeros associados ao Zn²⁺, e obteve resistência à tração igual a 0,022 N/mm². Portanto, os filmes desenvolvidos por Xu *et al.* (2016) apresentaram valores inferiores aos resultados dos filmes derivados dos materiais provenientes da borra de café.

Mikkonen *et al.* (2007) analisaram os efeitos das estruturas das galactomananas goma guar (GG) e goma de alfarroba (LBG) sobre as propriedades mecânicas de filmes formados por esses polissacarídeos. Os autores avaliaram as razões manose: galactose das gomas comerciais e variaram o tamanho das cadeias poliméricas das mesmas. GG e LBG apresentam razões de M/G 1,7 e 3,4, respectivamente. De acordo Mikkonen *et al.* (2007), a presença de galactose nas cadeias laterais forçam as cadeias de mananas a se distanciarem, assim as galactomananas com interações mais fortes entre as cadeias, são aquelas que apresentam menos substituintes de galactose na cadeia principal, e são estas que formam filmes mais coesos. Além disso, os autores relataram que existe um grau de polimerização ótimo para formar filmes mais fortes e flexíveis, isso pode acontecer devido ao aumento da solubilidade dos polímeros e diminuição da viscosidade da mistura, proporcionando, desta maneira, melhor orientação dos polissacarídeos durante a formação dos filmes.

À vista disso, pode-se inferir que os filmes F35 provavelmente apresentam polissacarídeos com características de grau de ramificação e de polimerização mais interessantes para a formação de filmes coesos que as demais amostras. Além disso, como nos resultados da análise termogravimétrica das amostras dos filmes (seção 4.2.3), pode-se sugerir que F35 provavelmente apresentou maior percentual de ligações cruzadas (*crosslinking*) entre as cadeias poliméricas por meio dos íons Ca^{2+} e maior percentual de interações intra e intermoleculares (ligações de hidrogênio).

A quantidade de plastificante (Mikkonen *et al.*, 2007) e o teor de lipídeos das amostras provavelmente contribuíram para o decréscimo da resistência à tração dos filmes. Os lipídeos interferem no valor da resistência à tração, pois a interação entre moléculas apolares (lipídeos) e, entre polímeros polares e lipídeos não polares são consideradas mais fracas que as interações entre polímeros polares (Yang e Paulson, 2000).

Como pode ser observado na Tabela 4.10, o desvio padrão das médias foi alto para todas amostras. Na Figura 4.17, estão as curvas de tensão *versus* deformação das replicatas das amostras dos filmes e pode-se notar que as amostras que pertencem ao mesmo grupo apresentaram comportamentos diferentes entre si, denotando heterogeneidade entre as amostras. No entanto, o alto desvio padrão das amostras pode ser explicado pelas porções mais escuras presentes nos filmes (Figura 4.18), que foram chamadas de inclusões, as quais interferem na resistência à tração do material, além disso, o corte das amostras na preparação dos filmes para os ensaios mecânicos foi realizado com tesoura, provocando falhas em algumas amostras e assim prejudicando o resultado destas.

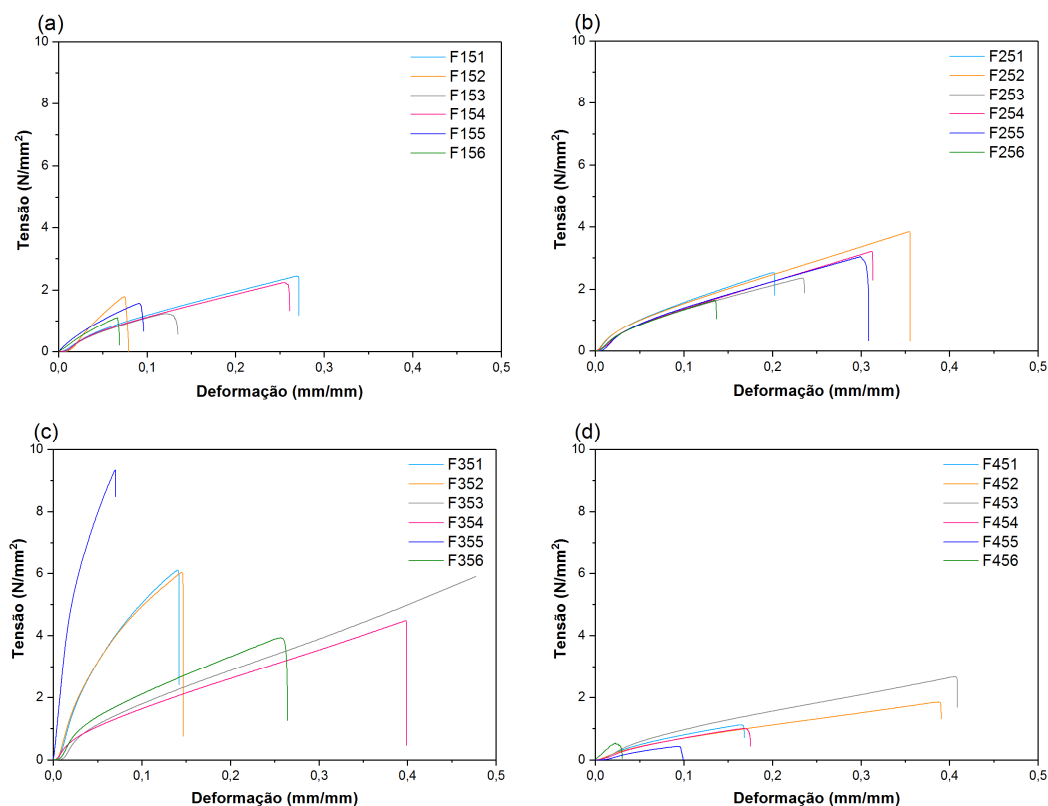


Figura 4.17: Curvas da tensão versus deformação das amostras dos filmes; (a) filmes F15; (b) filmes F25; (c) filmes F35; (d) filmes F45.



Figura 4.18: Estão destacadas porções mais escuras no filme e são exemplos de inclusões.

Por meio da Figura 4.17(a), pode-se perceber que F156 (Figura 4.19) apresentou o menor valor de resistência à tração do grupo, igual a $1,10 \text{ N/mm}^2$, e apresentou em torno de 6 % de área do filme preenchida com inclusões. Ao passo que a amostra F151 com $2,44 \text{ N/mm}^2$,

apresentou cerca de 0,25 % de área com inclusões (AI). A amostra F152 provavelmente rompeu devido a uma inclusão na região de falha, isso pode ser visto na Figura 4.20. A amostra F153, embora contenha cerca de 0,14 % de AI, apresentou falha de corte (Figura 4.21), por isso rompeu sob a tensão de 1,23 N/mm².

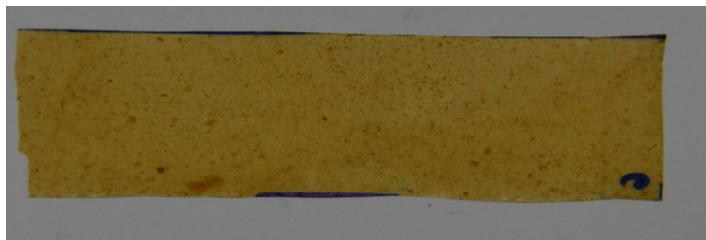


Figura 4.19: Foto da amostra F156, rompido causado por inclusões



Figura 4.20: Foto de amostra F152, rompimento na inclusão.

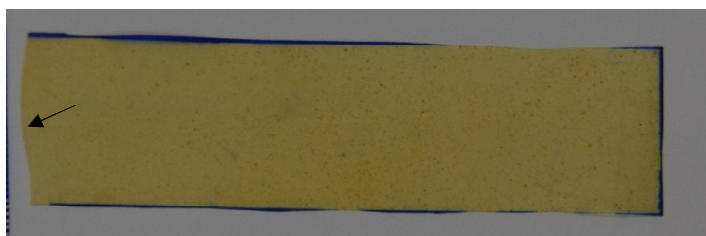


Figura 4.21: Foto da amostra F153 (rompimento por falha no corte)

Diferentemente do grupo F15, as amostras F25 apresentaram mais uniformidade em relação ao percentual de AI entre os filmes do mesmo grupo, exceto pela amostra F256 que apresentou 1,36 % de AI. A amostra F255 que se destacou com 0,10 % de AI, apresentou falha de corte e provavelmente, por isso, não apresentou maior resistência à tração.

A média da área de inclusões dos filmes do grupo F35 foi a menor entre as amostras, de modo que F355 apresentou o maior valor de resistência à tração entre as amostras de todos os grupos com 9,34 N/mm² e 0,002 % de AI. Como pode ser visto pela Figura 4.22, a amostra F353, que contém 0,04 % de área de inclusões no filme, não rompeu durante o ensaio de tração.

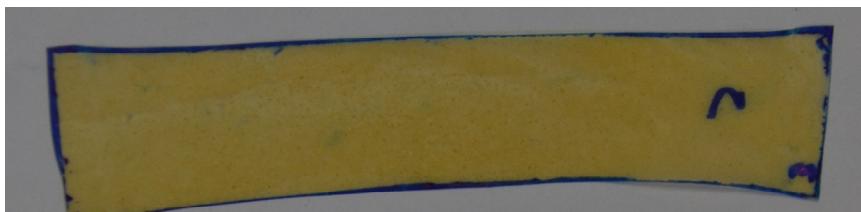


Figura 4.22: Foto da amostra F353, não rompeu durante o ensaio de tração.

Por meio da Figura 4.17(d), pode-se notar que a amostra F456 apresentou valor da resistência à tração discrepante em relação às demais amostras de F45. Pela Figura 4.23, nota-se maior percentual de inclusões próximo à região de falha, provável causa do rompimento.

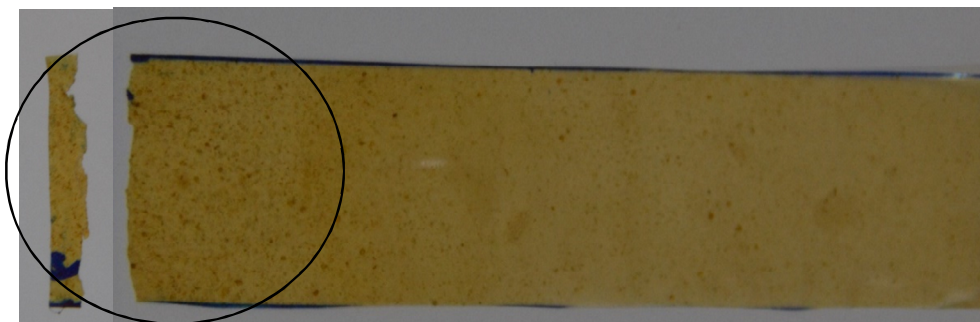


Figura 4.23: Foto da amostra F456, maior concentração de inclusões próximo à região de rompimento.

Desta maneira, conclui-se que o desvio padrão das amostras foi causado em parte por erro de manipulação do material e em maior parte foi consequência da heterogeneidade dos filmes provocada pelas inclusões. A partir disso, foi realizada análises de espectroscopia no infravermelho com microscopia ótica com o objetivo de identificar as inclusões presentes nos filmes, contudo, devido a elevada heterogeneidade das amostras a nível microscópico não foi possível diferenciar as porções mais escuras do restante do filme, desta maneira, os resultados apresentaram-se inconclusivos. Para as análises, utilizou-se microscópio de FTIR iN10 – Thermo Scientific e método ATR. Foram realizados 16 *scans* na faixa de $4000\text{-}675\text{ cm}^{-1}$ e com resolução de 4 cm^{-1} .

Em trabalhos futuros seria interessante avaliar as causas das AI, se a razão destas é física ou química e de que compostos são formadas. Na tabela do anexo I estão os dados relacionados às áreas de inclusões e os valores da resistência à tração das amostras dos filmes.

5 CONCLUSÃO E SUGESTÕES

O tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino (pH=11,5) em que a borra de café foi submetida mostrou atender aos objetivos do trabalho de forma satisfatória, visto que possibilitou a utilização da borra de café para o desenvolvimento de biomateriais. Além disso, o tratamento com PHA aumentou a concentração de polissacarídeos do material final com percentual na faixa 70 a 76 % (m/m), com destaque para as amostras P35 que apresentaram concentração superior às amostras P15 e P25 em nível de 5% de significância.

O principal objetivo do trabalho foi atingido, o desenvolvimento de filmes derivados de materiais da borra de café submetida ao tratamento com PHA. De forma geral, os filmes F35 apresentaram resultados mais desejáveis entre os tratamentos para a produção dos biomateriais, como o resultado dos ensaios mecânicos de tração em que F35 apresentou maior resistência à tração que as demais amostras, demonstrando ser o filme mais coeso, pois provavelmente apresentou maior percentual de ligações cruzadas (*crosslinking*) entre as cadeias poliméricas por meio dos íons Ca^{2+} e maior percentual de interações intra e intermoleculares (ligações de hidrogênio).

Os filmes apresentaram permeabilidade ao vapor de água acima da média de filmes de polissacarídeos relatados na literatura, isso pode ser uma característica desejável se os filmes forem utilizados como membranas para o tratamento de água. Contudo, para esta aplicação, os filmes precisam melhorar as propriedades mecânicas de tração para suportar as pressões que os mesmos serão expostos.

Os filmes desenvolvidos neste trabalho também podem ser utilizados na agricultura como protetor de frutos (Figura 5.1), por exemplo, ou ainda podem ser utilizados como embalagens de alimentos. Contudo são necessários mais estudos sobre as características do biomaterial, como realizar teste de biodegradação ou avaliar a migração de íons Zn^{2+} para os alimentos.



Figura 5.1: Protetor de frutos. Fonte: Página de Cultura Mix.

Embora, sejam necessários estudos posteriores, o aprimoramento da técnica e das propriedades dos filmes, o desenvolvimento de biomaterias a partir da borra de café é uma alternativa para países como o Brasil que consomem diariamente café e descartam toneladas de borra de café por ano, um resíduo que é rico em compostos orgânicos e que pode ser largamente utilizado de maneira sustentável.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAPA, P.; TABIL, L.; SCHOENAU, G. Compaction characteristics of barley, canola, oat and wheat straw. **Biosystems engineering**, v. 104, n. 3, p. 335-344, 2009.

ALVAREZ-VASCO, C.; ZHANG, X. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of softwood: hemicellulose degradation pathways. **Bioresource technology**, v. 150, p. 321-327, 2013.

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, 2007.

ASTM D3418-12, **Standard Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **D882-12 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. West Conshohocken, PA 2012.

_____. **D618-13, Standard Practice for Conditioning Plastics for Testing**. West Conshohocken, PA 2013.

_____. **E96/E96M-15, Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**, . West Conshohocken, PA 2015.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51-62, 2// 2016.

AZEREDO, H. M. C.; WALDRON, K. W. Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 109-122, 6// 2016.

BAKER, R. W. Membranes and modules. **Membrane Technology and Applications, Third Edition**, p. 97-178, 2012.

BALAGUER, M. P.; GÓMEZ-ESTACA, J; GAVARA, R; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Functional Properties of Bioplastics Made from Wheat Gliadins Modified with Cinnamaldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6689-6695, 2011.

BALLESTEROS, L. F.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment. **Carbohydrate Polymers**, n. 127, p. 347–354, 2015.

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, 2014.

_____. Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 258-266, 2/10/2017.

BARBOSA, L. C. D. A. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. **Viçosa: UFV**, v. 189, 2007.

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

BHATTACHARYA, A. Polymer Grafting and Crosslinking. **Journal of The American Chemical Society**, p. 7204-7204, 2009.

BLASCHEK, W. SCHÜTZ, M.; KRAUS, J.; FRANZ, G. In vitro production of specific polysaccharides: isolation and structure of an antitumor active β -glucan from *Phytophthora parasitica*. **Food Hydrocolloids**, v. 1, n. 5, p. 371-380, 1987.

BORGES, M. L. A.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; CORRÊA, P. C.; GLÓRIA, M. B. A. Estudo da variação da coloração de café arábica durante a torra em diferentes condições de aquecimento. **R. Bras. Armaz.**, v. 5, p. 3-8, 2002.

BRANDT, A. GRÄSVIK, J.; HALLETT, J. P.; WELTON, T. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 550-583, 2013.

CAMPOS-VEGA, R.; LOARCA-PIÑA, G.; VERGARA-CASTAÑEDA, H. A.; OOMAH, B. D. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, Querétaro, México, n. 45, p. 24-36, 2015.

CANAVARRO, V.; ALVES, J. L.; RANGEL, B. Coffee Powder Reused as a Composite Material. In: SILVA, L. F. M. D. (Ed.). **Materials Design and Applications**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p.113-123.

CAPRIOLI, G. CORTESE, M.; CRISTALLI, G.; MAGGI, F.; ODELLO, L.; RICCIUTELLI, M.; SAGRATINI, G.; SIROCCHI, V.; TOMASSONI, G.; VITTORI, S. Optimization of espresso machine parameters through the analysis of coffee odorants by HS-SPME–GC/MS. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1127-1133, 12/1/ 2012.

CERQUEIRA, M. A.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; MARTINS, J. T.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Galactomannans use in the development of edible films/ coatings for food applications. **Trends in Food Science & Technology**, n. 22, p. 662-67, 2011.

_____. Effects of interactions between the constituents of chitosan-edible films on their physical properties. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 8, p. 3181-3192, 2012.

_____. Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 179-185, 2011.

CHANDRASEKARAN, R.; RADHA, A.; OKUYAMA, K. Morphology of galactomannans: an X-ray structure analysis of guaran. **Carbohydrate research**, v. 306, n. 1, p. 243-255, 1998.

CONAB. **Acomp. Safra Bras. Café**. Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB. Brasília, p.1-98. 2017

CRAIG, A. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; IRUDAYARAJ, J.; ILELEJI, K. Application of elastic net and infrared spectroscopy in the discrimination between defective and non-defective roasted coffees. **Talanta**, v. 128, p. 393-400, 2014.

CRUZ, R.; CARDOSO, M. M.; FERNANDES, L.; OLIVEIRA, M.; MENDES, E.; BAPTISTA, P. ; MORAIS, S. CASAL, S. Espresso Coffee Residues: A Valuable Source of Unextracted Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 60, p. 7777–7784, 2012.

CRUZ-ROMERO, M.; KERRY, J. P. Crop-based biodegradable packaging and its environmental implications. **CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour**, v. 3, p. 1-25, 2008.

CUI, S. W.; IKEDA, S.; ESKIN, M. N. Seed Polysaccharide Gums. In: IZYDORCZYK, M. S. e BILIADERIS, C. G. (Ed.). **Functional Food Carbohydrates**: CRC Press Boca Raton, FL, 2007. p.127-158.

Cultura Mix. Plantação de goiabas em Guarantã. Disponível em: < <http://flores.culturamix.com/> >. Acesso em 01 ago. 2017.

DE MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 4, p. 448-453, 2009.

DEGRUSON, M. L. Biobased Polymer Packaging. **Reference Module in Food Science**: Elsevier, 2016.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. Princípios e aplicações de análise térmica. **Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos São Carlos-SP**, p. 40, 2012.

DOS SANTOS, V.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CERQUEIRA, M. A. Relationship between galactomannan structure and physicochemical properties of films produced thereof. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 12, p. 8292-8299, 2015.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUFFICY, M. K.; KHAN, S. A.; FEDKIW, P. S. Galactomannan binding agents for silicon anodes in Li-ion batteries. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 22, p. 12023-12030, 2015.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z.; HEINZE, T. Hemicellulose. In: HEINZE, T. (Ed.). **Polysaccharides I: Structure, Characterization and Use**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, p.1-67, 2005.

ESQUÍVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Funcional properties of coffees and coffee by-products. **Food Research International**, n. 45, p. 488-495, 2012.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 6, p. 292-303, 2011.

FIGUEIRO, S.; GÓES, J. C.; MOREIRA, R. A.; SOMBRA, A. S. B. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films. **Carbohydrate polymers**, v. 56, n. 3, p. 313-320, 2004.

FISCHER, M. REIMANN, S.; TROVATO, V.; REDGWHEEL, R. J. Polysaccharides of green Arabica an Robusta coffee beans. **Carbohydr. Res**, v. 330, p. 93, 2001.

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Coffee processing solid wastes: current uses and future perspectives. **Agricultural wastes**, Nova Publishers, New York, 2009.

FUKAYA, Y.; HAYASHI, K.; WADA, M.; OHNO, H. Cellulose dissolution with polar ionic liquids under mild conditions: required factors for anions. **Green Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 44-46, 2008.

GALGANO, F. Biodegradable packaging and edible coating for fresh-cut fruits and vegetables. **Italian Journal of Food Science**, n. 1, p. 1-20%V 27, 2015-03-09 2015.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. **XI MET**, p. 34, 2006.

GAO, C.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Innovative plasticized alginate obtained by thermo-mechanical mixing: Effect of different biobased polyols systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 669-676, 2/10/ 2017.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, N.; MALDONADO-CELIS, M. E.; ROJAS-LÓPEZ, M.; LOARCA-PIÑA, G. F.; CAMPOS-VEGA, R. The fermented non-digestible fraction of spent coffee grounds induces apoptosis in human colon cancer cells (SW480). **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 237-246, 2017.

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

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

GOULD, J. M.; FREER, S. High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H₂O₂. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 6, p. 628-631, 1984.

GUO, T. X.; ZHAO, Y. M., SHUANG C.; LIU, S. T. Decomposition Characteristics of Hydrogen Peroxide in Sodium Hydroxide Solution. *Advanced Materials Research*, Trans Tech Publ. p.359-362, 2013.

HABERT, A. C. **Processos de separação por membranas**. Editora E-papers, 2006.

HERGERT, H. L. Infrared spectra In: KV Sarkanen and CH Ludwig (Ed). **Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions**: John Wiley & Sons, 1971, p. 916.

HILAL, N.; ISMAIL, A. F.; WRIGHT, C. Section I: Fabrication Processes for Polymeric Membrane. In: (Ed.). **Membrane fabrication**: CRC Press, 2015.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee: the science of quality**. 2a Edition. Academic Press, 2005, p. 381.

International Coffee Organization. TABLES, T. S. London, Inglaterra: International Coffee Organization 2017.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. **Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial**. 2a Edição. São Paulo: 2014, p. 192.

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

JIMÉNEZ-ZAMORA, A.; PASTORIZA, S.; RUFIÁN-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, 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*, 2010.

KEMSLEY, E. K.; RUAAULT, 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, 1995.

KHANZADI, M.; JAFARI, S. M.; MIRZAEI, H.; CHEGINI, F. K.; MAGHSOUDLOU, Y.; DEHNAD, D. Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein

concentrate–pullulan by application of beeswax. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 24-29, 3/15/ 2015.

Konica Minolta. **Compreendendo o espaço de cor CIE L*a*b***, Disponível em: < <http://sensing.konicaminolta.com.br/> >. Acesso em: 25/02/2017.

KURT, A.; KAHYAOGU, T. Characterization of a new biodegradable edible film made from saleg glucomannan. **Carbohydrate polymers**, v. 104, p. 50-58, 2014.

LABCONCO, C. A guide to Kjeldahl nitrogen determination methods and apparatus. **Labconco Corporation: Houston, TX, USA**, 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.

LE, H.-T.; CHAFFOTTE, A. F.; DEMEY-THOMAS, E.; VINH, J.; ; FRIGUET, B.; MARY, J. 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.

LIANG, N.; LU, X.; HU, Y.; KITTS, D. D. 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.; SHANG, X.; LIU, P.; XIE, F.; CHEN, X.; SUN, Y.; WAN, J. 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.

LU, X.; SHEN, X. Solubility of bacteria cellulose in zinc chloride aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 1, p. 239-244, 2011.

MACHADO, P. P.; HOTZA, D.; PETTER, C.; BERGMANN, C. P. Controle de qualidade para revestimentos cerâmicos através da análise colorimétrica de superfície vidrada monocromática. **Cerâmica industrial**, v. 2, n. 3-4, p. 51-55, 1997.

MARTINEZ-SAEZ, N.; GARCÍA, A. T.; PÉREZ, I. D.; REBOLLO-HERNANZ, M.; MESÍAS, M.; MORALES, F. J.; MARTÍN-CABREJAS, M. A. ; DEL CASTILLO, M. D. Use of spent coffee grounds as food ingredient in bakery products. **Food Chemistry**, v. 216, p. 114-122, 2017.

MARTUCCI, J.; RUSECKAITE, R. Tensile properties, barrier properties, and biodegradation in soil of compression—Molded gelatin-dialdehyde starch films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 112, n. 4, p. 2166-2178, 2009.

MARTÍNEZ-ABAD, A.; RUTHES, A. C.; VILAPLANA, F. Enzymatic-assisted extraction and modification of lignocellulosic plant polysaccharides for packaging applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 2, 2016.

MARÉCHAL, Y.; CHANZY, H. The hydrogen bond network in Iβ cellulose as observed by infrared spectrometry. **Journal of Molecular Structure**, v. 523, n. 1–3, p. 183-196, 2000.

MANZALLI, P. V. **Manual para Serviços de Alimentação: Implementação, Boas Práticas, Qualidade e Saúde**. São Paulo: Metha, 2006. 191p.

MELTON, L. D.; SMITH, B. G. Cell Wall Polysaccharides. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**: John Wiley & Sons, 2001. p.E3.2.1-E3.2.13.

MIKKONEN, K. S.; RITA, H.; HELÉN, H.; TALJA, R. A.; HYVÖNEN, L.; TENKANEN, M. Effect of Polysaccharide Structure on Mechanical and Thermal Properties of Galactomannan-Based Films. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 10, p. 3198-3205, 2007.

MINOLTA, K. Precise color communication: Color control from perception to instrumentation. **Japan: Konica Minolta Sensing Inc**, 2007.

MOREIRA, A. S.; COIMBRA, M. A.; NUNES, F. M.; SIMOES, J.; DOMINGUES, M.; ROSARIO, M. Evaluation of the effect of roasting on the structure of coffee galactomannans using model oligosaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 18, p. 10078-10087, 2011.

MOREIRA, A. S. P. Galactomannans in Coffee. In: PREEDY, V. R. (Ed.). **Coffee in health and disease prevention**: Elsevier, 2015. p.173–182.

MOREIRA, A. S.; NUNES, F. M.; DOMINGUES, M.; COIMBRA, M. A. Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. **Food & Function**, v. 3, n. 9, p. 903-915, 2012.

MULDER, J. **Basic principles of membrane technology**. Springer Science & Business Media, 2ª Edição, 1996, p. 564.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. **Resources, Conservation and recycling**, v. 66, p. 45-58, 2012.

MUSSATTO, S. I.; CARNEIRO, L. M.; SILVA, J. P. A.; ROBERTO, I. C.; TEIXEIRA, J. A. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, n. 83, p. 368–374, 2011a.

_____. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 661, 2011b.

NAVARINI, L.; GILLI, R.; GOMBAC, V.; ABATANGELO, A.; BOSCO, M.; TOFFANIN, R. Polysaccharides from hot water extracts of roasted *Coffea arabica* beans: Isolation and characterization. **Carbohydrate polymers**, v. 40, n. 1, p. 71-81, 1999.

NIETO, M. B. Structure and Function of Polysaccharide Gum-Based Edible Films and Coatings. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York, NY: Springer New York, 2009. p.57-112.

NIEUWOUDT, H. H.; PRIOR, B. A.; PRETORIUS, I. S.; MANLEY, M.; BAUER, F. F. Principal component analysis applied to Fourier transform infrared spectroscopy for the design of calibration sets for glycerol prediction models in wine and for the detection and classification of outlier samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 12, p. 3726-3735, 2004.

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.

_____. Chemical Characterization of Galactomannans and Arabinogalactans from Two Arabica Coffee Infusions As Affected by the Degree of Roast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1429-1434, 2002a.

_____. 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, 2002b.

_____. Melanoidins from Coffee Infusions. Fractionation, Chemical Characterization, and Effect of the Degree of Roast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 3967-3977, 2007.

_____. Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 1, p. 171-185, 2010.

NUNES, F. M.; DOMINGUES, M. R.; COIMBRA, M. A. Arabinosyl and glucosyl residues as structural features of acetylated galactomannans from green and roasted coffee infusions. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 10, p. 1689-1698, 2005.

NUNES, F. M.; REIS, A.; SILVA, A. M. S.; DOMINGUES, M. R. M.; COIMBRA, M. A. Rhamnoarabinosyl and rhamnoarabinoarabinosyl side chains as structural features of coffee arabinogalactans. **Phytochemistry**, v. 69, n. 7, p. 1573-1585, 2008.

OESTREICH-JANZEN, S. 3.25 - Chemistry of Coffee. In: (Ed.). **Comprehensive Natural Products II**. Oxford: Elsevier, 2010. p.1085-1117.

OOSTERVELD, A.; KRAWCZYK, H.; EK, M.; HENRIKSSON, G.; MORIANA, R. Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 3, p. 285-296, 2003.

OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; DE AOUADA, F. A.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; LOREVICE, M.V.; SOARES, N. DE F. F.; MATTOSO, L. H. C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 188-194, 2014.

PANDEY, K. K.; THEAGARAJAN, K. S. Analysis of wood surfaces and ground wood by diffuse reflectance (DRIFT) and photoacoustic (PAS) Fourier transform infrared spectroscopic techniques. **Holz als Roh- und Werkstoff**, v. 55, n. 6, p. 383-390, 1997.

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

Plastics Europe. *Plastics—The facts 2014/2015*; Plastics Europe—Association of plastics manufacturers: Bruxelas, Bélgica, 2015.

POLETO, M.; PISTOR, V.; ZATTERA, A. J. Structural characteristics and thermal properties of native cellulose. **Cellulose-fundamental aspects**. Ed. Van de Ven, T. and Gdbout, L. **InTech**, p. 45-68, 2013.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N. G.; RANDERIA, N. P.; NAGAR, B. J.; NAIKWADI, N. N.; VARIYA, B. C. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 60, p. 83– 92, 2013.

PREEDY, V. R. **Coffee in health and disease prevention**. London, Inglaterra: Academic Press, 2015.p. 1080.

PUJOL, D.; LIU, C.; GOMINHO, J.; OLIVELLA, M. À; FIOL, N.; VILLAESCUSA, I.; PEREIRA, H. The chemical composition of exhausted coffee waste. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 423-429, 2013.

PUSHPA, S. M.; MANONMANI, H. Bioconversion of coffee industry wastes with white rot fungus *Pleurotus florida*. **Research Journal of Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 145-150, 2008.

QIN, X.; LU, A.; CAI, J.; ZHANG, L.. Stability of inclusion complex formed by cellulose in NaOH/urea aqueous solution at low temperature. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1315-1320, 2013

REDGWELL, R. J.; CURTI, D.; FISCHER, M.; NICOLAS, P.; FAY, L. B. Coffee bean arabinogalactans: acidic polymers covalently linked to protein. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 3, p. 239-253, 2002.

_____. Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 5, p. 421-431, 2002.

REIS, N. **Avaliação de adulteração em café torrado e moído por espectroscopia no infravermelho médio e ressonância magnética nuclear**. 2016. p. 299. Tese (Doutorado). Faculdade de Farmácia, Programa de Pós- Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais.

REIS, N. FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Concomitant Use of Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflectance Spectroscopy and Chemometrics for Quantification of Multiple Adulterants in Roasted and Ground Coffee. **Journal of Spectroscopy**, p. 7, 2016.

_____. Simultaneous Detection of Multiple Adulterants in Ground Roasted Coffee by ATR-FTIR Spectroscopy and Data Fusion. **Food Analytical Methods**, p. 1-10, 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, 2013.

REMSING, R. C.; SWATLOSKI, R.P.; ROGERS, R. D.; MOYNA, G.. Mechanism of cellulose dissolution in the ionic liquid 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride: a ^{13}C and $^{35/37}\text{Cl}$ NMR relaxation study on model systems. **Chemical Communications**, n. 12, p. 1271-1273, 2006.

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

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

RIVERA, W.; VELASCO, X.; GÁLVEZ, C.; RINCÓN, C.; ROSALES, A.; ARANGO, P. Effect of the roasting process on glass transition and phase transition of Colombian Arabic coffee beans. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 385-390, 2011.

ROY, C.; BUDTOVA, T.; NAVARD, P. Rheological Properties and Gelation of Aqueous Cellulose-NaOH Solutions. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 2, p. 259-264, 2003

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**, Oxford, UK, v. 2, n. 2, p. 164-177, 2009.

SACHSLEHNER, A.; FOIDL, G. FOIDL, N.; GÜBITZ, G.; HALTRICH, D. Hydrolysis of isolated coffee mannan and coffee extract by mannanases of *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Biotechnology**, v. 80, n. 2, p. 127-134, 2000.

SCHENKER, S.; HANDSCHIN, S; FREY, B; PERREN, R; ESCHER, F. Pore structure of coffee beans affected by roasting conditions. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 452-457, 2000.

SEN, S.; LOSEY, B. P.; GORDON, E. E.; ARGYROPOULOS, D. S.; MARTIN, J. D. Ionic Liquid Character of Zinc Chloride Hydrates Define Solvent Characteristics that Afford the Solubility of Cellulose. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 120, n. 6, p. 1134-1141, 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. **Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 1, n. 8, p. 858-870, 2013.

SHOWALTER, A. M. Arabinogalactan-proteins: structure, expression and function. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 58, n. 10, p. 1399-1417, 2001.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: 2002, p. 235.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. In: (Ed.). **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**: Ltc, 2007.

SIMÕES, J.; MADUREIRA, P.; NUNES, F. M.; DO ROSÁRIO DOMINGUES, M.; VILANOVA, M.; COIMBRA, M. A. Immunostimulatory properties of coffee mannans. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, n. 8, p. 1036-1043, 2009.

_____. Thermal stability of spent coffee ground polysaccharides: Galactomannans and arabinogalactans. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 256-264, 2014.

_____. Extractability and structure of spent coffee ground polysaccharides by roasting pre-treatments. **Carbohydrate Polymers**, n. 97, p. 81-89, 2013.

SOUZA, F. D. **Propriedades Físico-Químicas de Hemiceluloses Vegetais**. 2014. p.65. Dissertação (Mestrado). Bioquímica e Biologia Celular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SU, Y.; DU, R.; GUO, H.; CAO, M.; WU, Q.; SU, R.; QI, W.; HE, Z. Fractional pretreatment of lignocellulose by alkaline hydrogen peroxide: Characterization of its major components. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 322-330, 2015.

SYNYTSYA, A.; NOVAK, M. Structural analysis of glucans. **Annals of Translational Medicine**, v. 2, n. 2, 2014.

TIBONI, M. Monitoramento da atividade de enzimas do complexo celulolítico utilizando celulose bacteriana covalentemente tingida com azul brilhante de Remazol R. 2011.

TREENATE, P.; MONVISADE, P.; YAMAGUCHI, M. The Effect of Glycerol/Water and Sorbitol/Water on the Plasticization of Hydroxyethylacryl Chitosan/Sodium Alginate Films. **MATEC Web of Conferences**, v. 30, p. 4, 2015.

VARMA, A. J.; KOKANE, S. P.; PATHAK, G.; PRADHAN, S. D. Thermal behavior of galactomannan guar gum and its periodate oxidation products. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, n. 2, p. 111-114, 1997.

VILELA, W. F.; LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Effect of Peroxide Treatment on Functional and Technological Properties of Fiber-Rich Powders Based on Spent Coffee Grounds. **International Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 1, 2016.

WANG, N.; FU, Y.; LIM, L.-T. Feasibility study on chemometric discrimination of roasted Arabica coffees by solvent extraction and Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 3220-3226, 2011.

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, S.; LU, A.; ZHANG, L. Recent advances in regenerated cellulose materials. **Progress in Polymer Science**, v. 53, p. 169-206, 2016.

WINKWORTH-SMITH, C. G.; MACNAUGHTAN, W.; FOSTER, T. J. Polysaccharide structures and interactions in a lithium chloride/urea/water solvent. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 231-241, 2016

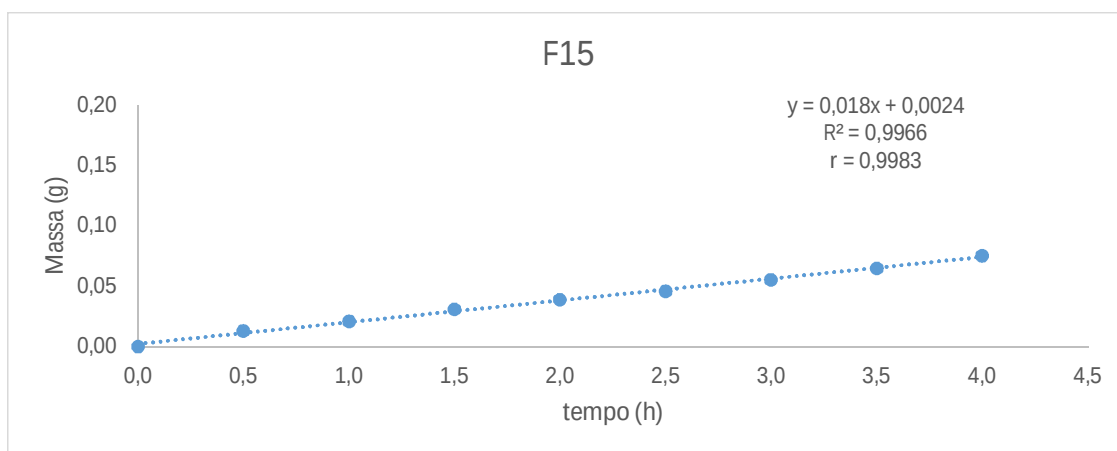
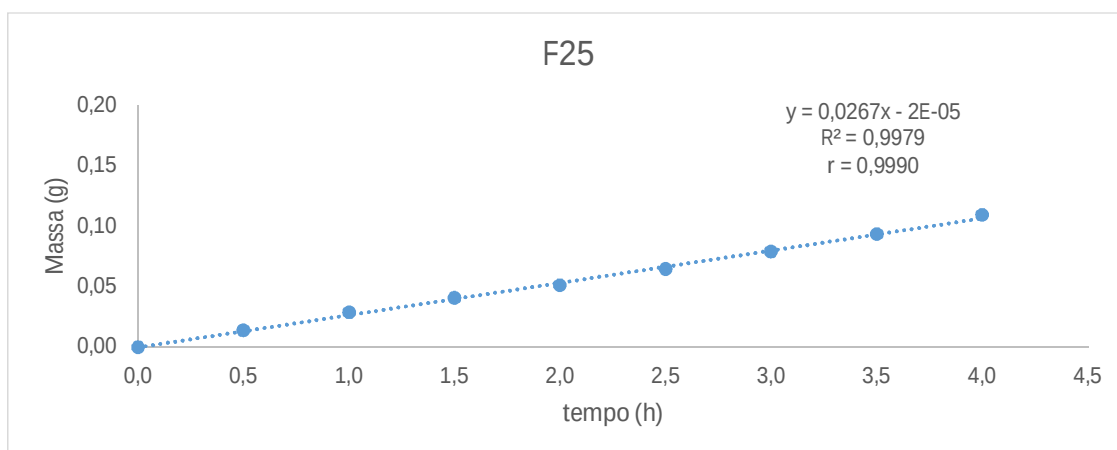
XU, Q.; CHEN, C.; ROSSWURM, K.; YAO, T.; JANASWAMY, S. A facile route to prepare cellulose-based films. **Carbohydrate polymers**, v. 149, p. 274-281, 2016.

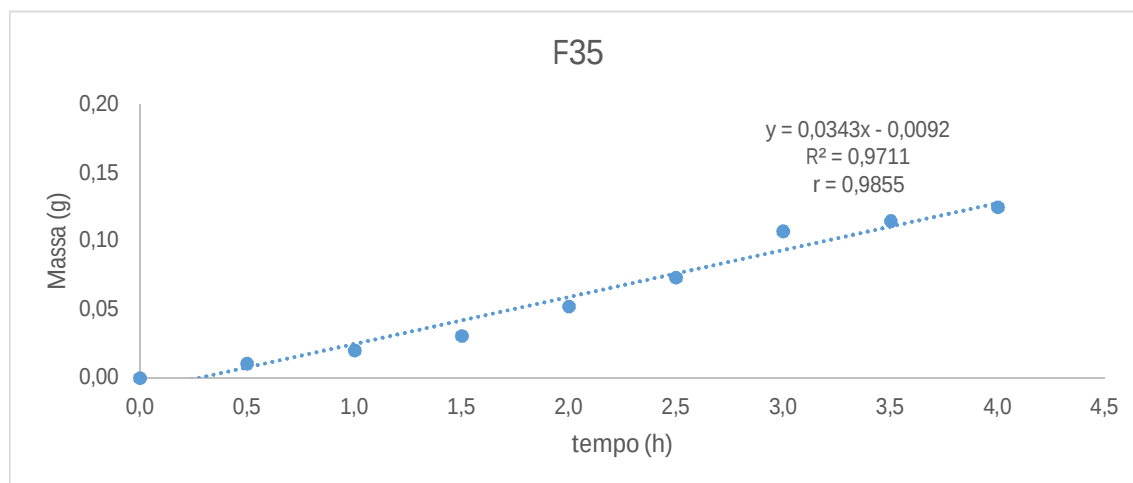
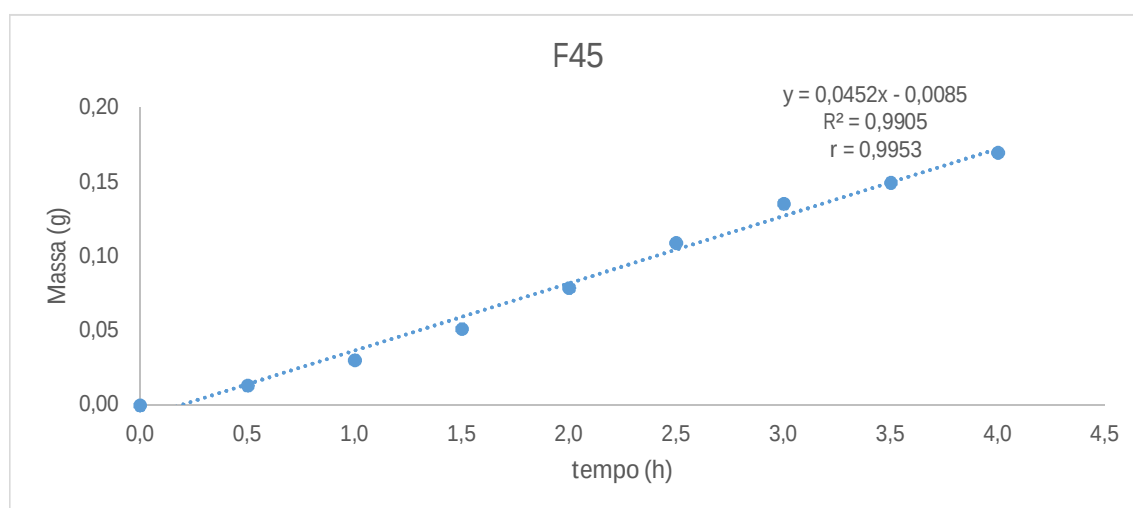
YANG, L.; PAULSON, A. T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 571-578, 2000.

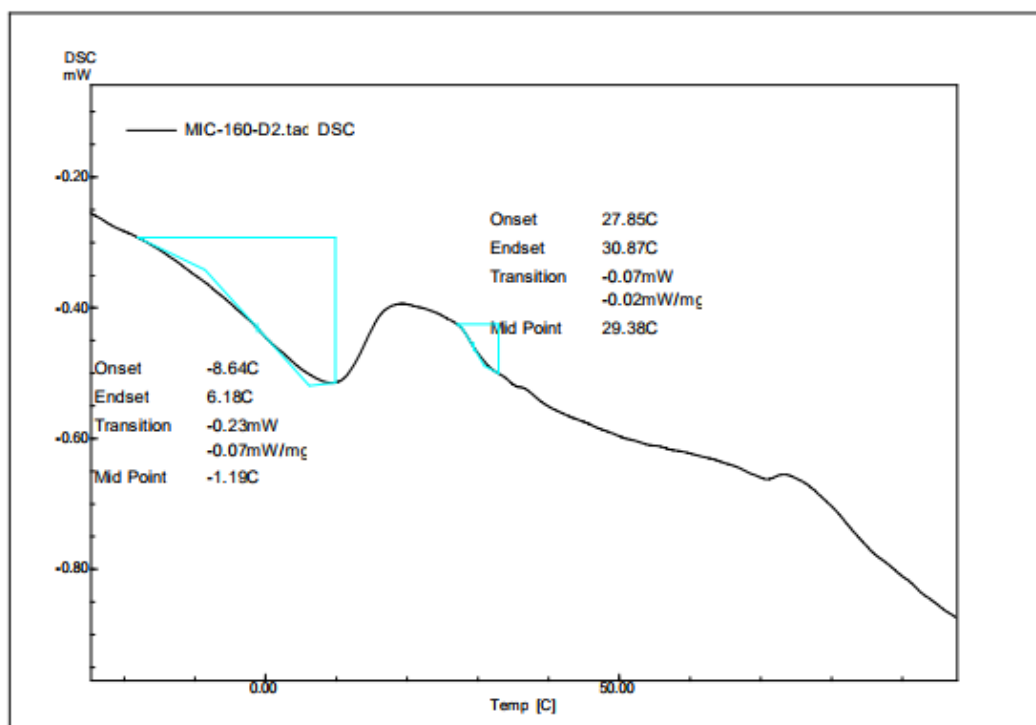
ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **São Paulo: Instituto Adolfo Lutz**, p. 1020, 2008.

ZIANI, K.; OSES, J.; COMA, V.; MATÉ, J. I. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2159-2165, 2008.

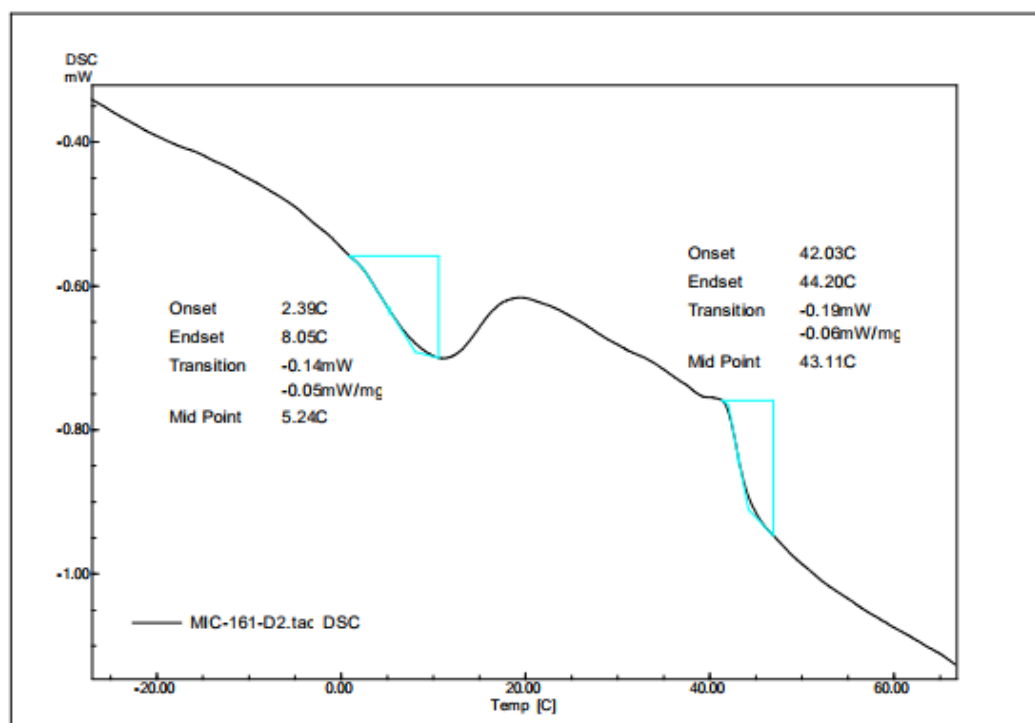
ANEXOS

ANEXO A - Gráfico do ganho de peso *versus* tempo de análise para o filme F15.ANEXO B - Gráfico do ganho de peso *versus* tempo de análise para o filme F25

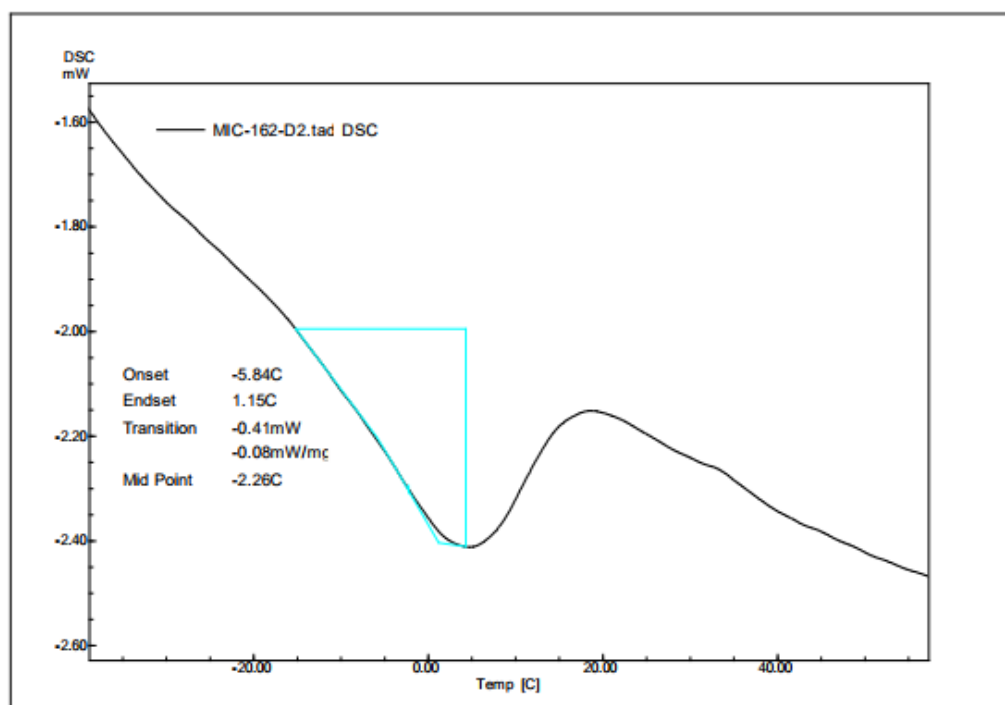
ANEXO C- Gráfico do ganho de peso *versus* tempo de análise para o filme F35ANEXO D - Gráfico do ganho de peso *versus* tempo de análise para o filme F45



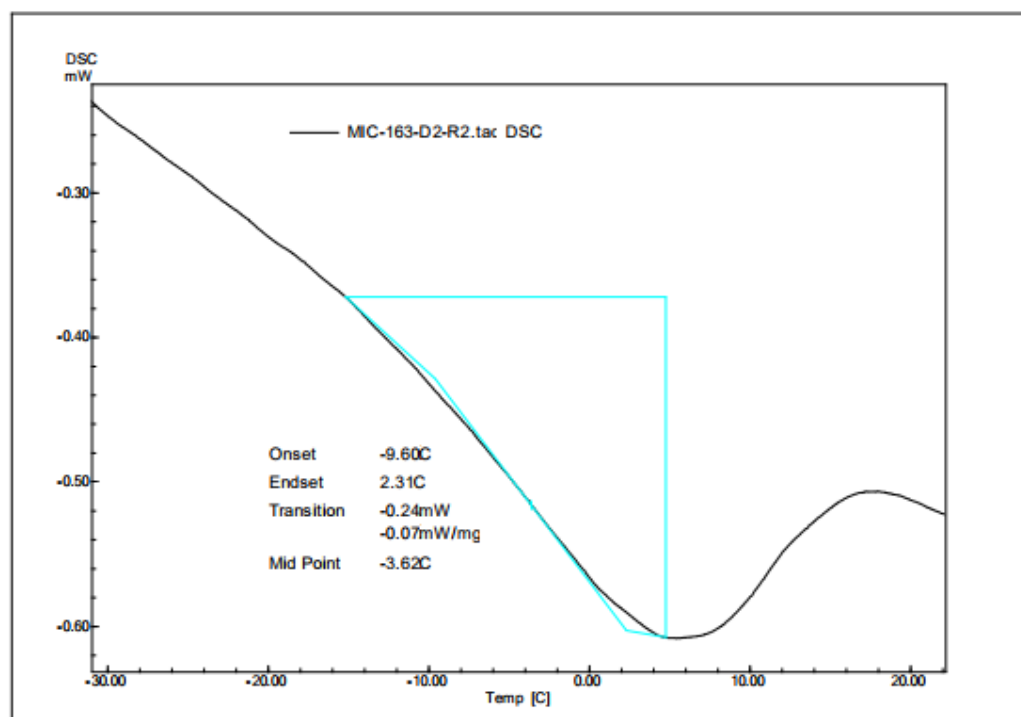
ANEXO E – Termograma da região ampliada da Tg do F15.



ANEXO F – Termograma da região ampliada da Tg do F25.



ANEXO G – Termograma da região ampliada da Tg do F35.



ANEXO H – Termograma da região ampliada da Tg do F45.

ANEXO I – Tabela com dados referentes às replicatas dos filmes utilizados nos ensaios de tração.

Amostras	Número de inclusões	Área com inclusões (%)	Resistência à tração (N/mm²)
F151	143	0,252	2,44
F152	544	2,121	1,78
F153	113	0,138	1,23
F154	221	0,309	2,23
F155	401	0,960	1,56
F156	1998	6,047	1,10
F251	307	0,350	2,52
F252	105	0,193	3,84
F253	531	0,636	2,35
F254	122	0,168	3,20
F255	111	0,107	3,04
F256	3003	1,365	1,64
F351	111	0,256	6,09
F352	69	0,064	6,02
F353	8	0,004	-
F354	144	0,120	4,48
F355	2	0,002	9,34
F356	641	0,842	3,93
F451	200	0,462	1,12
F452	81	0,100	1,85
F453	79	0,113	2,67
F454	156	0,160	1,00
F455	57	0,092	0,43
F456	2058	3,060	0,53