



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ANA VITÓRIA DE OLIVEIRA**

**OBTENÇÃO DE NANOAMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA E SUA APLICAÇÃO  
EM FILMES DE AMIDO PARA EMBALAGENS DE ALIMENTOS**

**FORTALEZA**

**2016**

ANA VITÓRIA DE OLIVEIRA

OBTENÇÃO DE NANOAMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA E SUA APLICAÇÃO EM  
FILMES DE AMIDO PARA EMBALAGENS DE ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química. Área de Concentração: Processos Químicos.

Orientadora: Prof. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.

Coorientador: Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho.

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

O45o Oliveira, Ana Vitória de.

Obtenção de nanoamido de amêndoa de manga e sua aplicação em filmes de amido para embalagens de alimentos / Ana Vitória de Oliveira. – 2016.

99 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2016.

Orientação: Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.

Coorientação: Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho.

1. Biorrefinaria. 2. Nanoamido. 3. Filmes Biodegradáveis. I. Título.

CDD 660

---

ANA VITÓRIA DE OLIVEIRA

OBTENÇÃO DE NANOAMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA E SUA APLICAÇÃO EM  
FILMES DE AMIDO PARA EMBALAGENS DE ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química. Área de Concentração: Processos Químicos.

Aprovada em: 12 / 07 / 2016.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azevedo (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC/EMBRAPA)

---

Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho (Coorientador)  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Prof. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa  
Universidade Federal do Ceará (UFC/EMBRAPA)

---

Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Carlos Alberto Cáceres Coaquira  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

A Deus e minha família, em especial às mulheres da minha vida: minha mãe Avani, tias Ivanilda e Aldeni (*in memoriam*) e avó Cacilda, guerreiras cujas atitudes me inspiram.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por seu infinito amor em minha vida pela fé e perseverança concedidas a mim em todos os momentos, sobretudo naqueles em que a descrença e o desespero insistiam em me acompanhar nesta trajetória.

A minha mãe Maria Avani de Oliveira (*in memorian*), por todos os princípios e inspirações transmitidos de forma tão natural ao longo dos quase doze anos que tive o privilégio de tê-la fisicamente próxima a mim.

A minha avó, Maria Cacilda da Silva Oliveira, por ser meu exemplo diário de resistência às adversidades e aquela que me ensina que vale a pena ter fé na vida, mesmo quando tudo te mostra o contrário.

A minha tia e comadre Maria Ivanilda de Oliveira (*in memorian*), primeira pessoa pra quem liguei quando soube que havia sido selecionada para o mestrado, por saber de sua torcida pelo meu sucesso. A minha afilhada Ana Clara, com quem conheci um pouco da incondicionalidade do amor de mãe e por quem sou capaz de tudo.

A minha tia e madrinha, Antônia Aldeni de Oliveira (*in memorian*), por ter sido minha conselheira e cúmplice nos mais diversos assuntos da minha vida, desempenhando com maestria o papel materno.

A meu namorado, Lyndervan Oliveira de Alcântara, e por toda sua família, em especial seus pais, dona Rosália e sr. Edvan, pelo carinho sempre conferido a mim, pelas palavras de sabedoria nos momentos que fraquejei e pelos momentos de descontração sempre agradabilíssimos. Sou grata a Deus por ter feito nossos caminhos se cruzarem justamente num dos momentos mais difíceis da minha trajetória.

Ao restante da minha família, que mesmo não podendo acompanhar esta etapa tão de perto, sei que sempre torceram para que desse tudo certo e que acreditam no meu sucesso: Ailton, Amarílio (*in memoriam*), João; Cleonice; José Antônio, Leide; Matheus, Edna, Vânia, Ivo e Thiago. Agradeço também aqueles que não possuem laços familiares, mas que o carinho e amor são recíprocos: Sônia, Fransquinha, Maria, Janaína e Graça.

A minha orientadora, Ette Azeredo, mais que pela orientação e por tudo que aprendi nestes 4 anos de convivência, obrigada pelo ser humano sempre solícito, simples e que não se importa apenas com o desempenho do orientando dentro do laboratório, mas por sempre conceder liberdade para compartilharmos nossas dificuldades fora do ambiente acadêmico.

Ao meu coorientador, Men de sá Moreira de Souza Filho, por toda a atenção, sensibilidade, credibilidade e carinho conferidos a mim ao longo dos 3 anos que estou no Laboratório de Tecnologia da Biomassa.

À Morsy de Freitas Rosa, pela experiência que tive ao ser sua orientanda por mais de 1 ano, pelo carinho, simpatia com que sempre se refere a mim e sobretudo pelo seu profissionalismo.

Ao Carlos Cáceres, por ter aceito participar das bancas de qualificação e defesa, além de se mostrar sempre prestativo todas as vezes que precisei elucidar alguma dúvida.

Ao Prof. Bartolomeu de Souza, por ter aceito prontamente participar da minha banca de defesa e por ser sempre solícito para comigo.

Às minhas eternas orientadoras e amigas: Suzana Martins, Cláudia Martins e Lucicléia Vasconcelos, por acreditarem desde a graduação no meu potencial.

A todos do Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB), que mais que companheiros de laboratório são como uma grande família. Agradeço especialmente à Lílian à Natália, a meus colegas de laboratório Vanessa, Milena, Izabel, Maria, Edla, Elígenes, Nágila, Hélder, Eduardo, Aurélio, Priscila, Amanda, Jéssica, Francisca, Matheus, Eden, Ana Cassales e João Paulo, por tornarem meus dias mais alegres, doces e leves, apesar de toda correria que é essa vida acadêmica. À duas pessoas cujo convívio iniciado no laboratório transformou-se em amizade mais que sincera e que pretendo levar pra vida toda: Hálisson Lucas e Lícia.

Agradeço à presença de uma mulher iluminada que entrou na minha vida há 6 anos, pessoa que Deus permitiu que eu elegeisse como minha irmã de alma, a irmã que nunca tive: Larissa Fiúza. Obrigada por todo amor, admiração e respeito. Agradeço aos amigos mais que especiais: Dani, Nágela, Alice, Lana, Dayana, Marcinha, Rosy, Lais, Elis e George, por compartilhar comigo momentos tão importantes da vida de vocês comigo e por permitir que eu compartilhe momentos ímpares da minha existência. Às amigas contemporâneas do curso de Engenharia de Alimentos: Luana, Sara, Alzira, em especial Luciane e Geísa, por manterem uma amizade tão especial apesar da distância.

À pesquisadora Celli Muniz, pela atenção dedicada à obtenção das micrografias das minhas amostras.

À Embrapa Agroindústria Tropical pela infra-estrutura fornecida para a concretização dos processamentos e análises primordiais a este projeto de mestrado.

À Capes, pela bolsa concedida para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

## RESUMO

O processamento de manga gera toneladas de subprodutos (casca, tegumento da semente, amêndoas) que correspondem a 40-45 % do peso dos frutos e que possuem alto valor potencial agregado. A amêndoa representa 13% desse peso e é composta majoritariamente por amido (50%), que pode ser extraído e utilizado para embalagem ou revestimento de alimentos. Apesar de seus atrativos relacionados a renovabilidade e biodegradabilidade, os filmes de amido ainda possuem limitações quanto a suas propriedades de barreira e mecânicas. A incorporação de nanocristais de amido (NCA) como fase de reforço de bionanocompósitos visa a melhoria de tais características. Assim, o objetivo foi desenvolver filmes bionanocompósitos a partir de amido de amêndoa de manga incorporados com diferentes teores de nanocristais de amido obtidos por hidrólise ácida e ultrassonicação, comparando-os com os filmes obtidos a partir de amido comercial de milho. Para os amidos e NCA, foram realizadas caracterizações químicas, morfológicas e térmicas. Os filmes foram elaborados com diferentes concentrações de NCA (0-10% p/p, com base na matriz de amido) e caracterizados por ensaios de tração, opacidade e permeabilidade a vapor de água (PVA). O amido extraído a partir das amêndoas de manga apresentou alto rendimento (38,5%), baixos teores de impurezas e considerável teor de amilose (22,1%), além de cristalinidade tipo A, grânulos elipsoidais de tamanho médio 13,2  $\mu\text{m}$ , temperatura de gelatinização entre 75,66 e 84,13  $^{\circ}\text{C}$ . O nanoamido obtido mostrou-se estável em solução (potencial zeta > 25 mV – em módulo), com tamanhos em torno de 79 nm, alto rendimento quando comparado a dados encontrados na literatura (31,7%, com base no amido nativo) e maior estabilidade térmica que o amido nativo. A adição de NCA resultou em melhores propriedades de resistência à tração, módulo de Young, maior opacidade e menor alongação na ruptura. Tais filmes apresentaram propriedades comparáveis às de filmes de amido comercial, com maiores valores de resistência à tração, módulo de Young e opacidade.

**Palavras-chave:** biorrefinaria, nanoamido, filmes biodegradáveis.

## ABSTRACT

Mango processing generates tons of by-products (peels, seed coats and kernels) corresponding to 40-45 wt% of fruit, and have high potential added value. The seed kernels represents 13% of that weight, and is mainly composed of starch (50%), which can be extracted and used for food packaging or coating. Despite its appeal related to renewability and biodegradability, starch films still have limitations on their barrier and mechanical properties. Starch nanocrystals (SNC) may be incorporated as a reinforcement phase in order to improve such characteristics. The objective of this study was to develop bionanocomposite films from mango kernel starch reinforced with different contents of starch nanocrystals obtained by acid hydrolysis and ultrasonication, and to compare them with those films obtained from commercial maize starch. Starches and SNC were submitted to chemical, morphological, and thermal characterizations. The films were prepared with different concentrations of SNC (0-10 wt% on the starch matrix) and characterized by tensile properties, opacity and water vapor permeability (WVP). The starch extracted from kernels presented a high yield (38.5%), low levels of impurities, a reasonable amylose content (22.1%), type A crystallinity, ellipsoidal granules with an average size of 13.2  $\mu\text{m}$ , and gelatinization temperature between 75.66 and 84.13° C. The SNC were stable in solution (zeta potential > 25 mV - module), with sizes around 79 nm, high-yield (31.7%), and higher thermal stability than native starch. SNC addition resulted in improved tensile strength and modulus, higher opacity, and lower elongation at break. The films presented properties comparable to those of commercial starch, with high tensile strength, modulus, and opacity.

**Keywords:** biorefinery, nanostarch, biodegradable films.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estrutura da amilose e amilopectina, e sua conformação helicoidal e formato de ramificações, respectivamente.
- Figura 2. Representação dos *blockets* dos grânulos de amido.
- Figura 3. Morfologia dos grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas: a) arroz; b) milho; c) batata; d) mandioca.
- Figura 4. Mecanismo de gelatinização dos grânulos de amido.
- Figura 5. Tipos de nanoestruturas quanto à geometria: (a) isodimensionais; (b) alongadas; (c) nanocamadas.
- Figura 6. Micrografias de nanocristais de amido submetidos à hidrólise com ácido sulfúrico (3,16 M/ 5 dias), com amidos de diferentes origens: a) milho; b) milho com alto teor de amilopectina; c) batata e d) trigo.
- Figura 7. Representação do caminho tortuoso para difusão dos permeantes em nanocompósitos poliméricos.
- Figura 8. Ilustração do mecanismo químico que ocorre durante a hidrólise ácida.
- Figura 9. Quadro-resumo com as principais técnicas de obtenção de nanopartículas de amido reportadas na literatura.
- Figura 10. Mangas *Tommy Atkins* adquiridas para processamento, do qual a partir dos resíduos será obtido o amido de fonte alternativa.
- Figura 11. Fluxograma ilustrativo do processo de extração de amido a partir de amêndoas de manga.
- Figura 12. Esquema ilustrativo da metodologia utilizada para determinação do teor de proteínas.
- Tabela 13. Esquema ilustrativo do método empírico para determinação do índice de cristalinidade, onde:  $X_c$  é o índice de cristalinidade;  $H_c$  a altura do pico de maior intensidade até o início da região amorfa;  $H_a$  a altura da linha de base do difratograma até o início da região cristalina.
- Figura 14. Fluxograma com as etapas para obtenção dos nanocristais de amido.
- Figura 15. Fluxograma do processo de elaboração dos filmes de amido com adição de diferentes concentrações de nanocristais.

- Figura 16. Fotografia dos amidos a) de milho (comercial) e b) extraído das amêndoas da manga.
- Figura 17. Micrografias observadas em MEV dos amidos comercial e de manga, em diferentes ampliações.
- Figura 18. Micrografias obtidas por MEV em grids e stubs, respectivamente, para os nanoamidos comercial (a e c) e de manga (b e d).
- Figura 19. Difractogramas dos a) amidos e b) nanoamidos (comercial e de manga).
- Figura 20. Termogramas das amostras de a) amido e b) nanoamido.
- Figura 19. Espectros de FTIR para as amostras de amido e nanoamido (comercial e de manga).
- Figura 20. Curvas de DSC para amostras de amido e nanoamido (comercial e de manga).
- Figura 21. Espectros de FTIR para as amostras de a) amido e b) nanoamido (comercial e de manga).
- Figura 22. Curvas de DSC para amostras a) de amido e b) nanoamido (comercial e de manga).
- Figura 23. Resistência à tração de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.
- Figura 24. Elongação na ruptura de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.
- Figura 25. Módulo de Young de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.
- Figura 26. Permeabilidade a vapor de água de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.
- Figura 27. Opacidade de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.
- Figura 28. Filmes amido de manga (NAM) e amido comercial (NAC) adicionado de diferentes concentrações de NCA (0%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) e efeito dessa adição na opacidade.
- Figura 29. Curvas de DSC para amostras de filmes: a) controle de amido comercial (NAC 0%) e de amido de manga (NAM 0%); e b) com adição

de 7,5% de NCA comercial (NAC 7,5%) e com adição de 7,5% de NCA de manga (NAM 7,5%).

Figura 30. Micrografias (aumento de 2000x) da superfície e seção transversal de filmes de amido de manga (NAM) e amido comercial (NAC) com diferentes concentrações de NCA (0% e 7,5%).

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Quantidade dos padrões para obtenção da curva para determinação do teor de amilose.
- Tabela 2. Formulações dos filmes de amido e suas codificações de acordo com o tipo de amido e concentração de NCA.
- Tabela 3. Caracterização química dos amidos comercial e de amêndoa de manga.
- Tabela 4. Tamanhos de partícula encontrados via espalhamento de luz para as diferentes hidrólises testadas para escolha da metodologia adotada para obter NCA.
- Tabela 5. Caracterização dos nanoamidos comercial e de manga.
- Tabela 6. Quadro-resumo das temperaturas dos principais eventos e perdas de massa nos eventos ocorridos para as amostras de amidos e nanoamidos.
- Tabela 7. Temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), fusão ( $T_m$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ ) para as amostras de amido e nanoamido comercial e de manga.
- Tabela 8. Caracterização dos filmes quanto à umidade e espessura.
- Tabela 9. Testes t pareados para diferenças entre propriedades de filmes de amido comercial e filmes de amido de amêndoa de manga.
- Tabela 10. Temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), fusão ( $T_m$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ ) para as amostras de filmes de amido comercial e de manga.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM	American Standard Testing Methods
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
DRX	Difração de Raios X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
ISSO	International Organization for Standardization
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NAC	Filmes de amido comercial com adição de nanoamido comercial
NAM	Filmes de amido de manga com adição de nanoamido de manga
NCA	Nanocristais de amido
NCC	Nanocristais de celulose
NPA	Nanopartículas de amido
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
TGA	Análise Termogravimétrica
$T_g$	Temperatura de transição vítrea
$T_m$	Temperatura de fusão

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>A Manga no Cenário da Produção Mundial de Frutos</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Resíduos da Agroindústria da Manga e seu Alto Valor Agregado</b> .....	<b>23</b>
<b>3.3</b>	<b>A Estrutura do Amido</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3.1</b>	<b><i>Amido como Material Biodegradável para Embalagem de Alimentos</i></b> .....	<b>28</b>
<b>3.3.2</b>	<b><i>Fontes Alternativas de Amido</i></b> .....	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Nanocompósitos e Bionanocompósitos</b> .....	<b>31</b>
<b>3.5</b>	<b>Nanocristais de Amido como Agentes de Reforço Nanométricos</b> .....	<b>33</b>
<b>3.6</b>	<b>Utilização de Diferentes Vias na Obtenção de Nanopartículas de Amido</b> ..	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>40</b>
<b>4.1</b>	<b>Obtenção do Amido de Amêndoa de Manga</b> .....	<b>41</b>
<b>4.2</b>	<b>Caracterização do Amido de Amêndoa de Manga</b> .....	<b>43</b>
<b>4.2.1</b>	<b><i>Rendimento da Extração</i></b> .....	<b>43</b>
<b>4.2.2</b>	<b><i>Caracterização Química</i></b> .....	<b>43</b>
<b>4.2.3</b>	<b><i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i></b> .....	<b>45</b>
<b>4.2.4</b>	<b><i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i></b> .....	<b>45</b>
<b>4.2.5</b>	<b><i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i></b> .....	<b>45</b>
<b>4.2.6</b>	<b><i>Difração de Raios X (DRX)</i></b> .....	<b>46</b>
<b>4.2.7</b>	<b><i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i></b> ..	<b>46</b>
<b>4.3</b>	<b>Obtenção dos Nanocristais de Amido (NCA)</b> .....	<b>47</b>
<b>4.3.1</b>	<b><i>Testes Preliminares</i></b> .....	<b>47</b>
<b>4.3.2</b>	<b><i>Metodologia Selecionada para Obtenção dos NCA</i></b> .....	<b>48</b>
<b>4.4</b>	<b>Caracterização dos Nanocristais de Amido</b> .....	<b>51</b>
<b>4.4.1</b>	<b><i>Rendimento e Teor de Sólidos</i></b> .....	<b>51</b>
<b>4.4.2</b>	<b><i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i></b> .....	<b>51</b>
<b>4.4.3</b>	<b><i>Difração de Raios X (DRX)</i></b> .....	<b>51</b>

4.4.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ..	52
4.4.5 Potencial zeta .....	52
4.4.6 Análise Termogravimétrica (TGA).....	52
4.4.7 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	52
4.5 Elaboração dos Filmes Bionanocompósitos .....	53
4.5.1 Preparo dos Filmes .....	53
4.5.2 Espessuras dos Filmes.....	55
4.5.3 Umidade dos Filmes.....	55
4.5.4 Análises Mecânicas .....	55
4.5.5 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA).....	56
4.5.6 Opacidade.....	56
4.5.7 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) .....	56
4.5.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	57
4.6 Análise Estatística.....	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
5.1 Caracterização do Amido e Nanocristais de Amido.....	58
5.2 Testes preliminares para obtenção dos NCA.....	61
5.3 Caracterização dos NCA.....	63
5.4 Filmes .....	74
5.4.1 Umidade e Espessura dos Filmes .....	74
5.4.2 Análises Mecânicas .....	75
5.4.3 Permeabilidade a vapor de água.....	80
5.4.4 Opacidade.....	82
6 CONCLUSÕES .....	90
REFERÊNCIAS.....	91

## 1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de frutas gira em torno de 800 milhões de toneladas anualmente. A manga é uma das principais frutas produzidas no Brasil, especialmente no Nordeste (Anuário Brasileiro da Fruticultura 2014, 2015). Sua produção anual no Brasil é de cerca de 1.2 milhões de toneladas, o que faz dele o sétimo maior produtor mundial de manga (OECD/FAO, 2015; UNCTAD, 2015).

A produção nacional divide-se basicamente em duas rotas: a primeira voltada para os mercados interno e externo, onde predomina o consumo de frutas in natura, e outra cujo foco é a agroindustrialização visando à produção de sucos, polpas, néctares e frutas desidratadas. O processamento resulta na geração de subprodutos (casca e semente) que correspondem a cerca de 40-45% do peso dos frutos (PLANTOGRAM, 2015). O descarte de subprodutos da agroindústria é um desperdício de insumos de alto valor potencial agregado.

Uma abordagem mais recente é processar esses subprodutos de forma a fracionar seus componentes de alto valor comercial, transformando resíduos em produtos de interesse industrial, dentro do conceito de biorrefinaria, para obtenção de produtos processados com valor agregado com base na minimização de impactos ambientais e maximização do uso do recurso.

No caso das mangas, os subprodutos são fontes de vários compostos de alto valor comercial. As amêndoas das sementes, por exemplo, têm mais de 50% de amido (CORDEIRO *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2013), além de 11–20% de fenólicos (SOGI *et al.*, 2013) e 7% de gordura (SONWAI *et al.*, 2014). Esses componentes podem ser usados como insumos para a obtenção de vários produtos e materiais de interesse industrial, destacando-se os materiais biopoliméricos para embalagem ou revestimento de alimentos.

O amido é um polissacarídeo semicristalino que consiste em cadeias lineares (amilose) e ramificadas (amilopectina), com alto potencial, sobretudo no setor de embalagens, por possuir um perfil atrativo que envolve características como: baixo custo, alta disponibilidade, renovabilidade e biodegradabilidade (TEXEIRA, 2007). Nas últimas décadas, a preocupação com o lixo acumulado pelo descarte contínuo de polímeros não-biodegradáveis associada a seu forte impacto ambiental têm

motivado a procura por materiais renováveis e biodegradáveis que possam substituir (total ou parcialmente) os polímeros derivados de petróleo para aplicações que não requeiram uma vida útil longa dos materiais e que envolvam altos volumes de descarte, como é o caso das embalagens para alimentos. (PELISSARI *et al*, 2011)

Esses materiais biodegradáveis são geralmente formados a partir de biopolímeros, entre os quais se destacam vários polissacarídeos que podem ser extraídos a partir de subprodutos da agroindústria. O amido merece destaque por ser um dos biopolímeros mais utilizados para desenvolvimento de materiais biodegradáveis (BRITO *et al*, 2011).

As indústrias produtoras de amido no mundo têm interesse na identificação e desenvolvimento de espécies que produzam amidos novos, preferencialmente de fontes não alimentares, visando à substituição dos amidos quimicamente modificados, abrindo assim novos mercados (Santos *et al*, 2013).

A adoção de fontes não alimentares para obtenção de materiais (que não necessariamente terão aplicação alimentar) é mais racional. Nesse contexto, a extração de amido a partir de um subproduto agroindustrial seria mais vantajosa, já que evitaria a competição com uma aplicação alimentar.

O uso de materiais biopoliméricos para embalagem de alimentos encontra alguns obstáculos, como as propriedades mecânicas e de barreira inferiores aos dos polímeros convencionais derivados de petróleo. Para contornar esses obstáculos, muitos trabalhos têm usado a estratégia de incorporar nanoestruturas de reforço para melhorar o desempenho físico dos materiais, formando nanocompósitos (ALMASI; GHANBARZADEH; ENTEZAMI, 2010).

Diversos estudos reportados na literatura ressaltam o uso das nanopartículas como cargas de matrizes poliméricas, devido melhoria das propriedades térmicas, ópticas e mecânicas (que diferenciam tais compósitos dos convencionais). Entre estes materiais utilizados para produção de nanopartículas a partir de fontes renováveis destaca-se o amido (PINTO, 2014).

Os bionanocompósitos são nanocompósitos nos quais pelo menos uma das fases é produzida com material de origem renovável. Entre os bionanocompósitos, existem os materiais poliméricos reforçados com nanocristais de celulose (NCC) e nanocristais de amido (NCA).

Conceitua-se como “all-starch composite”, bionanocompósitos cuja matriz polimérica é o amido e a fase dispersa nanocristais elaborados a partir de hidrólise ácida da mesma matéria-prima da matriz (CHEN *et al.*, 2008; LE CORRE *et al.*, 2010). Diferentemente dos nanocristais de celulose (que têm formato alongado), os de amido têm morfologia de nanoplacas (ANGELLIER *et al.*, 2004). Devido à geometria de nanoplacas dos NCAs, é possível que eles tenham um bom efeito sobre as propriedades de barreira de compósitos, como ocorre com as nanoargilas.

As nanopartículas de amido (NPA) podem ser prontamente obtidas por diferentes técnicas, como hidrólise ácida ou enzimática; extração por fluido supercrítico, precipitação, extrusão, emulsão, reticulação, recristalização (KIM, PARK, LIM, 2015). Algumas pesquisas têm buscado um procedimento de combinação de métodos para melhorar os efeitos obtidos em relação às propriedades de barreira dos compósitos (DING, KAN, 2016).

Comparado à hidrólise ácida, o processo de ultrassom apresenta a rapidez e o alto rendimento como vantagens, além de dispensar sucessivas lavagens, uma vez que não são usadas substâncias químicas. Assim, é particularmente eficaz no fracionamento de agregados de nanopartículas, reduzindo desse modo o tamanho e dispersividade das nanopartículas e prevenindo a agregação destas (ZUO *et al.*, 2009; KIM, PARK, LIM, 2014; DING, KAN, 2016).

A escolha do ácido afeta as propriedades dos nanocristais. O ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) é aquele mais utilizado na hidrólise de amido, seguido pelo clorídrico (HCl). Em comparação com o HCl, o  $H_2SO_4$  diminui o tempo de hidrólise, porém o uso deste ácido durante a hidrólise propicia a formação de ligações éster de sulfato na superfície dos nanocristais, o que limitará a estabilidade térmica (KIM, PARK, LIM, 2015). O ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) apresenta-se como um substituto do ácido sulfúrico, por ser um ácido semi-forte, de utilização segura e de baixo custo em comparação a outros ácidos minerais inorgânicos, além de ser menos tóxico e corrosivo, além de mais ambientalmente amigável (LU *et al.*, 2015; TANG, 2015).

A produção de nanoestruturas de amido, obtidas de uma fonte não-alimentar (oriunda de resíduos do processamento da manga), através da combinação de hidrólise utilizando ácidos ambientalmente sustentáveis (HCl e  $H_3PO_4$ ) e ultrassom, bem como a obtenção de filmes denominados “all-starch composites”, destaca-se

como objeto de estudo para melhoria das propriedades mecânicas e de barreira destes bionanocompósitos, dentro do conceito de biorrefinaria.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Desenvolver filmes bionanocompósitos a partir de amido de amêndoa de manga incorporados com diferentes teores de nanocristais de amido, e comparar esses materiais com os obtidos a partir de amido comercial (de milho).

### **2.1 Objetivos Específicos**

- Estabelecer condições de processo capazes de aumentar o rendimento da extração do amido da amêndoa de manga;
- Definir as condições para obter nanocristais de amido de manga com alto rendimento, aplicando a combinação de hidrólise ácida e ultrassom;
- Determinar as concentrações mais adequadas para produzir bionanocompósitos de amido de manga com boas propriedades para aplicação como materiais de embalagens biodegradáveis.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. A Manga no Cenário da Produção Mundial de Frutos

A produção mundial de frutas gira em torno de 800 milhões de toneladas anualmente. O Brasil ocupa a terceira colocação entre as nações produtoras de frutas, atrás apenas da China e Índia. A manga é uma das principais frutas produzidas no Brasil, especialmente no Nordeste. Em 2014, a manga tornou-se a primeira no ranking de exportações nacionais, em receita. Tal fruta conquistou a preferência dos consumidores nacionais e internacionais devido a melhoramentos genéticos que resultaram em variedades com polpas mais macias e menos fibrosas (Anuário Brasileiro da Fruticultura 2014, 2015).

A produção anual de mangas no Brasil é de cerca de 1.2 milhões de toneladas, prevista para aumentar para 1.4 milhão de toneladas até 2023/2024, o que faz do Brasil o sétimo maior produtor mundial de manga (OECD/FAO, 2015; UNCTAD, 2015).

A produção nacional centraliza-se principalmente nas cultivares *Haden*, *Keitt* e *Tommy Atkins* (FRANCO, 2004) e divide-se basicamente em duas rotas relacionadas à produção de alimentos e *commodities* agrícolas: a primeira voltada para os mercados interno e externo, onde predomina o consumo de frutas in natura, e outra cujo foco é a agroindustrialização visando à produção de sucos, polpas, néctares e frutas desidratadas. A *Tommy Atkins* é a variedade mais cultivada no mundo, inclusive no Brasil, tendo algumas vantagens sobre outras variedades, como uma coloração intensa da polpa e boa produtividade no campo (PINTO *et al.*, 2005), o que resulta em seu uso mais intenso nas indústrias.

Se estimarmos uma perda pós-colheita da ordem de 20-30% do total produzido, perdem-se provavelmente cerca de 300 mil toneladas de mangas por ano. A maior parte da produção é absorvida pelo mercado interno, e cerca de 10% é exportada (OECD/FAO, 2015). Infelizmente, não foram encontrados dados sobre o volume de mangas processadas anualmente, mas, estimando-se que cerca de 5% da produção seja destinada ao processamento, isso resulta em cerca de 60 mil toneladas de manga.

O processamento resulta na geração de subprodutos (casca e semente) que correspondem a cerca de 40-45% do peso dos frutos. A semente corresponde a cerca de 22% do peso do fruto, contendo a amêndoa (13% do peso do fruto) e o tegumento (9% do peso do fruto), enquanto as cascas correspondem a 20-25% do peso do fruto (PLANTOGRAM, 2015).

### **3.2. Resíduos da Agroindústria da Manga e seu Alto Valor Agregado**

O Brasil é reconhecidamente um dos grandes produtores mundiais de frutas. Sua produção teve considerável aumento entre 2001 e 2009 devido à ascensão no consumo de alimentos. Grande parte dessa produção é destinada às agroindústrias, visando seu processamento, porém motivando discussões com relação ao adequado descarte dos subprodutos e ao aproveitamento máximo dos recursos alimentícios disponíveis, e conseqüentemente, a redução dos resíduos gerados pelas indústrias do setor (MENDES, 2013).

As indústrias não podem acumular esses subprodutos, devendo dispô-los no meio ambiente apenas após um tratamento adequado para atender aos padrões estabelecidos na legislação ambiental, o que acarreta mais custos para a indústria. Devido a esse acréscimo no custo final da produção, o destino desses insumos gerados no processamento de frutas, como a manga, ocorre na maioria das vezes de modo inadequado. Neste contexto, verifica-se a oportunidade e a necessidade de adotar medidas de aproveitamento da grande quantidade desses resíduos (casca e sementes) gerados por toneladas de polpas e sucos produzidos, através do incentivo no desenvolvimento de pesquisas, ainda que em número reduzido, visando conferir uma utilização para tais insumos de modo eficiente e seguro para o meio ambiente.

Além disso, o descarte de subprodutos da agroindústria é um desperdício de materiais de alto valor potencial agregado. Muitas indústrias têm seus subprodutos destinados à alimentação animal. Uma abordagem mais recente é processar esses subprodutos de forma a fracionar seus componentes de alto valor comercial, transformando resíduos em produtos de interesse industrial. O conceito de biorrefinaria incorpora a conversão integral de recursos, notadamente como fonte de

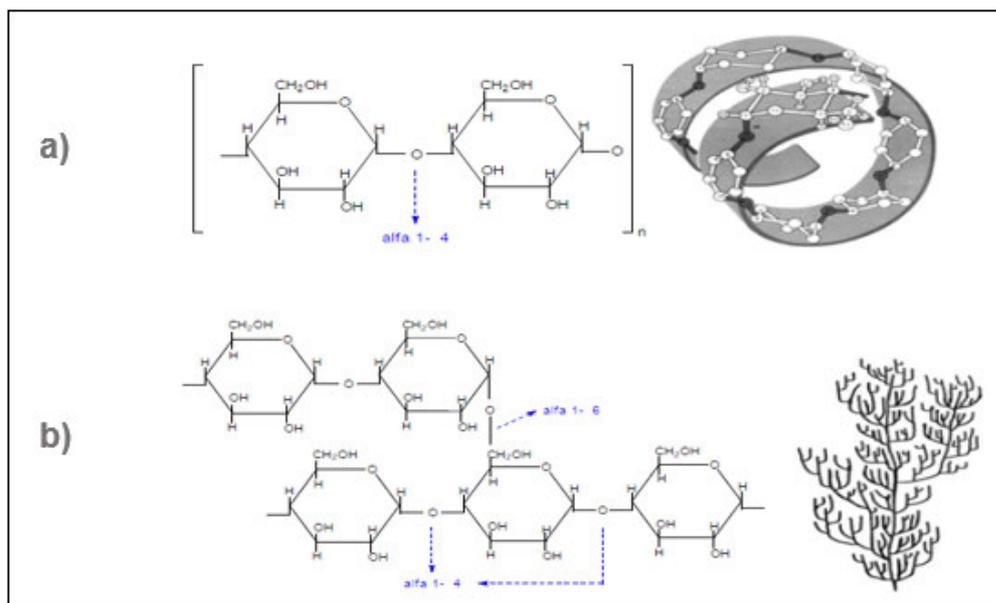
macromoléculas, para obtenção de produtos processados com valor agregado (energia, produtos químicos, biomateriais e alimentos) com base na minimização de impactos ambientais e maximização do uso do recurso.

No caso das mangas, os subprodutos são fontes de vários compostos de alto valor comercial. As cascas têm 12–21% de pectinas (BERARDINI *et al.*, 2005) e 2–3% de compostos fenólicos (SOGI *et al.*, 2013). As amêndoas das sementes têm mais de 50% de amido (CORDEIRO *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2013), além de 11–20% de fenólicos (SOGI *et al.*, 2013) e 7% de gordura (SONWAI *et al.*, 2014). O tegumento da semente é rico em celulose (55%), hemiceluloses (20%) e lignina (24%) (HENRIQUE *et al.*, 2013). Tais compostos podem ser usados como insumos para a obtenção de vários produtos de interesse industrial, como materiais biopoliméricos para embalagem ou revestimento de alimentos.

### 3.3. A Estrutura do Amido

O amido é um polissacarídeo semicristalino que consiste em cadeias lineares (amilose) e ramificadas (amilopectina), conforme a Figura 1, caracterizadas pela temperatura de transição vítrea e grau de cristalinidade, respectivamente. As propriedades físicas e químicas, bem como as propriedades de tensão e barreira a gases, serão influenciadas por tais zonas (JIMÉNEZ *et al.*, 2012).

Figura 1. Estrutura da amilose (a) e amilopectina (b), e sua conformação helicoidal e formato de ramificações, respectivamente.



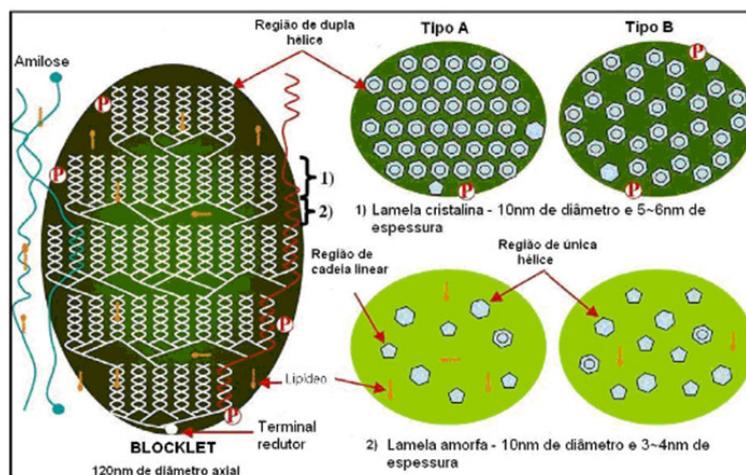
Fonte: HORN, 2011.

A amilose é responsável pela região amorfa do amido, enquanto a amilopectina refere-se à região cristalina. Enquanto a primeira é essencialmente linear e constituída por ligações  $\alpha$ -1,4 entre as unidades de glicopirranose, a segunda possui ligações  $\alpha$ -1,6 entre as referidas unidades, característica que confere ramificação à sua estrutura. Normalmente, nos amidos encontra-se de 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina (LIMA, ANDRADE, 2010).

Devido à organização das unidades glicosídicas, a amilose possui uma conformação helicoidal (Figura 1), cujo interior é hidrofóbico, o que propicia a formação de um composto azulado quando complexado ao iodo, usado comumente como indicador de amido. A quantificação da amilose é de grande relevância, uma vez que ela estrutura o grânulo do amido e determina o comportamento deste e a aplicação a qual será destinado (BOBBIO, 1999; PERONI, 2003).

Segundo Izidoro (2011), os “blockets” são blocos de formato arredondado ou alongado formados a partir das unidades repetitivas das regiões amorfas e cristalinas (Figura 2), cujos tamanhos variam de acordo com a fonte do amido e localização no interior do grânulo.

Figura 2. Representação dos blockets dos grânulos de amido.



Fonte: IZIDORO, 2011.

Os grânulos de amidos caracterizam-se por exibir uma estrutura do tipo “cebola” com número variável de anéis de crescimento concêntricos. A região onde se concentra a amilopectina é mais densa/compacta. Devido a isso, a entrada de moléculas como as de água e enzimas é dificultada, apresentando desta forma maior resistência ao processo de hidrólise (ZOBEL, 1988). A cristalinidade de NCA é maior que a de seus amidos nativos correspondentes (LE CORRE, 2012).

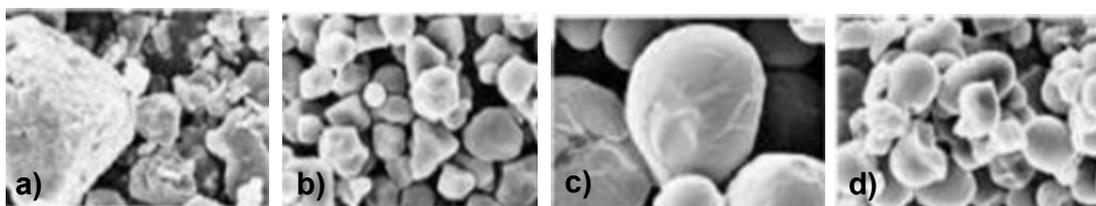
Segundo Zobel (1988), a cristalinidade parcial desses grânulos deve-se à organização da cadeia de amilopectina, podendo ser caracterizada por difração de raios X em 3 padrões principais:

- Tipo A: maiores picos de intensidade de refração para  $2\theta$ : 15, 17, 18 e  $23^\circ$ . Exemplo: amidos de cereais;
- Tipo B: maiores picos de intensidade de refração para  $2\theta$ : 5,6; 15; 17; 22 e  $23^\circ$ . Exemplo: amido de batata;
- Tipo C: apresenta picos característicos dos tipos A e B. Exemplo: amido de mandioca.

A composição do amido será influenciada por fatores como: origem botânica, teores de amilose e amilopectina, teor de umidade, proteínas, cinzas e lipídios (CEREDA, 2003). Amidos submetidos à processo de purificação devem possuir quantidades de minerais (como cálcio, fósforo, sódio e potássio) e proteínas inferiores a 0,4% e 0,6%, respectivamente (ELIASSON, 2004).

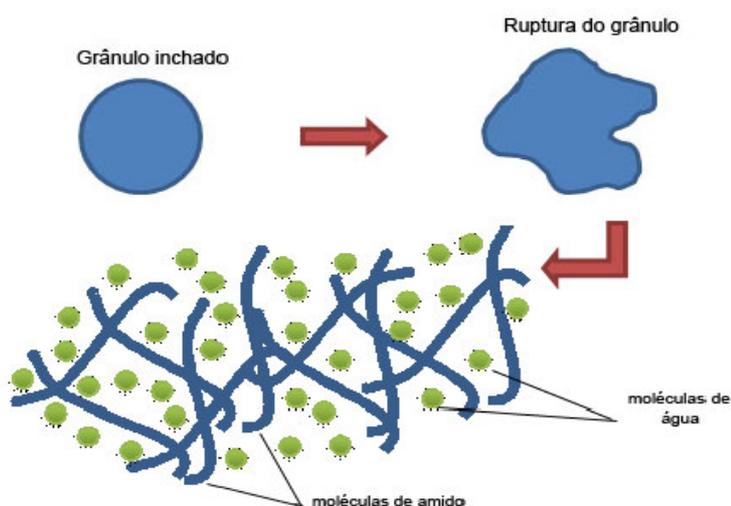
Segundo Cereda (2003), a forma e o tamanho dos grânulos de amido dependem da origem botânica e grau de maturação da fonte, como mostra a Figura 3. Embora os grânulos nativos de amido sejam insolúveis em água, o aquecimento em presença de água faz com que os grânulos se expandam e hidratem, iniciando com isso o processo chamado gelatinização (Figura 4), quando o tamanho dos grânulos aumenta várias vezes e a cristalinidade é perdida (KRAMER, 2009).

Figura 3. Morfologia dos grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas: a) arroz; b) milho; c) batata; d) mandioca.



Fonte: FERREIRA (2011), com adaptações.

Figura 4. Mecanismo de gelatinização dos grânulos de amido.



Fonte: HORN, 2011.

### 3.3.1. Amido como Material Biodegradável para Embalagem de Alimentos

No início do século 20, o desenvolvimento de plásticos derivados de petróleo foi em parte motivado pela busca de materiais com propriedades semelhantes aos dos polímeros naturais. Entretanto, os combustíveis fósseis são limitados e não-renováveis, e a reciclagem é limitada por dificuldades técnicas e econômicas - menos de 3% do lixo plástico mundial é reciclado (Helmut Kaiser Consultancy, 2012). Além disso, uma vez descartados, os plásticos derivados de petróleo não são biodegradáveis. O lixo acumulado pelo descarte contínuo de polímeros tem gerado preocupações associadas a seu forte impacto ambiental.

Nas últimas décadas, essas preocupações têm motivado a procura por materiais renováveis e biodegradáveis que possam substituir (total ou parcialmente) os polímeros derivados de petróleo para aplicações que não requeiram uma vida útil longa dos materiais e que envolvam altos volumes de descarte, como é o caso das embalagens para alimentos. Esses materiais biodegradáveis são geralmente formados a partir de biopolímeros, entre os quais se destacam vários polissacarídeos que podem ser extraídos a partir de subprodutos da agroindústria, destacando-se o amido, que é um dos biopolímeros mais utilizado para desenvolvimento de materiais biodegradáveis.

Em 2010, o mercado mundial de amido estava estimado em 68 milhões de toneladas, sendo as principais fontes de amido: o milho (82%), o trigo (8%), a batata (5%) e a mandioca (5%). No Brasil, a extração em escala industrial é realizada apenas com mandioca e milho (Santos *et al*, 2013). O amido extraído de plantas e chamado de “amido nativo” é submetido a etapas de moagem, peneiramento e secagem na indústria. O uso destes amidos é muito diversificado e, a produção nacional, ocorre principalmente, em indústrias alimentícias, além de metalúrgica, mineração, construção, cosmética, farmacêutica, papel e papelão, têxtil, e outras (LE CORRE, 2011; ABAM, 2004).

Quando, além destas etapas do processo de obtenção, tal polissacarídeo passa por modificações químicas para atingir propriedades específicas, é denominado “amido modificado”. Tais modificações na estrutura química e/ou física do amido ocorrem visando acentuar as características positivas, diminuir características indesejáveis na forma nativa, como: a alta viscosidade e a

susceptibilidade à retrogradação ou adicionar novos atributos como digestibilidade. (LE CORRE, 2011).

Devido à sua alta disponibilidade, o amido tem sido bastante estudado no sentido de ser modificado ou misturado com outras substâncias químicas para melhoramento de sua processabilidade, formando uma família bastante versátil de bioplásticos. Os polímeros de amido apresentam potencial para substituição parcial de alguns polímeros sintéticos, tais como, polietileno de alta e de baixa densidade, polipropileno e poliestireno. O emprego industrial deste biopolímero se deve à sua característica única de poder ser usado diretamente na forma de grânulos intumescidos, na forma dispersa, como filme obtido da secagem de uma dispersão ou após extrusão (CEREDA, 2001; PRADELLA, 2006;).

A utilização de filmes compostos essencialmente por amido tem despertado interesse principalmente devido à incorporação do conceito de “materiais ecologicamente amigáveis”. Um dos métodos para obtenção de filmes a partir do amido é baseado na técnica denominada de “*casting*” ou deposição, na qual são feitas dispersão, solubilização e gelatinização do amido em um solvente, geralmente água, com formação de uma solução filmogênica. Os filmes se formam após a solução ser aplicada sobre um suporte e secar para evaporação do solvente. Após a gelatinização térmica dos grânulos com excesso de água, amilose e amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem ocorre a reorganização dessas moléculas, formando uma matriz contínua que origina os filmes (FAMÁ *et al*, 2005; MALI, 2005).

O amido, após ser convertido em um material termoplástico, tem sido considerado um polímero com alto potencial, sobretudo no setor de embalagens, por possuir um perfil atrativo que envolve características como: baixo custo, alta disponibilidade, renovabilidade e biodegradabilidade (TEXEIRA, 2007).

É um dos principais polissacarídeos usados para obter filmes degradáveis, devido à sua habilidade em formar uma matriz contínua com baixa permeabilidade ao oxigênio, apesar de exibir, como outros filmes de polissacarídeos, pobres propriedades mecânicas, acentuada higroscopicidade e barreira ineficiente à umidade, quando comparada a polímeros derivados de petróleo (ALMASI *et al*,

2010; AL-HASSAN AND NORZIAH, 2012; BERGO *et al.*, 2012; MORAES *et al.*, 2013).

### 3.3.2. Fontes Alternativas de Amido

A nível global, o segmento de amido é, resumidamente, descrito através de duas situações: a dificuldade na aprovação de novos reagentes químicos ou derivados para uso alimentar; e a inércia dos níveis permitidos de tratamento químico para modificação dos amidos já existentes no mercado (Santos *et al.*, 2013).

Comercialmente, a extração de amido engloba etapas como: moagem ou ralação, separação da fibra e suspensão de amido em água, centrifugação, desidratação e secagem. Amidos não comerciais podem exigir etapas extras. As indústrias produtoras de tal polímero têm interesse na identificação e desenvolvimento de espécies que produzam amidos novos, visando à substituição dos amidos quimicamente modificados, abrindo assim novos mercados (Santos *et al.*, 2013).

Dentre as fontes alternativas de amidos já citadas na literatura, estão o feijão *Phaseolus vulgaris* e o pinhão *Araucaria angustifolia* (PINTO, 2014), os frutos da jaqueira, *Artocarpus heterophyllus* L. (SANTOS *et al.*, 2013), a banana verde da variedade “prata” (ALMEIDA, 2013), o inhame, *Dioscorea sp.*(NUNES, 2009), o amaranto, *Amaranthus cruentus* (GUERREIRO, 2007) e a quinoa (ANDRADE-MAHECHA, 2012).

A adoção de fontes não alimentares para obtenção de materiais (que não necessariamente terão aplicação alimentar) é mais racional. Nesse contexto, a extração de amido a partir de um subproduto agroindustrial (que geralmente não é consumido como alimento) seria mais vantajosa, já que evitaria a competição com uma aplicação alimentar. Por serem consideradas potenciais fontes de amido, as amêndoas de manga (das mais diversas variedades) têm sido material de estudo em várias pesquisas reportadas na literatura (SONTHALIA, 2015; CORDEIRO *et al.*, 2014; BEL HASSAN *et al.*, 2013).

O sulfito ou agente sulfitante refere-se ao dióxido de enxofre gasoso ou aos sais de sódio, potássio e cálcio de sulfito hidrogênio (bissulfito), dissulfito (metabissulfito) ou íons de sulfito. Os sulfitos são agentes multifuncionais, pois

previnem o escurecimento enzimático e o não-enzimático, controlam o crescimento de micro-organismos, agem como branqueadores, antioxidantes ou redutores e realizam outras funções técnicas (FONTES *et al*, 2009).

A imersão em solução de metabissulfito de sódio pode impedir a reação de escurecimento do amido, resultando em um produto de cor mais clara. O teor de íon sulfito de sódio contido no metabissulfito danifica as proteínas da matriz a desempenhar seu papel no endosperma, de forma a promover a quebra das pontes dissulfeto das proteínas, o que pode facilitar a liberação do endosperma (WAHL, 1969).

Maninder-Kaura *et al* (2004) mostraram que os amidos de amêndoa de manga possuem grânulos em formatos ovais a elípticos, semelhantes aos grânulos dos amidos de leguminosas, teor de amilose inferiores aos de milho, arroz, trigo e batata, bem como temperaturas de transição superiores às das fontes anteriormente citadas. Diversas propriedades do amido de amêndoa de manga são comparáveis com aqueles de fontes convencionais, mostrando desta forma potencial para ser utilizado como fonte de amido.

### **3.4. Nanocompósitos e Bionanocompósitos**

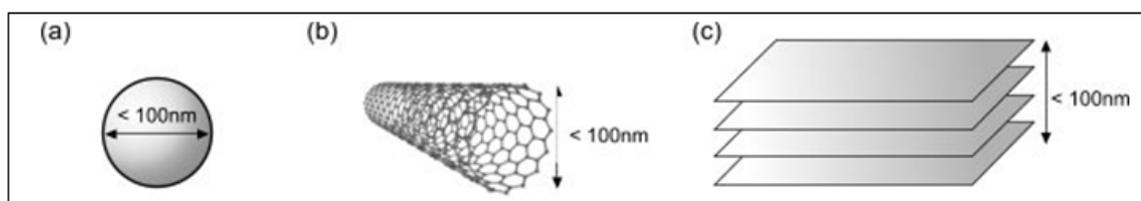
O uso de materiais biopoliméricos para embalagem de alimentos encontra alguns obstáculos, como as propriedades mecânicas e de barreira inferiores aos dos polímeros convencionais derivados de petróleo. Para contornar esses obstáculos, muitos trabalhos têm usado a estratégia de incorporar nanoestruturas de reforço para melhorar o desempenho físico dos materiais, formando nanocompósitos.

Compósitos poliméricos têm sido amplamente utilizados, pois sabe-se que a utilização de um polímero (a matriz) e um ou mais enchimentos sólidos (a fase dispersa) permite a obtenção de várias vantagens e, em particular, a combinação das propriedades principais de cada fase sólida utilizada (MANTIA; MORREALE, 2011).

Nanocompósitos poliméricos são misturas de polímeros com agentes de reforço nanométricos, ou seja, que contenham pelo menos uma dimensão na faixa de 1-100 nm (ALEXANDRE & DUBOIS, 2000). Com relação à geometria, existem 3

tipos de nanoestruturas (Figura 5): os isodimensionais, que têm 3 dimensões nanométricas (nanoesferas); as alongadas, caso dos nanocristais de celulose (NCC), que têm 2 dimensões nanométricas (nanotubos e nanofibras); e as nanocamadas, que têm apenas a espessura na escala nanométrica (nanoplacas), a exemplo os nanocristais de amido (NCA). Quando essas nanoestruturas estão uniformemente dispersas na matriz polimérica, forma-se uma grande área interfacial entre as fases (matriz e reforço), que muda a mobilidade e melhora as propriedades físicas da matriz.

Figura 5. Tipos de nanoestruturas quanto à geometria: (a) isodimensionais; (b) alongadas; (c) nanocamadas.



Fonte: ALEXANDRE & DUBOIS, 2000.

Diversos estudos reportados na literatura ressaltam o uso das nanopartículas como cargas de matrizes poliméricas, devido ao aumento da razão superfície de contato/volume de matéria em uso, conferindo propriedades que diferenciam tais compósitos dos convencionais (melhoria das propriedades térmicas, ópticas e mecânicas), além de relacionar o uso destes materiais a um conceito sustentável. Entre estes materiais utilizados para produção de nanopartículas a partir de fontes renováveis destacam-se: as fibras de celulose, a quitosana e o amido (PINTO, 2014).

A adição de concentrações relativamente baixas de nanopartículas (menores que 5%) tem mostrado melhora substancial nas propriedades do plástico acabado, tem aumentado a deformação e reduzido a permeabilidade a gases, além de representar um menor custo (ZHAO; TORLEY; HALLEY, 2008).

Os bionanocompósitos são nanocompósitos nos quais pelo menos uma das fases é produzida com material de origem renovável. Entre os bionanocompósitos, existem os materiais poliméricos reforçados com nanocristais de celulose (NCC) e

nanocristais de amido (NCA), que são produzidos por hidrólise ácida a partir de celulose (GARDNER *et al.*, 2008) e de amido (CHEN *et al.*, 2008; LE CORRE *et al.*, 2010), respectivamente.

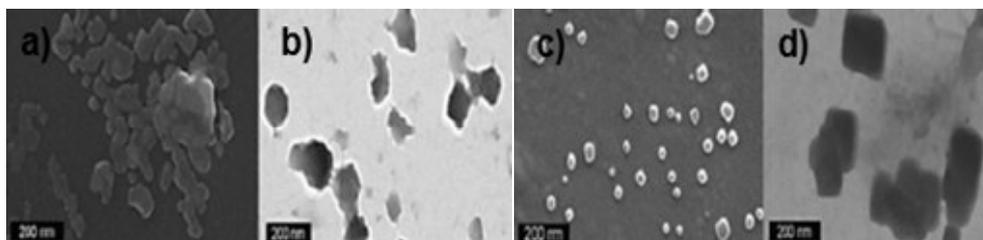
O desenvolvimento de coberturas/revestimentos funcionais usando nanopartículas de reforço, que exibem diâmetro com dimensão menor que 100 nm e geralmente em pequenas quantidades, têm um impacto positivo sobre as propriedades mecânicas e de barreira destes novos materiais, favorecidos por suas dimensões reduzidas (LE CORRE *et al.*, 2013).

Le Corre *et al.* (2014) introduz o conceito de “all-starch composite”, ao elaborar filmes cuja matriz polimérica é o amido e a fase dispersa nanocristais elaborados a partir de hidrólise ácida da mesma matéria-prima da matriz e enfatizando as melhorias nas propriedades mecânicas e de barreira com o acréscimo da concentração do nanoreforço.

### **3.5. Nanocristais de Amido como Agentes de Reforço Nanométricos**

Os nanocristais de amido (NCA) são plaquetas cristalinas obtidas por hidrólise ácida do amido. Um recente estudo (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012) visou avaliar a possibilidade de obter NCA de diferentes fontes de amido (milho, batata e trigo). Verificou-se que o conteúdo de amilose tem influência nas propriedades finais desses nanocristais. Resultados mostraram que o mesmo teor de amilose em milho, batata e trigo resultou em tamanho similar e cristalinidade dos nanocristais, indicando o limitado impacto da origem botânica para tal obtenção. Diferentes tamanhos mostraram-se importantes na indicação de uma forte influência do conteúdo de amilopectina, bem como estrutura molecular, como mostra a Figura 6 (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012). Uma vez que a cristalinidade parcial do amido é atribuída às cadeias laterais de amilopectina, menores teores de amilose resultam numa maior susceptibilidade à hidrólise ácida (ANGELLIER *et al.*, 2004). Lin *et al.* (2011) mostraram que o tipo e a concentração de ácido, a temperatura utilizada e tempo de reação são fatores determinantes para o tamanho e rendimento dos nanocristais.

Figura 6: Micrografias de nanocristais de amido submetidos à hidrólise com ácido sulfúrico (3,16 M/ 5 dias), com amidos de diferentes origens: a) milho; b) milho com alto teor de amilopectina; c) batata e d) trigo.

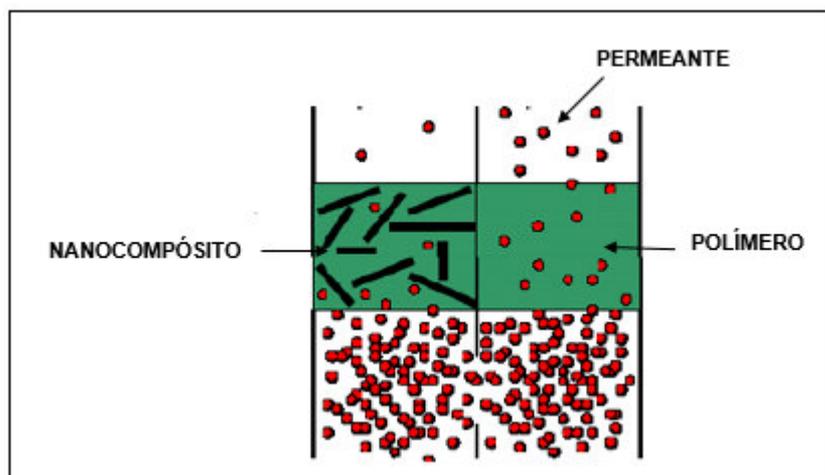


Fonte: KIM, PARK, LIM (2015), com adaptações.

Os NCA têm sido ainda pouco explorados em pesquisa, embora alguns estudos já tenham indicado sua capacidade em melhorar as propriedades físicas de biopolímeros (CHEN *et al.*, 2008; LE CORRE *et al.*, 2010). Diferentemente dos nanocristais de celulose (que têm formato alongado), os de amido têm morfologia de nanoplacas (ANGELLIER *et al.*, 2004). Devido à geometria de nanoplacas dos NCAs, é possível que eles tenham um bom efeito sobre as propriedades de barreira de compósitos, como ocorre com as nanoargilas.

No caso das nanoargilas, tem sido bem reportado seu efeito positivo sobre as propriedades de barreira de nanocompósitos, o que se explica pelo efeito de tortuosidade, ou seja, as nanoargilas aumentam o caminho a ser percorrido por permeantes (Figura 7), o que resulta em grande melhoria das propriedades de barreira (CHOUDALAKIS & GOTSIS, 2009). Lin *et al* (2011) relataram uma aplicação prática dos NCAs em pneus e borrachas produzidos pela Good Year, como substitutos do carbono e da sílica. Segundo Condés *et al* (2015), o efeito de reforço e a concentração adicionada dos nanocristais de amido será fortemente influenciado pela matriz na qual irão interagir, para concentrações variando de: 2% em matriz protéica, 5% em matriz de poliuretano e até 20% quando a matriz for borracha.

Figura 7: Representação do caminho tortuoso para difusão dos permeantes em nanocompósitos poliméricos.

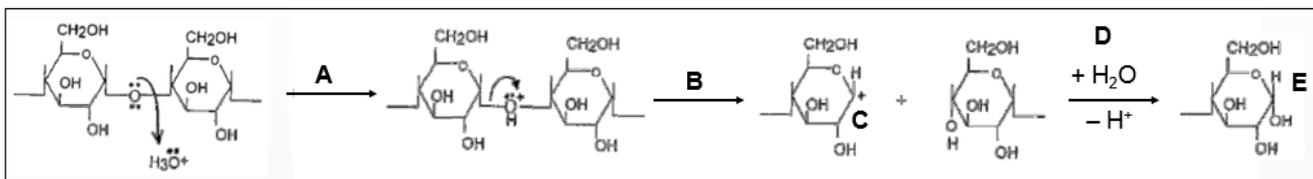


Fonte: DAL CASTEL (2008), com adaptações.

Estudados em analogia aos NCC, como enchimentos de reforço em uma matriz, o desenvolvimento dos NCAs foi reportado pela primeira vez em 1996, quando a hidrólise ácida era conduzida por 15 dias (DUFRESNE, CAVAILLE, 1996; LE CORRE, 2010). Com a otimização realizada por Angellier *et al* (2004), onde a hidrólise foi realizada com ácido sulfúrico 3,16 M a 40 °C, este tempo de síntese reduziu-se para cinco dias, apesar de continuar sendo um dos fatores limitantes na utilização dos nanocristais, juntamente com o baixo rendimento do processo (entre 5 e 15%). As partículas obtidas via hidrólise ácida submetem-se à remoção de suas regiões pouco organizadas e fases amorfas, enquanto que há no pós-reação a permanência das lamelas cristalinas insolúveis em água (PINTO, 2014).

Ainda segundo Pinto (2014), durante a hidrólise o oxigênio na ligação  $\alpha$ -1,4 sofre ataque eletrofílico do íon hidrônio ( $H_3O^+$ ) conforme a reação A da Figura 8. Em seguida (reação B da Figura 3), para que haja a geração de um carbocátion intermediário instável, os elétrons da ligação carbono-oxigênio movem-se para o átomo de oxigênio. Por ser um ácido de Lewis, o carbocátion formado reage com a água (uma base de Lewis) na reação D da Figura 8, gerando reorganização de grupo hidroxílico (reação E).

Figura 8. Ilustração do mecanismo químico que ocorre durante a hidrólise ácida.

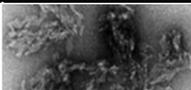
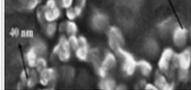
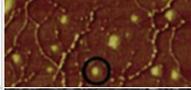
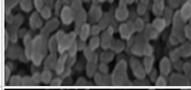
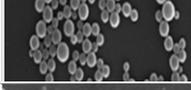
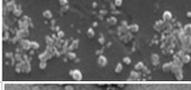
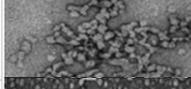
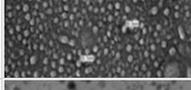
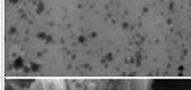
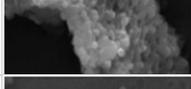


Fonte: PINTO (2014), com adaptações.

### 3.6. Utilização de Diferentes Vias na Obtenção de Nanopartículas de Amido

As nanopartículas de amido (NPA) podem ser prontamente obtidas por diferentes técnicas, conforme consta no quadro-resumo da Figura 9, como hidrólise ácida ou enzimática; extração por fluido supercrítico, precipitação, extrusão, emulsão, reticulação, recristalização (KIM, PARK, LIM, 2015). Tais técnicas têm como agente limitante, para sua utilização prática, a forte tendência para se agregar, especialmente sob a forma de pó (DING, KAN, 2016). A presença de um grande número de grupos hidroxilas tende a reforçar as interações supramoleculares do amido, dando origem a agregados (EALEY, 2016). Algumas pesquisas têm buscado um procedimento de combinação de métodos para minimizar tais efeitos (DING, KAN, 2016).

Figura 9. Quadro-resumo com as principais técnicas de obtenção de nanopartículas de amido reportadas na literatura.

Fonte	Técnica aplicada	Tamanho das Partículas	Ilustração	Técnica da ilustração	Referência
Amido ceroso	Hidrólise ácida (5 dias ; H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3,16M; 14,7% de amido m/v; 40°C)	1-6 µm		MET	ANGELLIER <i>et al.</i> (2004)
Amido de arroz (ceroso)	Hidrólise enzimática por 24h	0,5-3,6 µm		MEV	KIM, PARK & LIM (2008)
Amido de milho	Microfluidização (207 MPa; 5% de amido m/v)	5-20 nm		Microscopia em luz polarizada e MEV	LIU <i>et al.</i> (2009)
Amido ceroso (> 99% amilopectina)	Ultrassom de alta potência (75 min; 170W; 1,5% amido m/v)	30-100 nm		MEV - FEG	BEL HAAJ <i>et al.</i> (2013)
Amido de mandioca e Amido ceroso	Radiação gama (solução 1% de amido m/v)	20-30 µm		MET	LAMANNA <i>et al.</i> (2013)
Amido ceroso (98% amilopectina)	Hidrólise ácida (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3,16M; 40°C; 6-45h) com pré-tratamento enzimático (2h)	12,8-14,4 µm		AFM MEV-FEG	LE CORRE <i>et al.</i> (2012)
Amido ceroso	Hidrólise ácida (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3,16M; 2 dias) + ultrassom (amplitude 60% por 30 min)	140-280 nm		MEV-FEG	KIM <i>et al.</i> (2013)
Amido de Arroz	Hidrólise enzimática por 24h + Ultrassonificação em etanol (450s; 300W)	20-500 nm		MEV	KIM, PARK & LIM (2005)
Acetato de amido de milho ceroso	Nanoprecipitação com acetona (gota a gota)	249-720 nm		MEV	MA <i>et al.</i> (2008)
Amido de milho	Nanoprecipitação com ácido cítrico (gota a gota)	50-100 nm		MEV	TAN <i>et al.</i> (2009)
Amido de milho com 70% de amilose	Complexação com DMSO e n-butanol + Hidrólise enzimática (1 h)	10-20 nm		MET	KIM & LIM (2009)
Amido de painço	Hidrólise enzimática (8h) + recristalização (12h)	20-100 nm		MEV	SUN <i>et al.</i> (2014)
Amido de milho	Microfluidização de mini-emulsão de amido + reticulação por trimetafosfato de sódio	153-301 nm		MET	SHI <i>et al.</i> (2011)
Amido de milho	Microemulsão de líquido iônico + reticulação com epicloridrina	Diâmetro médio: 96,9 nm		MEV	ZHUA, LWA & FU (2014)
Amido de milho acidificado	Microemulsão de líquido iônico + reticulação com epicloridrina	13-27 nm		MEV	ZHUA, LWA & FU (2014)

Fonte: Próprio autor.

Comparado à hidrólise ácida, o processo de ultrassom apresenta a rapidez e o alto rendimento (superiores a 50%) como vantagens, além de dispensar sucessivas lavagens, uma vez que não são usadas substâncias químicas.

Define-se ultrassom como ondas sonoras em uma frequência na gama da audição humana normal (> 15-20 kHz). O efeito do ultrassom em amidos depende de parâmetros como: a energia e frequência do ultrassom, a temperatura e tempo do tratamento e as propriedades de dispersão (concentração de sólidos e origem botânica). Ao uso deste tratamento físico, tem sido dada atenção especial devido ao fato dele gerar cavitação ultrassônica na solução, fazendo com que haja o colapso de microbolhas, liberando energia, convertida em alta pressão e temperatura.

Assim, é particularmente eficaz no fracionamento de agregados de nanopartículas formadas através de ligações hidrogênio, reduzindo desse modo o tamanho e dispersividade das nanopartículas e prevenindo a agregação destas (ZUO *et al*, 2009; KIM, PARK, LIM, 2014; DING, KAN, 2016). Bel Haaj *et al.* (2013) descreveu metodologia em que após 75 minutos de uso do ultrassom de alta potência (170 W) em solução 1,5% de amido a 8° C, foram obtidas partículas de tamanho entre 30 e 100 nm. Entretanto, difratogramas revelaram o grave efeito do ultrassom na estrutura cristalina do amido, sendo identificada a diminuição da cristalinidade após 420 minutos.

A escolha do ácido afeta as propriedades dos nanocristais. O ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) é aquele mais utilizado na hidrólise de amido, seguido pelo clorídrico (HCl). Em comparação com o HCl, o  $H_2SO_4$  diminui o tempo de hidrólise, porém o uso deste ácido durante a hidrólise propicia a formação de ligações éster de sulfato na superfície dos nanocristais, o que limitará a estabilidade térmica, apesar de limitar a floculação e tornar as suspensões com maior estabilidade (KIM, PARK, LIM, 2015).

A literatura reporta que a introdução de grupos fosfato pode aumentar a biocompatibilidade térmica. Desta forma, o ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) apresenta-se como um forte candidato na substituição do ácido sulfúrico, por ser um ácido fraco, de utilização segura e de baixo custo em comparação a outros ácidos minerais inorgânicos, além de ser menos tóxico e corrosivo, além de mais ambientalmente amigável, fato que o tornou o solvente mais popular na dissolução de celulose

crystalina, apesar das diferenças notórias entre as proporções cristalinas entre seus nanocristais e os de amido (LU *et al*, 2015; TANG, 2015).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Mangas da variedade *Tommy Atkins* foram adquiridas na Central de abastecimento do Ceará (CEASA-S/A), localizada no município de Maracanaú, região metropolitana de Fortaleza-CE. Após o processamento destas (destinadas ao consumo direto ou à produção de sucos e/ou polpas), os caroços foram separados e conduzidos até a Embrapa Agroindústria Tropical, para posterior retirada das amêndoas e extração de amido.

Como fonte convencional, utilizou-se amido de milho adquirido em supermercado na cidade de Fortaleza. Este amido (comercial) foi submetido a pré-tratamento com sucessivas lavagens com água deionizada (para arraste de possíveis impurezas/contaminantes), posterior secagem em estufa com circulação de ar a 40-45°C por 24h, moagem em moinho analítico de impacto (IKA, A11) e acondicionamento em frascos de vidro.

Figura 10. Mangas Tommy Atkins adquiridas para processamento, do qual a partir dos resíduos foi obtido o amido de fonte alternativa.

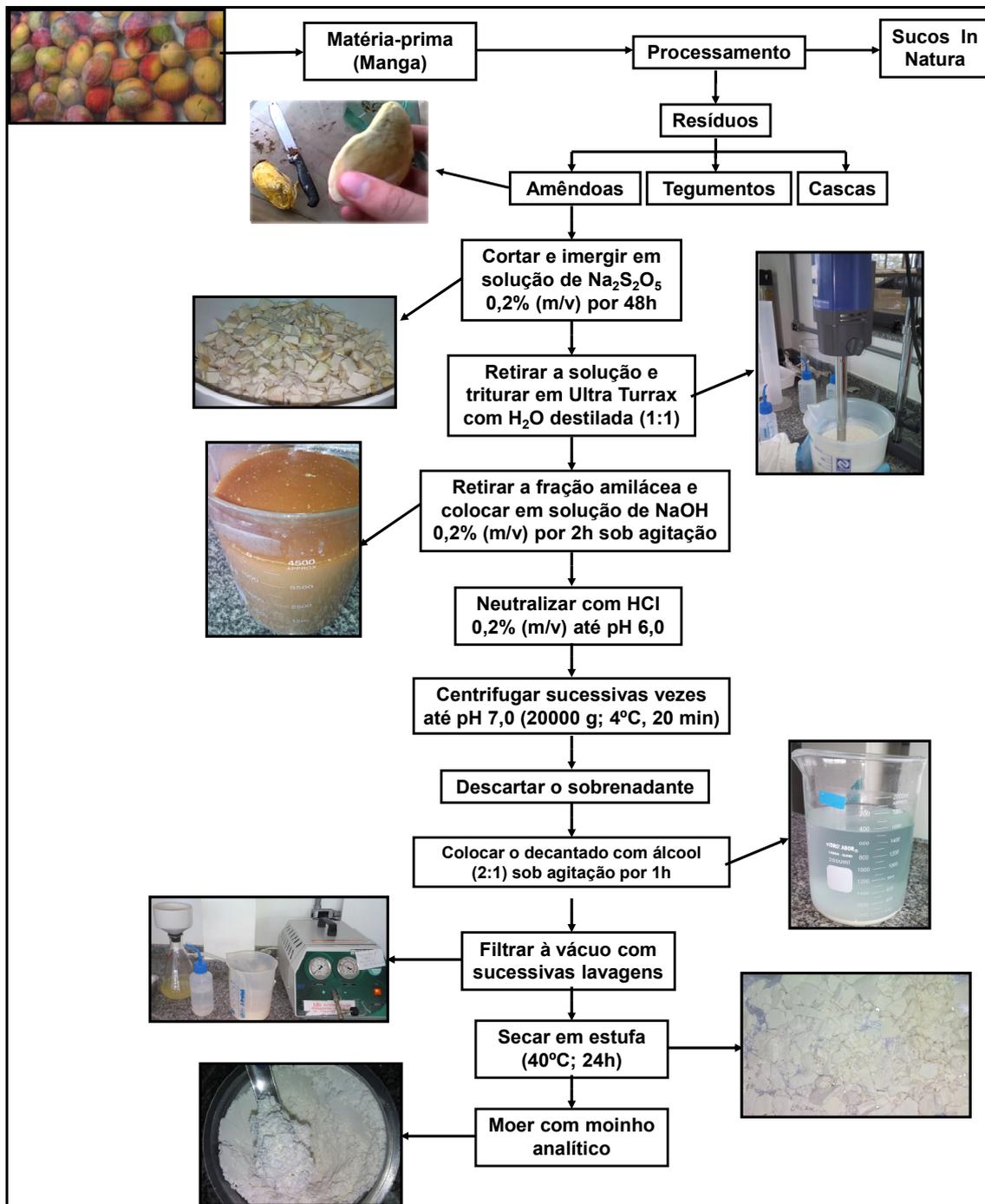


Fonte: Próprio autor.

#### 4.1. Obtenção do Amido de Amêndoa de Manga

As extrações ocorreram no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical. A metodologia de extração de amido da manga foi adaptada de Cordeiro *et al* (2014). Após separação mecânica entre o tegumento e a amêndoa dos caroços de manga, as amêndoas foram cortadas em pedaços menores (1x1 cm) e imersas em solução aquosa 0,2% (m/v) de metabissulfito de sódio por 48 horas (proporção: 200 mL de solução/100 g de amêndoa) visando evitar seu escurecimento. Decorrido este tempo, as amêndoas foram drenadas e trituradas com água destilada em UltraTurrax IKA T50 (proporção: 100 mL de água destilada/100 g de amêndoas) por 5 minutos a 5000 rpm, e submetidas a extração aquosa a frio, sob agitação magnética vigorosa (200 rpm), para separação da fração amilácea (por decantação). Essa fração amilácea foi colocada em béquer e adicionada solução de NaOH 0,2% (m/v), em proporção de 200 mL de solução/100 g da fração amilácea, sob agitação magnética (200 rpm) durante 2 h. O pH da mistura foi ajustado para 6 com solução de HCl 0,5% (v/v) sob agitação. A mistura foi centrifugada em ultracentrífuga refrigerada Hitachi Modelo CR22III (aproximadamente 20000 g, 4°C por 20 minutos), o precipitado recolhido, e separada a fração escura da clara (contendo amido). Para a remoção de impurezas, a fração amilácea foi repetidamente suspensa em água destilada e centrifugada até atingir pH 7. Em seguida, foram adicionados 200 mL de álcool absoluto para cada 100 mL de solução de amido obtida, sob agitação magnética (200 rpm) por 1 hora. A suspensão foi deixada em repouso para decantar por 2 horas a 25 °C. O amido decantado foi lavado com água destilada por meio de filtração a vácuo em bomba Marconi modelo MA 057/1, utilizando papel de filtro de tamanho de poros 28µm. Finalmente, o amido foi mantido em estufa com circulação de ar Cienlab a 40°C durante 24 h, moído com auxílio de moinho analítico de impacto IKA A11 BS32 e armazenado em frascos de vidro. A Figura 11 ilustra o fluxograma de todo o processo de extração de amido a partir de tais resíduos.

Figura 11. Fluxograma ilustrativo do processo de extração de amido a partir de amêndoas de manga.



Fonte: Próprio autor.

## **4.2. Caracterização do Amido de Amêndoa de Manga**

### **4.2.1. Rendimento da Extração**

O rendimento da extração foi calculado em base seca. A massa das amêndoas de manga e do amido obtido foram registrados e a umidade de ambos calculada em balança de infravermelho Marte modelo ID50 a 105°C. De posse dos valores da massa seca, o rendimento foi calculado com base na massa seca das amêndoas. Foram calculados os rendimentos de quatro extrações de amido de manga e suas médias, para constituir o lote único para elaboração dos nanocristais e dos filmes.

### **4.2.2. Caracterização Química**

As análises de caracterização química do amido obtido foram realizadas no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza-CE. Foram calculados: o teor de umidade (em balança de infravermelho Marte modelo ID50 a 105°C, cinzas (por incineração em mufla a 600°C até peso constante), proteínas pelo método de Bradford (Bradford, 1976), conforme ilustrado na Figura 12.

Para determinação do teor de amilose, foi utilizada a metodologia proposta pela ISO 6647 (International Organization for Standardization, 2007). Alíquotas de 100 mg de amido foram colocadas em tubos rosqueados de 50 mL, sendo adicionados 1 mL de álcool etílico 95% e 9 mL de solução de NaOH 1 M. Os tubos foram conduzidos ao banho-maria a 100 °C por 10 minutos e resfriados à temperatura ambiente durante 30 minutos. Decorrido este tempo, o conteúdo dos tubos foi transferido para um balão de 100 mL e o volume completado com água destilada. 18 mL da solução diluída em balão foram transferidos para tubos de ensaio contendo 2 mL de NaOH 0,09 N, com sucessiva agitação e transferência de 5 mL para balão volumétrico de 100 mL contendo 50 mL de água destilada, 1 mL de ácido acético 1 M e 2 mL de solução de iodo 2% (m/v), sendo completado o volume de cada balão com água destilada. A análise foi realizada em triplicata.

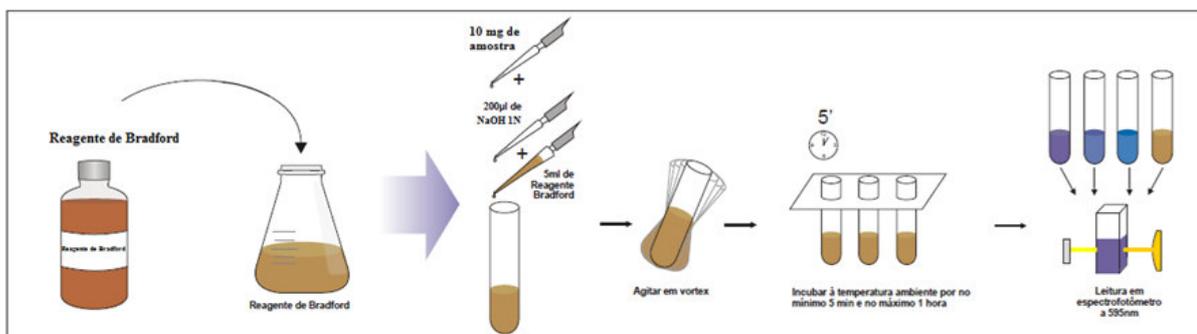
Para obtenção da curva padrão, realizou-se o procedimento anteriormente descrito para diferentes proporções entre os padrões de amilose P.A. e amilopectina P. A. (Sigma Aldrich). Em seguida, tais padrões foram colocados em tubos Falcon de 50 mL, de acordo com as diluições da Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade dos padrões para obtenção da curva para determinação do teor de amilose.

Pontos	NaOH 0,09 N (mL)	Amilose (mL)	Amilopectina (mL)
<b>1</b>	2	0	18
<b>2</b>	2	2	16
<b>3</b>	2	4	14
<b>4</b>	2	6	12
<b>5</b>	2	8	10

Tanto para os tubos contendo as diluições de cada ponto para construção da curva como para os tubos contendo as amostras de amido, foram agitados e uma alíquota de 5 mL foi retirada e transferida para balão volumétrico contendo 50 mL de água destilada e 1 mL de ácido acético 1 M. Após agitação, foram adicionados 2 mL de solução de iodo e o volume completado para 100 mL. A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro (UV-VIS Shimadzu) a 620 nm, vinte minutos após a adição da solução de iodo ao balão, acondicionado em local escuro até o momento da leitura.

Figura 12. Esquema ilustrativo da metodologia utilizada para determinação do teor de proteínas.



Fonte: Bioagency Biotecnologia, 2015.

As caracterizações foram feitas tanto para o amido extraído das amêndoas de manga *Tommy Atkins* (fonte alternativa) como para o amido de milho (fonte convencional).

#### **4.2.3. Análise Termogravimétrica (TGA)**

A termogravimetria dos amidos comercial e de amêndoas de manga *Tommy Atkins* foi realizada no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical em equipamento Perkin Elmer modelo STA 6000. Amostras de aproximadamente 15 mg foram submetidas à atmosfera de nitrogênio com vazão de 10 mL.min<sup>-1</sup> e razão de aquecimento de 15°C. min<sup>-1</sup> de 25-650°C.

#### **4.2.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Baseada na metodologia utilizada por Le Corre (2012), foram preparadas soluções de amidos de ambas as amostras, seguindo proporção de 30% de amido: 70% de água destilada (m/v). Cerca de 5 mg dessas amostras foram pesadas em cadinhos de alumínio, posteriormente selados hermeticamente e armazenadas por 24h até início da análise, em sala com temperatura controlada (20±2 °C). A análise ocorreu em equipamento TA Instruments modelo Q 20 sob as seguintes condições: atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL.min<sup>-1</sup> e rampa de aquecimento de 10-200 °C.

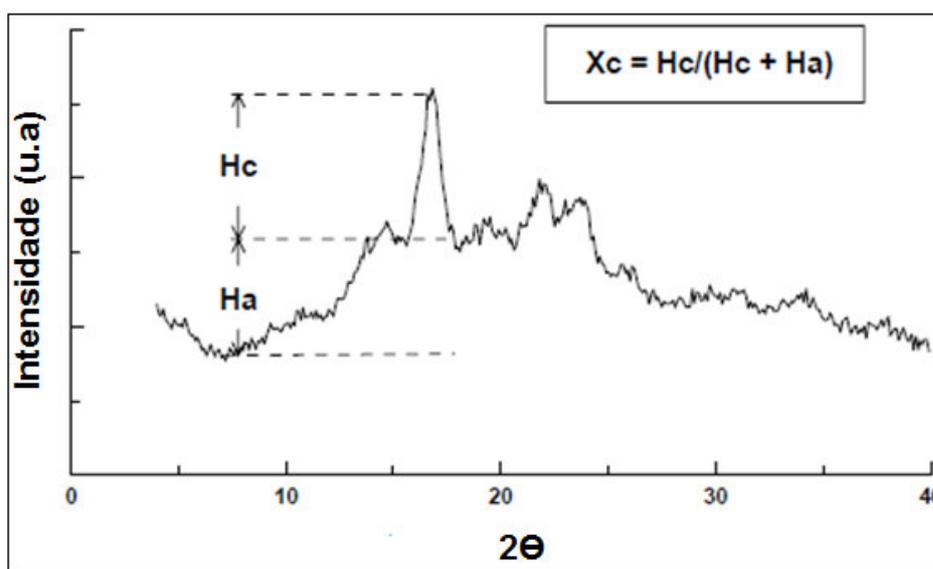
#### **4.2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As alíquotas de amido sofreram recobrimento de fina camada de platina em aparelho metalizador Emitech modelo K 550 e conduzidas a microscópio eletrônico de varredura da marca Zeiss DSM940A, com voltagem de aceleração de 15 KV. Nas imagens dos grânulos, foram feitas ampliações de 1000x e 2000x, e seus diâmetros calculados através do software ImageJ, considerando a área total da amostra depositada no “stub” (suporte).

#### 4.2.6. Difração de Raios X (DRX)

As amostras de amido comercial e amido de manga foram submetidas à análise de difração de raios X no equipamento Rigaku DMAXB, utilizando radiação de  $\text{CuK}\alpha$  a 40 Kv e 40 mA, com velocidade de  $1^\circ$  ( $2\theta$ ), intervalo de amostragem de  $0,01^\circ$  e ângulos  $2\theta$  de  $5-40^\circ$ . O índice de cristalinidade das amostras de amido foi determinado empiricamente pelo método proposto por Hulleman *et al.* (1999), conforme a Figura 13.

Tabela 13. Esquema ilustrativo do método empírico para determinação do índice de cristalinidade, onde:  $X_c$  é o índice de cristalinidade;  $H_c$  a altura do pico de maior intensidade até o início da região amorfa;  $H_a$  a altura da linha de base do difratograma até o início da região cristalina.



Fonte: Hulleman *et al.* (1999), com adaptações.

#### 4.2.7. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para as amostras de amido comercial e amido de manga foram obtidos usando pastilhas de KBr, em equipamento Shimadzu IR Spectrophotometer (modelo 8300) com número de onda variando entre  $400$  e  $4000\text{ cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no laboratório de Bioinorgânica do Departamento de Química da UFC.

### 4.3. Obtenção dos Nanocristais de Amido (NCA)

#### 4.3.1. Testes Preliminares

Para determinar a metodologia a ser adotada para a obtenção de NCA a partir de uma fonte não-convencional de amido, foram realizados testes prévios que levaram em consideração os resultados comumente reportados na literatura. Inicialmente, todos os testes foram realizados com a fonte convencional de amido, tendo em vista sua maior disponibilidade (na época que os testes aconteceram, as quantidades de amido de amêndoa de manga eram pequenas).

Foram realizados seis diferentes tratamentos: quatro utilizando métodos químicos baseados na metodologia adaptada de Angellier *et al* (2004), porém com a adoção de diferentes ácidos nas hidrólises e misturas ácidas não havendo alterações na concentração de ácido e amido, tempo e temperatura da hidrólise (3,16 M, 14,7% m/v, 5 dias e 40°C, respectivamente), um utilizando o ultrassom como método físico (baseado na metodologia adotada por Bel Haaj *et al* (2013) e outro fazendo usos de métodos combinados (hidrólise ácida com ultrassom como método complementar).

Três das hidrólises foram testadas utilizando diferentes ácidos: ácido sulfúrico na primeira, ácido clorídrico para a segunda e ácido fosfórico na terceira. O quarto tratamento foi feito com uma mistura de ácidos clorídrico e fosfórico. Nestes quatro primeiros tratamentos, a neutralização deu-se após os 5 dias de hidrólise, através de sucessivas centrifugações em ultracentrífuga refrigerada Hitachi Modelo CR22III (20 minutos a 20000 g e 4°C) e lavagens com água destilada até o precipitado remanescente atingir pH=5, quando eram submetidas à diálise até completa neutralização.

Um quinto método, agora físico, foi testado visando reduzir o tempo de processo do método químico. Uma solução de amido 1,5% (m/v) foi submetida a sucessivos ciclos de ultrassonicação em disruptor de células Unique 500 W (de 5 minutos, cada), com temperatura mantida a  $8\pm 1^\circ\text{C}$ , por no máximo 120 minutos.

O sexto tratamento foi feito com os hidrolisantes ácidos clorídrico e fosfórico e, decorrido o tempo de hidrólise, o amido foi submetido a ciclos de neutralização

com 3 diferentes etapas: 1) centrifugação em ultracentrífuga refrigerada Hitachi Modelo CR22III (20 minutos a 20000 g e 4°C) e posterior descarte do sobrenadante; 2) homogeneização do precipitado com mixer Wallita (modelo Billy) por 1 minuto; e 3) ultrassonicação em desruptor de células Unique (500 W) por 20 minutos. Tal ciclo de neutralização foi repetido até que se atingisse pH=5, quando a solução foi dialisada até completa neutralização.

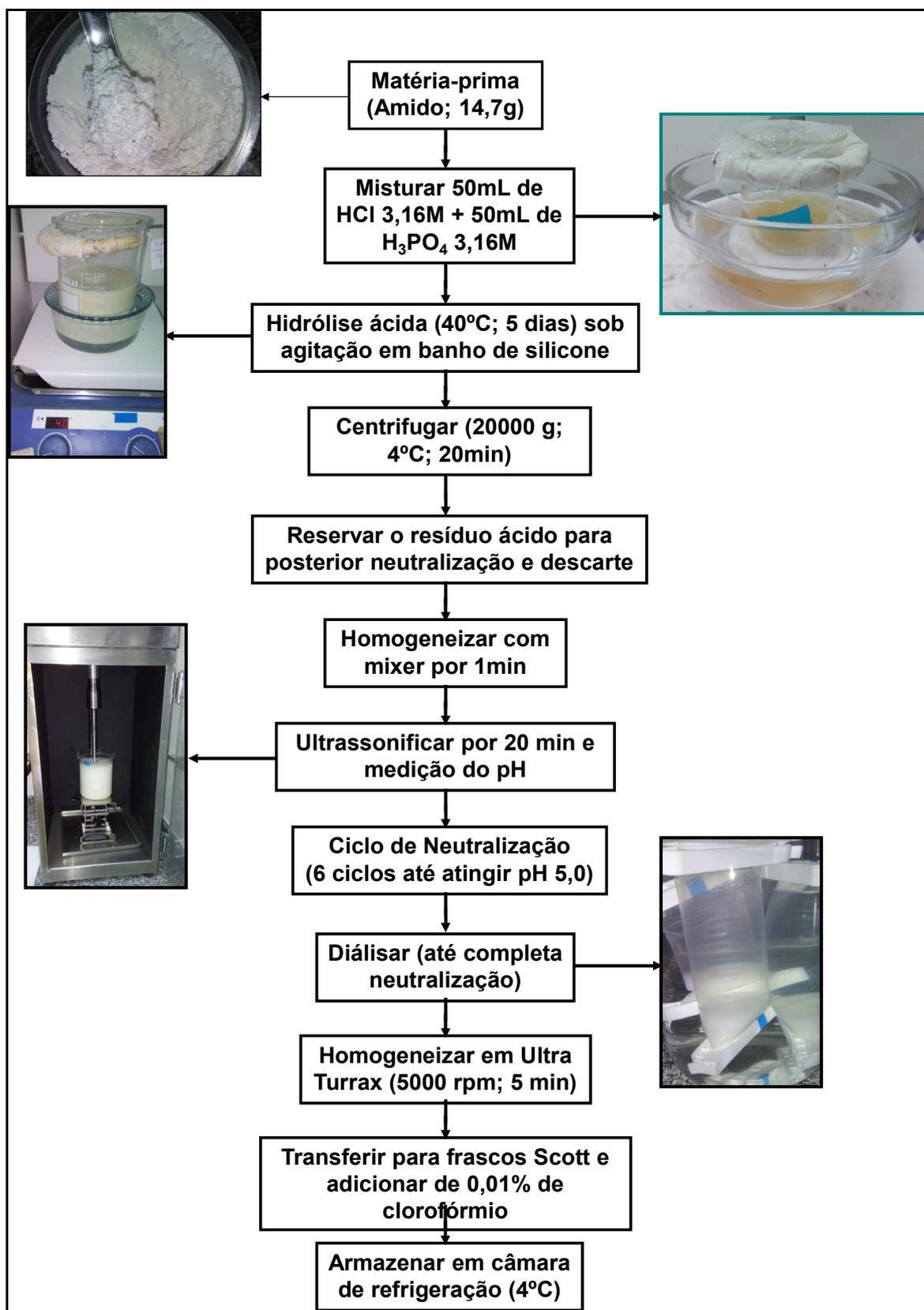
A solução neutralizada foi colocada em frascos Scott e adicionada de clorofórmio (0,01 % v/v) e acondicionada a 4°C. O tamanho das partículas obtidas foi mensurado via espalhamento dinâmico de luz (DLS) em analisador de nanopartículas com zeta Zetasizer modelo Nano ZS. As dispersões de nanocristais de ambas as amostras foram diluídas em água Milli-Q para 0,05% v/v e analisadas em triplicata, segundo metodologia adaptada de Condes *et al* (2015). Com base nos resultados obtidos através de tal análise, foi selecionada a metodologia a ser utilizada na obtenção de tais nanoestruturas.

#### **4.3.2. Metodologia Selecionada para Obtenção dos NCA**

Foram obtidos nanocristais a partir dos amidos de fonte convencional/comercial e alternativa (amêndoas de manga). A produção do nanoreforço iniciou-se com uma etapa de hidrólise ácida, baseada na metodologia de Angellier *et al*(2004): 147g de amido foram colocados em 1 L de mistura ácida (constituída por volumes iguais de soluções 3,16M de ácido clorídrico e ácido fosfórico) a 40°C em banho de silicone, sob constante agitação magnética durante 5 dias. Decorrido este tempo, o hidrolisado foi submetido a ciclos de neutralização: 1) etapa de centrifugação (20 minutos a 20000 g e 4 °C) e descarte do sobrenadante ácido; 2) homogeneização do decantado em Mixer doméstico (Wallita, modelo Billy) por 1 minuto; 3) ultrassonicação em desruptor de células Unique (500 W) por 20 minutos e medição do pH. Reiniciou-se o ciclo de neutralização, realizando um total de 6 ciclos, quando o pH atingiu 5 e a solução foi colocada em membranas para diálise, até completa neutralização (pH 7). Uma vez neutralizada, a solução foi homogeneizada em UltraTurrax T50 a 5000 rpm por 5 minutos, colocada em frascos Scott, acrescentado de 0,01% de clorofórmio (para evitar a proliferação de micro-

organismos) e armazenada em câmara de refrigeração a 4 °C. A Figura 14 mostra o esquema ilustrativo de todo o processo de produção dos nanocristais de amido.

Figura 14. Fluxograma com as etapas para obtenção dos nanocristais de amido.



Fonte: Próprio autor.

#### **4.4. Caracterização dos Nanocristais de Amido**

##### **4.4.1. Rendimento e Teor de Sólidos**

O rendimento foi calculado com base no teor de sólidos, determinado em triplicata, através de balança de infravermelho Marte modelo ID50 a 105°C e considerando-se a massa total da solução de nanocristais e a massa de amido adicionada antes do início da hidrólise.

##### **4.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Suspensões dos nanocristais de amido foram diluídas (50% v/v) em água Milli-Q e uma gota foi cuidadosamente depositada sobre grid de 300 mesh coberto de Formvar. Após alguns minutos, os grids foram colocados sobre papel de filtro para retirada do excesso de amostra e foi colocada uma gota de solução do contrastante ácido fosfotúngstico (0,1% m/v). Os grids foram visualizados em microscópio eletrônico de varredura Tescan Vega 3, com detector STEM sob voltagem de aceleração de 30KV no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Embrapa Agroindústria Tropical. Foram feitas cem medições das imagens obtidas dos nanocristais (menor dimensão destes) utilizando o software ImageJ. Uma gota das suspensões de nanocristais foi colocada sobre “stub”. Após completa evaporação do solvente, os suportes sofreram recobrimento de fina camada de ouro em aparelho metalizador Emitech modelo K 550 e conduzidas a microscópio eletrônico de varredura da marca Zeiss DSM940A, com voltagem de aceleração de 15 KV.

##### **4.4.3. Difração de Raios X (DRX)**

Os difratogramas de raios X dos nanocristais produzidos a partir de amido comercial e amido de manga foram obtidos no Laboratório de Difração de Raios X (LRX) do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará (UFC) através do equipamento Rigaku DMAXB, utilizando radiação de  $\text{CuK}\alpha$  a 40 Kv e 40 mA, com velocidade de  $1^\circ$  ( $2\theta$ ), intervalo de amostragem de  $0,01^\circ$  e ângulos  $2\theta$  de  $5-40^\circ$ . O

índice de cristalinidade das amostras de amido foi determinado empiricamente pelo método proposto por Hulleman *et al.* (1999), conforme a Figura 13.

#### **4.4.4. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

Os espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para as amostras de nanocristais de amido comercial e de amido de manga foram obtidos usando pastilhas de KBr, em equipamento Shimadzu IR Spectrophotometer (modelo 8300) com número de onda variando entre 400 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no laboratório de Bioinorgânica do Departamento de Química da UFC.

#### **4.4.5. Potencial zeta**

A determinação do potencial zeta dos nanocristais obtidos foi realizada via espalhamento dinâmico de luz (DLS) em analisador de nanopartículas com zeta Zetasizer modelo Nano ZS no Laboratório de Tecnologia da Biomassa. Na metodologia adaptada de Condes *et al* (2015), as dispersões de nanocristais de ambas as amostras foram diluídas em água Milli-Q para 0,05% v/v e analisadas em triplicata.

#### **4.4.6. Análise Termogravimétrica (TGA)**

A termogravimetria dos nanocristais de amido (comercial e de manga) foi realizada no equipamento Perkin Elmer modelo STA 6000 do Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical, sob as seguintes condições: 15 mg de amostra, razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$  de 30-600  $^{\circ}\text{C}$  sob atmosfera de nitrogênio e vazão de 20  $\text{mL}.\text{min}^{-1}$ .

#### **4.4.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Baseada na metodologia utilizada por Le Corre (2012), foram preparadas soluções de amidos de ambas amostras, seguindo proporção de 30% de amido: 70% de água destilada (m/v). Cerca de 3 mg dessas amostras foram pesadas em

painéis de alumínio, posteriormente seladas hermeticamente e armazenadas por 24h até início da análise, em sala com temperatura controlada ( $20\pm 2^\circ\text{C}$ ). A análise ocorreu em equipamento INSTRON modelo Q 20 sob as seguintes condições: atmosfera de nitrogênio com vazão de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e rampa de aquecimento de 10-200  $^\circ\text{C}$ , no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical. As entalpias de gelatinização e fusão, bem como os picos de temperatura foram determinadas através de termogramas.

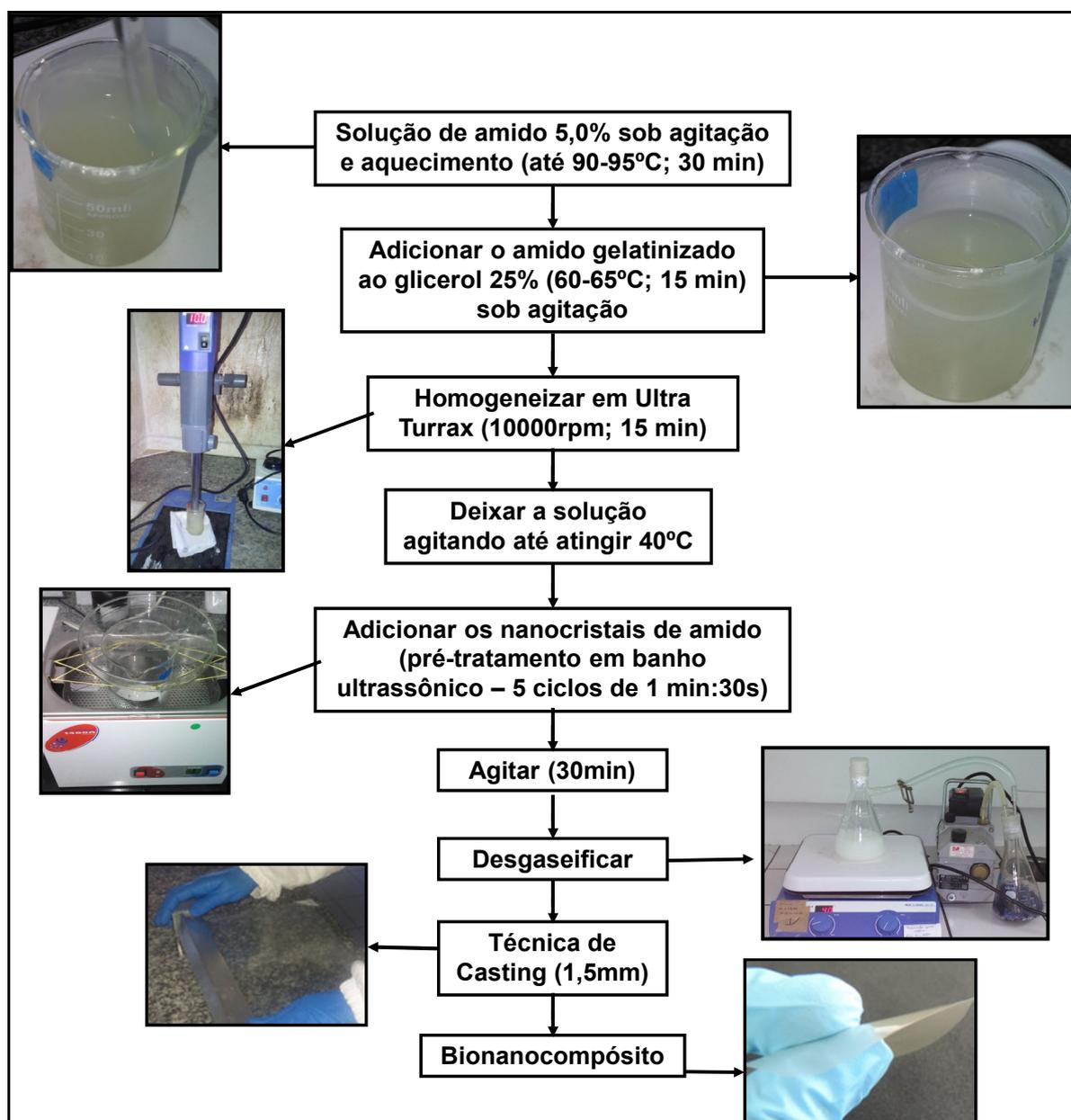
## 4.5. Elaboração dos Filmes Bionanocompósitos

### 4.5.1. Preparo dos Filmes

Os filmes foram elaborados segundo metodologia de Le Corre *et al* (2014) adaptada. A Figura 15 mostra o fluxograma de preparo dos filmes. Foram dissolvidos 5g de amido e em 100 mL de água destilada e aquecidos até  $95^\circ\text{C}$  sob constante agitação magnética. Uma vez atingida a temperatura desejada, manteve-se a solução entre  $90\text{-}95^\circ\text{C}$  por 30 minutos visando a completa gelatinização do amido. Ainda sob agitação, misturou-se o amido gelatinizado com o glicerol (25% m/v), mantendo esta mistura a  $60\text{-}65^\circ\text{C}$  por 15 minutos. Em seguida, a mistura foi homogeneizada em Ultra-Turrax T25 a 10000 rpm por 15 minutos. Paralelamente, os NCA foram submetidos a banho ultrassônico em sonicador Unique modelo USC-1400 (40 kHz, 135 W): 5 ciclos de 1 minuto de ultrassonicação, com intervalo de 30 segundos entre cada ciclo. Quando a solução filmogênica atingiu  $40^\circ\text{C}$ , foi adicionado o nanoreforço (em concentrações de 0%, 2,5%, 5% e 10%, com base na matriz polimérica), mantendo a agitação por mais 30 minutos. A solução filmogênica foi degaseificada utilizando sistema a vácuo (Marconi modelo MA 057/1) para completa retirada das bolhas de ar. Aplicou-se a técnica de *casting*, os filmes sendo depositados sobre placas de vidro revestidas com um filme de poliéster Mylar®, a uma espessura inicial de 1,5 mm. A secagem dos filmes ocorreu durante 24 horas, até completa evaporação do solvente, em ambiente com temperatura e umidade relativa controladas ( $23\pm 2^\circ\text{C}$  e  $55\pm 5\%$ ). Dez filmes foram produzidos: cinco a partir de amido comercial, e cinco a partir de amido de amêndoa de manga, cada um contendo diferentes concentrações (0%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) de nanocristais

extraídos da respectiva fonte, como mostra a Tabela 2. As codificações apresentadas nesta tabela (NAC e NAM) referem-se aos filmes de amido comercial com adição de nanoamido comercial e filmes de amido de manga com adição de nanoamido de manga, respectivamente, seguidos do percentual de nanoreforço adicionado.

Figura 15. Fluxograma do processo de elaboração dos filmes de amido com adição de diferentes concentrações de nanocristais.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 2. Formulações dos filmes de amido e suas codificações de acordo com o tipo de amido e concentração de NCA.

Filmes	Amostra	Amido (% m/v)	Glicerol (% com base na matriz de amido)	NCA (% com base na matriz de amido)
	NAC 0%	5	25	0
	NAC 2,5%	5	25	2,5
Amido comercial	NAC 5%	5	25	5
	NAC 7,5%	5	25	7,5
	NAC 10%	5	25	10
	NAM 0%	5	25	0
	NAM 2,5%	5	25	2,5
Amido de manga	NAM 5%	5	25	5
	NAM 7,5%	5	25	7,5
	NAM 10%	5	25	10

#### 4.5.2. Espessuras dos Filmes

A espessura dos filmes foi determinada calculando-se a média de 20 medições realizadas para cada filme (uma no centro e em outras sete posições ao longo da área do corpo usado na análise de permeabilidade ao vapor de água; e outras doze ao longo das tiras retangulares utilizadas para determinar as propriedades mecânicas) através de medidor de espessura AKROM, KR1250 (margem de erro do equipamento:  $\pm 1\mu\text{m}$ ).

#### 4.5.3. Umidade dos Filmes

O teor de umidade dos filmes foi calculado através de balança de infravermelho Marte modelo ID50 a  $105^{\circ}\text{C}$ . Cerca de 1g de amostras remanescentes dos filmes acondicionados para as análises mecânicas foram pesadas, as massas inicial e final foram registradas para obter o percentual de umidade presente. Tal análise foi realizada em duplicata para cada filme.

#### 4.5.4. Análises Mecânicas

As propriedades mecânicas foram medidas (com cinco replicatas) em corpos de prova obtidos em prensa estampadora Ceast nas dimensões 125 mm x 12,5 mm, acondicionados por 48h em ambiente com temperatura e umidade relativa controladas ( $23\pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $50\pm 5\%$ ) baseado no método D882-01 (ASTM, 2001), usando um Emic DL-3000 Universal Testing Machine com célula de carga de 10 N,

separação inicial entre as garras de 100 mm e velocidade de deformação de 12.5 mm/min.

#### **4.5.5. Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)**

A determinação da PVA foi feita com oito replicatas, com base no método E96-00 (ASTM, 2000) a 25°C, usando sílica gel como dessecante em dessecador vertical Arsec DCV040, e água dentro das células de permeação. Foram realizadas 8 pesagens ao longo de cerca de 24 h, com intervalo mínimo de 1 hora entre as pesagens.

#### **4.5.6. Opacidade**

Os filmes foram caracterizados quanto à opacidade de acordo com a metodologia descrita por Gontard; Gontard e Cuq (1992) via espectrofotômetro (UV-VIS Shimadzu – módulo para amostras sólidas ISR-2200). A opacidade foi determinada como a área sob a curva (determinada por integração), pelo método trapezoidal e expressa como unidade de absorvância x nanômetros (A.nm) por unidade de espessura (mm). Amostras dos filmes foram cortadas em retângulos (2x4 cm) e cuidadosamente colocadas no compartimento para amostras sólidas do referido equipamento e realizada a varredura da absorvância de 400 a 800 nm para cada tratamento, em triplicata. A calibração do espectro foi realizada com pastilha de cloreto de bário como 100% de transmitância.

As seguintes análises foram realizadas para os filmes controle (NAC 0% e NAM 0%) e para o tratamento que apresentou melhores resultados quanto às propriedades mecânicas, de barreira e ópticas, tanto para os filmes de amido comercial como de amêndoa de manga:

#### **4.5.7. Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)**

Cerca de 4 mg das amostras dos filmes moídos foram pesadas em painéis de alumínio, posteriormente seladas hermeticamente. A análise ocorreu em

equipamento INSTRON modelo Q 20 sob as seguintes condições: atmosfera de nitrogênio com vazão de  $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , rampa de aquecimento de  $15\text{-}300 \text{ }^\circ\text{C}$  e taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ , no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical. A variação de entalpia, bem como os picos de temperatura foram determinadas através de termogramas.

#### **4.5.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Seções retangulares dos filmes bionanocompósitos foram criofaturados em nitrogênio líquido e depois acondicionados em dessecador até completa retirada da umidade remanescente. Na superfície de cada stub, sobre fita de carbono, foi colocada uma alíquota de filme não submetido à criofatura para observação superfície e/ou homogeneidade dos filmes e outra alíquota de regiões em que a quebra pelo nitrogênio ocorreu efetivamente. As alíquotas de filmes sofreram recobrimento de fina camada de ouro em aparelho metalizador Emitech modelo K 550 e conduzidas a microscópio eletrônico de varredura da marca Zeiss DSM940A, com voltagem de aceleração de 15 KV.

#### **4.6. Análise Estatística**

Os resultados foram apresentados em gráficos (construídos com o programa Origin versão 9) como média  $\pm$  erro padrão. Para cada tipo de amido/NCA, foram realizados testes de Tukey (pelo programa Minitab, versão 16) para definição de significância de diferenças entre os tratamentos contendo diferentes teores de NCA. Para estabelecer a significância das diferenças entre os filmes com diferentes tipos de amido (comercial ou de manga), foram feitos testes t pareados, considerando, para cada propriedade dos filmes, todos os valores obtidos para todas as replicatas, para todos os tratamentos (todos os teores de NCA).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização do Amido e Nanocristais de Amido

Os resultados das caracterizações químicas para os amidos comercial e de amêndoa de manga encontram-se na Tabela 3. Para todos os parâmetros analisados, exceto pelo teor de proteínas, os amidos diferiram entre si. A Legislação brasileira (Brasil, 1978) estabelece padrões para os amidos comercializados: umidade máxima de 14% (m/m); teor de cinzas máximo de 0,5% (m/m); e máximo de conteúdo protéico bruto permitido de 1,5% (m/m). Logo, tanto o amido oriundo de fonte convencional como o de fonte alternativa estão de acordo com os parâmetros legais de comercialização deste tipo de produto. Apesar disso, os teores de umidade relatadas por Cordeiro *et al* (2014) e Hassan (2013), para amido extraído a partir das amêndoas de manga foram inferiores àquelas do presente trabalho (10,74% e 8,33%, respectivamente).

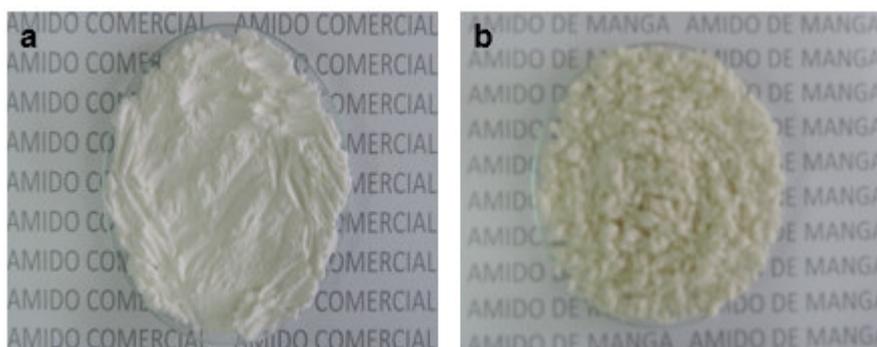
O processo de obtenção e purificação do amido de amêndoa de manga pode ser considerado eficiente, uma vez que, segundo Eliasson (2004), os teores de proteínas e minerais encontrados foram inferiores a 0,6% e 0,4%, respectivamente. A eficiência deste processo deve-se também ao alto rendimento obtido (38,5%), superior ao rendimento de 32% reportado por Cordeiro (2013), também para amêndoas de mangas *Tommy Atkins*. Considerando que o conteúdo amiláceo das amêndoas é de cerca de 58%, estima-se que cerca de 66% do amido foi extraído.

A melhoria no rendimento da extração quando comparado ao trabalho de Cordeiro *et al* (2014) se deve a um aumento no tempo de contato das amêndoas com a solução de metabissulfito de sódio (de 16 para 48 horas), bem como o uso de maior velocidade na trituração das amêndoas e consequente liberação do amido inerente a tal resíduo agroindustrial (uso de UltraTurrax a 5000 rpm em substituição de liquidificador industrial). Segundo Wahl (1969), durante a imersão em solução de metabissulfito de sódio, o íon sulfito contido neste danifica as proteínas contidas no endosperma de forma a promover a quebra das pontes dissulfeto destas proteínas, o que pode facilitar a liberação do amido.

O amido de manga (Figura 16.b) apresentou valores maiores no percentual de cinzas quando comparado ao comercial, provavelmente devido à imersão das amêndoas em solução de metabissulfito de sódio por 48 horas. Teores semelhantes (entre 0,12 e 0,15%) foram encontrados por Sonthalia (2015) quanto ao conteúdo mineral. Hassan (2013) relatou valores de 0,29% de cinzas para o amido de amêndoas de uma das quatro variedades de manga avaliadas em seu trabalho. Ainda neste trabalho, os teores de proteínas foram em torno de 0,06% para todas as amostras. Cordeiro *et al* (2014) relatou um teor de proteínas bem elevado, apesar de dentro da conformidade (1,14%). A extração de amidos com baixos teores de proteínas visa a viabilidade ao uso, tendo em vista que maiores concentrações deste constituinte podem levar à ocorrência reações de Maillard.

O conteúdo de amilose dos amidos testados no presente trabalho foram semelhantes, apesar de serem significativamente distintos entre si. O teor de amilose do amido de manga é menor que o de amido de milho e semelhante aos valores reportados por Rolland-Sabaté *et al.*(2012) para amidos de mandioca e batata. Hassan (2013) e Sonthalia (2015) encontraram teores menores de amilose (entre 9,1% e 16,74%), enquanto Cordeiro *et al* (2014) cita um valor semelhante ao de amido convencional (27%). A determinação deste teor em amidos determina propriedades como capacidade de ligação de água, espessante e gelificante, estabelecendo assim a maioria de suas aplicações. Outro atributo bem conhecido desta fração é sua habilidade na formação de um gel após a gelatinização do grânulo de amido e consequente formação de filme (Moura, 2008).

Figura 16. Fotografia dos amidos a) de milho (comercial) e b) extraído das amêndoas da manga.



Fonte: Próprio autor.

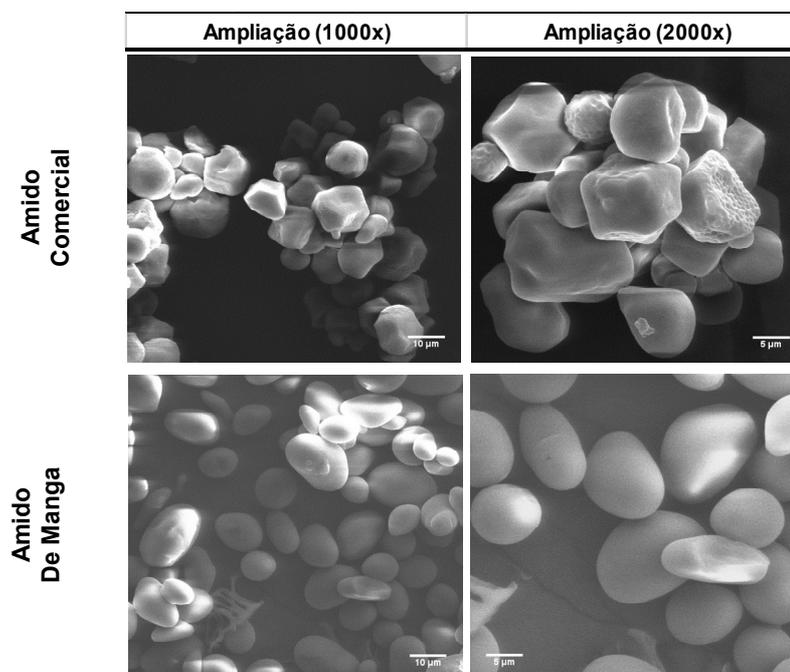
Tabela 3. Caracterização química dos amidos comercial e de amêndoa de manga.

Fonte do Amido	Umidade (%)	Teor de cinzas (%)	Proteínas (%)	Teor de amilose (%)
<b>Comercial</b>	13,12 ± 0,26	0,14 ± 0,01	0,09 ± 0,01	23,50 ± 1,03
<b>Manga</b>	11,45 ± 0,18	0,19 ± 0,02	0,08 ± 0,01	22,11 ± 0,71
<b>t</b>	9,58	- 8,50	2,5	4,78
<b>p</b>	0,01	0,01	0,13	< 0,01

\*Valores expressos em médias das replicatas da análise ± desvio padrão. Valores de t com  $p < 0,05$  significam que a diferença entre as médias é significativa.

Os grânulos de amido apresentaram variações tanto em relação à forma como a seus tamanhos médios. De acordo com as micrografias (Figura 17) ambos apresentaram formatos irregulares, variando entre poligonais (para o amido comercial) e ovais (para o amido de amêndoa de manga). A variação das dimensões características (arestas) dos grânulos de amido comercial foi de 6,5 a 15,5  $\mu\text{m}$ , com dimensões médias de 10,5  $\mu\text{m}$ .

Figura 17. Micrografias observadas em MEV dos amidos comercial e de manga, em diferentes ampliações.



Apesar da variação maior das dimensões características (neste caso o eixo menor de uma elipse), entre 7,5 a 20,5  $\mu\text{m}$  e dimensão média de 13,2  $\mu\text{m}$  (maior que

o do amido comercial), os grânulos de amido de amêndoa de manga apresentaram maior regularidade morfológica e da superfície, podendo ser equiparada aos formatos e tamanhos de amidos de fontes convencionais como batata (esféricos, ovóides com diâmetros entre 15-100  $\mu\text{m}$ ) e mandioca (circulares, poligonais com diâmetros entre 5-30  $\mu\text{m}$ ) e destinados à elaboração de filmes bionanocompósitos.

Cordeiro *et al* (2014) encontrou grânulos de amido extraído de amêndoas de manga *Tommy Atkins* com formatos ovais e diâmetro médio inferior ao reportado no presente estudo (9,3  $\mu\text{m}$ ). Ferreira (2011) ressaltou a relação inversamente proporcional entre tamanho de grânulos e capacidade de absorção de água, o que foi comprovado no presente trabalho, que mostrou que a umidade dos grânulos de amido comercial (de menor tamanho) foi maior que aquela encontrada para os grânulos maiores do amido de manga. Isso pode ser desejável para aplicações como a manufatura de filmes plásticos biodegradáveis (NACHTERGAELE, VAN NUFFEL, 1989).

Através das micrografias, verificou-se a inexistência de rupturas ou ranhuras nos amidos extraídos. Esta característica é vantajosa para a maioria das aplicações voltadas ao amido, uma vez que grânulos com tais irregularidades possuem uma área superficial de contato maior, podendo conferir a eles uma absorção mais elevada de umidade.

## 5.2. Testes preliminares para obtenção dos NCA

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos após realização da análise de tamanho de partícula via DLS dos cinco diferentes tratamentos adotados (o método físico não foi analisado, pois não foi possível manter a temperatura estabelecida pela metodologia, havendo um superaquecimento da amostra).

Na primeira hidrólise realizada foi com o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), o problema encontrado foi o escurecimento do hidrolisado, a partir do terceiro dia de hidrólise, fato não reportado por outros autores e explicado provavelmente pela severidade extrema desta concentração sobre o amido comercial. Além deste problema, ao ser realizada a análise de tamanho de partícula via espalhamento de luz (DLS), detectou-se que a moda dos tamanhos de partícula calculada não se encontrava na

faixa considerada em escala nanométrica (0-100 nm), apesar de 3,6% estarem nesse intervalo.

O segundo teste realizado, com ácido clorídrico (HCl), segundo ácido mais usado nas hidrólises que produzem NCA e sob as mesmas condições experimentais anteriormente citadas, a solução de amido não escureceu, porém com percentual de partículas nanométricas inferior ao encontrado no teste anterior (2,6%).

Para comprovar a severidade do ácido sobre a cor final do hidrolisado, no terceiro teste realizado, utilizou-se ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ), um ácido fraco, nunca antes relatado na literatura sobre produção de NCA, mas bastante popular na hidrólise de celulose cristalina, devido a diversas vantagens, incluindo a substituição de grupos sulfatos na superfície dos nanocristais (produzidos por hidrólise com ácido sulfúrico) por grupos fosfato, conferindo-lhes maior estabilidade térmica (KIM, PARK, LIM, 2015). Como esperado, tanto a cor do hidrolisado manteve-se inalterada, como também o percentual de partículas nanométricas foi consideravelmente inferior aos dois testes anteriores (0,1%).

Frente às tentativas sem sucesso na obtenção de NCA por método químico, partiu-se para a utilização de um método físico: o ultrassom. Apresentando como principais vantagens a rapidez na obtenção (máximo de 120 minutos, com ciclos de 5 minutos, para obter partículas que chegavam a 30 nm) e rendimento de quase 100%, segundo Bel Haaj *et al* (2013), o sistema deveria permanecer durante todo o tempo de ultrassonicação sob temperatura de 8 °C, o que não foi possível reproduzir em laboratório (o sistema montado mantinha a temperatura apenas quando não submetido ao ultrassom, devido ao fenômeno da cavitação, cuja energia é liberada em forma de calor; nos primeiros 10 minutos de ultrassonicação, as temperaturas aproximavam-se daquela que promovia a gelatinização dos grânulos, ao invés de sua quebra progressiva). Sendo assim, tal via de obtenção foi abortada.

O outro teste foi a combinação de ácidos (um forte: HCl e um fraco:  $H_3PO_4$ ), que não alterassem a cor final do hidrolisado. O resultado obtido mostrou uma melhoria no percentual de partículas nanométricas (0,7%), quando comparada à hidrólise apenas com  $H_3PO_4$ .

Por fim, pensou-se na combinação entre mistura ácida de HCl e  $H_3PO_4$  e após cinco dias de hidrólise, o uso do ultrassom como método complementar

durante o processo de neutralização (antes realizado apenas através de sucessivas lavagens e centrifugações) para diminuição dos tamanhos dos grânulos. A combinação sono-química surgiu efeito considerável na diminuição dos tamanhos detectados via espalhamento de luz: 16,4% das partículas encontravam-se na faixa de 0-100 nm, frente aos 3,6% da hidrólise mais eficiente testada até então.

Além disso, o processo sono-químico desenvolvido reduziu drasticamente o número de centrifugações anteriores à etapa de diálise de 16 ciclos (20 minutos cada) para 6, com a mesma duração para a metodologia tradicional. A Tabela 4 apresenta as condições adotadas durante cada hidrólise ácida testada, bem como a caracterização dos tamanhos por espalhamento de luz (DLS).

Tabela 4. Tamanhos de partícula encontrados via espalhamento de luz para as diferentes hidrólises testadas para escolha da metodologia adotada para obter NCA.

Tratamento	Tamanho de partícula (%)		
	0-100 nm	101-500 nm	> 501 nm
Ácido sulfúrico	3,6	40,3	56,1
Ácido clorídrico	2,6	46,5	50,8
Ácido fosfórico	0,1	13,3	86,6
Ácido clorídrico + ácido fosfórico	0,7	20,3	79
Ácido clorídrico + ácido fosfórico + Ultrassom	16,4	50	33,6

### 5.3. Caracterização dos NCA

Na Tabela 5 podem ser observados os valores encontrados para os parâmetros inerentes aos nanocristais de amido, que assim como os amidos, diferiram entre si para todas as caracterizações. A Figura 15 mostra as diferenças na aparência das duas amostras, quando usadas para determinação do teor de sólidos.

Uma vez que a quantidade de sólidos tem influência direta no cálculo de rendimento do processo, pode-se afirmar que, para esta variável, o nanoamido de manga apresentou valor 62% maior que aquele apresentado pelo comercial. O rendimento superior do nanoamido de manga em relação ao comercial pode estar relacionado com o teor inferior de amilose do amido de manga, uma vez que a cristalinidade parcial do amido é atribuída à cadeias laterais de amilopectina. Logo, menores teores de amilose resultam numa maior susceptibilidade à hidrólise ácida (Angellier *et al*, 2004).

Condés *et al* (2015) reportaram um rendimento de 24,4% para NCA de fonte convencional (milho). Pinto (2014), ao hidrolisar amido de pinhão com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3M por 5 dias, observou um rendimento de 10,23%. Angellier *et al* (2004), ao otimizar o processo de produção de NCA via hidrólise ácida, registraram um rendimento de 15,7%, com NCA no mesmo formato daqueles obtidos com HCl por 40 dias e 0,5% de rendimento. Gonçalves (2013) produziu NCA de pinhão com rendimento de 34,54%, porém após 50 dias de hidrólise.

Tabela 5. Caracterização dos nanoamidos comercial e de manga.

Fonte do Nanoamido	Teor de Sólidos (%)	Tamanho de Partícula (nm)	Potencial Zeta (mV)	Rendimento (%)
<b>Comercial</b>	3,12 ± 0,35	61,10 ± 25,89	-37,02 ± 5,01	19,44
<b>Manga</b>	5,88 ± 0,05	79,01 ± 33,09	- 25,22 ± 2,42	31,66
<b>t</b>	- 20,68	- 4,35	-7,51	-
<b>p</b>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-

\*Valores expressos em médias das replicatas da análise ± desvio padrão. Valores de t com p<0,05 significam que a diferença entre as médias é significativa.

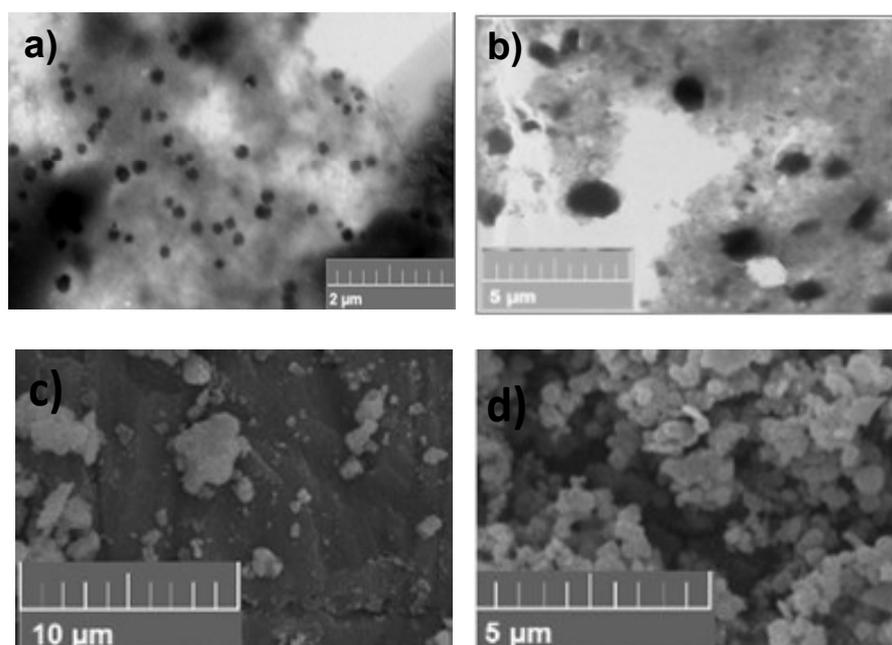
Com relação ao potencial zeta, ambas as suspensões de nanoamido (comercial e de manga) podem ser consideradas estáveis, por terem seu valor em módulo acima de 25 mV, o que indica não haver tendência à precipitação/agregação (MIRHOSSEINI *et al*, 2008). O valor dessa carga superficial apresenta-se negativo em virtude da esterificação das hidroxilas dos carboidratos com grupamentos fosfato, de natureza aniônica.

As micrografias da Figura 18 mostram nanoamidos de formatos tendendo a elipsoidais com superfície irregular e diversos agregados. A medição das partículas indicou grande variação nos tamanhos mensurados para a menor dimensão observada: de 19 a 140 nm e de 13 a 171 nm para os nanoamidos comercial (a) de manga (b), respectivamente. Assim, podemos afirmar que tal estrutura é nanométrica, uma vez que pelo menos uma de suas dimensões encontra-se abaixo de 100 nm (ALEXANDRE & DUBOIS, 2000). Os agregados visualizados em ambos tinham dimensões entre 350 e 2300 nm.

Condés *et al* (2015) reportaram tamanhos de partícula com diâmetros inferiores a 200 nm. Le Corre (2012) ao estudar as variações no tamanho e formato

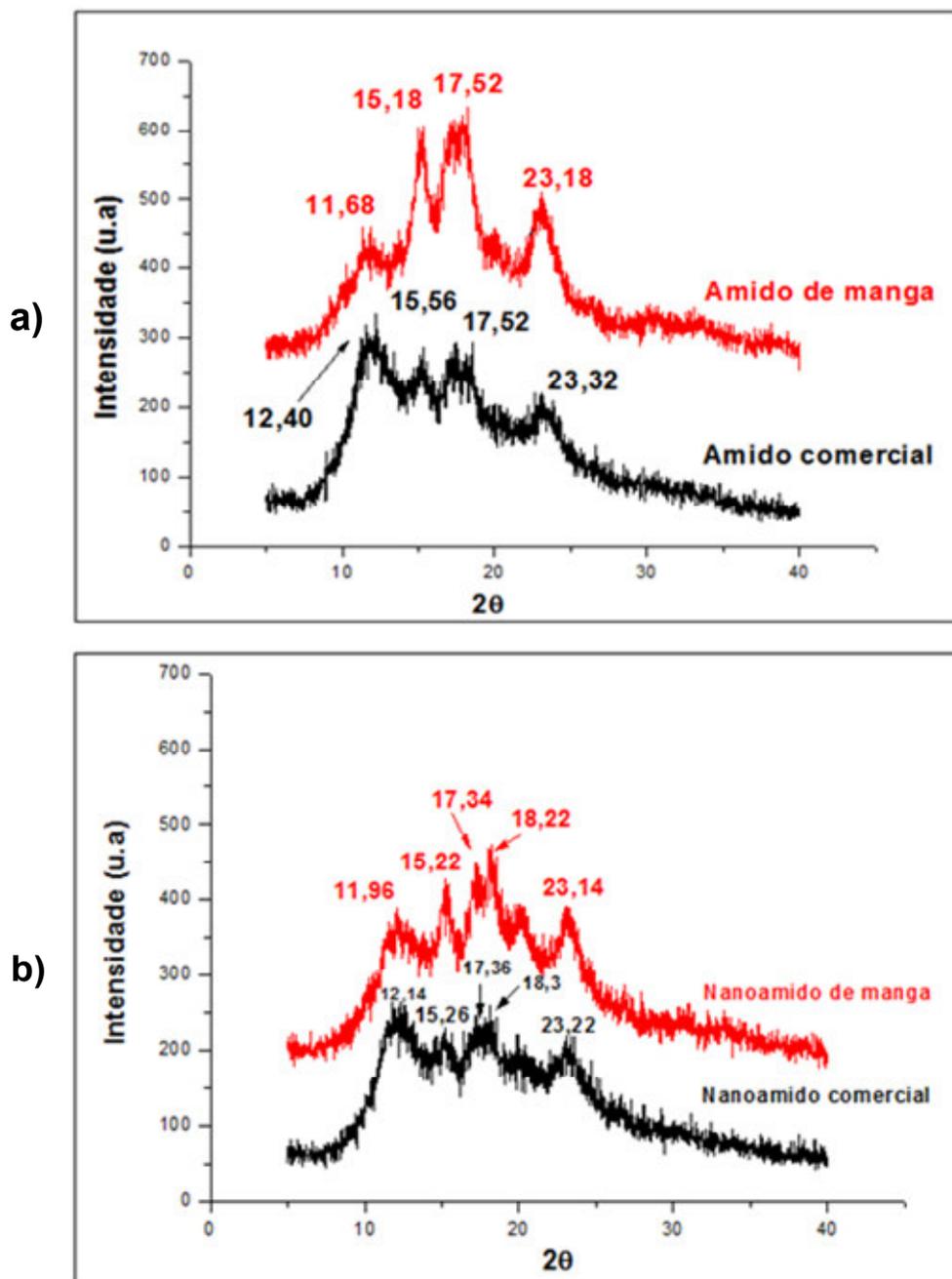
dos NCA com a variação da fonte botânica de tal polímero, encontra que diâmetros de 52 nm (batata), 100 nm (trigo) e 118 nm para amido com alto teor de amilose, e espessuras entre 5 e 8 nm.

Figura 18. Micrografias obtidas por MEV em grids e stubs, respectivamente, para os nanoamidos comercial (a e c) e de manga (b e d).



A Figura 19 apresenta os picos de difração de maior intensidade tanto para as amostras de amido como de nanoamido, cujos perfis mostram-se bem semelhantes. Foram encontrados padrões próximos aos característicos de difração do tipo A (oriundo de cereais), com ângulo de Bragg ( $2\theta$ ) de  $15^\circ$ ,  $17^\circ$  e  $23^\circ$  para os dois amidos, como reportado também por Cordeiro (2013). Este padrão ocorre quando as duplas hélices da amilopectina encontram-se organizadas de forma altamente condensadas e cristalinas (Eliasson, 2004).

Figura 19. Difractogramas dos a) amidos e b) nanoamidos (comercial e de manga).



Os nanoamidos apresentaram picos de difração de maior intensidade bem semelhantes aos amidos, com  $2\theta$ :  $15^\circ$ ,  $18^\circ$  e  $23^\circ$ . Segundo Pinto (2014), os amidos tipo A foram mais resistentes à hidrólise ácida que amidos do tipo B, após tratamento químico em amido de pinhão (tipo C).

Le Corre, Bras & Dufresne (2011) observou uma correlação entre o tipo cristalino de amidos e a morfologia de seus nanocristais: amidos de tipo A tipicamente produzem partículas semelhantes a quadrados e amidos do tipo B

produzem partículas bastante redondas. No entanto, ambos os amidos do presente estudo produziram nanocristais redondos, mesmo seus amidos nativos apresentando cristalinidades do tipo A. Isso provavelmente resulta da hidrólise seletiva acidental dos amidos.

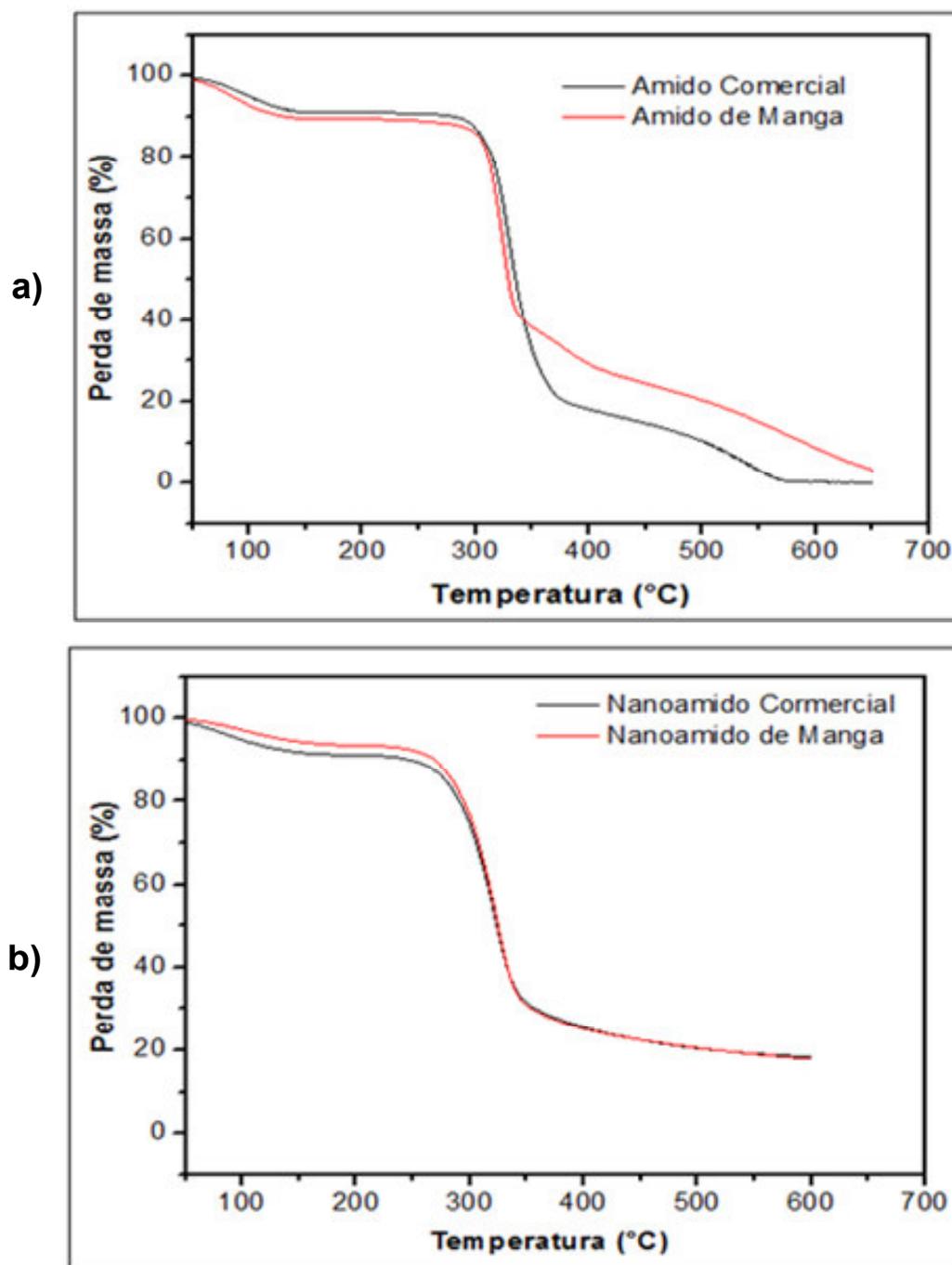
O índice de cristalinidade encontrado para os amidos comercial e de manga foi de 44,6% e 41,5%, respectivamente. Já para os NCA comercial e de manga, tais índices foram: 54,1% e 57,7%, respectivamente. Os valores encontrados são condizentes ao citado na literatura, que afirma ser a cristalinidade dos NCA superior àquela do amido nativo correspondente.

Os termogramas da Figura 20 mostram que as quatro amostras analisadas (amidos e nanoamidos) apresentaram comportamentos térmicos bem semelhantes. Inicialmente, inúmeras mudanças irreversíveis ocorrem quando o amido é aquecido, o que acarreta na alteração da estrutura do polímero e formação de compostos hidrossolúveis. A degradação do amido ocorre a temperaturas superiores a 300°C, quando reações de natureza irreversível conduzem à geração de pirodextrinas e à medida que a temperatura se eleva, há formação de produtos de voláteis de menor massa molar como furfural e levoglucosanas (CORDEIRO, 2014).

Tabela 6. Quadro-resumo das temperaturas dos principais eventos e perdas de massa nos eventos ocorridos para as amostras de amidos e nanoamidos.

	1° Evento		2° Evento	
	Tpico (°C)	Perda de massa (%)	Tpico (°C)	Perda de massa (%)
<b>Amido Comercial</b>	97,9	8,9	329,9	90,6
<b>Amido de Manga</b>	84,1	10,3	324,1	87
<b>Nanoamido Comercial</b>	80,8	8,5	322,5	72,8
<b>Nanoamido de Manga</b>	102,5	6,2	324,2	75,5

Figura 20. Termogramas das amostras de a) amido e b) nanoamido.



Para os amidos e nanoamidos, foi observada a existência de dois eventos térmicos acompanhados de perda de massa: o primeiro, cuja atribuição majoritária é a umidade absorvida pelo material, e o segundo, correspondente à degradação térmica dos constituintes predominantes do amido, além de lipídios e proteínas. De acordo com a Tabela 6, no caso dos amidos comercial e de manga, a perda de

massa ao fim do primeiro evento foi de 8,9 % e 10,3 %, com picos de temperatura de 97,9 ° C e 84,1 ° C, respectivamente; e para o segundo evento as perdas foram de 90,6 % e 87 %, com picos em 329,9 ° C e 324,1 ° C.

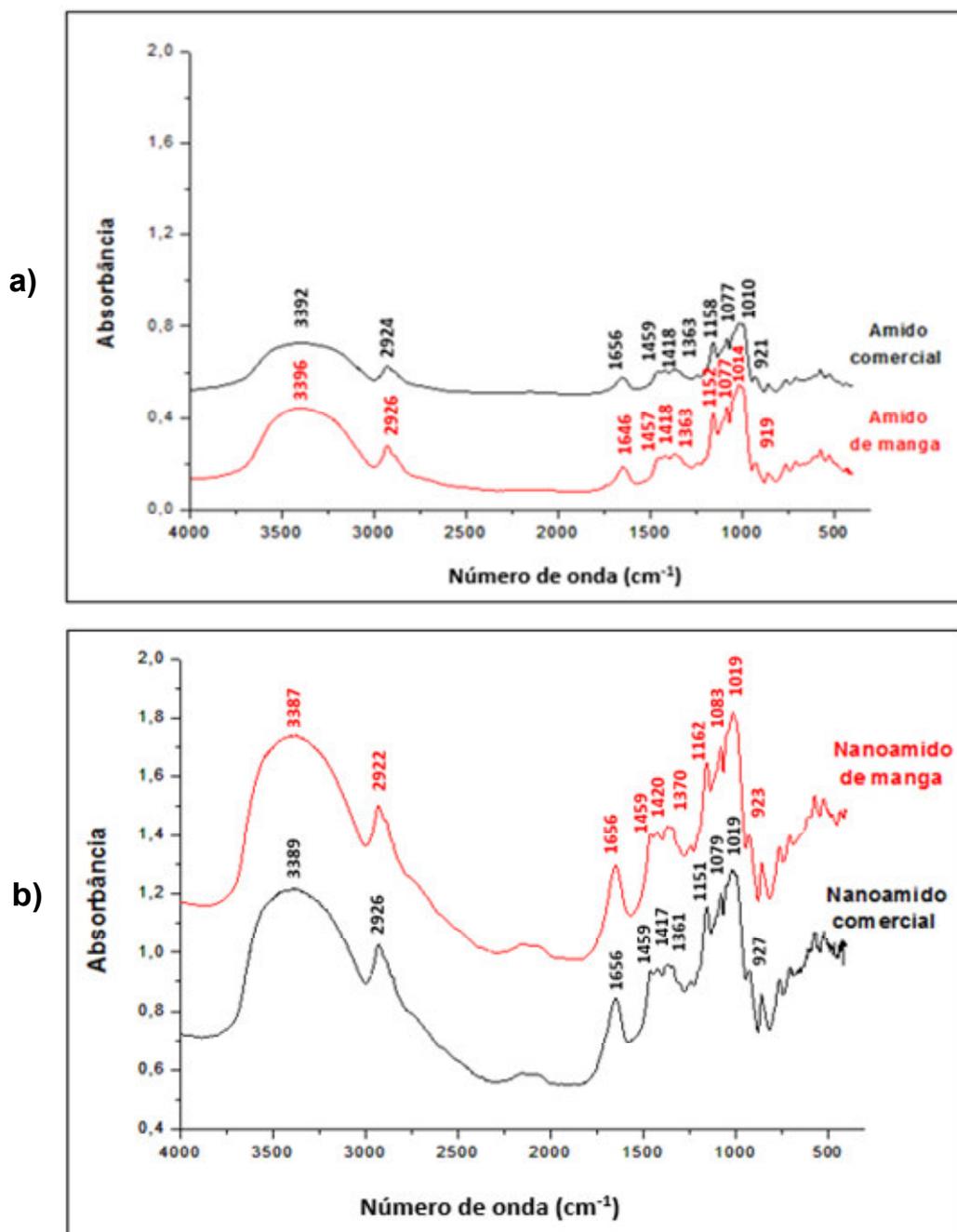
Para os nanoamidos comercial e de manga, respectivamente: as perdas de massa do primeiro evento foram 8,5% e 6,2 % e picos de 80,8 ° C e 102,5 ° C; e as perdas de massa do segundo evento foram 72,8% e 75,5 %, com picos de temperatura 322,5 ° C e 324,2 ° C.

Os nanoamidos apresentam, para ambos os eventos, uma menor perda de massa à medida que eleva-se a temperatura, quando comparados a seus respectivos amidos, indicando assim uma maior estabilidade térmica (LE CORRE *et al*, 2012). Como citado anteriormente, a elevação da temperatura leva a uma maior degradação dos componentes do amido e conseqüentemente maiores perdas de massa.

Os espectros de FTIR para todas as amostras testadas no presente trabalho (Figura 21) mostraram poucas diferenças entre si. Na região de impressão digital de 800 a 1500  $\text{cm}^{-1}$ , os espectros característicos das fontes convencional e alternativa de amido, bem como seus respectivos nanocristais foram bem similares.

A espectroscopia no infravermelho mostra-se sensível a mudanças na estrutura molecular do amido, tais como: conformação da cadeia helicoidal, cristalinidade, fenômeno de retrogradação e conteúdo de água (KIZIL, IRIDAYARAJ, SEETHARAMAN, 2002).

Figura 21. Espectros de FTIR para as amostras de a) amido e b) nanoamido (comercial e de manga).



Para os amidos, as principais bandas encontradas foram: 3375 e 3392  $\text{cm}^{-1}$ , referentes ao estiramento OH da água; 2920 e 2932  $\text{cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento da ligação C-H; 1646, 1650 e 1750  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos à água adsorvida na região amorfa dos grânulos do amido (como tal pico está relacionado à cristalinidade do amido, uma variação na estrutura cristalina do amido, possivelmente irá afetá-la);

1085  $\text{cm}^{-1}$  de grupo éter (C-O-C) presente em anel de 6 átomos como na glicose; 1158  $\text{cm}^{-1}$  de estiramento C-O e C-C com alguma contribuição do estiramento C-OH; 1010, 1019 e 1079  $\text{cm}^{-1}$  estiramento O-C do anel de anidroglicose (relacionado com estabilidade e intensidade das ligações de hidrogênio); 917 e 921  $\text{cm}^{-1}$  do estiramento C-O-C das ligações glicosídicas.

Os NCA apresentaram bandas bem semelhantes às anteriormente citadas, tendo como mais representativas: 3387 e 3390  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento da hidroxila da água); 2932 e 2934  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento da ligação C-H); 1646  $\text{cm}^{-1}$  (água fortemente ligada à região amorfa do grânulo); 1160 e 1162  $\text{cm}^{-1}$  (grupo éter presente em anel de 6 átomos); 1010, 1016, 1081 e 1083  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento O-C); 925 e 935  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O-C das ligações glicosídicas).

Zeng *et al* (2011) identificaram bandas entre 1670-1600  $\text{cm}^{-1}$  (designados para vibrações de dobragem da  $\text{H}_2\text{O}$ ) e entre 930-900  $\text{cm}^{-1}$  (referentes à vibração do anel D-glucopiranosose). Kizil, Iridayaraj, Seetharaman (2002) citam que o espectro de infravermelho de amidos nativos apresenta bandas características: 2900-3000 (estiramento C-H); 1163, 1150, 1124 e 1103  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O e C-C com estiramento C-OH); 1077, 1067, 1047, 1022, 994 e 928  $\text{cm}^{-1}$  (deformações C-OH e  $\text{CH}_2$ ), que poderão sofrer deslocamento da deformação axial (simétrica ou assimétrica). Bel Haaj *et al* (2013) mostraram mudanças na estrutura molecular à medida que se aplicou ultrassom para obter nanopartículas de amido, após severa quebra da estrutura cristalina do polímero, fato explicado pela menor intensidade dos picos 900-960  $\text{cm}^{-1}$  referentes às vibrações C-O-C das ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6, como observado no presente trabalho devido ao uso do ultrassom como técnica complementar.

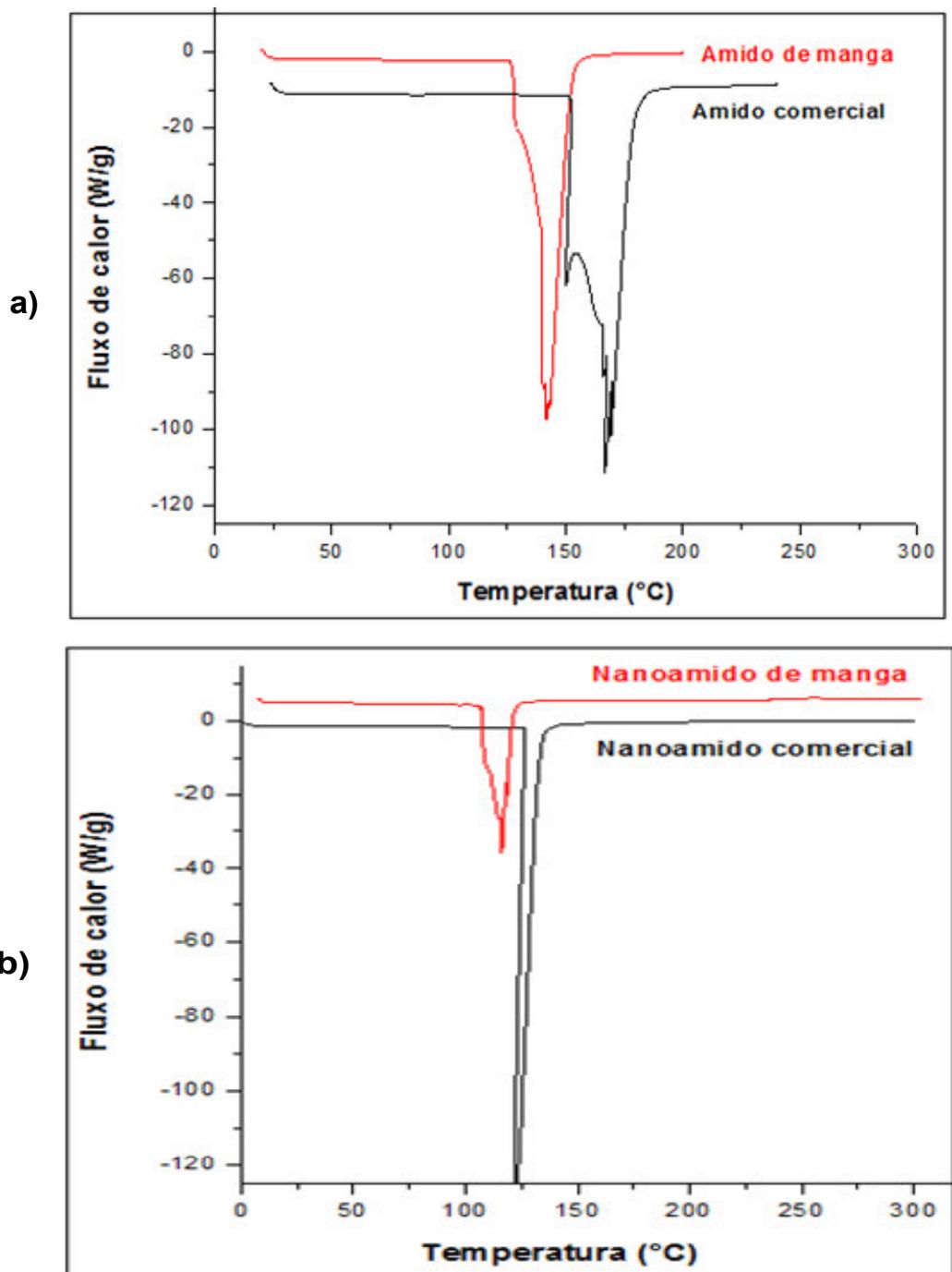
A Figura 22 mostra as curvas de DSC, referentes as amostras, todos apresentando eventos térmicos. A Tabela 7 apresenta os valores das temperaturas de transição vítrea e fusão das amostras, bem como suas respectivas entalpias de gelatinização.

As análises de DSC foram capazes de fornecer informações sobre interações do amido com outros componentes (água, plastificantes), bem como as características inerentes a estes eventos. Variações nas entalpias de gelatinização podem ser explicadas pela existência de forças de ligação entre as duplas hélices da

estrutura da amilopectina, responsáveis pela organização da região cristalina (Pinto, 2014).

As temperaturas de gelatinização dos amidos variaram de 69,1 ° C para o comercial a 76,1 ° C para o de manga, com suas respectivas entalpias de gelatinização: 21,3 e 21,2 J/g. Temperaturas de gelatinização semelhantes foram encontradas por Bello-Pérez *et al* (2005) ao caracterizar amidos extraídos de amêndoas de manga, porém as entalpias reportadas foram bem superiores às do presente trabalho.

Figura 22. Curvas de DSC para amostras a) de amido e b) nanoamido (comercial e de manga).



A temperatura de gelatinização encontrada para o nanoamido de manga (59,7 °C), assim como o amido do qual foi obtido, foi superior àquela calculada para o amido comercial (56,7 °C), apesar da entalpia deste (1,8 J/g) ser bem superior a do primeiro (0,9 J/g).

Os valores de temperatura encontrados para a gelatinização dos amidos e nanoamidos justifica o uso das temperaturas adotadas para a metodologia de obtenção de filmes bionanocompósitos, uma vez, que para garantir a completa gelatinização da matriz polimérica, foi adotada temperatura superior (90 °C), enquanto que para a fase de reforço foi utilizada temperatura inferior à gelatinização, para que os nanocristais não perdessem sua forma e conseqüentemente sua função para melhoria das propriedades, principalmente mecânicas.

Tabela 7. Temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), fusão ( $T_m$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ ) para as amostras de amido e nanoamido comercial e de manga.

Amostra	$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
Amido Comercial	74,3	141,5	1,2
Amido de Manga	74,2	139	0,9
Nanoamido Comercial	93,7	124,1	1,8
Nanoamido de Manga	125,8	125,8	0,9

## 5.4. Filmes

### 5.4.1. Umidade e Espessura dos Filmes

Conforme os dados da Tabela 8, não houve diferença significativa entre as umidades de todos os tratamentos, nem uma diminuição da umidade com a adição de NCA, sendo a maior e a menor registradas para os filmes de amido comercial com 5% (10,40%) e 0% (9,15%). Quanto às espessuras, os filmes de amido comercial tiveram um aumento em suas espessuras com o adição de nanocristais, como era esperado.

Já os filmes de amido de manga não apresentaram uma linearidade na espessura à medida que se adicionou NCA, sendo encontrada para estes a maior espessura dentre os dez tratamentos (62,09  $\mu\text{m}$ ), no tratamento NAM 2,5%. Condés *et al* (2015) encontraram umidades bem superiores àquelas reportadas no presente trabalho (entre 15,2% e 22,8%), fato ocorrido devido à inserção de NCA em matriz protéica de amaranto. Referindo-se ainda a este trabalho, seus autores obtiveram

valores de espessuras maiores (com variação de 63-91  $\mu\text{m}$ ) que as observadas na tabela abaixo.

Tabela 8. Caracterização dos filmes quanto à umidade e espessura.

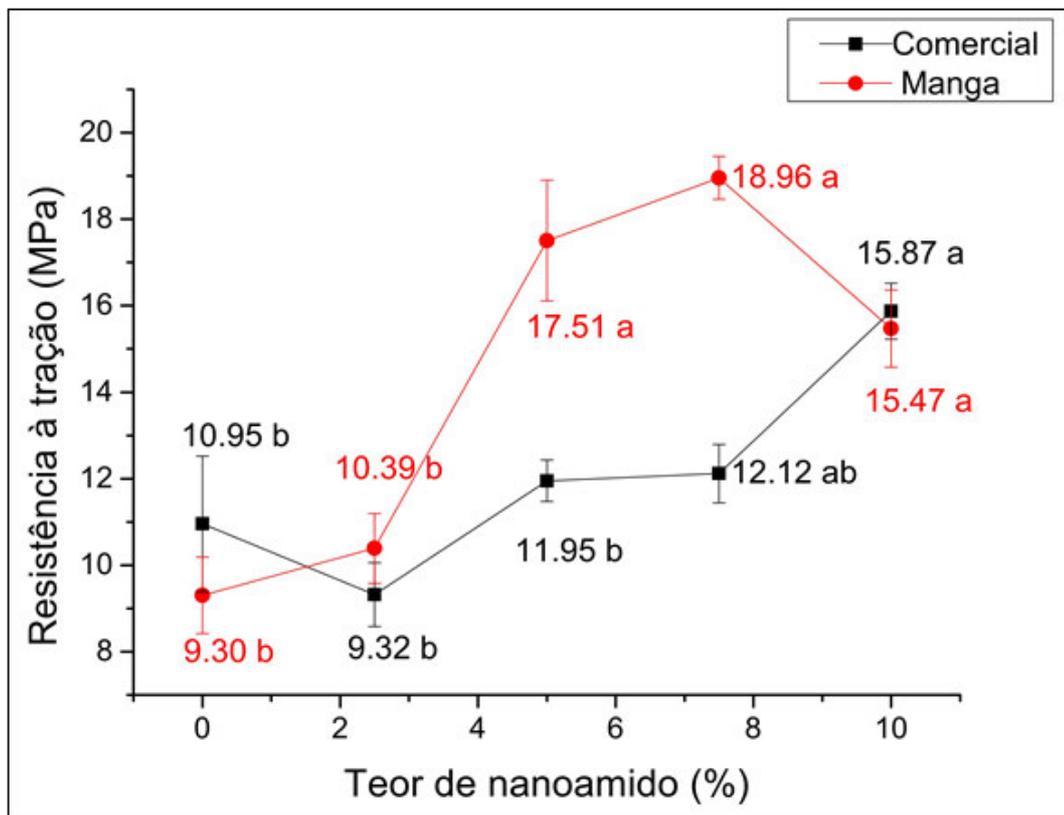
Amostra	Nanoamido (%)	Umidade	Espessura
Amido Comercial	0%	9,15 $\pm$ 1,17 a	53,52 $\pm$ 5,48 a
	2,5%	10,40 $\pm$ 1,10 a	58,32 $\pm$ 4,51 abc
	5%	9,19 $\pm$ 0,57 a	60,62 $\pm$ 3,10 bc
	7,5%	9,71 $\pm$ 0,07 a	62,09 $\pm$ 5,53 c
	10%	9,31 $\pm$ 0,59 a	56,75 $\pm$ 6,20 abc
Amido de Manga	0%	9,92 $\pm$ 0,54 a	53,73 $\pm$ 6,62 a
	2,5%	9,24 $\pm$ 0,83 a	58,24 $\pm$ 5,03 abc
	5%	9,33 $\pm$ 0,26 a	55,80 $\pm$ 5,11 ab
	7,5%	9,28 $\pm$ 0,75 a	56,20 $\pm$ 5,83 ab
	10%	9,55 $\pm$ 0,08 a	58,76 $\pm$ 4,71 abc

\*Valores expressos em médias das triplicatas da análise  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4.2. Análises Mecânicas

A resistência à tração (Figura 23) de ambos os tipos de filmes tendeu a aumentar com o aumento do teor de nanocristais de amido (NCA). No caso dos filmes de amido comercial, o único teor de NCA que resultou em aumento significativo da resistência à tração foi 10%. No caso dos filmes de amido de manga, 5% de NCA já foram suficientes para promover um aumento significativo da propriedade; uma vez que houve uma estabilização da resistência à tração a partir deste teor, não havendo mais aumentos com maiores adições de NCA. O aumento da resistência à tração pela adição de NCA foi observado também em outros estudos.

Figura 23. Resistência à tração de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.



\*Valores expressos em médias das replicatas da análise. Letras distintas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Condés *et al* (2015) relataram a melhoria desta propriedade mecânica ao adicionar nanocristais de amido à matriz protéica de amaranto. Dai *et al* (2015) mostraram um aumento da resistência à tração até a concentração de 10% de NCA. Piyada *et al* (2013) citaram um acréscimo em tal propriedade em filmes de amido de arroz com nanocristais de amido de arroz até a concentração de 20% destes quando a resistência foi de 16,43 MPa, valor inferior ao máximo encontrado no presente trabalho. Angellier *et al* (2006) observaram que NCA exerceram efeitos de reforço em filmes de amido termoplástico apenas em concentrações superiores a 10%. Por outro lado, os resultados obtidos por Li *et al* (2015) indicam que o teor de NCA que resultou em maior resistência à tração de filmes de amido de ervilha foi 5%, enquanto maiores teores de NCA resultaram em redução da resistência à tração.

As melhorias relatadas na literatura para tal propriedade podem ser explicada pelo fato de os nanocristais atuarem como preenchimento dos interstícios da matriz polimérica, o que aumentará a resistência do compósito (ANGELLIER *et al*, 2006).

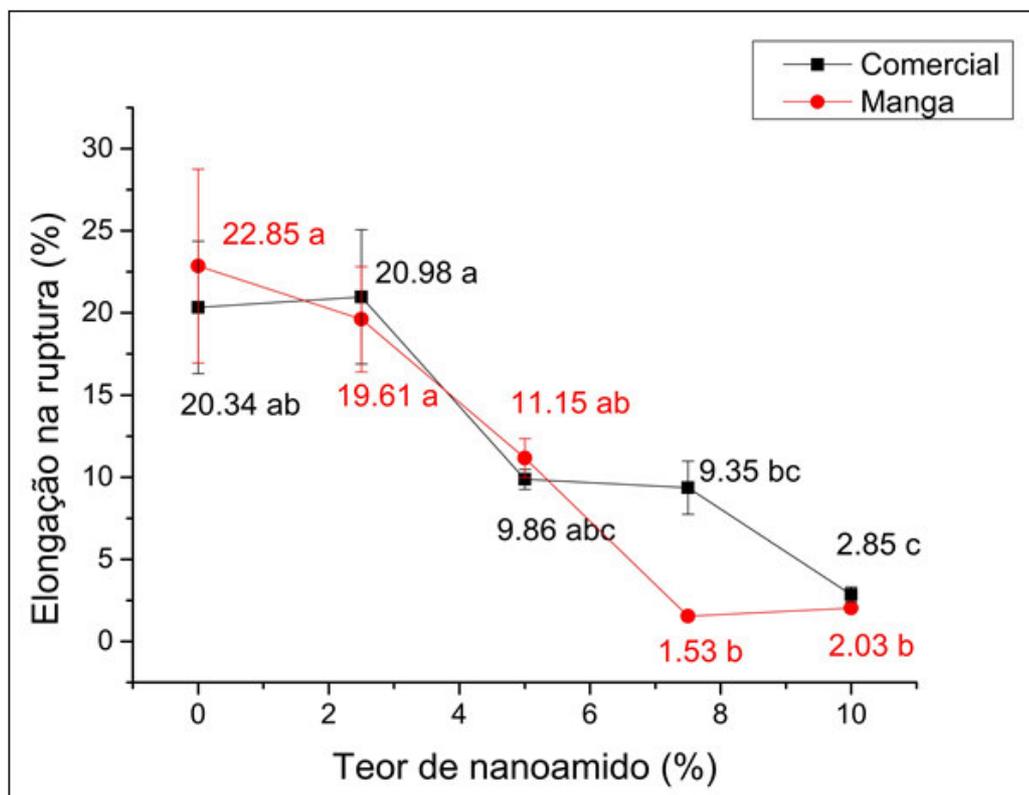
Angellier *et al.* (2006) ainda ressaltaram a influência mais efetiva do reforço em compósitos de mesma natureza química de matriz e estrutura de reforço, tendo em vista que glicerol e água exibiriam a mesma afinidade para ambos. Assim, a migração do glicerol para a interface seria limitada, estabelecendo-se fortes interações diretas entre os nanocristais.

No caso específico dos filmes cuja matriz e o reforço apresentam a mesma natureza química, concentrações maiores da fase de reforço podem favorecer a agregação daqueles, o que diminuiria a aderência da interface matriz/nanocristais, conseqüentemente a resistência mecânica.

Os valores globais de resistência à tração foram maiores para os filmes de amido de amêndoa de manga que para os de amido comercial, além de demandarem um menor conteúdo de NCA para exibir um efeito significativo, como mostra a Tabela 9, já que o valor de *t* para resistência à tração foi significativo ( $p < 0,05$ ) e a média global de RT para os filmes de amido de manga foi maior que para os filmes de amido comercial.

A alongação dos filmes tendeu a diminuir com o aumento do teor de NCA. No caso dos filmes de amido comercial, o único teor de NCA que diminuiu significativamente a alongação foi 10%. Já no caso de filmes de amido de manga, o teor de 7,5% NCA já reduziu a alongação, conforme ilustrado na Figura 24.

Figura 24. Elongação na ruptura de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.



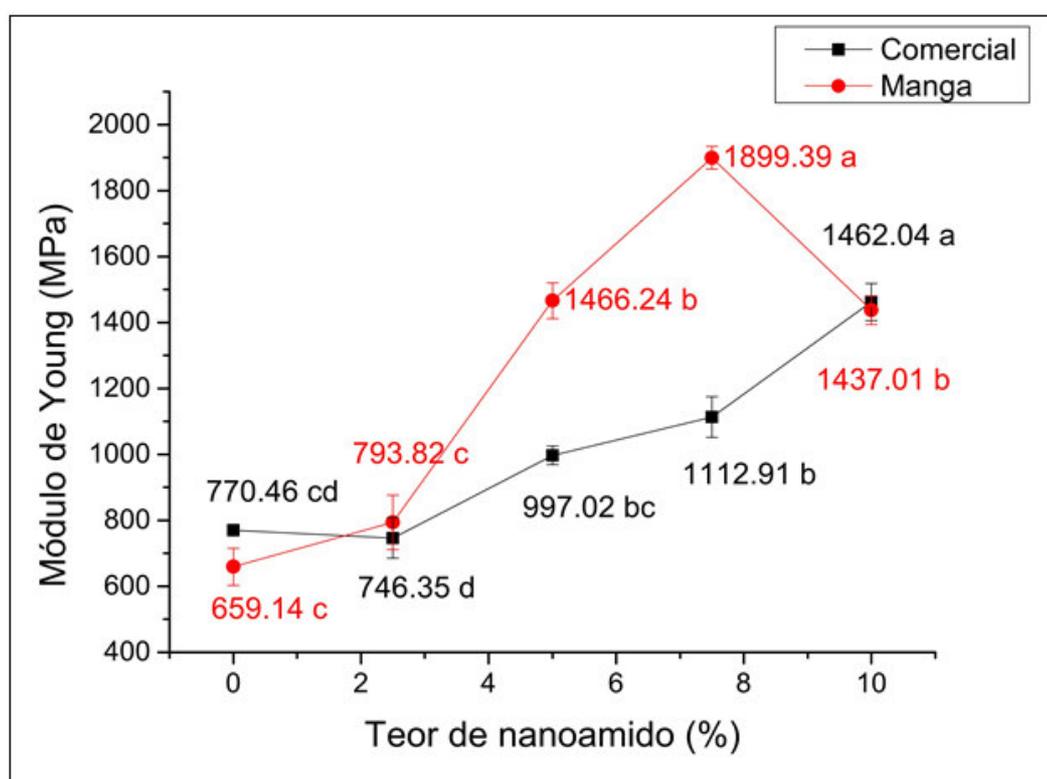
\*Valores expressos em médias das replicatas da análise. Letras distintas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Li *et al* (2015) obtiveram valores de ER que diminuiriam com a adição de NCA em uma matriz de amido de ervilha, até a concentração de 5% e voltaram a aumentar com concentrações maiores que esta, apesar de inferiores ao filme controle. Piyada *et al* (2013) encontraram valores de ER que variaram de 53% (com 5% de NCA) a 2,5% (para 30% de NCA).

Como esperado e relatado na literatura, a inserção de NCA conduz a uma drástica diminuição da ER, apesar de permitir que a RT aumente consideravelmente. A referida diminuição com a adição de carga rígida (nanocristais) é bem conhecida e têm relação com as diferenças na rigidez da matriz e agentes de reforço. A maior parte da deformação vem do polímero e devido à natureza rígida dos reforços, a elongação da matriz não preenchida é bem superior quando comparado aquela do nanocompósito (Piyada *et al*, 2013).

A elongação global de ambos os tipos de filmes não foi significativamente diferente uma da outra (já que os valores de t que não diferiram significativamente para essa propriedade, como pode ser observado na Tabela 9), indicando que os filmes de amido comercial e de manga não diferiram significativamente entre si quanto à elongação.

Figura 25. Módulo de Young de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.



\*Valores expressos em médias das replicatas da análise. Letras distintas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

A Figura 25 mostra a tendência do módulo de Young ou de Elasticidade (ME) a aumentar com a adição de nanocristais. Para os filmes de amido comercial, este aumento inicia-se na concentração 2,5%, é significativo a partir de 7,5% de NCA, atingindo o maior valor com 10%, que difere significativamente das demais concentrações. Para os filmes de amido de amêndoas de manga, o ME aumentou significativamente a 5% de NCA, atingindo o máximo valor a 7,5% NCA, mas teve

um decréscimo a partir da à concentração de 10%, que não diferiu significativamente do valor encontrado para a adição de 5%.

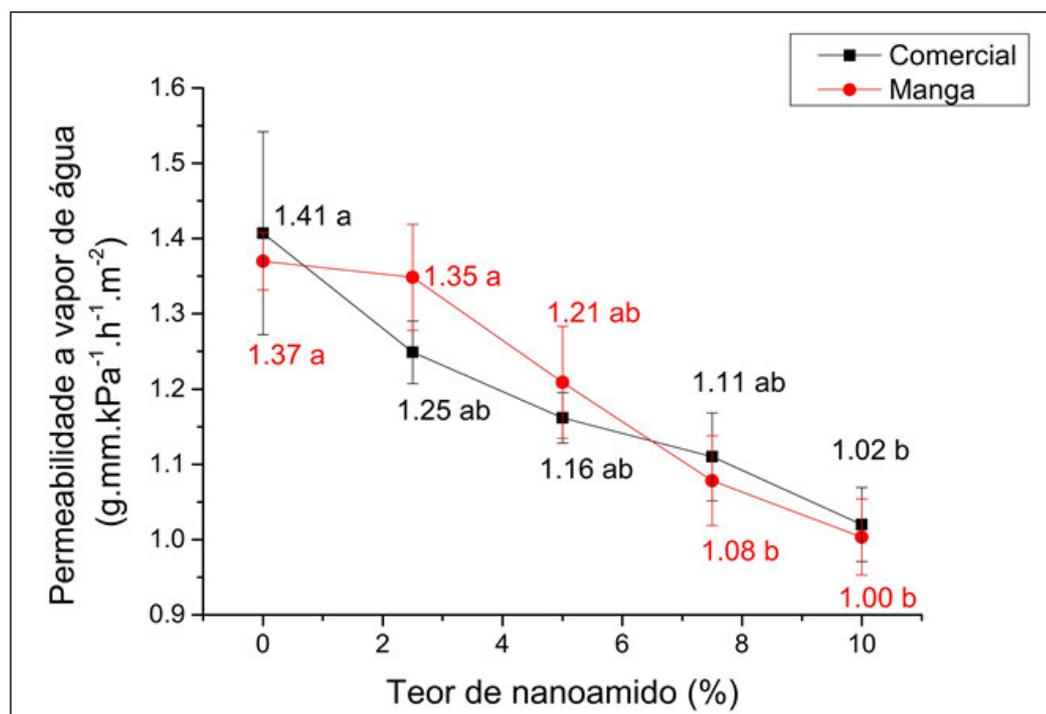
Angellier et al. (2006) avaliaram a influência que pequenas variações de plastificante (20, 25 e 30% m/m) têm sobre o ME e justificaram o uso de concentrações moderadas deste. Este trabalho mostra que, à medida que NCA são adicionados ao amido termoplástico, ocorre o aumento considerável do ME. Li et al (2015) obtiveram um aumento superior a 300% em tal propriedade mecânica de filmes de amido de ervilha com 5% de NCA (85,72 MPa) em relação ao controle (21,15 MPa).

De acordo com a Tabela 9, os valores globais de módulo de Young foram maiores para os filmes de amido de amêndoa de manga que para os de amido comercial, uma vez que o valor de t para tal propriedade foi significativo ( $p < 0,05$ ) e a média global de ME para os filmes de amido de manga foi maior que para os filmes de amido comercial, pode-se afirmar que eles são significativamente diferentes entre si.

#### **5.4.3. Permeabilidade a vapor de água**

A permeabilidade dos filmes a vapor de água (PVA) diminuiu gradativamente com a adição de NCA, sendo significativamente reduzida por 10% NCA (no caso dos filmes de amido comercial) e de 7,5% NCA (no caso dos filmes de amido de manga), conforme a Figura 26.

Figura 26. Permeabilidade a vapor de água de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.



\*Valores expressos em médias das replicatas da análise. Letras distintas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Dai et al (2015) reportaram uma diminuição significativa da PVA dos filmes de amido de taro à medida que o teor de NCA aumentou, sendo a menor PVA obtida no filme adicionado de 10% de reforço. Le Corre et al (2013) conseguiram melhorias da PVA em papéis revestidos com amido e NCA, em relação àqueles com revestimento apenas de amido plastificado, sendo a concentração de NCA de 5% suficiente para reduzir consideravelmente esta propriedade.

Piyada *et al* (2013) mencionaram um lento decréscimo da PVA em filmes de amido de arroz com um aumento da adição de NCA, explicado pela melhor resistência destes à água, em relação à matriz.

Os NCA provavelmente formam uma rede compacta, ocupando os espaços intersticiais da matriz, fazendo com que o permeado percorra um caminho tortuoso e dificultando a difusão através do nanocompósito. Para concentrações de NCA superiores a 15% (m/m), há uma forte tendência à formação de agregados, que podem propiciar a passagem contínua das moléculas de água e o aumento da PVA (Piyada *et al*, 2013).

O fator tortuosidade surge nesta discussão em virtude das similaridades morfológicas entre NCA e nanoargilas. A redução da permeabilidade ocorre a um

aumento no caminho de difusão que o permeante deve percorrer na presença de cargas (nanoreforços).

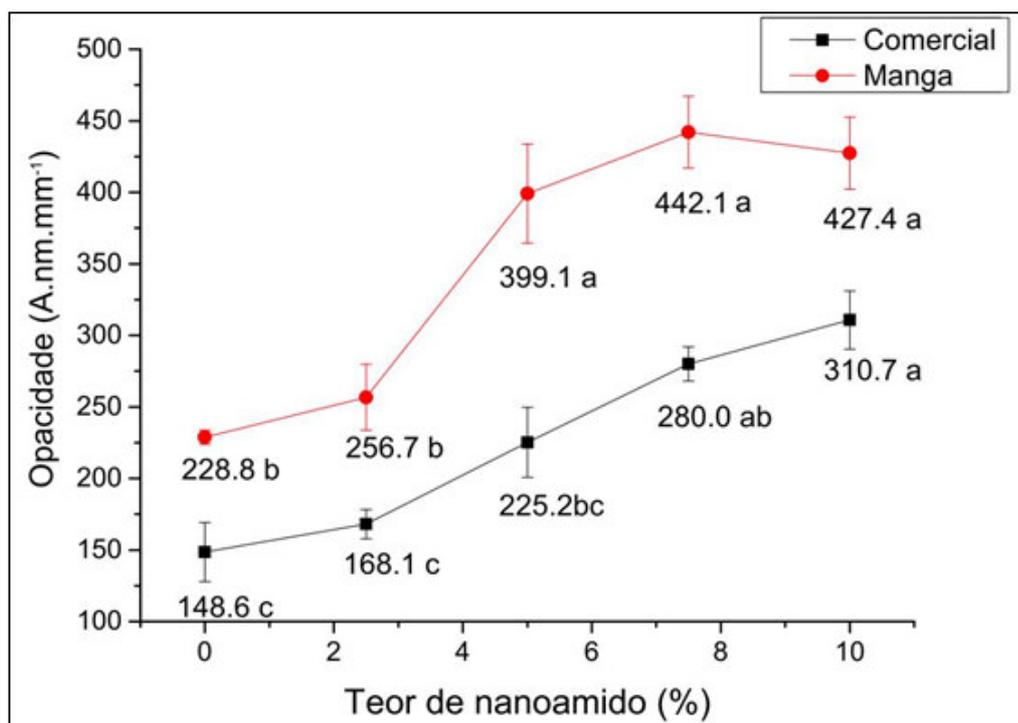
As médias globais de permeabilidade a vapor de água (Tabela 9) dos filmes de amido de amêndoa de manga não diferiram significativamente apresentaram médias globais de permeabilidade a vapor de água superiores àqueles dos encontrados para os filmes de amido comercial, já que o valor de  $t$  foi não significativo ( $p < 0,05$ ) para o referido parâmetro.

Desta forma, pode-se afirmar que houve diferença significativa entre as permeabilidades dos dois tipos de filmes, sendo os de amido de amêndoa de manga considerados os mais permeáveis.

#### **5.4.4. Opacidade**

A adição de NCA resultou em aumento de opacidade (OP) dos filmes (Figura 27). O aumento foi significativo a partir de 7,5% de NCA para os filmes de amido comercial e 5% para os filmes de amido de amêndoa de manga, tanto para os filmes de amido comercial quanto para os de amido de manga. Esse aumento de OP se deve à proporcionalidade deste parâmetro com a diferença entre o índice de refração: quanto maior for o índice de refração da carga (nanoreforço), maior será a dispersão da luz incidente no filme.

Figura 27. Opacidade de filmes bionanocompósitos de amido comercial e de manga.



\*Valores expressos em médias das replicatas da análise. Letras distintas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Esta dispersão é afetada pelo afastamento e tamanho médio das partículas. Logo, se as partículas forem muito pequenas, praticamente não serão detectadas pela luz, não sofrendo desvios e implicando em valores menores de opacidade (DU PONT, 2005). No presente estudo, os NCA, por serem incorporados aos espaços intersticiais da matriz de amido, impedem a transmitância de luz e conduz a uma maior OP.

Dai *et al* (2015) em estudo com amido de taro incorporado diferentes teores de NCA (2 a 15%), constataram que incrementos na concentração destes resultaram em, há um aumento significativo da opacidade. Ainda neste estudo, os autores também atribuíram o aumento da OP devido à formação de aglomerados de NCA. Li *et al* (2015) detectaram uma tendência do referido parâmetro aumentar com a progressiva adição de NCA em amido de ervilha, relatando ainda a capacidade de filmes mais opacos de proteger o conteúdo de uma embalagem da luz, o que é uma vantagem dependendo do fim para o qual se destine.

Como observado na Figura 28, os filmes de amido de amêndoa de manga apresentam uma cor amarelada quando comparada aos de amido comercial, o que

justifica a diferença significativa entre si para os valores de tal parâmetro, fato corroborado pelo valor de t significativo ( $p < 0,05$ ) para filmes com diferentes amidos. Por possuir valores e médias globais superiores àqueles de amido comercial, os filmes com maior opacidade são aqueles de amido de amêndoa de manga (conforme consta na Tabela 9).

Figura 28. Filmes amido de manga (NAM) e amido comercial (NAC) adicionado de diferentes concentrações de NCA (0%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) e efeito dessa adição na opacidade.

NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
NAM 0%	NAM 0%	NAM 2,5%	NAM 2,5%	%	NAM 5%	NAM 5%	%	NAM 7,5%	NAM 7,5%	NAM 10%	NAM 10%	
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%
%	NAC 0%	NAC 0%	%	NAC 2,5%	NAC 2,5%	%	NAC 5%	NAC 5%	NAC 7,5%	NAC 7,5%	NAC 10%	NAC 10%

Fonte: Próprio autor.

Tabela 9. Testes t pareados para diferenças entre propriedades de filmes de amido comercial e filmes de amido de amêndoa de manga.

Propriedades	Médias Globais		t	p
	Filmes de Amido Comercial	Filmes de Amido de Amêndoa de Manga		
RT	12,06	14,98	-3,56	<0,01
ER	11,52	11,02	0,29	0,78
ME	1055	1318	-3,13	<0,01
PVA	1,194	1,203	-0,24	0,81
OP	226,5	350,8	-10,04	<0,01

\*Médias de todas as replicatas de todos os tratamentos (diferentes teores de NCA). RT: resistência à tração (MPa); ER: alongação na ruptura (%); ME: módulo de Young ou de Elasticidade (MPa); PVA: permeabilidade a vapor de água ( $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{kPa}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ); OP: opacidade ( $\text{A}\cdot\text{nm}\cdot\text{mm}^{-1}$ ).

Diante dos resultados para as propriedades de barreira, ópticas e mecânicas, o filme selecionado para análises quanto à microscopia e propriedades térmicas, juntamente com o filme controle (sem adição de NCA), foi aquele com adição de 7,5% de NCA.

A Figura 29 mostra as curvas de DSC, referentes às amostras de filmes bionanocompósitos, todos apresentando picos endotérmicos. Os parâmetros térmicos (temperaturas de transição vítrea, de fusão e entalpias de gelatinização) dos filmes encontram-se na Tabela 10.

Figura 29. Curvas de DSC para amostras de filmes: a) controle de amido comercial (NAC 0%) e de amido de manga (NAM 0%); e b) com adição de 7,5% de NCA comercial (NAC 7,5%) e com adição de 7,5% de NCA de manga (NAM 7,5%).

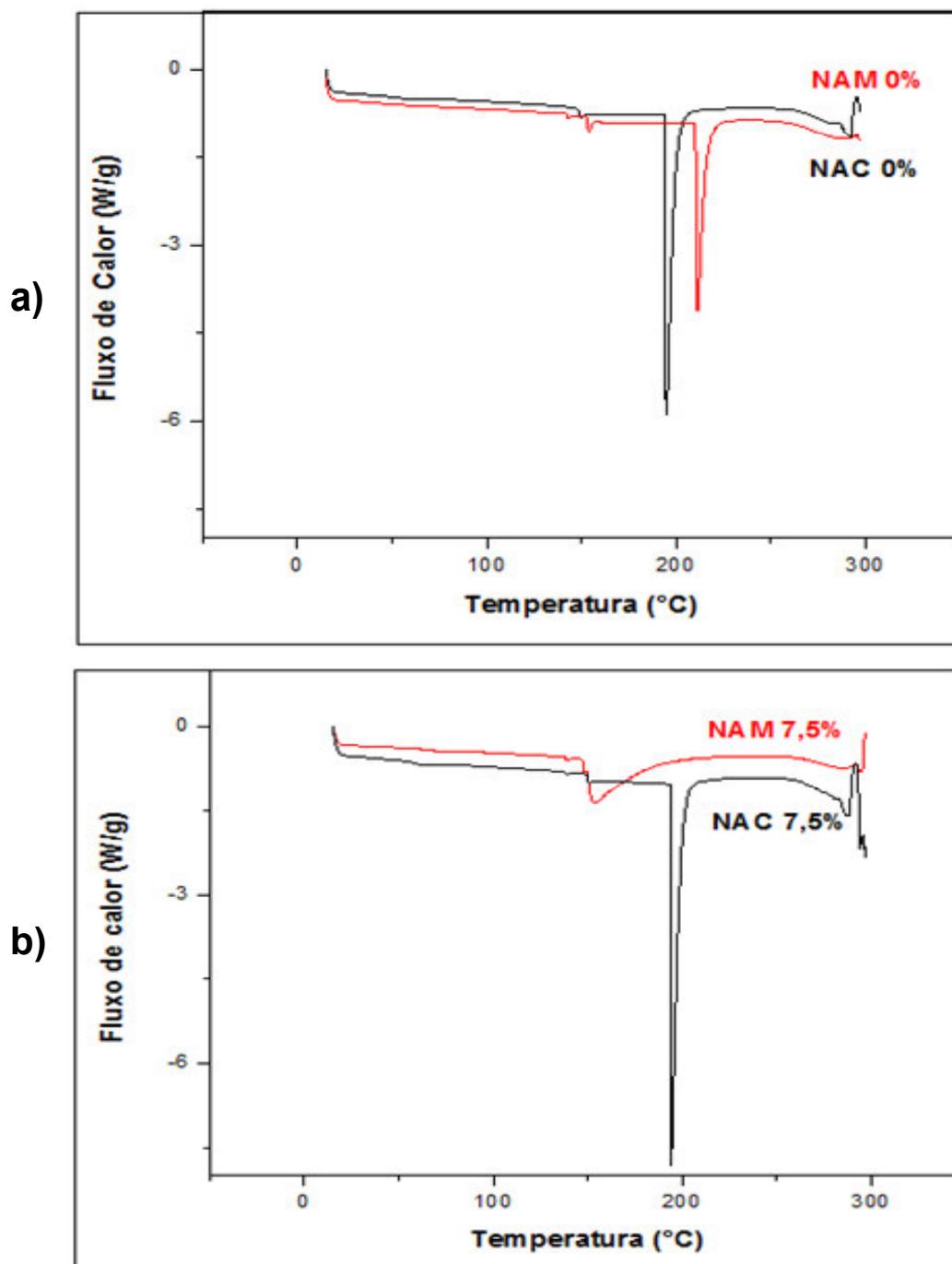


Tabela 10. Temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), fusão ( $T_m$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ ) para as amostras de filmes de amido comercial e de manga.

Amostra	$T_g$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_m$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H$ (J/g)
NAC 0%	153,4	195,7	5,9
NAM 0%	155,1	212,6	3,5
NAC 7,5%	139,3	195,7	7,8
NAM 7,5%	140,4	156,9	1,4

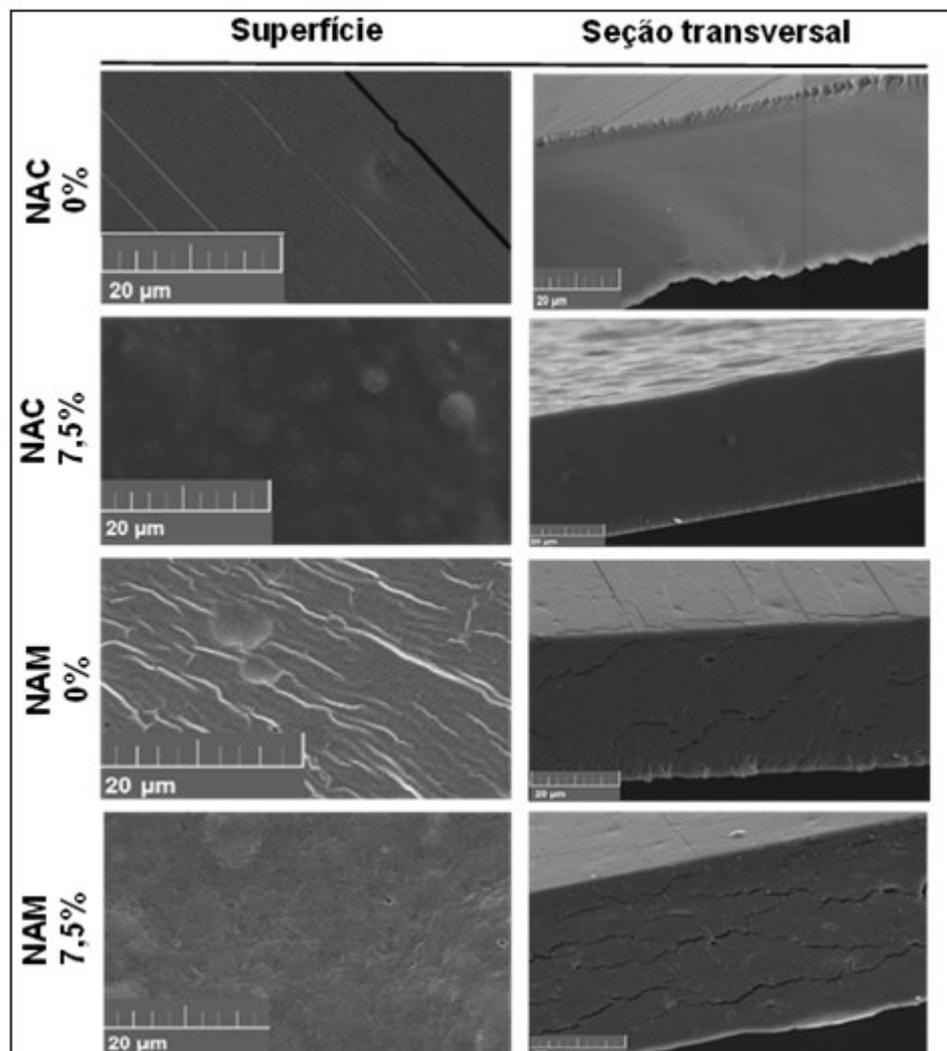
Com relação aos filmes de amido comercial, com a adição de NCA: a temperatura de transição vítrea diminuiu, a temperatura de fusão manteve-se inalterada e a entalpia aumentou (de 5,9 para 7,8 J/g). Já para os filmes de amido de manga, todos os parâmetros térmicos analisados ( $T_g$ ,  $T_f$  e  $\Delta H$ ) sofreram um decréscimo quando se adicionou NCA.

Segundo consta na literatura, para afirmar que a inserção de NCA influenciou na estabilidade térmica dos bionanocompósitos de amido, os filmes controle (no caso do presente trabalho, NAC 0% e NAM 0%) devem apresentar valores menores que os filmes adicionados de nanocristais, como indicativo das fortes interações entre NCA e a matriz polimérica. Com relação à entalpia, quanto maior tal valor, maior será a compatibilidade entre matriz e fase dispersa.

Dai *et al* (2015) encontraram pequenas diferenças de entalpia de filmes com e sem a adição de NCA. Pode-se afirmar a existência de fortes interações entre amido e NCA, em virtude das maiores temperaturas encontradas para filmes bionanocompósitos. Uma maior estabilidade térmica foi reportada por Li *et al* (2015) para filmes com inserção de 5% de NCA, apesar de concentrações superiores a esta terem demonstrado valores de entalpia decrescentes, provavelmente decorrentes do impedimento que maiores teores de enchimento causam à reorganização das cadeias poliméricas do amido.

As imagens de MEV das superfícies e seções transversais são apresentadas na Figura 30. A superfície do filme de amido comercial sem adição de NCA mostrou-se uniforme e quase totalmente lisa (com algumas ranhuras), adquirindo um aspecto mais heterogêneos (com presença de aglomerados) e rugoso para filme contendo 7,5% de NCA.

Figura 30. Micrografias (aumento de 2000x) da superfície e seção transversal de filmes de amido de manga (NAM) e amido comercial (NAC) com diferentes concentrações de NCA (0% e 7,5%).



Resultados semelhantes foram obtidos por Dai *et al.* (2015), Piyada *et al.* (2013) e Li *et al.* (2015). Os filmes de amido de taro com nanocristais de amido de milho obtidos por Dai *et al.* (2015) apresentaram-se mais irregulares à medida que se adicionam NCA, ocorrendo formação a formação de aglomerados a partir de 15% de NCA, indicando uma menor interação e adesão na interface entre NCA e a matriz.

Li *et al.* (2015) relataram que a adição de concentrações superiores a 7% de NCA resultaram em formação de agregados. Piyada *et al.* (2013) também mostraram

que filmes adicionados de 25% e 30% de NCA eram mais rugosos que seus controles.

As micrografias dos filmes de amido de manga demonstraram comportamento contrário ao reportado na literatura para filmes bionanocompósitos. A superfície do filme controle de amido de manga apresentou-se bastante irregular, com inúmeras rachaduras. Porém, a inserção de NCA conferiu a tais superfícies um aspecto mais homogêneo e compacto, ainda com a presença de algumas aglomerações, menos frequentes que nos filmes de amido comercial com a mesma concentração de NCA, sendo possível afirmar a existência de uma maior interação entre matriz polimérica e nanocristais.

No que diz respeito às micrografias das seções transversais criofraturadas, para os filmes de amido comercial com e sem adição de NCA, diferenças notórias não foram observadas. Já para os filmes de amido de manga, as rachaduras presentes na região criofraturada do controle aumentaram em número e intensidade com a adição de NCA, semelhantes a lamelas.

O aparecimento de espécies de “nanofios” nas seções fraturadas dos filmes é interessante e demanda investigação mais aprofundada. Li *et al.* (2015) também reportaram a formação destes nanofios, provavelmente devido à interação destas nanoestruturas com a amilose do amido de ervilha. Mencionaram também que para a adição de 5% de NCA, a estrutura da seção transversal tornou-se mais densa e com fissuras menos evidentes, possivelmente em virtude do grupo hidroxila da superfície do NCA com o grupo hidroxila na superfície do amido de ervilha.

Dai *et al.* (2015) relataram que as seções fraturadas dos filmes de amidos contendo diferentes concentrações de nanocristais apresentou estrutura de fratura lamelar, tornando-se mais densa com o acréscimo do conteúdo de nanocristais, até a lamela ser suavizada (para a concentração 15%) e a lamela desaparecer.

## 6. CONCLUSÕES

Foi possível extrair amido a partir da amêndoa de manga, agregando valor a este resíduo agroindustrial e obtendo um rendimento razoavelmente elevado (38,5%). De forma inédita na literatura, foram produzidos nanocristais de amido de manga por meio da combinação entre hidrólise ácida (método químico) e ultrassom (método físico), com rendimento considerável (31,66%).

A incorporação de nanoamido aos filmes mostrou-se promissora à melhoria das propriedades mecânicas e de barreira para ambos os tipos de amido. Quando comparados aos filmes equivalentes de amido de milho, os filmes de amido de amêndoa de manga apresentaram maior força e módulo globais, bem como uma opacidade aumentada, fato que pode ser atribuído à presença de fenólicos remanescentes da extração de amido.

A adição de 7,5% em peso de nanocristais aos filmes de amêndoa de manga duplicou a resistência à tração e mais que duplicou o módulo de elasticidade dos filmes, além de reduzir a permeabilidade ao vapor de água em cerca de 20% (quando comparado ao filme controle), embora a elongação fora reduzida consideravelmente e a transparência prejudicada.

## REFERÊNCIAS

- ABAM. Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. **Riquezas naturais do amido**. Ano II, nº 7, 2004. Disponível em: <<http://www.abam.com.br/revista/revista7/riquezas.php>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2015.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gerência-Geral Alimentos, Resolução - “CNNPA nº 12, de 1978”**, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 jul. 1978. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf)>.
- ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering**, 28, 1-63, 2000.
- ALMASI, A.; GHANBARZADEH, B.; ENTEZAMI, A.A.. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. **International Journal of Biological Macromolecules**, 46, 1-5, 2010.
- ALMEIDA, M. C. B. M. **Estudo para fins industriais das propriedades funcionais do amido nativo e modificado hidrotermicamente, provenientes de banana verde, variedade “prata”**. 126 p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar. Pombal- PB, 2013.
- ANDRADE MAHECHA, M. M. **Microcompósitos, nanocompósitos e coberturas à base de materiais biodegradáveis obtidos a partir do biri (Canna indica L.)**. 312 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2012.
- ANGELLIER, H.; CHOISNARD, L.; MOLINA-BOISSEAU, S.; OZIL, P.; DUFRESNE, A. Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. **Biomacromolecules**, 5, 1545–1551, 2004.
- ANGELLIER, H.; MOLINA-BOISSEAU, S.; DOLE, P.; DUFRESNE, A. Thermoplastic Starch-Waxy Maize Starch Nanocrystals Nanocomposites. **Biomacromolecules**, 7, 531-539, 2006.
- ASTM. **Standard test method for water vapor transmission of materials**. E96-00. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 907-914, 2000.
- ASTM. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-01**. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 162-170, 2001.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2014. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 104 p, 2015.

BEL HAAJ, S.; MAGNIN, A.; PÉTRIE, C; BOUFI, S. Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. **Carbohydrate Polymers**. 92, 1625, 2013.

BELLO-PÉREZ, L.A; APARICIO-SAGUILÁN, A.; MÉNDEZ-MONTEALVO, G.; SOLORZA-FERIA, J.; FLORES-HUICOCHEA, E. Isolation and Partial characterization of Mango (*Mangifera indica* L.) Starch: Morphological, Physicochemical and Functional Studies. **Plant Foods for Human Nutrition**. 60, 7-12, 2005.

BERGO, P.; MORAES, I.C.F.; SOBRAL, P.J.A. Effects of moisture content on structural and dielectric properties of cassava starch films. **Starch/Stärke**, 64, 835-839, 2012.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, E. M.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros biodegradáveis e Pólímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 6, 127-139, 2011.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. Campinas: Fundação Cargill, 2003. 3, 711p, 2003.

CEREDA, M.P. **Propriedades gerais do amido**. In: Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas. Campinas: Fundação Cargill, 1, 224 p, 2001.

CHEN, Y; CAO, X; CHANG, P. R.; HUNEAULT, M. A. Comparative study on the films of poly(vinyl alcohol)/pea starch nanocrystals and poly(vinyl alcohol)/native pea starch. **Carbohydrate Polymers**, 73, 8-17, 2008.

CHOUDALAKIS, G. ; GOTSIS, A.D. Permeability of polymer/clay nanocomposites: A review. **European Polymer Journal**, 45, 967-984, 2009.

CONDÉS, M.C; AÑÓN, M.C.; MAURI, A.N.; DUFRESNE, A. Amaranth protein films reinforced with maize starch nanocrystals. **Food Hydrocolloids**. 47, 146-157, 2015.

CORDEIRO, E. M. S.; NUNES, Y.L.; MATTOS, A. L. A.; ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M. S. M.; ITO, E. N. **Polymer biocomposites and nanobiocomposites obtained from mango seeds**. Macromolecular Symposia, 344, 39–54, 2014.

DAI, L.; QIU, C.; XIONG, L.; SUN, Q. Characterisation of corn starch-based films reinforced with taro starch nanoparticles. **Food Chemistry**. 174, 82-88, 2015.

DAL CASTEL. **Estudo sobre compatibilizantes em nanocompósitos de polipropileno-montmorilonita**. 95 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

DING, Y.; KAN, J.. Characterization of nanoscale retrograded starch prepared by a sonochemical method. **Starch Journal**. 68, 264-273, 2016.

DUNCAN, T. V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal of Colloid and Interface Science**. 363, 1–24, 2011.

DUFRESNE, A.; CAVAILLE, J. New Nanocomposite Materials: Microcrystalline starch reinforced thermoplastic. **Macromolecules**, 29, n. 96, 7624–7626, 1996.

ELIASSON, A. C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York; Boca Raton, CRC Press, 2004.

FAMÁ, L.; ROJAS, A.M.; GOYANES, S.; GERSCHENSON, L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, 38, 631-639, 2005.

FAO, **Food and Agricultural Organization**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 16 de junho de 2014.

FENNEMA, O.R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L. **Química de Alimentos de Fennema**. Ed. Artmed, 4º Edição, 2010.

FONTES, L.C.B.; SIVI, T.C.; RAMOS, K.K.; QUEIROZ, F.P.C. **Efeito de antioxidantes na prevenção de escurecimento enzimático de batata doce (*Ipomoea batatas*) e inhame (*Dioscorea spp.*)**. PUBLICATIO UEPG Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias, Ponta Grossa, 15(3), 167-174, 2009.

FRANCO, M. R. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANCAS, F. M. Compostos Voláteis de Três Cultivares de Manga (*Mangifera indica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24, n.2, 165-169, 2004.

GARDNER, D. J.; OPORTO, G. S.; MILLS, R.; AZIZI SAMIR, M. A. S. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, 22, 545-567, 2008.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, 57, n.1, 190-195, 1992.

GUERREIRO, L. M. R. **Estudo reológico dos amidos de amaranto, de mandioca e de suas misturas, sob condições de acidez e tratamento térmico**. 251 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2007.

HASSAN, L. G.; MUHAMMAD, A. B.; ALIYU, R. U.; IDRIS, Z. M. I; IZUAGIE, T.; UMAR, K.J.; SANI, N.A. Extraction and Characterisation of Starches from Four Varieties of *Mangifera indica* Seeds. **Journal of Applied Chemistry**, 3, 16-23, 2013.

HELMUT KAISER CONSULTANCY. **Bioplastics market worldwide 2010/ 11-2015-2020-2025**. Disponível em <<http://www.hkc22.com/bioplastics.html>>, 2012.

HENRIQUE, M. A.; SILVÉRIO, H. A.; FLAUZINO NETO, W. P.; PASQUINI, D. Valorization of agro-industrial waste, mango seed, by the extraction and characterization of its cellulose nanocrystals. **Journal of Environmental Management**. 121, 202-209, 2013.

HORN, M. M. **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades**. Tese (Doutorado). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Carlos, 146 p, 2011.

HULLEMAN, S.H.D.; KALISVAARTA, M.G.; JANSSENA, F.H.P.; FEILA, H.; VLIEGENTHART, J.F.G. Origins of  $\beta$ -type crystallinity in glycerol-plasticised, compression moulded potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, p.351-360, 1999.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO 6647. **Rice - Determination of amylose content - Part 1: Reference method**. 1ª Edição, 5 p, 2007.

IZIDORO, D. R. **Influência do pré-tratamento com ultra-som e da secagem nas propriedades químicas, físicas e funcionais do amido de banana verde**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: a review. **Food Bioprocess Technology**, 5, 2058-2076, 2012.

KIM, J.Y.; PARK, D.J.; LIM, S.T. Fragmentation of Waxy Rice Starch Granules by Enzymatic Hydrolysis. **Cereal Chemistry**, 85 (2), 182-187, 2008.

KIM, J.Y.; LIM, S.T. Preparation of nano-sized starch particles by complex formation with n-butanol. **Carbohydrate Polymers**, 76, 110-116, 2009.

KIM, H. Y.; HAN, J. A.; KWEON, D. K.; PARK, J. D.; LIM, S. T. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. **Carbohydrate Polymers**, 93, 582-588, 2013.

KIM, H. Y.; PARK, S. S.; LIM, S.T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 126, 607-620, 2015.

KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR-Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 3912-3918, 2002.

KRAMER, M. E. **Structure and function of starch-based edible films and coatings**. In M.E. Embuscado ; K.C. Huber (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications* (113-134). Philadelphia, USA: Springer, 2009.

LAMANNA, M.; MORALES, N. J.; GARCÍA, N. L.; GOYANES, S. Development and characterization of starch nanoparticles by gamma radiation: Potential application as starch matrix filler. **Carbohydrate Polymers**, 97, 90-97, 2013.

LA MANTIA, F. P.; MORREALE, M. **Green composites: A brief review. Composites: Part A**, 42, 579–588, 2011.

LE CORRE, D.; DUFRESNE, A.; RUEFF, M.; KHELIFI, B.; BRAS, J. All starch nanocomposite coating for barrier material. **Journal of Applied Polymer science**, 2014.

LE CORRE, D.; VAHANIAN, E.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Enzymatic Pretreatment for Preparing Starch Nanocrystals. **Biomacromolecules**, 13 132-137, 2011.

LECORRE, D., BRAS, J, DUFRESNE, A. Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties. **Carbohydrate Polymers**, 87, 658– 666, 2012.

LECORRE, D. **Starch nanocrystals: preparation and application to bio-based flexible packaging**, 2011, 450 p. Tese (Doutorado em Engenharia – Materiais, Mecânica, Energética, Ambiental, Processos de Produção). Universidade de Grenoble, 2011.

LECORRE, D, BRAS, J, DUFRESNE, A. Starch nanoparticles: a review. **Biomacromolecules**, 11, 1139-1153, 2010.

LI, X.; QIU, C.; JI, N.; SUN, C.; XIONG, L.; SUN, Q. Mechanical, barrier and morphological properties of starch nanocrystals-reinforced pea starch films. **Carbohydrate Polymers**, 121 ,155–162, 2015.

LIMA, F. F.; ANDRADE, C. T. Effect of melt-processing and ultrasonic treatment on physical properties of high-amylose maize starch. **Ultrasonics Sonochemistry**, 17, 637-641, 2010.

LIN, N.; JUANG, J.; CHANG, P. R.; ANDERSON, D. P.; YU, J. Preparation, Modification, and Application of Starch Nanocrystals in Nanomaterials: A Review. **Journal of Nanomaterials**, 1–13, 2011.

LIU, D.; WU, Q.; CHEN, H.; CHANG, P. R. Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro to nanometer. **Journal of Colloid and Interface Science**, 339, 117-124, 2009.

MA, X.; JIAN, R.; CHANG, P. R.; YU, J. Fabrication and Characterization of Citric Acid-Modified Starch Nanoparticles/Plasticized-Starch Composites. **Biomacromolecules**, 9, 3314-3320, 2008.

MALI, S.; SAKANAKA, L. S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, 60, 283-289, 2011.

MENDES, B. A. B. **Obtenção e Caracterização de Farinha a partir da Casca de Abacaxi e de Manga**. Itapetinga – BA: UESB. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos – Ciência e Tecnologia de Alimentos), 2013.

MIRHOSSEINI, H.; TAN, C. P.; HAMID, N. S. A.; YUSOF, S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on zeta-potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 315, n.1-3, 47-56, 2008.

MORAES, J. O.; SCHEIBE, A. S.; SERENO, A.; LAURINDO, J. B. Scale-up of the production of cassava starch based films using tape-casting. **Journal of Food Engineering**, 119, 800-808, 2013.

MOTA, R. F. D. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de Lírio-do-Brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de Fruto-do-Lobo (*Solanum lycocapum* St. Hill)**. Anápolis, 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares), Universidade Estadual de Goiás, 2009.

MOURA, W.S. **Extração e Caracterização do amido do *Hedychium Coronarium* e Elaboração de Filmes Biodegradáveis**. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares), Universidade Estadual de Goiás. 96 p., 2008.

NACHTERGAELE, W.; VAN NUFFEL, J. Starch as stilt material in carbonless copy paper – New developments. **Starch/Starke**, 41,10, 386-392, 1989.

NUNES, L. S. **Obtenção de amido de inhame e sua utilização no preparo de alimentos à base de leite**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais. Campina Grande, 124 p.,2009.

OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations (OECD/FAO). (2015). **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2024**. OECD Publishing, Paris. Disponível em [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2015-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en).

PASSADOR, F. R.; TRAVAIN, D. R.; BACKES, E. H.; RUVOLLO FILHO, A. C. PESSAN, L. A. Nanocompósitos de blendas HDPE/LLDPE e OMMT – Parte II: avaliação das propriedades térmica, óticas e de transporte a gases. **Polímeros**, 23, n. 6, 748-757, 2013.

PELLISSARI, F. M.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARISTZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V. E. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, 1-6, doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.09.004, 2011.

PENA-SERNA, C.; LOPES-FILHO, J. F. Influence of ethanol and glycerol concentration over functional and structural properties of zein - oleic acid films. **Materials Chemistry and Physics**, 142, 580 – 585, 2013.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 118 p., 2003.

PINTO, ACQ, BRAGA, MF, JUNQUEIRA, NTV, RAMOS, VHV, FALEIRO, FG, ANDRADE, SRM, CORDEIRO, MCR, DIAS, JN, LAGE, DAC (2005). **Programa de melhoramento genético da manga e a nova cultivar BRS Ômega para o cerrado brasileiro**. Comunicado Técnico 117. Embrapa Cerrados, Planaltina.

PINTO, V. Z. **Pré-tratamentos na produção de nanocristais de amido de pinhão e feijão**. 2014, 124f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

PIYADA, K.; WARANYOU, S.; THAWIEN, W. Mechanical, thermal and structural properties of rice starch films reinforced with rice starch nanocrystals. **International Food Research Journal**, 20, 439-449, 2013.

PLANTOGRAM. **Mango tree Tommy Atkins variety grafted**. Disponível em: [https://plantogram.com/product/mango\\_tommy\\_atkins/](https://plantogram.com/product/mango_tommy_atkins/). Acesso em 15 de julho de 2015.

PRADELLA, J. G. C. **Biopolímeros e intermediários químicos**. Relatório técnico do Centro de tecnologia de processos e produtos - Laboratório de tecnologia industrial LBI/CTPP. São Paulo, 2006. Disponível em: <[http://www.anbio.org.br/pdf/2/tr06\\_biopolimeros.pdf](http://www.anbio.org.br/pdf/2/tr06_biopolimeros.pdf)>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2015.

ROLLAND-SABATÉ, A.; SÁNCHEZ, T.; BULÉON, A.; COLONNA, P.; JAILLAIS, B.; CEBALLOS, H.; DUFOUR, D. Structural characterization of novel cassava starches with low and high-amylose contents in comparison with other commercial sources. **Food Hydrocolloids**, 27, 161–174, 2012.

SANTOS, L.S.; BONOMO, R. C. F.; FONTAM, R. C. I.; BONOMO, P.; LEITE, C. X. S.; SANTOS, D. O. Efeito dos métodos de extração na composição, rendimento e

propriedades da pasta de amido obtido de semente de jaca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, 15, 3, 255-261, 2013.

SHI, A.M.; LI, D.; WANG, L.J.; LI, B.Z.; ADHIKARI, B. Preparation of starch-based nanoparticles through high-pressure homogenization and miniemulsion cross-linking: Influence of various process parameters on particle size and stability. **Carbohydrate Polymers**, 83, 1604-1610, 2011.

SHI, A. M., WANG, L. J., LI, D., & ADHIKARI, B. Characterization of starch films containing starch nanoparticles. Part 1: Physical and mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, 96, 593–601, 2013.

SILVA, G. A. S.; CAVALCANTI, M. T.; ALMEIDA, M. C. B. M.; ARAÚJO, A. S.; CHINELATE, G. C. B.; FLORENTINO, E. R. Utilização do amido da amêndoa da manga Tommy Atkins como espessante em bebida láctea. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17, 1326-1332, 2013.

SOGI, D. S.; SIDDIQ, M.; GREIBY, I.; DOLAN, K. D. Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. **Food Chemistry**, 141, 2649-2655, 2013.

SONTHALIA, M., SIKDAR, D. C. Production of starch of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel and its characterization. **International Journal of Technical Research and Applications**. 3, 346-349, 2015.

SONWAI, S.; KAPHUEAKNGAM, P.; FLOOD, A. Blending of mango kernel fat and palm oil mid-fraction to obtain cocoa butter equivalent. **Journal Food Science and Technology**, 51, 2357-2369, 2014.

SUN, Q.; GONG, M.; LI, Y.; XIONG, L. Effect of retrogradation time on preparation and characterization of proso millet starch nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, 111, 133-138, 2014.

TAN, Y.; XU, K.; LI, L.; LIU, C.; SONG, C.; WANG, P. Fabrication of Size-Controlled Starch-Based Nanospheres by Nanoprecipitation. **ACS Applied Materials & Interfaces**, 1, 956-959, 2009.

TEXEIRA, E.M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. 201 p. Tese (Doutorado em Ciência Físico-Química) Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2007.

UNCTAD – United Nations Conference on Trade and Development. (2015). INFOCOMM – **Commodity profile. Mango**. Disponível em <<http://www.unctad.info/en/Infocomm/AACP-Products/COMMODITY-PROFILE---Mango/>>. Acesso em 15 de julho de 2015.

WAHL, G. Present Knowledge of the Maize Steeping Process. **Starch**, 21, 62-73, 1969.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, D. J. Functional Materials in Food Nanotechnology. **Journal of Food Science**; 71; n. 9; 107-116, 2006.

ZHAO, R.; TORLEY, P.; HALLEY, P.J. Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bio-nanocomposites. **Journal of Materials Science**, 43, 3058-3071, 2008.

ZHOU, G.; LUO, Z.; FU, X. Preparation of Starch Nanoparticles in a Water-in-Ionic Liquid Microemulsion System and Their Drug Loading and Releasing Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, 8214-8220, 2014.

ZHOU, G.; LUO, Z.; FU, X. **Preparation and characterization of starch nanoparticles in ionic liquid-in-oil microemulsions system. Industrial Crops and Products**, 52, 105-110, 2014.

ZOBEL, H.F. Molecules to granules: A comprehensive starch review. **Starch/Starke**, 40, 44-50, 1988.

ZUO, J. Y.; KNOERZER, K.; MAWSON, R.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. **Ultrasonics Sonochemistry**, 16(4), 462-468, 2009.