



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

**Obtenção de *whiskers* a partir da fibra da palha de milho e efeito da
Cobertura de amido adicionada de nanocristais de celulose em nêspersas *in natura*
(*Eriobothrya japonica*)**

Carmem Carolina Ortega Aquino^{*1}, Carolina Aparecida Antunes Amadeu*, Farayde Matta Fakhouri e
Sílvia Maria Martelli

* Bolsista PET-Engenharia de Alimentos
Grupo de Pesquisa em Embalagens e Alimentos Funcionais
Faculdade de Engenharia, Universidade Federal da Grande Dourados
79.804-970 – Dourados - MS, Brasil
¹ PIBIC/UFGD/CNPq

carmemortega6@gmail.com

1. RESUMO

Este trabalho teve como objetivo o branqueamento da palha de milho para obtenção da fibra e posterior dos nanocristais (*whiskers*). A fibra foi alcançada utilizando duas concentrações distintas de NaOH na etapa 2 inicial, e na segunda etapa duas concentrações de NaOH e HCl. A fibra tratada juntamente com amido, foi utilizada como cobertura para nêspersas, onde se desenvolveu e testou quatro diferentes coberturas e aplicou-se, pela técnica de imersão, em nêspersas recém colhidas. Os *whiskers* foram extraídos a partir da diálise da fibra, utilizando uma concentração de H₂SO₄ a 60%.

Palavra-chave: palha de milho, CNC, nêspersa, coberturas, amido.

2. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, totalizando 53,2 milhões de toneladas na safra 2009/2010. A primeira ideia é o cultivo do grão para atender ao consumo na mesa dos brasileiros, mas essa é a parte menor da produção. O principal destino da safra são as indústrias de rações para animais. [1] A projeção de produção de milho no Brasil indica uma produção estimada de 78,5 milhões de toneladas em 2013.

Para 2013/14 a projeção de produção situa-se entre 78,8 e 89,0 milhões de toneladas. [2] E anualmente grandes quantidades de palha de milho são descartadas, por não possuírem uma posterior utilização. Como será expresso neste trabalho, esta palha que seria descartada, passa a ser útil em processos como a cobertura de frutas.

A celulose encontrada no milho é um polímero linear envolto por dois componentes: lignina e hemicelulose, que são amorfos. Uma hidrólise ácida controlada remove a região amorfa e libera nanocristais chamados *whiskers*, que são nanopartículas cristalinas longas na forma de bastões rígidos que podem ser utilizados como cobertura para frutas, aumentando assim seu tempo de vida útil.

As metodologias de obtenção de nanomateriais celulósicos tem procurado aproveitar as estruturas fibrosas e cristalinas já presentes na fibra celulósica natural para o isolamento de materiais como celulose nanofibril (CNF) (HENRIKISSON, HENRIKISSON, et al., 2007) ou os nanocristais de celulose (CNC) (BONDESON, METHEW e OKSMAN, 2006), cuja obtenção depende das condições experimentais do processo utilizado.

No processo de obtenção dos nanocristais de celulose, uma das etapas fundamentais é a retirada de outros componentes presentes na fibra, processo comumente chamando de branqueamento. A literatura reporta métodos de branqueamento que utilizam peróxido de hidrogênio, hidróxido de sódio, hipoclorito de sódio, perácidos, etc (LI, FEI, et al., 2009, SUNA, SUNA, et al., 2004, BARRETO, ESMERALDO, et al., 2010 e BRASILEIRO, COLODETTE e VELOSO, 2001).

As nêsperas, frutos também chamados de ameixa amarela no Brasil, estão sendo cada vez mais produzidos no país, atingindo a quantia de aproximadamente 3000 toneladas/ano, sua curta vida de prateleira, e a falta de tecnologias de pós-colheita para aumentar sua vida útil são alguns dos entraves observados para essa cultura.

O emprego de filmes ou coberturas comestíveis aplicados diretamente sobre os produtos alimentícios, particularmente frutas, pode contribuir para minimizar perdas permitindo manuseio e transporte. As coberturas agem como barreiras para a entrada e saída da água, oxigênio. A Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA) não descreve uma legislação específica para revestimentos comestíveis. Assim, estes revestimentos são considerados ingredientes, quando melhoram a qualidade nutricional

do produto, ou aditivos, quando não aumentam o seu valor nutricional. Devem obedecer ao Decreto 55.871, de 26 de março de 1965; à Portaria nº540- SVS/MS, de 27 de outubro de 1997 e à Resolução CNS/MS nº04, de 24 de novembro de 1998, referentes ao regulamento sobre aditivos e coadjuvantes de tecnologia e também às considerações do *Codex Alimentarius*, do *Food and Drugs Administration* (FDA) e todas suas atualizações pertinentes.

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi obter de nanocristais de celulose (CNC), a partir do branqueamento da palha de milho. E a utilização da fibra obtida através do tratamento, como cobertura para nêspers, aumentando assim sua vida útil.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Celulose e whiskers

A celulose é classificada como um carboidrato, podendo ser sintetizada a partir de monossacarídeos. A unidade repetitiva do polímero de celulose é conhecida como celobriose e é composta por duas moléculas de glicose unidas por ligações β -1,4-glicosídicas. Devido a essa estrutura, a celulose estabelece fortes ligações de hidrogênio intra e intercelulares, tendo assim uma forte tendência a formar cristais, o que a torna insolúvel em água e na maior parte dos solventes orgânicos (EICHORN, S. J., et al., 2010).

A celulose é o polímero natural, renovável e biodegradável mais abundante do mundo. Seu grau de polimerização, em vegetais, é de aproximadamente 10 000 e sua massa molar pode chegar a $3,2 \times 10^6$ g/mol na celulose nativa (JOHN e THOMAS, 2008)

As fibras de celulose são compostas de microfibrilas resultante do arranjo das cadeias de celulose e são constituídas de regiões cristalinas altamente ordenadas e de regiões amorfas. As regiões cristalinas são resultantes da polimerização por processo enzimático. [4]

O termo fibra é genericamente usado para designar materiais que têm seu comprimento muitas vezes maior que seu diâmetro, sendo assim, podem ser finos e alongados, contínuos ou segmentados. Sua relação comprimento/diâmetro, chamada de razão de aspecto, é geralmente maior do que 100 (CAMPBELL, 2010).

As fibras vegetais, juntamente com as fibras animais e minerais, são pertencentes ao grupo das fibras naturais (NISHINO, 2004). Especificamente, as fibras

vegetais, que são extraídas de diversas partes das plantas, tem sua classificação em categorias de acordo com sua origem (BENTUR e MINDESS, 2007).

Os cristais de celulose são também conhecidos na literatura como nanofibras, nanocelulose, nanofibrilas de celulose ou *whiskers*. O termo *whiskers* é usado para designar qualquer nanopartícula cristalina alongada, já o termo *nanofibrila*, deve ser usado somente para designar nanopartículas longas e flexíveis que alternam porções cristalinas e amorfas. Ou seja, o termo não é utilizado corretamente para designação desses monocristais, porém é muito encontrada essa associação na literatura (EICHHORN, S. J., et al., 2010).

4.2. Amido

O milho, o trigo, o arroz, a batata e a mandioca são considerados as principais fontes de amido comercial. Suas propriedades funcionais são dependentes da sua fonte botânica, podendo ser afetadas por outros fatores como modificações químicas, força iônica do meio, composição do sistema e pH.

O amido representa o mais importante carboidrato de reserva das plantas superiores, cerca de 60 a 75% da massa da planta, presentes nos tecidos sob a forma de grânulos intracelulares. Têm como características: a coloração branca, ser inodoro e insípido e formar uma suspensão leitosa quando em contato com água fria (BOBBIO; BOBBIO, 1985). Os grânulos de amido são semicristalinos (15 a 45% de cristalinidade) e variam quanto ao seu formato e tamanho (DENARDIN; SILVA, 2008).

Em sua forma nativa ele se apresenta organizado em grânulos nos quais cerca de 98% de sua massa seca é composta por dois tipos de α -glucanos: amilose e amilopectina.

Nos outros 2% de sua massa seca se encontram algumas proteínas, triglicerídeos e ácidos graxos (TESTER, KARKALAS e 42 QI, 2004).

O rompimento da estrutura granular do amido dá origem ao chamado amido termoplástico (TPS). Esse processo de desorganização da estrutura do polímero é irreversível e pode ser feito através da sua solubilização em água ou por tratamentos termomecânicos na presença da mesma (SANKRI, ARHALIASS, et al., 2010).

Para o processo realizado através da solubilização em (excesso) de água a teoria mais aceita sugere que em um primeiro estágio um excesso de água é absorvido pelas regiões amorfas dos grânulos semi-cristalinos, havendo então uma rápida expansão devido ao intumescimento, que acaba desestabilizando os cristalitos, levando a progressiva perda

de cristalinidade (JENKINS e DONALD, 1998). Há ainda a influência do tipo de amido ao qual se aplica o processo, pois, a quantidade de amilose, amilopectina e o tamanho de suas cadeias também influenciam na gelatinização (ZHOU, ROBARDS, et al., 2002).

5. MATERIAS E MÉTODOS

5.1. Materiais

- Chapa de aquecimento
- Agitador magnético
- Estufa de secagem
- Capela
- Balança analítica
- Termômetro
- Centrifuga
- Panela
- Banho maria
- NaOH
- H₂SO₄
- HCl
- Água destilada
- Papel filtro
- Béquers (50mL, 500 mL, 1000mL)
- Kitasato
- Funil de buchner
- Membrana de diálise
- Amido de batata
- Nêspers frescas

5.2. Métodos

A palha de milho foi obtida a partir de uma parceria com o curso de Agronomia da própria instituição (UFGD). Antes de sua utilização foi triturada e acondicionada em béquers de 1000mL, para melhor manuseio. Os reagentes NaOH, HCl, H₂SO₄, foram obtidos através da ajuda financeira cedida pela bolsa PIBIC, juntamente com a chapa de

aquecimento, termômetro e agitadores magnéticos. Outros materiais e instrumentos encontravam-se na própria instituição.

As nêsperas foram escolhidas por serem de fácil acesso e custo reduzido. Estavam frescas e foram compradas em um mercado na própria cidade.

5.2.1. Branqueamento da palha de milho

Etapa 1- Utilizando uma balança analítica pesou-se 10g e 30g da palha, e duas concentrações de NaOH (20%*m/v* e 40%*m/v*). Com um béquer de 500mL fez-se a primeira concentração de NaOH 20%, utilizando 20g do Hidróxido de Sódio dissolvido lentamente em 200mL de água destilada. Após na concentração preparada, foi colocada a palha de milho. O béquer com todo o conteúdo foi posto na chapa de aquecimento, e um agitador magnético foi acondicionado dentro da solução para que ocorresse a melhor aquecimento e agitação da mesma. A chapa foi ligada com agitação média e temperatura inicial de 100°C, controlando esta temperatura por 15 minutos até que a mesma atingisse 65°C. E então, deixado no aquecimento durante 4 horas.

A segunda concentração utilizou a mesma metodologia, porém com 40g de Hidróxido de Sódio para 400mL de água destilada e 30g da palha de milho.

Depois das 4 horas na chapa, a palha tratada foi filtrada em um kitassato com auxílio de um papel filtro e o funil de buchner. A solução dissolvida foi descartada, e apenas a palha no papel filtro com pH medido constantemente até que este atingisse o neutro, e foi guardada para ser utilizada na Etapa 2.

Etapa 2- Com a balança analítica pesou-se 10g de HCl e 20g de NaOH, e mediu-se 400mL de água destilada. Em um béquer de 500mL, foi dissolvido primeiramente o Hidróxido de sódio e em seguida o Hipocloro. A palha tratada na etapa 1 foi adicionada a esta solução. Em seguida com auxílio da chapa de aquecimento e um agitador magnético, o béquer foi aquecido a 140°C inicialmente, e com um termômetro sua temperatura foi controlada até que atingisse 55°C/4 horas.

Essa solução foi utilizada para ambas as concentrações de NaOH, mas feitas separadamente. Para fim de visualizar em qual concentração de teria o melhor branqueamento.

5.2.2. Obtenção da fibra

Os dois tratamentos da palha foram colocados em placas de vidro e acondicionados em uma estufa de secagem, a 35°C durante 24 horas. E então pode-se

verificar em qual tratamento houve o melhor resultado. E posteriormente seria usada para a cobertura das nêspersas.

5.2.3. Diálise

Com a fibra obtida do tratamento de NaOH 40%*m/v*, utilizou-se 4g da mesma, juntamente com 90mL de Ácido Sulfúrico em solução de 60%, colocados em um béquer em banho-maria na chapa de aquecimento com um agitador magnético. A água do banho-maria foi medida com um termômetro durante o processo até que atingisse 55°C e então foi contado 30min, e após esse tempo adicionada água gelada no béquer, contendo o dobro do volume do ácido, para desacelerar a reação.

Essa solução foi distribuída em tubos de ensaio e centrifugada durante 20min, o sobrenadante foi descartado, e repetida a centrifugação até que a solução ficasse turva. Esse processo foi realizado 4 vezes.

Depois, a solução turva, contendo os cristais, foi colocada em uma membrana de diálise, imersa em água, até pH neutro para a remoção do ácido sulfúrico em excesso. E então obteve-se os cristais, que puderam ser vistos a olho nu através da membrana de diálise.

5.2.4. Coberturas a partir do CNC

As coberturas foram obtidas dissolvendo-se 3g de amido de batata em 100ml de água destilada em um béquer e este colocado no banho Maria a 70°C durante 12 minutos até que obtivesse uma solução mais viscosa, posteriormente os nanocristais foram adicionados nas concentrações de 1, 2 e 3 gCNC/100g de amido e a padrão, contendo apenas a solução de amido e água destilada nas mesmas proporções acima. Após a elaboração das soluções filmogênicas, as 20 nêspersas já higienizadas divididas em grupos C1, C2, C3, C0 e controle (correspondendo a quantidade de CNC colocada em cada amostra), foram recobertas e a perda de peso foi monitorada durante 10 dias, em intervalos regulares de 24 horas, e acondicionadas na geladeira durante esse tempo de estudo. As amostras foram realizadas em quadruplicata. As coberturas se aderiram na superfície das nêspersas, não provocando nenhuma alteração visual. E analisou-se a perda de peso das frutas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os resultados das duas concentrações de NaOH, pode-se perceber que a fibra da solução contendo 40%*m/v* foi a mais satisfatória. Figura 1

Sua coloração foi exatamente a desejada, e obteve-se os nanocristais (CNC).
Figura 2

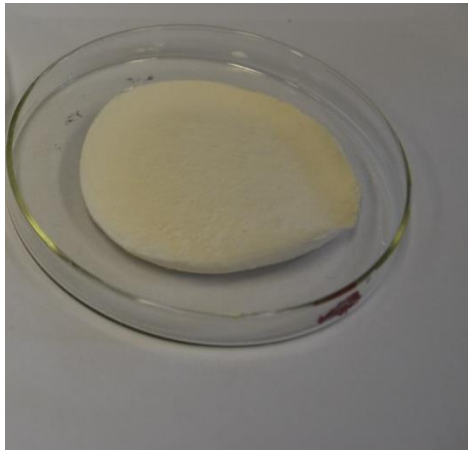


Figura 1- palha branqueada, tentativa satisfatória.



Figura 2- o CNC obtido a partir da diálise da fibra.

Porém, na concentração de NaOH a 20%, não obtivemos êxito, sendo uma tentativa falha. Sua coloração apresentou-se amarelada, seu aspecto não correspondeu ao esperado. Esse resultado deve-se ao uso errôneo da concentração de Hidróxido de Sódio. Figura 3



Figura 3- palha de milho tratada, tentativa falha.

Em comparativo, pode-se perceber que é visível a diferença entre a tentativa bem sucedida e a tentativa falha. Figura 4

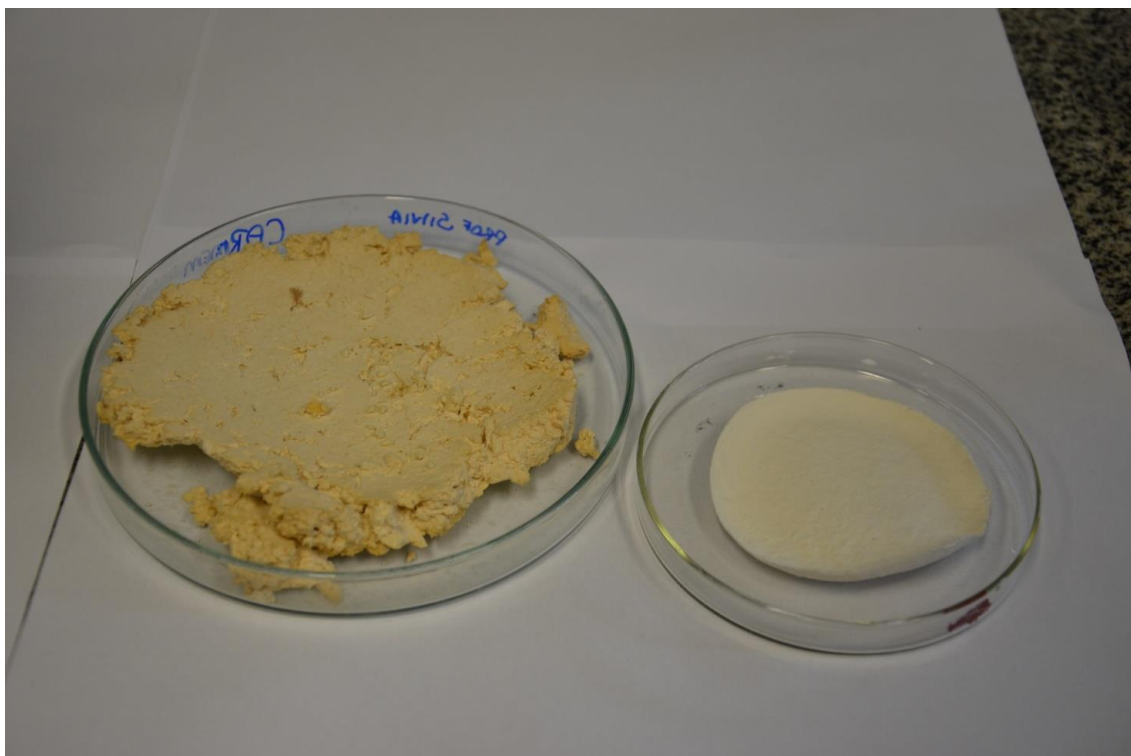


Figura 4- diferença entre os tratamentos.

Com a fibra corretamente branqueada, foi utilizada como cobertura para nêspas. Divididas em diferentes concentrações de CNC, C1 (1gCNC/100g de amido), C2 (2gCNC/100g de amido), C3 (3gCNC/100g de amido), C0 (100g de amido) e controle sem adição de nenhum tipo de cobertura. Todos os tratamentos foram dissolvidos em 100mL de água destilada no banho maria. Figura 5



Figura 5- todas as amostras, divididas em 5 sub grupos



Figura 6- amostra controle e amostra C0

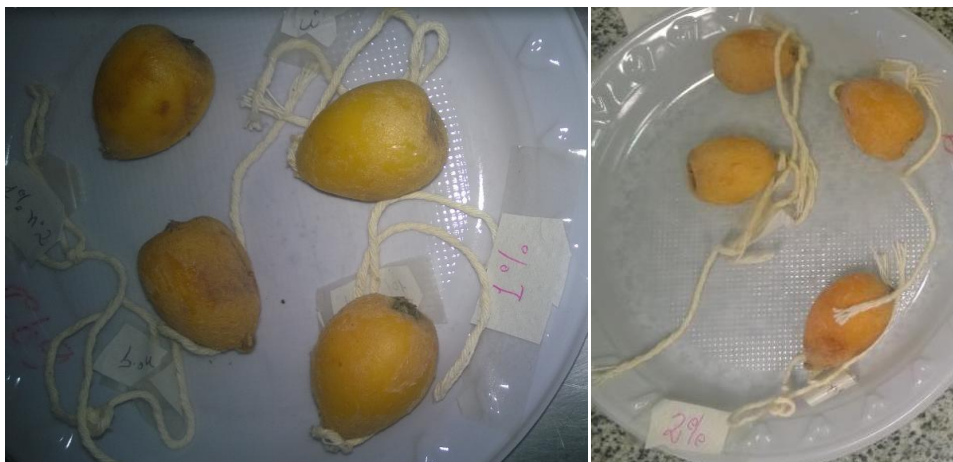


Figura 7- amostra C1 e C2



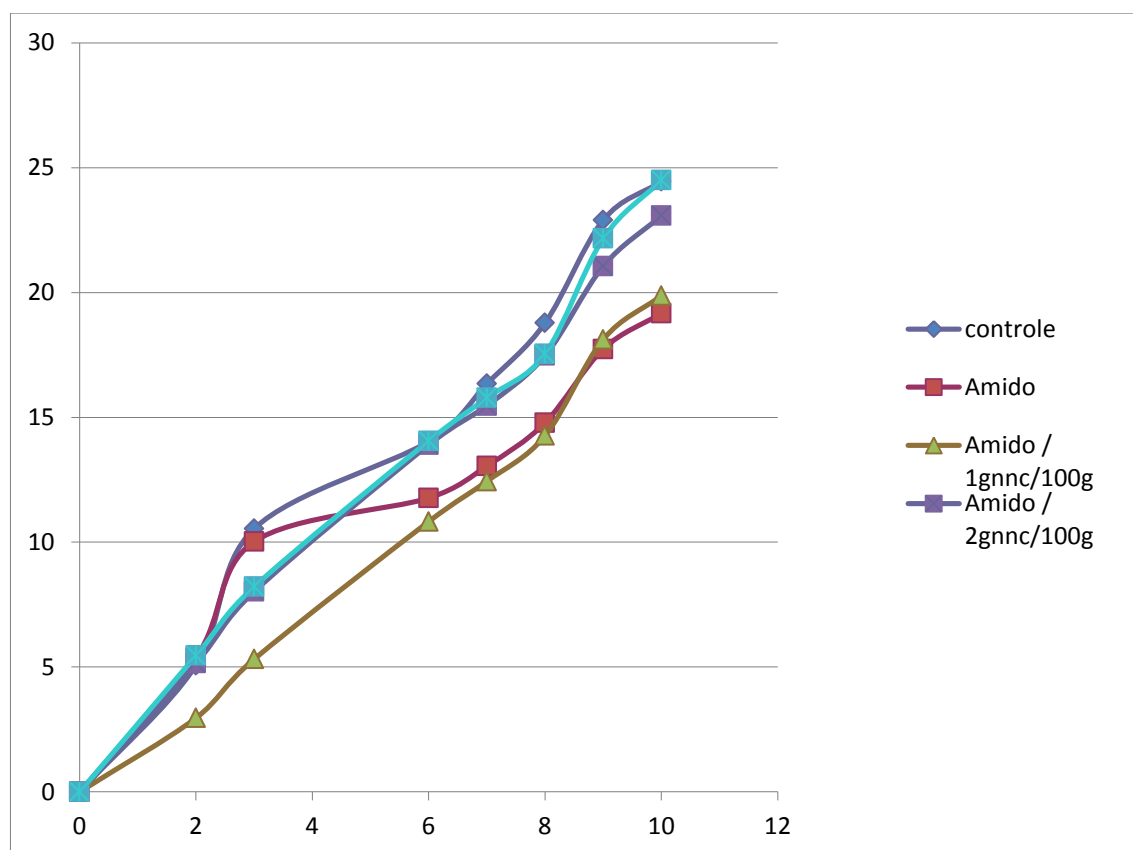
Figura 8- amostra C3

Quando a perda de massa foi analisada as coberturas contendo amido de batata (C0) e a contendo 1gCNC/100gramas de amido (C1) apresentaram perda de massa inferior a controle . Esta variou de 24,45% controle para 19,16 (C0) e 19, 87% (C1), valores observados para a amostra controle no sétimo dia de armazenamento. As demais coberturas, contendo 2 (C2) e 3gCNC/100g (C3), apresentaram perda de massa de 23,07 e 24,50%, respectivamente. Esses resultados mostram que até a concentração de 2gCNC/100g de amido, a utilização de coberturas provocou um efeito benéfico no acondicionamento das nêsperas, acima dessa concentração, porém, esta passa a não ter diferença significativa em relação ao controle. Melhores valores de perda de massa foram obtidos para as coberturas C0 e C1.

Levando em consideração a aparência das frutas, a amostra controle apresentou maior perda de suas característica, obviamente por não conter nenhum tratamento. Dentre os tratamentos o que obteve visivelmente maior perda de suas características foi a amostra C3. As amostra C0, C1 e C2, não ofereceram grandes perdas na característica das nêsperas.

As análises podem ser percebidas no gráfico abaixo, onde encontram-se todas as amostras e seus resultados.

Nêsperas



7. CONCLUSÃO

A utilização da palha de milho branqueada, e sua obtenção do CNC, é uma técnica muito utilizada, seja para coberturas ou para estudo de sua composição. Mas neste caso, é amplamente importante, pois o que viria a ser um descarte passa a ter utilidade, melhorando a aparência de frutas como as nêspas, e possibilitando maior tempo de vida para consumo.

8. REFERÊNCIAS

[1] Débora M. Pimentel, Clara I. D. Bica. **Obtenção e caracterização de whiskers de celulose da palha de milho.** Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/46279/Poster_6596.pdf?sequence=2> Acessado em: 10 de Julho de 2014.

[2] **Projeções do agronegócio.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/projecoes%20-%20versao%20atualizada.pdf>. Acessado em: 10 de Julho de 2014.

[3] Corrêa, T. R. A. **Desenvolvimento e avaliação toxicológica de filmes proteicos com adição de nanofibras de celulose para recobrimento de frutos.**

Disponível em:
http://www.bdttd.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado/tde_arquivos/20/TDE-2014-02-24T162348Z-5874/Publico/5710.pdf. Acessado em: 11 de Julho de 2014.

[4] Seefeldt, A. T. **Obtenção de nanocompósitos de poli (ácido láctico) e nanocristais de celulose de casca de soja**. Disponível em: <
<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/55903/000858376.pdf?sequence=1>>. Acessado em 11 de Julho de 2014.

[5] HENRIKSSON, M. et al. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. **European Polymer Journal** , 43, 2007. 3434–3441.

[6] BONDESON, D.; METHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. **Cellulose**, 13, 2006. 171 –180.

[7] LI, R. et al. Cellulose whiskers extracted from mulberry: A novel biomass production. **Carbohydrate PolymerS**, 76, 2009. 94–99.

[8] EICHHORN, S. J., et al., Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites, **Journal of material Science**, v. 45, p. 1-45, 2010.

[9] JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, 2008. 343–364.

[10] CAMPBELL, F. C. **Structural Composite Materials**. [S.l.]: ASM International , v. 1, 2010. 15 - 29 p.

[11] BENTUR, A.; MINDESS, S. **Fibre Reinforced Cementitious Composites**. 2. ed. [S.l.]: Taylor and Francis, v. 1, 2007.

[12] NISHINO, T. Natural Fiber Sources. In: BAILLIE, C. **Green Composites**. [S.l.]: CRC Press, 2004. Cap. 4, p. 61 - 79.

[13] DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.3, outubro 2008. p.945-954.

[14] SANKRI, A. et al. Thermoplastic starch plasticized by an ionic liquid. **Carbohydrate Polymers**, 82 , 2010. 256–263.

[15] JENKINS, P.; DONALD, A. M. Gelatinisation of starch: a combined SAXS/WAXS/DSC and SANS study. **Carbohydrate Research**, 308 , 1998. 133 - 147.

[16] ZHOU, Z. et al. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**,

