



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO
MODIFICADO POR RETICULAÇÃO, ACETILAÇÃO E COM
ADIÇÃO DE LIPÍDIO E CELULOSE BACTERIANA**

VIVIAN CONSUELO REOLON SCHMIDT MEIRA
Engenheira de Alimentos

**Florianópolis/SC
2012**

VIVIAN CONSUELO REOLON SCHMIDT MEIRA

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO
MODIFICADO POR RETICULAÇÃO, ACETILAÇÃO E COM
ADIÇÃO DE LIPÍDIO E CELULOSE BACTERIANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. João Borges Laurindo

**Florianópolis/SC
2012**

Folha de assinaturas

"Tive seis honestos servidores que me ensinaram tudo o que sei, seus nomes eram: ONDE, O QUE, QUANDO, POR QUE, COMO E QUEM."

Rudyard Kipling

AGRADECIMENTOS

Não conseguimos nada sozinhos e as nossas realizações, sejam elas pequenas ou grandes, são resultantes de persistência e de trabalho em conjunto. O apoio, seja ele profissional ou moral, é de vital importância. Agradecer vai além do simples gesto de gratidão, traz o reconhecimento ao esforço alheio e a satisfação de saber que se pode contar com outras pessoas. Por isso, aqui ficam alguns agradecimentos da minha parte.

À Deus pela força sempre presente em minha vida e por me ajudar a não desistir nunca.

Ao Professor João Borges Laurindo pela orientação e apoio prestado durante este trabalho e por todos os anos de convivência.

Aos professores membros da banca examinadora.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Ao Programa de pós-graduação de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade.

Pela colaboração e amizade da Jaqueline, Barbara, Marta, Darlene, Daniel, Jonhy, Luis Gustavo, Giustino, Marielli, Kessiane, Cristiane e aos demais colegas de laboratório.

À profa. Edna pela ajuda, apoio e momentos de conversas.

A todos os amigos e colegas da pós-graduação.

A todos os meus amigos, em especial Stephan, Maria, Ivonete, Vanessa e Sandra pelo apoio nas horas mais difíceis.

Ao meu irmão, Marcio, e minha cunhada, Rafaela, pelo apoio, carinho e pela família maravilhosa que formamos.

Ao Fabiano pelo amor, companherismo e paciência nesses anos convividos.

Aos meus pais (*em memória*) por todo amor, carinho, paciência, por terem me ensinado a ser responsável em tudo e por estarem sempre me protegendo. Hoje eu sei que o amor vai além das dimensões terrenas. Eu quero que vocês saibam que eu sempre vou amá-los.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos obstáculos, que serviram como fonte de superação e de amadurecimento e que reforçaram a minha escolha por este caminho.

Vivian Consuelo Reolon Schmidt Meira

RESUMO

Os amidos de diversas origens (mandioca, milho e arroz, por exemplo) têm sido estudados como fonte renovável e de baixo custo na produção de filmes biodegradáveis. Os filmes de amido apresentam boas propriedades de barreira ao oxigênio e a óleos, mas são higroscópicos e bastante permeáveis ao vapor de água, além de apresentarem baixa resistência mecânica. Neste contexto, este trabalho estudou alternativas para a melhoria dessas propriedades. As alternativas estudadas para modificação do amido foram: i) reticulação do amido com epícloridrina e ii) acetilação do amido e, para a adição de componentes hidrofóbicos e de reforço foram: iii) adição de ácido esteárico e iv) adição de celulose bacteriana. Os filmes de todos os estudos foram preparados pelo método 'casting'. No estudo da reticulação do amido estudou-se a concentração de epícloridrina de 5, 10, 15, 20, 25 e 30g/100 g amido; a reação em diferentes pH (5, 6, 7, 8 e 9); o efeito do glicerol adicionado antes e depois da reticulação e a reticulação do grânulo de amido. No estudo da acetilação do amido, obteve-se acetato de amido com dois diferentes graus de substituição (GS): 0,6 e 1,1, para as temperaturas de reação de 20 °C e 47 °C, respectivamente. Os filmes de acetato de amido foram preparados com os dois diferentes GS (0,6 e 1,1) e com duas concentrações de glicerol (25 g e 30 g glicerol/100 g acetato de amido). No estudo da adição de lipídios, o ácido esteárico foi adicionado na suspensão filmogênica na concentração de 5–20g de ácido esteárico/100 g amido e, posteriormente, o efeito do ácido esteárico e do glicerol foi analisado pela metodologia de superfície de resposta (MSR) nas concentrações de glicerol de 21,76–30,24g/100 g amido e nas concentrações de ácido esteárico de 3,76–12,24 g/100 g amido. As suspensões foram preparadas por um processo de emulsificação sob agitação à velocidade de 200 Hz (12.000 rpm), usando um agitador Turrax. No estudo da adição de fibras de celulose bacteriana em filmes de acetato de amido, dois métodos foram estudados: filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana em concentração de 2,5, 7,5 e 12,5g/100 g acetato e acetato de amido adicionado no meio de cultivo para obtenção de celulose bacteriana. Os filmes de amido reticulados apresentaram redução na permeabilidade ao vapor de água ($2,40 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa) e na solubilidade em água (20%) quando comparados aos filmes de amido nativo (PVA $\cong 3,70 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa; S $\cong 31\%$). Os filmes de acetato de amido elaborados com GS de 0,6 apresentaram maiores resultados de tração na ruptura e módulo de young que os filmes elaborados com GS de 1,1. Os filmes de acetato de amido apresentaram maiores propriedades mecânicas (com GS de 0,6 – 8 MPa de tração e 20% alongamento na ruptura; com GS de 1,1 – 6, 25 MPa de tração e 20% de alongamento na ruptura) e menor permeabilidade ao vapor d'água ($2,40 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa) e solubilidade em água (21%) quando comparados aos filmes de amido nativo. Os filmes de amido com adição de ácido esteárico tiveram suas propriedades mecânicas reduzidas. A formulação obtida após o método estatístico foi 4 g de ácido esteárico e 24 g glicerol/100 g amido. Os filmes preparados com esta formulação apresentaram maiores propriedades mecânicas (10,4 MPa de tração e 6,0% de alongamento na ruptura, 5 N de força na ruptura e 5,5% de deformação no teste de perfuração) e menores permeabilidades ao vapor d'água ($\cong 1,93 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa) e solubilidade em água (25%) quando comparados aos filmes de amido nativo. Os filmes de acetato de amido com adição de nanofibras tiveram maiores propriedades mecânicas quando comparadas com filmes de acetato de amido. A tensão na ruptura e no módulo de elasticidade aumentou para maiores concentrações de celulose bacteriana e com a adição de acetato de amido na membrana de celulose bacteriana. A permeabilidade ao vapor de

água foi menor para as membranas de celulose bacteriana ($7,69 \pm 0,2 \times 10^{-8} \text{ g/m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa}$) do que para os filmes de acetato de amido adicionados de celulose bacteriana ($3,50 \pm 0,2 \times 10^{-7} \text{ g/m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa}$). Os resultados indicam que as estratégias utilizadas neste trabalho para melhorar as propriedades de tração e de permeabilidade ao vapor de água dos filmes tiveram bons resultados para os estudos de acetilação do amido e adição de nanofibras bacterianas à suspensão filmogênica.

Palavras chaves: modificações, biodegradáveis, amido, biofilmes, nanofibras, lipídios.

ABSTRACT

Starches from several sources (cassava, maize and rice, for example) have been investigated as renewable, low cost sources in the production of biodegradable films. Starch films show good barrier properties to oxygen and lipids but are hygroscopic and highly permeable to water vapor, as well as present low mechanical strength. Thus the present study examined alternatives to improve these properties. The alternatives studied to modification starch were: i) crosslinking the starch with epichlorohydrin and ii) the starch acetylation reaction and, to addition of hydrophobic and reinforcing components were: iii) addition of lipids and iv) addition bacterial cellulose. The starch films were prepared by 'casting' method. In the study of the starch crosslinking reaction, different epichlorohydrin concentrations were studied: 5, 10, 15, 20, 25 and 30 g/100 g starch; reaction at different pH values (5, 6, 7, 8 and 9); effect of the addition of glycerol before and after the crosslinking reaction and crosslinking of the whole starch granule. In the study of starch acetylation, starch acetate with two different degrees of substitution (DS), of 0.6 and 1.1, was obtained at reaction temperatures of 20 °C and 47 °C, respectively. Starch acetate films were prepared with two different DS (0.6 and 1.1) and two glycerol concentrations (25 g and 30 g glycerol/100 g starch acetate). In the study of adding lipids, stearic acid was added to the starch filmogenic suspension at concentrations of 5–20 g/100 g starch. In sequence, the effects of stearic acid and glycerol were analyzed by response surface methodology (RSM), using stearic acid concentrations of 3.76–12.24 g/100 g starch and glycerol concentrations of 21.76–30.24 g/100 g starch. The suspensions were prepared by an emulsification process with a stirring speed of 200 Hz (12.000 rpm) using a Turrax stirrer. In the study of addition bacterial cellulose to the starch acetate films, two methods were studied: the addition of bacterial cellulose to the starch acetate films at concentrations of 2.5, 7.5 and 12.5 g/100 g starch acetate, and the addition of starch acetate to the culture medium to obtain membrane bacterial cellulose. The crosslinked starch films showed reduced water vapor permeability ($WVP \cong 2.40 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa) and reduced solubility in water ($S \cong 20\%$) as compared to the native starch films ($PVA \cong 3.70 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa; $S \cong 31\%$). Starch acetate films prepared with 0.6 DS showed better results than those prepared with 1.1 DS. The starch acetate films showed better mechanical properties (with 0.6 DS – 8 MPa tensile strength and 20% elongation at break, and with 1.1 DS – 6.25 MPa tensile strength and 20% elongation at break), reduced water vapor permeability (2.40×10^{-7} g·m/m²·h·Pa) and reduced solubility in water (21%), as compared to native starch films. Starch films with added stearic acid showed reduced mechanical properties. The optimal condition obtained by a statistical method consisted of 24 g stearic acid and 4 g glycerol/100 g starch. The films prepared with this formulation showed improved mechanical properties (10.4 MPa of tensile strength and 6% of elongation at break, 5N of puncture force and 5.5% of puncture deformation), reduced water vapor permeability ($\cong 1.93 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa) and reduced solubility in water (25%) as compared to native starch films. The tensile strength and elasticity modulus increased with higher concentrations of bacterial cellulose in the starch acetate films and with the addition of starch acetate to the bacterial cellulose membrane. In general, the water vapor permeability was lower for the bacterial cellulose membranes ($7.69 \pm 0.2 \times 10^{-8}$ g·m/m²·h·Pa), than for the starch acetate films with added bacterial cellulose ($3.50 \pm 0.2 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa). The results indicated that the strategies used in this study to improve the mechanical strength and water vapor permeability had good results in the

studies with starch acetylation and the addition of bacterial cellulose to the filmogenic suspension.

Keywords: modification, biodegradable, starch, biofilms, nanofibers, lipids.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	31
CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
1.1 Polímeros Biodegradáveis.....	36
1.2 Amido.....	38
1.3 Biofilmes à base de amido.....	43
1.3.1 Propriedades mecânicas.....	45
1.3.2 Propriedades de barreira.....	47
1.3.3 Solubilidade em água.....	48
1.4 Modificações do amido como estratégia para melhorar as propriedades dos biofilmes.....	49
1.4.1 Reticulação de amido.....	61
1.4.1.1 Reticulação do amido com epícloridrina.....	67
1.4.2 Acetilação do amido.....	71
1.4.3 Adição de compostos lipídicos na solução filmogênica.....	77
1.4.4 Fibras Naturais.....	79
1.4.4.1 Uso de celulose como reforço em materiais poliméricos.....	81
1.4.4.2 Celulose Bacteriana.....	82
CAPÍTULO 2 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	85
2.1 Caracterização do Amido.....	85
2.1.1 Teor de umidade.....	85
2.1.2 Teor de cinzas.....	85
2.1.3 Teor de amilose.....	86
2.1.4 Densidade absoluta.....	86
2.1.5 Índice de inchamento e solubilidade.....	86

2.1.6 Viscosidade intrínseca.....	87
2.2 Filmes obtidos por reação de reticulação do amido com epícloridrina.....	87
2.2.1 Preparo dos filmes pelo método homogêneo da reação de reticulação.....	88
2.2.2 Preparo dos filmes pelo método heterogêneo da reação de reticulação.....	90
2.3 Filmes de acetato de amido obtidos por reação de acetilação do amido.....	90
2.3.1 Acetilação do amido.....	90
2.3.2 Grau de Substituição (GS).....	91
2.3.3 Preparo dos filmes.....	91
2.4 Filmes de amido com adição de ácido esteárico.....	92
2.4.1 Preparação dos filmes com adição de ácido esteárico.....	92
2.4.2 Efeito das concentrações de glicerol e de ácido esteárico.....	94
2.5 Filmes de amido com adição de celulose bacteriana.....	95
2.5.1 Obtenção da celulose bacteriana.....	95
2.5.2 Preparo das fibras de celulose bacteriana.....	96
2.5.3 Preparo dos filmes de acetato de amido com celulose bacteriana.....	96
2.5.4 Preparo das membranas celulósicas com acetato de amido.....	97
2.6. Caracterização dos Filmes.....	98
2.6.1 Testes mecânicos.....	98
2.6.2 Solubilidade em água.....	98
2.6.3 Permeabilidade dos filmes ao vapor de água (K_w).....	99
2.6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	99
2.6.5 Isotermas de Sorção de umidade.....	100
2.6.6 Reologia.....	100

2.6.7 Microscopia confocal de varredura a laser (MCVL).....	101
2.6.8 Espectroscopia Infravermelha.....	101
CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	102
3.1 Caracterização do amido.....	102
3.2 Estudo da influência da reação de reticulação do amido com epícloridrina nas propriedades dos filmes biodegradáveis...	105
3.2.1 Efeito da concentração de epícloridrina nas propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes.....	105
3.2.2 Efeito do pH nas propriedades mecânicas dos filmes....	108
3.2.3 Caracterização físico-química dos filmes.....	110
3.2.4 Efeito da adição de glicerol nas propriedades dos filmes.....	116
3.2.5 Reação de reticulação heterogênea.....	117
3.3. Estudo das propriedades de filmes de acetato de amido com diferentes graus de substituição.....	118
3.3.1 Acetilação do amido.....	119
3.3.2 Caracterização do acetato de amido.....	119
3.3.3 Filmes de acetato de amido.....	125
3.4 Efeito da adição de ácido esteárico nas propriedades de filmes de amido.....	135
3.4.1 Efeito da concentração de ácido esteárico.....	135
3.4.2 Efeito da concentração de glicerol e ácido esteárico: análise estatística do planejamento experimental.....	138
3.4.3 Definição e caracterização de uma formulação escolhida.....	145
3.5 Estudo da incorporação de nanofibras de celulose bacteriana em filmes de acetato de amido.....	150
3.5.1 Celulose bacteriana liofilizada.....	150
3.5.2 Celulose bacteriana.....	151

3.5.3 Membranas de celulose bacteriana (MCB) com acetato de amido.....	155
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	163
CONCLUSÕES.....	167
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	168

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1 a) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. b) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. c) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento (Fonte: Adaptados de PARKER & RING, 2001).....	40
Figura 1.2. Representação esquemática da estrutura química e física da (a) amilose e (b) amilopectina (Fonte: LIU <i>et al.</i> , 2009).....	41
Figura 1.3 (a) Amido de mandioca em pó (b) Representação esquemática do grânulo de amido (Fonte: FENIMAN, 2004).....	43
Figura 1.4. Classificação das principais modificações do amido e de seus derivados (Fonte: Adaptado de CEREDA <i>et al.</i> , 2003).....	51
Figura 1.5. Representação das ligações cruzadas (a) no grânulo de amido e (b) localização das ligações sobre o amido gelificado (Fonte: CEREDA <i>et al.</i> , 2003).....	63
Figura 1.6. Estrutura química da epicloridrina (Fonte: SHIFTAN <i>et al.</i> , 2000).....	67
Figura 1.7 Formação da rede polimérica por reticulação do amido com a epicloridrina (Fonte: SHIFTAN <i>et al.</i> , 2000).....	67
Figura 1.8. Mecanismo da reação de amido com epicloridrina em meio alcalino (Fonte: KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b).....	69
Figura 1.9. Mecanismo da reação secundária do amido com epicloridrina em meio alcalino (Fonte: KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b).....	70
Figura 1.10 Diferentes modificações químicas para os amidos estabilizados com baixo grau de substituição (Fonte: CEREDA <i>et al.</i> , 2003).....	72
Figura 1.11. Equação de obtenção do acetato de amido pela reação do amido com anidrido acético (Fonte: SINGH <i>et al.</i> , 2007).....	75

Figura 1.12. Obtenção do acetato de amido pela reação do amido com ácido acético e anidrido acético, em presença do catalisador ácido sulfúrico (Fonte: LEPENIOTIS e FEUER, 1997).....	76
Figura 1.13 Influência da temperatura no grau de substituição (GS) (Fonte: LAROTONDA, 2002).....	77
Figura 1.14. Microscopia eletrônica de (a) celulose bacteriana ($\times 20.000$) e (b) celulose de plantas ($\times 200$) (Fonte: NAKAGAITO <i>et al.</i> , 2005).....	81
Figura 1.15. Micrografias da membrana externa (a) superfície mostrando rede de fibra óptica de alta densidade e (b) seção transversal da membrana e a complexa rede de fibra formada no interior (Fonte: Desconhecida).....	83
Figura 2.1. Fluxograma do preparo dos filmes de amido reticulados pelo método homogêneo e heterogêneo.....	89
Figura 2.2. Fluxograma do preparo dos filmes de amido adicionados com ácido esteárico.....	93
Figura 2.3 Recipiente utilizado para obtenção das membranas de celulose bacteriana.....	95
Figura 2.4 Fluxograma de preparo da celulose bacteriana.....	97
Figura 3.1. Solubilidade e poder de inchamento do amido de mandioca nativo.....	104
Figura 3.2. Solubilidade em água dos filmes para diferentes concentrações de epicloridrina.....	107
Figura 3.3. Micrografias das seções transversais dos filmes de (a) amido nativo ($\times 1500$) (b) amido reticulado com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação ($\times 600$) e (c) reação com pH 9 ($\times 1200$). Micrografias das superfícies dos filmes de (d) amido nativo ($\times 2000$) (e) amido reticulado com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação ($\times 500$) e (f) reação com pH 9 ($\times 500$).....	111

Figura 3.4. Isoterma de sorção de umidades e ajuste do modelo de GAB para os filmes reticulados com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).....	112
Figura 3.5. Permeabilidade ao vapor de água dos filmes reticulados com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).....	113
Figura 3.6. Espectros FTIR dos filmes de amido reticulado dos estudos com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).....	115
Figura 3.7. Reologia das suspensões filmogênicas do filme de amido e dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1.....	120
Figura 3.8. Micrografia dos amidos (a) amido nativo, (b) amido acetilado com GS de 0,6 e (c) amidos acetilados com GS de 1,1.....	122
Figura 3.9. Espectros FTIR do acetato de amido com 0,6GS e 1,1GS e do amido nativo.....	123
Figura 3.10. Solubilidade em água dos filmes de acetato de amido com diferentes GS e diferentes concentrações de glicerol. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).....	127
Figura 3.11. Isoterma de sorção de umidade de umidade dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1, sendo (A) com 25 g glicerol/100 g amido e (B) com 30 g glicerol/100 g amido. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).....	128
Figura 3.12. Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).....	130
Figura 3.13. Micrografias das superfícies dos filmes (a) amido nativo ($\times 2000$) (b) acetato de amido($\times 2000$). Micrografias das seções transversais dos filmes (c) amido nativo ($\times 1000$) (d) acetato de amido ($\times 1000$).....	131

Figura 3.14. Espectros FTIR dos filmes de acetato de amido com 0,6GS e 1,1GS e do filme de amido. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).....	132
Figura 3.15. Diagrama de contorno para tração e alongamento na ruptura em função da concentração de ácido esteárico e glicerol.....	142
Figura 3.16. Diagrama de contorno para força e deformação na perfuração em função da concentração de ácido esteárico e glicerol....	143
Figura 3.17. Diagrama de contorno para solubilidade em água em função da concentração de ácido esteárico e glicerol.....	144
Figura 3.18. Isotermas de sorção de umidade dos filmes dos filmes de amido, filme de amido com adição de ácido esteárico formulação otimizada (4 g de ácido esteárico/100 g amido seco, 24 g de glicerol/100 g amido seco) e filme de amido com adição de 10 g ácido esteárico/100 g amido seco.....	147
Figura 3.19. Micrografias das superfícies dos filmes (a) amido nativo (×2000) (b) amido com adição de ácido esteárico (×350). Micrografias das seções transversais dos filmes (c) amido nativo (×700) (d) amido com adição de ácido esteárico(×700).....	148
Figura 3.20. Micrografias obtidas pela microscopia confocal de varredura a laser para os filmes: (a) amido e ácido esteárico sem fluorescência, (b) amido e ácido esteárico associado com o corante FITC, (c) amido e ácido esteárico associado com o corante ‘Nile Red’, (d) amido associado com o corante FITC e ácido esteárico associado com o corante ‘Nile Red’.....	149
Figura 3.21 a) celulose bacteriana liofilizada, b) celulose bacteriana liofilizada e moída e c) filme de celulose bacteriana liofilizada.....	151
Figura 3.22 Filmes de acetato de amido com alta concentração de celulose bacteriana 20 g fibras/100g amido.....	152
Figura 3.23 Filmes de acetato de amido com baixas concentrações de celulose bacteriana 12,5 g fibras/100 g amido.....	152

Figura 3.24 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de acetato de amido adicionado de diferentes concentrações de celulose bacteriana.....	153
Figura 3.25 Micrografias: a) da superfície dos filmes de acetato de amido ($\times 5000$), b) da fratura dos filmes de acetato de amido ($\times 800$), c) da superfície do filme de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 500$) d) da fratura dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 1000$), e) da fratura dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 500$), f) da fratura dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 2000$).....	154
Figura 3.26 Membrana de celulose bacteriana com a adição de acetato de amido: a) obtida do meio de cultivo úmida e b) após secagem a vácuo.....	156
Figura 3.27 Membrana de celulose bacteriana formado no recipiente com o meio de cultivo.....	156
Figura 3.28. Espectros FTIR das membranas de celulose bacteriana com amido. (MCB autoclavado: acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura; MCB aquecido: acetato de amido adicionado no meio de cultura autoclavado e reaquecido a 70 °C por 5 minutos; MCB frio: acetato de amido adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado).....	157
Figura 3.29 Micrografias de superfícies das membranas de celulose bacteriana (MCB): a) sem acetato de amido, b) acetato de amido adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado, c) acetato de amido adicionado no meio de cultura autoclavado e reaquecido a 70 °C por 5 minutos, d) acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura. Micrografias das fraturas das membranas de celulose bacteriana: e) sem acetato de amido, f) acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura.....	160
Figura 3.30 Permeabilidade ao vapor de água das membranas de celulose bacterianas (MCB) e membrana de celulose bacteriana com acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultivo (MCB autoclavado).....	161

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 1.1. Classificação dos principais materiais utilizados para elaboração dos polímeros biodegradáveis.....	37
Tabela 1.2. Solubilidade em água de biofilmes.....	49
Tabela 1.3. Diferentes tipos de modificação e técnicas de preparação de amido modificado.....	53
Tabela 1.3. Diferentes tipos de modificação e técnicas de preparação de amido modificado (Continuação).....	54
Tabela 1.3. Diferentes tipos de modificação e técnicas de preparação de amido modificado (Continuação).....	55
Tabela 1.4. Algumas propriedades e modificações dos amidos modificados.....	56
Tabela 1.4. Algumas propriedades e modificações dos amidos modificados (Continuação).....	57
Tabela 1.5. Algumas reações comuns de modificações químicas de amido.....	59
Tabela 1.5. Algumas reações comuns de modificações químicas de amido (Continuação).....	60
Tabela 1.6. Resumo dos resultados obtidos por diferentes autores ao utilizar a reticulação como estratégia para melhorar as propriedades de filmes.....	64
Tabela 1.6. Resumo dos resultados obtidos por diferentes autores ao utilizar a reticulação como estratégia para melhorar as propriedades de filmes (Continuação).....	65
Tabela 1.6. Resumo dos resultados obtidos por diferentes autores ao utilizar a reticulação como estratégia para melhorar as propriedades de filmes (Continuação).....	66
Tabela 2.1. Codificação das amostras nos preparos dos filmes.....	92
Tabela 2.2. Matriz de Planejamento Composto Central com valores reais e codificados das variáveis ácido esteárico e glicerol.....	94

Tabela 3.1. Características físico-químicas das amostras de amido de mandioca.....	103
Tabela 3.2. Resultados de tensão e alongamento na ruptura, força e deformação na perfuração avaliando a concentração de epicloridrina....	105
Tabela 3.3. Resultados de tensão e alongamento na ruptura, força e deformação na perfuração avaliando os diferentes valores de pH.....	109
Tabela 3.4. Solubilidade em água dos filmes com diferentes faixas de pH testados.....	110
Tabela 3.5. Parâmetros do modelo de GAB para dados de sorção de umidade dos filmes elaborados pelos estudos de 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).....	113
Tabela 3.6. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR dos filmes de amido reticulado dos estudos com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).....	116
Tabela 3.7. Resultados das propriedades mecânicas e de barreiras para os filmes elaborados pelos dois diferentes processos com glicerol testados.....	117
Tabela 3.8. Resultados das propriedades mecânicas e de barreiras para filmes elaborados pelo processo heterogêneo.....	118
Tabela 3.9. Grau de substituição obtido em diferentes temperaturas.....	119
Tabela 3.10. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR do acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do amido nativo.....	124
Tabela 3.11. Tensão e alongamento na ruptura dos filmes de acetato de amido condicionados à umidade relativa (UR) de (A) 58% e (B) 75%. (AN, amido nativo; 25 GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30 GL, 0,30 g glicerol/g amido).....	125
Tabela 3.12. Parâmetros de ajuste do modelo de GAB para dados de sorção de umidade dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).....	129

Tabela 3.13. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR do filme de acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do amido nativo.....	133
Tabela 3.14. Propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes de amido com diferentes concentrações de ácido esteárico.....	136
Tabela 3.15. Matriz de Planejamento Composto Central com valores reais e codificados das variáveis e respostas para permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas (TS, PF, ϵ , DP).....	139
Tabela 3.16. Análises de variância (ANOVA) das variáveis de respostas do planejamento experimental.....	140
Tabela 3.17. Análises de variância (ANOVA) das variáveis de respostas do planejamento experimental (Continuação).....	140
Tabela 3.18. Caracterização dos filmes de amido de mandioca adicionados de ácido esteárico elaborados com a formulação obtida pelo planejamento experimental (4 g de ácido esteárico/ 100 g amido seco e 24 g de glicerol/100 g amido seco).....	146
Tabela 3.19. Parâmetros de ajuste do modelo de GAB para dados de sorção de umidade dos filmes de amido com adição de ácido esteárico.....	147
Tabela 3.20. Resultados de tensão na ruptura, alongamento na ruptura e módulo de Young para os filmes de acetato de amido com celulose bacteriana.....	153
Tabela 3.21. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR do acetato de amido e das membranas de celulose bacteriana.....	158
Tabela 3.22. Resultados de tensão na ruptura, alongamento na ruptura e módulo de Young para as membranas de celulose bacteriana com acetato de amido.....	161
Tabela 4.1 Resumo das principais propriedades dos filmes estudados.....	166

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

EPI	Epicloridrina
EPI1	Filmes reticulados com 15 g epicloridrina/100 g amido no meio de reação
EPI2	Filmes reticulados elaborados com pH 9
ACE	Ácido esteárico
AN 25GL	Filmes de amido natural com 0,25 g glicerol/g amido
AN 30GL	Filmes de amido natural com 0,30 g glicerol/g amido
0,6GS 25GL	Filmes de acetato de amido com grau de substituição de 0,6 e 0,25 g glicerol/g amido
1,1GS 25GL	Filmes de acetato de amido com grau de substituição de 1,1 e 0,25 g glicerol/g amido
0,6GS 30GL	Filmes de acetato de amido com grau de substituição de 0,6 e 0,30 g glicerol/g amido
1,1GS 30GL	Filmes de acetato de amido com grau de substituição de 1,1 e 0,30 g glicerol/g amido
CB	Celulose bacteriana
MCB	Membrana de celulose bacteriana
GL	Glicerol
GAG	Glicerol adicionado antes da gelatinização do amido
GDR	Glicerol adicionado somente depois da reação de reticulação
TS	Tensão na ruptura
ε	Alongamento na ruptura

Y	Módulo de Young
FP	Força na perfuração
DP	Deformação na perfuração
S	Solubilidade em água
PVA	Permeabilidade ao vapor d'água
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
FTIR	Transformada de Fourier
MCVL	Microscopia confocal de varredura a laser

INTRODUÇÃO

Nos últimos cinquenta anos, no setor de embalagem, houve uma substituição gradativa dos materiais metálicos, vidro e madeira por materiais plásticos (polímeros oriundos da petroquímica). O aumento no consumo de plásticos sintéticos e o acúmulo destes materiais no meio ambiente são considerados um problema em nível mundial, pois os mesmos levam séculos para se degradar (PARRA et al., 2004). A consequência dessa substituição vem gerando um enorme problema ambiental causado pelo acúmulo desses materiais, pois, apesar dos plásticos garantirem uma proteção desejada para diversos tipos de aplicações, eles não são biodegradáveis e são responsáveis por grande parte dos resíduos que se acumulam na natureza (KIM et al., 2003).

No sentido de atender as demandas ambientais que surgiram a partir do impacto de embalagens produzidas pelos polímeros convencionais não biodegradáveis, tem-se estimulado pesquisas para viabilizar a substituição destes materiais por produtos que, além de serem biodegradáveis, provenham de fontes renováveis. Polímeros como polissacarídeos e proteínas têm sido usados para a elaboração de filmes biodegradáveis. Dentre os polissacarídeos, o amido constitui uma fonte importante para a elaboração de filmes comestíveis devido a seu baixo custo e abundância na natureza. Por isso, estudos sobre as propriedades de barreira de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, arroz, milho, batata, arroz, aveia, trigo e inhame são encontrados na literatura (KIM et al., 2002; MALI et al., 2005; VICENTINI et al., 2005; GALDEANO et al., 2009; LU et al., 2009).

Biofilmes a base de amido apresentam boas propriedades de barreira a gases como O₂ e CO₂ e a óleo. Entretanto, a grande limitação destes materiais está nas propriedades mecânicas inferiores a dos filmes convencionais e à alta permeabilidade ao vapor de água que eles apresentam (GONTARD et al., 1993).

Com a finalidade de melhorar as propriedades dos filmes de amido, vários trabalhos têm sido propostos com o objetivo de alterar o caráter hidrofílico e incorporar outros polímeros que melhorem as propriedades que limitam sua aplicação. Neste sentido, a produção de filmes a partir de misturas com proteínas, a incorporação de material hidrofóbico (como ácido esteárico), a modificação química do amido (reações de reticulação e esterificação) e a incorporação de celulose se tornam alternativas que podem ser avaliadas, visando à alteração de suas propriedades físico-químicas e mecânicas, principalmente a redução da afinidade pela água. Além disso, é interessante a incorporação de um agente plastificante que os tornem menos quebradiços, sendo indicados para este fim os polióis (por exemplo, o glicerol e o sorbitol).

Nessa linha de pesquisa, alguns trabalhos têm sido relatados na literatura como, por exemplo, a elaboração de filmes à base de misturas de amido e proteína (ARVANITOYANNIS et al., 1997; ARVANITOYANNIS et al., 1998; JAGANNATH et al. 2003; TAPIA-BLACIDO et al, 2007), e a adição de lipídios para diminuir a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido e de proteínas (SHELLHAMMER e KROCHTA, 1997; GARCIA et al., 2000; PEROVAL et al., 2002; SHAW et al., 2002; COLLA et al., 2006; TAPIA-BLACIDO et al., 2007). Com o intuito de melhorar as propriedades de barreira e mecânicas dos filmes de amido, estudos com a utilização de amido modificado também têm sido realizados como, por exemplo, a reticulação de amidos (LLOYD e KIRST, 1963; KIM et al., 2002; KIM e LEE, 2002; RIOUX et al., 2002; DELVAL et al., 2004; PARRA et al., 2004; SREEDAHAR et al., 2006; MARQUES et al., 2006) e a acetilação do amido (TARVAINEN et al., 2002; TARVAINEN et al, 2004; ELOMAA et al., 2004; BONACUCINA et al., 2006; LÓPEZ et al., 2008). A adição de fibras celulósicas também tem sido relatada como uma alternativa para melhorar as propriedades mecânicas e reduzir a higroscopicidade de filmes de amido (CURVELO et al., 2001; MÜLLER et al., 2009a; DIAS et al., 2010).

OBJETIVOS DO TRABALHO

Devido as limitações dos filmes de amido referente as propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água, há a necessidade de alterar o caráter hidrofílico do amido, seja por modificação química do amido ou incorporações de materiais hidrofóbicos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar modificações no amido ou incorporar materiais hidrofóbicos na matriz

polimérica que melhorarem as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água dos filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol.

Assim, as propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes de amido foram avaliadas para os estudos de modificações químicas do amido (1) e (2) e para os estudos de adições (3) e (4):

- (1) a reação de reticulação do amido com epícloridrina;
- (2) a esterificação do amido para a obtenção do acetato de amido;
- (3) a incorporar ácido esteárico, como material hidrofóbico, na matriz do filme de amido;
- (4) a incorporação de fibras de celulose bacterianas, como material de reforço, na matriz do filme de amido.

ESTRUTURA DO TRABALHO

Para estruturar os conteúdos e apresentar os temas tratados em uma sequência lógica, este trabalho foi estruturado da seguinte forma:

Capítulo 1 - Revisão da Literatura. Neste capítulo é apresentado uma revisão sobre filmes biodegradáveis com ênfase em biofilmes de amido. Em seguida são abordadas algumas de suas propriedades funcionais e, finalmente, as modificações do amido como estratégia para melhorar as propriedades dos filmes obtidos.

Capítulo 2 - Materiais e Métodos. Neste capítulo são apresentados os materiais utilizados, além dos procedimentos de modificações realizados no amido para a obtenção dos filmes biodegradáveis reticulados, filmes com adição de ácido esteárico, filmes elaborados com acetato de amido e filmes de acetato de amido com adição de fibra de celulose bacteriana.

Capítulo 3 - Resultados e Discussões. Os resultados das estratégias estudadas foram divididos por estudo e apresentados no capítulo três. Primeiramente são apresentados neste capítulo os estudos sobre o efeito de duas variáveis e dois processos de reação de reticulação realizada na suspensão filmogênica utilizada para preparar os filmes de amido. Ensaio de tração foram usados para avaliar como a rede reticulada formada no interior da matriz polimérica influenciou nas propriedades mecânicas. Análises de permeabilidades ao vapor de água e solubilidades em água dos filmes foram realizadas, assim como uma discussão sobre o efeito da reação de reticulação na absorção de água dos filmes. Na segunda parte, são apresentadas as propriedades dos filmes de acetato de amido com diferentes graus de substituição. Os graus de substituição e a reologia dos acetatos de amido foram

analisados. Ensaio de tração, análises de permeabilidade ao vapor de água e microscopia eletrônica de varredura foram realizados nos filmes elaborados com acetato de amido para, assim, caracterizar o material obtido e analisar se a reação de acetilação do amido afetou as características mecânicas e de absorção de água dos filmes. Na terceira parte apresenta-se o estudo da concentração de ácido esteárico e da concentração de amido sobre as propriedades mecânicas, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água, através da metodologia de superfície de resposta. A determinação da permeabilidade ao vapor d'água e das curvas de isotermas de sorção de umidade dos filmes possibilitou verificar se a incorporação deste composto tornou o filme menos hidrofílico. Os filmes elaborados, segundo a formulação otimizada, foram caracterizados em função das suas propriedades mecânicas, de barreira, solubilidade, das curvas de isotermas de sorção, da microscopia eletrônica de varredura e da microscopia confocal de varredura a laser. Por fim, a última parte deste capítulo apresenta o estudo da concentração de fibras bacterianas em filmes de acetato de amido. Foram estudados dois métodos: i) celulose bacteriana adicionada a uma suspensão de amido com glicerol, ii) amido adicionado ao meio de cultura para produção da celulose bacteriana. Ensaio de tração foram realizados para verificar a influência das fibras bacterianas na resistência mecânica dos filmes. Ensaio de permeabilidade ao vapor d'água possibilitou verificar se a incorporação das fibras tornou os filmes menos hidrofílicos.

Capítulo 4 - Considerações Finais. Neste capítulo é abordado um resumo das propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes estudados, assim como é apresentado considerações gerais de cada estudo.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para comercializar alimentos frescos ou processados, se faz necessária a utilização de embalagens. A embalagem é utilizada para preservar e proteger o alimento da deterioração oxidativa e microbiana e, conseqüentemente, aumentar sua vida de prateleira. O uso de plásticos sintéticos para material de embalagem, como as poliolefinas e poliésteres, é grande por sua disponibilidade em grandes quantidades e o baixo custo, assim como por suas características funcionais, como as propriedades mecânicas, barreira aos gases e aos compostos aromáticos, e a possibilidade de selagem térmica (THARANATHAN, 2003). No entanto, o uso crescente dos polímeros sintéticos preocupa, pois causa problemas de contaminação ambiental porque não são biodegradáveis. Além disso, a sua reciclagem, quando possível, consome grandes quantidades de energia térmica (PARRA et al., 2004).

Sendo assim, o interesse na qualidade dos alimentos, e ao mesmo tempo na redução dos impactos ambientais causados pelas embalagens convencionais, tem encorajado a exploração de novos materiais de embalagens, como os filmes biodegradáveis à base de recursos renováveis (KESTER e FENNEMA, 1986). Neste contexto, a produção de polímeros biodegradáveis abre uma janela competitiva nos países em desenvolvimento como o Brasil, uma vez que estes materiais podem ser produzidos a partir de fontes renováveis de carbono oriundas de produtos agrícolas, dentre eles o amido. Esta perspectiva de

desenvolvimento levou a FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação) a definir a produção de amidos como uma medida que poderia fortalecer a economia rural de países em desenvolvimento (MÜLLER, 2007).

Aliado à perspectiva econômica, ao impacto ambiental causado pelo aumento de consumo de plásticos oriundos da indústria petroquímica e seu consequente acúmulo no meio ambiente tem levado ao desenvolvimento de novos materiais que sejam biodegradáveis e de fontes renováveis (GUILBERT e BIQUET, 1986). Descreve-se a seguir uma breve abordagem sobre alguns temas que envolvem, direta ou indiretamente, os estudos apresentados posteriormente neste trabalho. Para isso, este capítulo foi dividido em seções, na primeira, os polímeros biodegradáveis são apresentados através de uma breve classificação dos mesmos e dos principais materiais que os compõem. A segunda seção apresenta as características do amido, suas fontes e propriedades para uso industrial, para melhor entender a necessidade de modificá-lo. A terceira seção apresenta os biofilmes à base de amido com suas principais vantagens e desvantagens, abordando suas propriedades mecânicas e de barreiras. Por fim, a última seção aborda as estratégias de modificação do amido e características dos materiais que podem ser incorporados ao amido.

1.1. Polímeros biodegradáveis

Na literatura são apresentadas diversas definições de polímeros biodegradáveis. Em geral, os polímeros biodegradáveis são aqueles polímeros naturais ou sintéticos cuja degradação ocorre naturalmente no meio ambiente ação de micro-organismos como bactérias, fungos e algas (OTA, 1993; GONTARD e GUILBERT, 1994). Eles são obtidos através de diversos materiais naturais, de fonte renovável e em abundância na natureza ou produzidos por outros micro-organismos, como os PHA (polihidroxialcanoato) e a celulose bacteriana. A Tabela 1.1 apresenta uma classificação dos principais polímeros utilizados para elaboração dos materiais biodegradáveis.

Tabela 1.1. Classificação dos principais polímeros utilizados para elaboração dos materiais biodegradáveis.

Classificação	Polímeros biodegradáveis
Poliésteres	Poli(hidroxi alcanóatos) (PHA) (ex: PHB) Poli láticos
Proteínas	Colágenos/Gelatinas; Elastina; Resilina Poliamino; Soja; Zeína; Glúten de trigo; Caseína; Albumina; Soro de leite
Polissacarídeos (bactérias)	Xantana; Dextrana ;Gelana; Poligalactosamina; Celulose (bactérias)
Polissacarídeos (fungos)	Pululana; Elsinana; Leveduras Glucanas
Polissacarídeos (planta/algas)	Amido (amiloze/amilopectina) Celulose; Agar; Alginato; Carragena; Pectinas Várias gomas (ex: guar)
Polissacarídeos (Animal)	Quitina; Quitosana; Ácido Hialurônico
Lipídios/Surfactantes	Acetoglicerídeos; Ceras; Surfactantes; Emulsificante
Polifenóis	Lignina; Tanino; Ácidos húmicos
Polímeros Especiais	Goma laca; Poligamma-ácido glutâmico Borrachas naturais Polímeros sintéticos a partir de gorduras e óleos (ex: nylon a partir óleo de rícino)

Fonte: Adaptados de KAPLAN *et al.*, 1994 e OTA, 1993.

Entre o amplo leque de polímeros que podem ser utilizados na produção de filmes biodegradáveis, os polissacarídeos (de planta, animal e de fungos), as proteínas (origem animal e vegetal) e os lipídios são utilizados como os principais componentes dos biofilmes (ex: amido, gomas, proteínas de soro de leite) ou como componentes adicionais (ex: amido com lipídios). Cada tipo desses materiais utilizados na formulação dos filmes tem suas vantagens e desvantagens. Os hidrocoloides, como polissacarídeos (amido, celulose, gomas) ou proteínas (gelatina, glúten, zeína) por serem hidrofílicos, apresentam pobres propriedades de barreira à umidade, sendo essa propriedade

melhorada pela adição de lipídios, os quais apresentam uma boa barreira à umidade (THARANATHAN, 2003). Dessa forma, os filmes podem ser produzidos através da combinação de diferentes polímeros.

Os filmes biodegradáveis são geralmente preparados pelo método “casting”, onde a suspensão filmogênica é depositada numa superfície apropriada e secada posteriormente. A formação do filme envolve ligações inter e intramoleculares, formando assim uma rede tridimensional semi-rígida que retém e imobiliza o solvente. Qualquer que seja o processo de produção, a transformação da solução filmogênica em filmes ou coberturas é consequência de interações intermoleculares, que se traduz em forças estruturais (CARVALHO, 1997). O grau de coesão da suspensão filmogênica depende da estrutura do polímero, do solvente usado, da temperatura e da presença de outras moléculas, como os plastificantes (THARANATHAN, 2003).

1.2 Amido

O amido é a fonte de reserva mais importante dos vegetais, e está presente nos plastídios de vegetais superiores (KAPLAN, 1998). Existem vários tipos de amidos: os derivados de milho, arroz, batata, mandioca, feijão e trigo, por exemplo. Os amidos de diferentes fontes diferem em suas propriedades e são utilizados na indústria de alimentos com diferentes propósitos, tais como: nutricional, tecnológico, funcional, sensorial e estético (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004).

O emprego industrial do amido se deve à sua característica única de poder ser usado diretamente na forma de grânulos, de grânulos intumescidos, na forma dispersa, como filme obtido da secagem de uma dispersão ou após extrusão, depois da conversão a uma mistura de oligossacarídeos ou a glicose, que pode ser isomerizada enzimaticamente para frutose. Dependendo do tipo, o amido pode, entre outras funções, facilitar o processamento, servir como espessante em sopas, caldos e molhos de carne, fornecer sólidos em suspensão e textura, ser ligante em embutidos de carne, estabilizante em molhos de salada ou ainda proteger os alimentos durante o processamento (CEREDA *et al.*, 2003).

O amido é constituído basicamente de duas frações, amilose e amilopectina (98-99% peso seco). Estes dois componentes diferem entre si quanto ao peso molecular, ao grau de polimerização e a disposição no interior do grânulo (TESTER *et al.*, 2004). As moléculas de amilose e amilopectina do amido desenvolvem-se a partir de uma única unidade de α - D - glucopiranosil adicionada sequencialmente, doada pelas

moléculas de adenosina difosfato glicose para produzir uma cadeia de unidades α - D - glucopirranose unidas por ligações α - (1, 4) (FRANCO *et al.*, 2001). Sendo a estrutura da molécula de amilose relativamente longa, helicoidal, α -hélice, contendo aproximadamente 99% de ligações α (1→4). A amilopectina é uma molécula maior, ramificada, constituída de 95% de ligações α (1→4) e 5% de ligações α (1→6) (RICHARD *et al.*, 2004). A figura 1.1 apresenta a estrutura da amilose e amilopectina. No grânulo, quando a mistura de moléculas lineares (amilose) e ramificadas (amilopectina) está disposta em paralelo, existem associações entre as cadeias lineares e entre as cadeias ramificadas e elas são mantidas juntas por pontes de hidrogênio, resultando em regiões cristalinas ou micelas (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004).

O amido é praticamente insolúvel em água fria, devido aos enlaces das pontes de hidrogênio existentes entre a amilopectina e cadeias lineares de amilose para formar regiões de micelas cristalinas (WONG *et al.*, 1995; ROBINSON, 1991). Essa característica do grânulo se deve à presença de regiões mais ordenadas (regiões cristalinas), onde há uma maior concentração de amilopectina e regiões mais desordenadas, denominadas amorfas, onde a amilose apresenta-se em maior quantidade (RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

Devido a estas características os amidos apresentam padrões de cristalinidade específicos. O amido nativo pode ser classificado em três tipos de estruturas cristalinas a partir das diferenças dos difratogramas de raios-X: amidos de cereais como tipo “A”, amidos de tubérculos, frutas, milho com alto teor de amilose e amidos retrogradados como tipo “B” e amidos característicos de leguminosas como tipo “C”, uma mistura de “A” e “B” (LIU *et al.*, 2009). A diferença no padrão de cristalinidade está principalmente associada à densidade do empacotamento das duplas hélices, sendo que os amidos que possuem padrão “A” apresentam-se mais densos. Sendo assim, o amido tipo “B” apresenta conteúdo de água maior e as cadeias de amilopectinas longas são mais numerosas quando se compara com amidos tipo A (HULLEMAN *et al.*, 1999; VAN SOEST *et al.*, 1996).

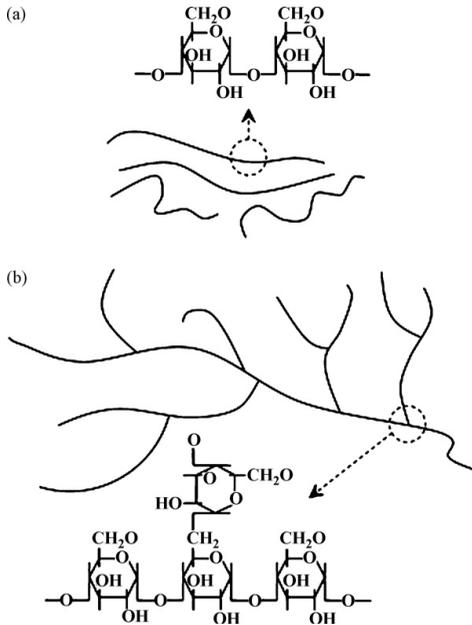


Figura 1.1. Representação esquemática da estrutura química e física da (a) amilose e (b) amilopectina. (Fonte: LIU *et al.*, 2009).

Em presença da água o amido pode ter reações distintas. A água fria pode penetrar nas regiões amorfas do grânulo sem perturbar as micelas (zonas cristalinas). Na presença de excesso de água em aquecimento contínuo, haverá um rompimento das ligações de hidrogênio presentes nas regiões amorfas, permitindo o intumescimento do grânulo. O mesmo permanece intacto até um determinado ponto, no qual ocorre o rompimento do grânulo e desaparece a ordem estrutural anterior. A temperatura na qual o gel torna-se transparente é denominada ponto de gelatinização ou temperatura de gelatinização (RIBEIRO e SERAVALLI, 2009; DERNARDIN e SILVA, 2009).

Esta desagregação causa mudanças que podem ser acompanhadas através de técnicas como a da calorimetria exploratória diferencial (DSC), através de processo endotérmico, pela perda da birrefringência na microscopia da luz polarizada e pela mudança na cristalinidade através da difração de raios-X (VAN SOEST *et al.*, 1996; GARCIA *et al.*, 1997). A seguir ocorre a lixiviação da amilose para a fase aquosa o que inicia o processo de gelatinização do amido. Devido à linearidade, a amilose tende a orientar-se paralelamente após a

gelatinização, diminuindo a distância intermolecular, permitindo a formação de ligações de hidrogênio com outros grupos hidroxilas provenientes de estruturas adjacentes o que se denomina retrogradação (VICENTINI, 2003).

Os grânulos de amido são birrefringentes e quando observados sob luz polarizada apresentam a típica “Cruz de Malta”, fenômeno relacionado à elevada ordem molecular. Os diferentes graus de ordenação estrutural dos grânulos são responsáveis pelas propriedades de birrefringência e cristalinidade (HOSENEY, 1986). A figura 1.2 apresenta os anéis de crescimento organizados em regiões cristalinas e amorfas alternadas.

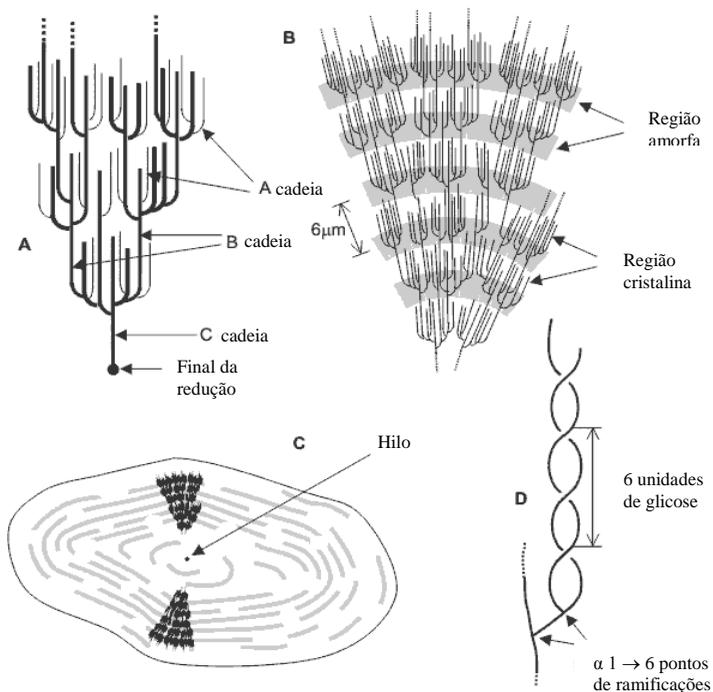


Figura 1.2 A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento.

(Fonte: Adaptados de PARKER & RING, 2001).

A região cristalina é constituída pelas duplas hélices das cadeias paralelas A e B da amilopectina, sendo mais compacta, enquanto que a região amorfa, menos ordenada, contém os pontos de ramificação das cadeias laterais da amilopectina e possivelmente algumas de amilose (OATES, 1997; ELIASSON, 2004).

Biliaderis (1992) afirma que são as áreas cristalinas do amido que mantêm a estrutura do grânulo, controlam o seu comportamento na presença de água e os tornam mais ou menos resistentes aos ataques químicos e enzimáticos. A zona amorfa dos grânulos de amido é a região menos densa, mais suscetível aos ataques enzimáticos e absorve mais água em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização. Não existe uma demarcação entre as regiões amorfas e cristalinas, o que existe são as evidências de uma estrutura supramolecular onde as fases amorfas e cristalinas são interdependentes.

As camadas concêntricas podem ser observadas em microscopia eletrônica dos grânulos de amido submetidos a tratamento ácido ou a digestão parcial por amilases. Esta técnica ilustra o fato de que o grânulo possui regiões mais cristalinas ordenadas do que regiões amorfas, nas quais as cadeias poliméricas estão menos ordenadas e mais susceptíveis ao ataque ácido ou enzimático (ZHOU et al., 1998).

O amido de mandioca, em específico, é extraído da planta *Manihot esculenta* Crantz. Também conhecido como fécula ou polvilho doce, o amido de mandioca é um pó fino, branco, sem cheiro e sem sabor, que produz ligeira crepitação quando comprimido entre os dedos, conforme figura 1.3a. É um carboidrato obtido da raiz da mandioca devidamente limpa, descascada, triturada, desintegrada, purificada, peneirada, centrifugada, concentrada e seca. É extremamente versátil e alcança eficiência incomparável em todas as suas aplicações, sendo habitualmente utilizado como componente nos mais variados segmentos domésticos e industriais (CEREDA et al., 2003).

O amido é o único polissacarídeo produzido em pequenos agregados individuais, denominados grânulos (WHISTLER e DANIEL, 1993), conforme representado na Figura 1.3b. Os grânulos de amido de mandioca possuem formato truncado ou oval com tamanho que varia de 7 a 14 μm (MALI et al., 2006).

O amido de mandioca comum possui normalmente em sua composição 17% a 20% de amilose, 82% de amilopectina, 0,1% de proteínas, 0,1% de lipídios, 0,2% de cinzas e 0,02% de fósforo (ABAM, 2010).

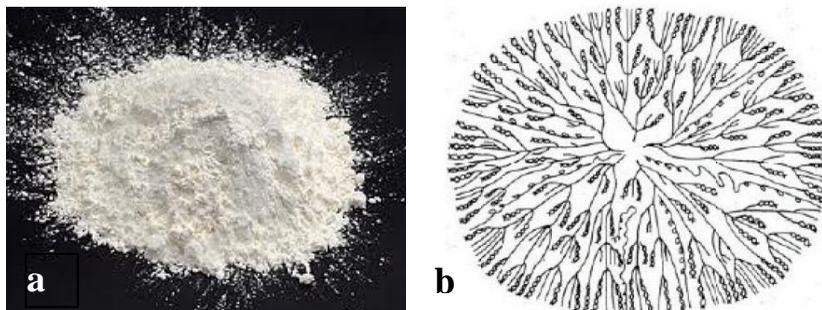


Figura 1.3. (a) Amido de mandioca em pó (b) Representação esquemática do grânulo de amido.
(Fonte: FENIMAN, 2004).

A mandioca é uma cultura em amplamente difundida no Brasil, sendo o amido o principal produto de seu processamento. Em 2009, a produção do amido atingiu aproximadamente 600 mil toneladas, além de constituir uma matéria-prima barata e pouco industrializada (ABAM, 2010).

1.3 Biofilmes à base de amido

Os filmes biodegradáveis constituem materiais finos e flexíveis, geralmente produzidos com materiais biológicos, como polissacarídeos, poliésteres, proteínas, poliamidas, lipídios e derivados. A obtenção dos mesmos, assim como a de coberturas biodegradáveis, está baseada na dispersão ou solubilização dos polímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e acréscimo de aditivos (plastificantes ou agentes de liga), obtendo-se uma solução ou dispersão filmogênica. Após o preparo, estas coberturas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes ou coberturas tipo ‘*casting*’ (GONTARD *et al.*, 1992; PRADELLA, 2006).

Dentre os filmes biodegradáveis estão os filmes à base de amido. Estes são produzidos a partir de amido extraído de milho, batata, trigo, mandioca, amaranto, inhame, entre outros. Podem ser utilizados na produção de embalagens e itens de descarte rápido e/ou em blendas com polímeros sintéticos, na confecção de filmes flexíveis (PRADELLA, 2006).

O amido é uma das matérias-primas mais baratas e abundantes, principalmente para o uso na alimentação humana (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004). Devido ao seu baixo custo e alta disponibilidade,

o amido vem recebendo considerável atenção no cenário de recursos renováveis. Suas modificações ou misturas com outras substâncias químicas têm sido estudadas para melhorar o seu processamento, formando uma rede bastante versátil de bioplásticos (DA RÓZ *et al.*, 2001). Além disso, ele é classificado como plástico ambientalmente degradável (CEREDA *et al.*, 2003).

Nesta categoria também estão inseridos um vasto grupo de materiais poliméricos, naturais e sintéticos, que sofrem alterações químicas sob influência de fatores ambientais. As alterações químicas podem ser acompanhadas de uma completa assimilação microbiana dos produtos de degradação, resultando em dióxido de carbono e água. Os polímeros ambientalmente degradáveis de fontes renováveis, que são oriundos da natureza e utilizados como tal ou modificados sem perder as características de biodegradação, são: o amido, a celulose, os ésteres de amido, o colágeno, os polihidroxialcanoatos, entre outros (INNOCENTINI-MEI e MARIANI, 2005).

Contudo, a natureza hidrofílica do amido tem sido a principal limitação ao desenvolvimento de materiais baseados no amido. Filmes de amido têm boa resistência mecânica, mas apresentam alta permeabilidade ao vapor d'água. Eles também são muito sensíveis às condições ambientais devido ao caráter higroscópico destes materiais (MALI *et al.*, 2006).

Muitos polímeros naturais são sensíveis ou até mesmo solúveis em água. A solubilidade em água aumenta a velocidade de degradação. No entanto, esta sensibilidade à água dificulta a sua aplicação (FRINGANT *et al.*, 1998). Nesse sentido as propriedades de barreiras dos biofilmes de amido constituem parâmetros importantes na avaliação de sua capacidade para uso como embalagens de alimentos. Outros materiais como as proteínas e os carboidratos possibilitam a obtenção de filmes com boas propriedades mecânicas, no entanto não fornecem adequada barreira ao vapor d'água, devido ao seu caráter hidrofílico (ANKER *et al.*, 2002).

Por isso, vários estudos estão sendo realizados na área de materiais biodegradáveis a partir do amido. Pode-se citar algumas publicações como: LAWTON (1996); CHANG *et al.* (2000); FOLLAIN *et al.* (2005a); FOLLAIN (2006); LAROTONDA *et al.* (2004); BERGO, *et al.* (2010); MÜLLER *et al.* (2008) e MÜLLER *et al.* (2009a,b); DIAS *et al.* (2010); MUSCAT, *et al.* (2012).

1.3.1 Propriedades mecânicas

Filmes com propriedades mecânicas adequadas devem ser resistentes à ruptura e à perfuração, fazendo com que o alimento não perca a sua proteção por manuseio ou armazenamento (SARMENTO, 1999). Para que os filmes e as coberturas comestíveis possam ser aplicados em alimentos, eles também devem possuir características sensoriais aceitáveis, ter propriedades de barreira, mecânicas e de adesão adequadas, apresentar estabilidade microbiológica e físico-química, não conter compostos tóxicos, ser efetiva no transporte de diversos componentes, como aditivos, antioxidantes, corantes e aromas (DIAB *et al.*, 2001).

As propriedades mecânicas compreendem a totalidade das propriedades que determinam a resposta dos materiais poliméricos às influências mecânicas externas. Estas influências externas geralmente são avaliadas através de ensaios onde se obtêm um perfil de tensão-deformação (CUQ *et al.*, 1996). As propriedades mecânicas estão diretamente relacionadas com a natureza do material filmogênico utilizado e com a coesão da estrutura da matriz polimérica, que está relacionada com a distribuição e concentração de ligações inter e intramoleculares das cadeias do polímero (CUQ *et al.*, 1997; SEBIO, 2003).

Nesse sentido, uma limitação dos filmes de amido é que os mesmos apresentam flexibilidade limitada, quando comparados aos filmes sintéticos, pois o amido gelatinizado apresenta fortes ligações polares que os tornam quebradiços. Este problema é parcialmente resolvido pela incorporação de um agente plastificante que atua entre as cadeias do polímero, promovendo um enfraquecimento das forças intermoleculares e permitindo que as mesmas aumentem sua mobilidade. Contudo, a escolha do plastificante deve ser realizada de modo que o mesmo seja compatível com o polímero e com o solvente (MALI *et al.*, 2005; FOLLAIN *et al.*, 2006). Compostos hidrofílicos como polióis (glicerol e sorbitol), por exemplo, são comumente usados como plastificantes em filmes de amido (GARCIA *et al.* 1999, 2000).

Se, por um lado, a incorporação destes plastificantes contribui para o aumento da flexibilidade, por outro lado acabam diminuindo a resistência mecânica, assim como influenciando fortemente as propriedades de permeabilidade e modificando sensivelmente outras propriedades dos filmes (MALI *et al.*, 2005; AVÉROUS *et al.*, 2001; KROCHTA, 2002). Consequentemente, os filmes podem ser mais ou menos solúveis dependendo da solubilidade dos plastificantes. Em

outras palavras, plastificantes solúveis em água podem levar a filmes solúveis em água, enquanto que plastificantes insolúveis podem levar a filmes de baixa solubilidade (GUILBERT e BIQUET, 1986).

Outra propriedade afetada pelo plastificante é a temperatura de transição vítrea (T_g), que caracteriza uma transição de fase de segunda ordem. Na T_g ocorre a mais importante mudança característica do estado amorfo, que envolve a transição de um sólido vítreo para o estado gomoso ou vice-versa. No estado vítreo, a mobilidade é reduzida, tornando os filmes quebradiços e frágeis (FORSSELL *et al.*, 2002; LOURDIN *et al.*, 1997; HERRINGTON e BRANFIELD, 1984).

Outros fatores que afetam as propriedades mecânicas dos biofilmes são o teor de amido e as características de suas cadeias poliméricas. O aumento do teor de amido na solução filmogênica conduz à formação de uma matriz mais densa, rica em interações inter e intramoleculares, produzindo, desta forma, filmes mais resistentes à tração (MALI *et al.*, 2002; VICENTINI, 2003; STANDING *et al.*, 2001).

Lourdin *et al.* (1995) estudaram a influência do conteúdo de amilose e do plastificante glicerol nas propriedades dos filmes de amido. Este estudo mostrou que a resistência à tração aumenta com o aumento do teor de amilose. Garcia *et al.* (2000), por sua vez, relataram que os filmes de amido com plastificante mostraram menor cristalinidade que os filmes sem plastificante e que a cristalinidade dos filmes de amido depende do conteúdo de amilose, isto é, os filmes com alto conteúdo de amilose apresentaram maior cristalinidade. Já Myllarinen *et al.* (2002) estudaram a cristalinidade nos filmes de amilose e amilopectina, sendo que os filmes de amilose foram mais cristalinos do que os filmes de amilopectina, os quais apresentaram características amorfas. Entretanto, quando os filmes de amilopectina com 30% de glicerol foram armazenados durante dois meses em umidades relativas altas (70-90%), uma estrutura cristalina foi observada nesses filmes (19% de cristalinidade).

Parra *et al.* (2004) estudaram o efeito do plastificante e do glutaraldeído (agente reticulante) nas propriedades mecânicas e na permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de mandioca. Filmes elaborados com níveis acima de 1g de glicerol/100 ml água apresentaram maior permeabilidade ao vapor de água, e níveis acima de 0,5g de glutaraldeído/100 ml água, apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água. E, por fim, Mali *et al.* (2005) avaliaram o efeito da espessura, concentração de glicerol e concentração do amido na solução formadora de filmes nas propriedades mecânicas e térmicas dos filmes

de amido de inhame. Foi observado que filmes com maior concentração de amido foram mais resistentes do que os filmes controles e os filmes com plastificante na concentração testada pelos autores.

1.3.2 Propriedades de barreira

A migração de vapor de água é um dos principais fatores de alteração da qualidade sensorial e da estabilidade da estocagem dos alimentos. Sendo assim, as propriedades de barreira são importantes, pois descrevem a capacidade de um filme efetuar ou inibir trocas entre o produto e o ambiente e são determinantes na sua utilização como embalagem (GONTARD *et al.*, 1994; MÜLLER, 2007). Assim, muitas vezes é necessário limitar a migração de umidade com substâncias capazes de prevenir a transferência da molécula de água para maximizar a vida de prateleira (MARTIN-POLO *et al.*, 1992; GONTARD *et al.*, 1994). Por isso, muitos estudos se voltaram para este fim e, nesse sentido, os estudos com filmes comestíveis e/ou biodegradáveis mostraram que os mesmos seriam uma efetiva barreira à umidade (KAMPER e FENNEMA, 1984; MARTIN-POLO *et al.*, 1992; GONTARD *et al.*, 1994).

Neste contexto, dentre as propriedades de barreira, a mais discutida na bibliografia é a permeabilidade ao vapor de água, porque em filmes hidrofílicos ela é influenciada pelas características intrínsecas do material, pelo teor plastificante e pelas condições ambientais de umidade relativa e temperatura sob as quais se encontram expostos.

Para os filmes protéicos, a propriedade de barreira ao vapor de água, em geral, é reduzida (GENNADIOS *et al.*, 1994). Por outro lado, para os filmes de amido, vários autores relatam que o aumento do teor de amido eleva a permeabilidade ao vapor de água, e atribuem essa elevação ao aumento do número de grupos hidrofílicos provenientes das cadeias de amido (MALI *et al.*, 2002; ALVES *et al.*, 2007; BERTUZZI *et al.*, 2007). Esse aumento na permeabilidade ao vapor de água, dada pelo aumento do teor de amido, pode ser melhorada com a adição de substâncias hidrofóbicas (ácidos graxos, ceras, entre outras) na solução filmogênica.

Quanto à diminuição da permeabilidade ao vapor de água, estudos verificaram redução com a adição de lipídios em filmes protéicos de soro de leite (SHELLHAMMER e KROCHTA, 1997), de caseinato (AVENA-BUSTILLOS e KROCHTA, 1993), de glúten (GONTARD *et al.*, 1995) e de zeína (LAI *et al.*, 1997). Em relação aos estudos de Avena-Bustillos e Krochta (1993), os mesmos

desenvolveram filmes emulsionados à base de caseinato, contendo acetato de monoglicerídeos, cera de abelha e ácido esteárico e observaram que um aumento na concentração do material hidrofóbico nos filmes emulsionados resultou na diminuição dos valores de permeabilidade ao vapor de água. Kamper e Fennema (1984), por sua vez, observaram que aumentando a concentração de ácido esteárico nos filmes emulsionados havia uma diminuição da permeabilidade ao vapor de água a 25 °C e UR 85%. Gontard *et al.* (1994) estudaram a adição de várias concentrações de lipídios a filmes comestíveis de glúten e observaram que os efeitos dessa adição nas propriedades de barreira a vapor de água dependeram das características dos lipídios e das suas interações com a matriz estrutural protéica. Por outro lado, Ferreira (2006) estudou a adição de cera de cana-de-açúcar nos filmes emulsionados de gelatina sem ajuste de pH e observou que não alterou significativamente os valores de PVA.

A temperatura de transição vítrea influencia a permeabilidade uma vez que, como foi abordado anteriormente, interferem na mobilidade das cadeias poliméricas. Sendo assim, filmes no estado vítreo (abaixo da T_g) apresentam permeabilidades menores dada à diminuição da distância efetiva entre as cadeias, quando comparados a materiais que se encontram no estado gomoso (acima da T_g) (VINCENTINI, 2003).

A permeabilidade a gases constitui uma propriedade importante, uma vez que o uso de biofilmes com permeabilidade seletiva ao O_2 e ao CO_2 permite o controle de trocas gasosas, podendo aumentar a vida útil de frutas e hortaliças (MALI *et al.*, 2002).

1.3.3 Solubilidade em água

Segundo Gontard *et al.* (1992), a solubilidade em água é uma importante propriedade dos filmes comestíveis, tanto nas suas aplicações quanto na proteção dos alimentos onde a atividade de água é alta, ou ainda quando o filme entra em contato com a água durante o processamento do alimento embalado. A solubilidade, além disso, também influencia a propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes. Para se obter uma baixa permeabilidade ao vapor de água (dentro de uma grande faixa de umidade relativa), torna-se necessário a utilização de material insolúvel ou pouco solúvel em água.

Valores de solubilidade de alguns biofilmes são mostrados na Tabela 1.2. Pode-se observar que estes valores são, na maioria, altos, o que limita o uso dos biofilmes. Ainda em alguns casos, verifica-se a

desintegração do filme devido a sua solubilização. A manutenção da integridade do filme ao estar em contato com água é de grande importância nas possíveis aplicações dos biofilmes como material de embalagem

Tabela 1.2 Solubilidade em água de biofilmes.

<i>Material</i>	<i>Solubilidade (%) 25 °C</i>	<i>Referência</i>
Farinha de Amaranto (<i>A. caudatus</i>) com glicerol (22,5%)	40-63	TAPIA <i>et al.</i> (2007)
Farinha de Amaranto (<i>A. caudatus</i>) com glicerol (26%) e ácido esteárico (10%)	15	COLLA <i>et al.</i> (2006)
Farinha de Amaranto (<i>A. caudatus</i>) com glicerol (20%), reticulado com epiclorigidrina	29	ELIZONDO (2007)
Queratina com glicerol (1-9%)	31-51	MOORE <i>et al.</i> (2006)
Amido (HSPAN) com PVA, reticulado com epiclorigidrina	5-37	PARK <i>et al.</i> (1994)
Acetato de amido com glicerol (0,5-5%)	6-27	LÓPEZ <i>et al.</i> (2008)

Fonte: Adaptado de ELIZONDO (2007).

1.4 Modificações do amido como estratégia para melhorar as propriedades dos biofilmes

A natureza hidrofílica do amido é a principal limitação ao desenvolvimento de materiais à base do mesmo. De fato, tais produtos são altamente sensíveis à água e suas propriedades dependem da umidade ambiente. A derivação química do amido há muito tempo tem sido estudada como uma maneira de resolver este problema e produzir materiais à prova d'água. A partir desses estudos, chegou-se à constatação de que dependendo da natureza dos substituintes e do grau de substituição (GS), as propriedades do amido modificado podem variar de uma maneira bem ampla (FRINGANT *et al.*, 1998).

O amido, embora muito utilizado pela indústria de alimentos, apresenta uma limitada resistência em aplicações na indústria, isto é, ele apresenta propriedades que dificultam sua aplicação como, por exemplo, caráter hidrofílico. Uma alternativa para aumentar essa resistência é modificá-lo por via química, física e enzimática (RIBEIRO E SERAVALLI, 2004). As modificações do amido nativo são feitas para proporcionar produtos amiláceos com as propriedades necessárias para usos específicos. As várias formas de se conseguir modificar os amidos nativos são para alterar uma ou mais de suas propriedades, como a temperatura da pasta, a relação sólidos/viscosidade, a resistência das pastas de amido à redução de viscosidade por ácidos, calor e/ou agitação mecânica (cisalhamento), tendência de retrogradação, caráter iônico e hidrofílico (SWINKELS, 1996). Quanto aos amidos de tubérculos, estes são mais reativos do que os amidos de cereais para as modificações químicas, devido à menor estabilidade da cristalinidade do tipo B em relação à cristalinidade dos cereais que é do tipo A (ZOBEL *et al.*, 1988).

De qualquer forma, independente do tipo de amido, as alterações nas propriedades tecnológicas do mesmo podem ser obtidas por processos físicos tais como tratamento térmico, exposição a radiações; por processos químicos nos quais se empregam reagentes específicos para alterar a estrutura das macromoléculas componentes do amido e por processos enzimáticos, como a aplicação de enzimas, conforme apresentado na figura 1.4 (CEREDA *et al.*, 2003). Estas modificações atribuem características próprias para aplicações industriais específicas: polvilho doce, polvilho azedo, amido modificado, xarope de glicose, amido modificado por ácidos, amido fosfatado, amido pré-gelatinizado, amido oxidado por hipoclorito de sódio, amido com ligação cruzada e glicose (EMBRAPA, 2010; FENNEMA, 1993).

A Portaria n°259 (D.O.U – 20/09/2002) tem por finalidade fixar as características de identidade e qualidade a serem atendidas pelos amidos modificados. Os amidos modificados com grau alimentícios são amidos nos quais uma ou mais características originais tenham sido modificadas mediante processo tecnológico adequado como, por exemplo, o tratamento físico, enzimático ou químico. Estas modificações compreendem, portanto, a:

- *Modificação por meio físicos*: compreende qualquer tratamento de amido sob ação do calor, pressão ou mecânica, no estado seco ou úmido, inclusive fracionamento;

- *Modificação por meio enzimático*: compreende qualquer tratamento de amido, no estado seco ou úmido, em presença de pequenas quantidades de enzimas, a fim de obter produtos solubilizados ou parcialmente hidrolisados;
- *Modificação por meio químico*: compreende qualquer tratamento de amido no estado seco ou úmido, na presença de uma ou mais substâncias químicas. O interesse é substituir parte das hidroxilas (OH) das cadeias de amilose e amilopectina por grupos éter ou éster.

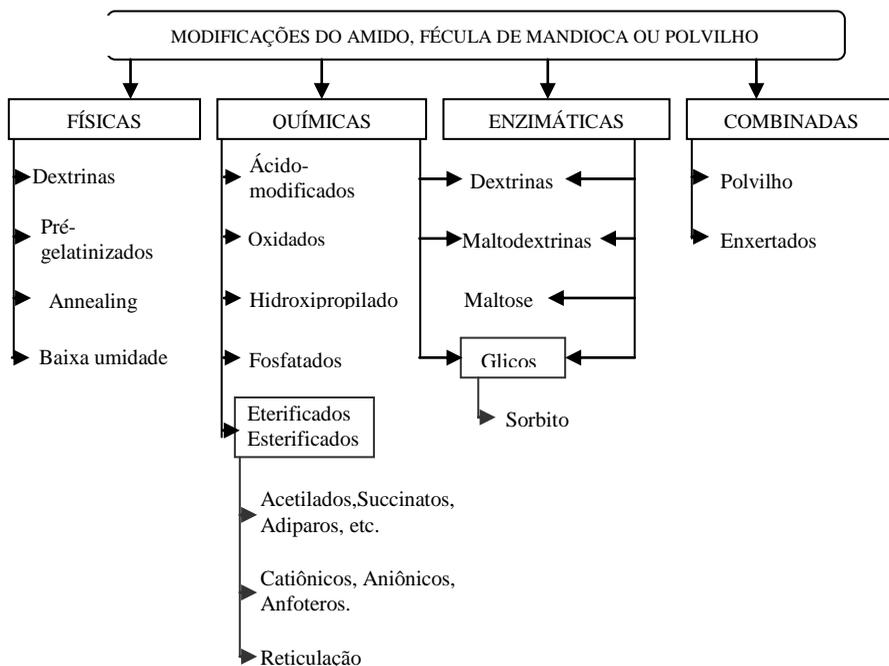


Figura 1.4. Classificação das principais modificações do amido e de seus derivados

(Fonte: Adaptado de CEREDA *et al.*, 2003).

A modificação do amido é geralmente obtida através de derivação como eterificação, esterificação, reticulados e amidos enxertados; decomposição (hidrólise ácida ou enzimática e oxidação do amido), tratamento físico do amido usando o calor ou umidade, entre

outros. Vários tratamentos são usados para a obtenção das propriedades desejadas, como mostra a Tabela 1.3.

As razões para modificar o amido advêm da necessidade de modificar as características de cozimento (gelatinização); diminuir a retrogradação e a tendência das pastas em formarem géis; aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e descongelamento, a transparência das pastas ou géis e a adesividade; melhorar a textura das pastas ou géis e a formação de filmes; adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante e melhorar a adesão entre superfícies diferentes (JANE, 1997; LIU *et al.*, 1999a, 1999b; PERERA *et al.*, 1997; SHI e BEMILLER, 2000 ; SINGH *et al.*, 2007). As propriedades de alguns amidos modificados e suas aplicações são apresentadas na Tabela 1.4.

Além das modificações físicas, químicas e enzimáticas, como apresentado anteriormente, existem as reações degradativas e não degradativas do amido. Nas reações degradativas, os amidos têm a sua estrutura física e química alterada de tal forma que as suas propriedades não são mais reconhecidas, aparecendo outras características como, por exemplo, a doçura, no caso dos hidrolisados. Já nas reações não degradativas, a aparência e até algumas características da estrutura física e química do amido são mantidas, de tal forma que pode se tornar difícil reconhecer se o amido foi ou não modificado (ROBERTS, 1965).

Durante a reação de modificação química, a molécula de amido possui dois importantes grupos funcionais: o grupo OH, susceptível às reações de substituições e às ligações C–O–C, susceptíveis à ruptura das cadeias. No primeiro grupo, a hidroxila da glicose tem caráter nucleofílico e através das reações com esse grupo, modificações de várias propriedades podem ser obtidas. Além disso, a ligação cruzada e ponte do tipo OH mudam a estrutura da cadeia, aumentando a viscosidade e a resistência ao cisalhamento, reduzindo a retenção de água (WHISTLER *et al.*, 1984).

Tabela 1.3 Diferentes tipos de modificação e técnicas de preparação de amido modificado.

Modificações	Tipos	Preparações
Física	Tratamento Calor/Umidade	Tratamento Calor-Umidade → Aquecimento do amido, a uma temperatura acima de seu ponto de gelatinização, tendo umidade insuficiente para provocar a gelatinização Annealing → Aquecimento de uma suspensão de amido granular em uma temperatura abaixo do seu ponto de gelatinização por longos períodos de tempo
	Pré-gelatinização	Pré-géis / instantâneos / amidos intumescidos em água fria preparados com drum drying / spray cooking / extrusão / tratamentos à base de solventes
Conversão	Hidrolise Ácida Parcial	Tratamento com ácido clorídrico ou ácido orto-fosfórico ou ácido sulfúrico
	Hidrolise Enzimática Parcial	Tratamento em solução aquosa a uma temperatura abaixo do ponto de gelatinização com um ou mais enzimas aminolíticas de grau alimentício
	Tratamento Alcalino	Tratamento com hidróxido de sódio ou de potássio

Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

Tabela 1.3 Diferentes tipos de modificação e técnicas de preparação de amido modificado (Continuação).

Modificações	Tipos	Preparações
Conversão	Tratamento Alcalino	Tratamento com hidróxido de sódio ou de potássio
	Oxidação/ Branqueamento	Tratamento com ácido peracético e/ou peróxido de hidrogênio, ou hipoclorito de sódio, ou cloreto de sódio, ou dióxido de enxofre, ou permanganato de potássio, ou persulfato de amônio
	Piro-conversão/ Dextrinização	Pirodextrinas → Preparado pelo amido acidificado seco e tostado
Derivatização	Eterificação	Amido Hidroxipropil → Esterificação com óxido de propileno
	Esterificação	Acetato de amido → Esterificação com anidrido acético ou acetato de vinil Di amido adipato → Esterificação com anidrido acético e anidrido adípico Amido sódico octenil-succinato → Esterificação por anidrido octenil-succinico

Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

Tabela 1.3 Diferentes tipos de modificação e técnicas de preparação de amido modificado (Continuação).

Modificações	Tipos	Preparações
Derivatização	Reticulação	Fosfato de mono amido → Esterificação com ácido orto-fosfórico, ou ortofosfato de sódio ou de potássio, ou tripolifosfato de sódio Fosfato de di amido → Esterificação com trimetafosfato de sódio ou oxiclureto de fósforo Fosfato di amido fosfatado → combinação de tratamentos de fosfato de mono amido e fosfato di amido
	Modificação Dupla	Fosfato di amido acetilado → Esterificação por trimetafosfato de sódio ou oxiclureto de fósforo combinado com esterificação por anidrido acético ou vinil acetato Hidroxipropil fosfato di amido → Esterificação por trimetafosfato de sódio ou oxiclureto de fósforo combinado com eterificação por óxido propileno

Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

Tabela 1.4 Algumas propriedades e modificações dos amidos modificados.

Tipos	Propriedades	Aplicações
Pré-gelatinização	Dispersão em água fria	Usados em comidas instantâneas
Hidrolise Ácida ou Enzimática Parcial	Polímeros de peso molecular reduzido exposição de viscosidade reduzida, aumento da retrogradação e retrocesso	Usados em produtos de confeitaria, massas e coberturas alimentícias
Oxidação/ Branqueamento	Viscosidade baixa, claridade alta e estabilidade a baixa temperatura	Usado em massas e farinha para o recobrimento de vários alimentos, nos produtos de confeitaria como aglutinantes e formadores de filme, em laticínios como estabilizante
Piro-conversão/ Dextrinização	Solubilidade de baixa para alta dependendo da conversão, viscosidade baixa, alta redução do conteúdo de açúcar	Utilizados como materiais de revestimento de vários alimentos, boa capacidade de formação de filme e como substitutos de gordura em produtos de padaria e laticínios

Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

Tabela 1.4 Algumas propriedades e modificações dos amidos modificados (Continuação).

Tipos	Propriedades	Aplicações
Esterificação	Temperatura baixa de gelatinização e retrogradação, menor tendência a formar géis e maior claridade da pasta	Usado em alimentos refrigerados e congelados, como estabilizadores de emulsão e no encapsulamento
Reticulação	Maior estabilidade dos grânulos para o intumescimento, alta temperatura, alta condições ao cisalhamento e acidificação	Usado como espessantes e estabilizante em sopas, molhos, caldos, produtos de panificação e lácteos
Modificação Dupla	Estabilidade em meio ácido, estabilidade a degradação térmica e mecânica e atraso na retrogradação durante o armazenamento	Utilizados nos gêneros alimentícios enlatados, em alimentos refrigerados e congelados, molhos de salada, pudins e caldos

Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

O produto químico e as propriedades funcionais obtidas ao modificar o amido por substituição química dependem, geralmente, da fonte de amido, das condições da reação (concentração de reagentes, tempo de reação, pH e a presença de catalisador), do tipo dos substituintes, da extensão da substituição (grau de substituição, GS; ou substituição molar, SM), e a distribuição do substituinte na molécula de amido (RUTENBERG e SOLAREK, 1984; LIM e SEIB, 1993; KAVITHA e BEMILLER, 1998; RICHARDSON *et al.*, 2000; WANG e WANG, 2002; HIRSCH e KOKINI, 2002;). Algumas reações de modificações químicas de amido são apresentadas na Tabela 1.5.

Os amidos modificados são utilizados em amplas áreas da indústria alimentícia e em outras indústrias. Cereda *et al.* (2003) citaram alguns tipos de amidos modificados e seu principal emprego nas indústrias. Para estes autores, os amidos ácido-modificados têm viscosidade reduzida e podem ser utilizados nas indústrias têxteis, de papel e de alimentos; os modificados oxidados de géis são muito claros e de baixa viscosidade a quente, sendo usados em confeções de doces de goma mais claros e mais suaves. Já os amidos de ligações cruzadas apresentam alta resistência à ação mecânica e enzimática, sendo usados na produção de alimentos com pH 4 ou inferior; e os acetilados apresentam redução na tendência a retrogradação. E, por fim, os amidos fosfatados são recomendados para alimentos refrigerados ou congelados, por isso suas propriedades o indicam para usos em gelatinas e gomas coloidais, pois suas propriedades dão estabilidade durante o processo de congelamento.

Além da indústria alimentícia, o amido fosfatado pode ser usado em mineração (para separar minérios), indústria têxtil (usados na engomagem), indústria siderúrgica (usados para ligar os materiais usados na confecção de moldes de fundição de metais e ligas) e na indústria de papel (para aumentar a resistência à umidade, como nas toalhas de papel).

Tabela 1.5 Algumas reações comuns de modificações químicas de amido.

Tipos de Modificações	Reações Químicas		
Eterificação Amido Hidroxialquil (com oxido alquilenos)	$\text{St-OH} + \text{H}_2\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{C} \diagdown \\ \text{O} \end{array} \text{R}$	$\xrightarrow{\text{NaOH}}$	$\text{St-O-CH}_2\text{-R}$ $ $ OH
Esterificação Acetato de Amido (com acetato vinila)	$\text{St-OH} + \text{CH}_2 = \text{CH} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_3$	$\xrightarrow{\text{NaOH}}$	$\text{St-O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_3 + \text{CH} = \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{OH}$
Acetato de amido (com anidrido acético)	$\text{St-OH} + \text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_3$	$\xrightarrow{\text{NaOH}}$	$\text{St-O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_3 + \text{CH} = \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{OH}$
Fosfato de Amido (com ortofosfato)	$\text{St-OH} + \text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$	$\xrightarrow{\hspace{2cm}}$	$\text{St-O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{P} - \overset{\ominus}{\text{O}} \text{Na}^+$ $ $ OH
Carboximetil Amido (com ácido acético mono cloro)	$\text{St-OH} + \text{Cl} \cdot \text{CH}_2\text{COOH}$	$\xrightarrow{\hspace{2cm}}$	ONa $ $ $\text{C} = \text{O}$ $ $ St-O-CH_2

St= Amido; POCl₃= Oxidocloreto de fósforo; STMP=Trimetafosfato de sódio. (Fonte: Adaptado de SINGH *et al.*, 2007). Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

Tabela 1.5 Algumas reações comuns de modificações químicas de amido (Continuação).

Tipos de Modificações	Reações Químicas
Reticulação Com POCl_3	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{P} \\ / \quad \backslash \\ \text{Cl} \quad \text{Cl} \quad \text{Cl} \end{array} + \text{StOH} \xrightarrow{\text{NaOH}} \text{St-O-P(=O)(ONa)-O-St} + \text{NaCl}$
Com STMP	$2\text{StOH} + \text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9 \xrightarrow{\text{Catalisador alcalino}} \text{St-O-P(=O)(ONa)-O-St}$
Com EPI	$2\text{StOH} + \text{EPI} \xrightarrow{\text{Catalisador alcalino}} \text{St-O-CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{-O-St}$

St= Amido; POCl_3 = Oxidocloreto de fósforo; STMP=Trimetafosfato de sódio. (Fonte: Adaptado de SINGH *et al.*, 2007). Fonte: Adaptado de SINGH *et al.* (2007).

1.4.1 Reticulação de amido

Uma das reações do amido que visa melhorar as propriedades dos filmes é a modificação da estrutura do polímero através da reação de reticulação. A reticulação envolve a formação de ligações inter e intramoleculares entre macromoléculas adjacentes ao polímero. A reticulação geralmente é realizada através do tratamento do amido granular com reagentes multifuncionais capazes de formar ligações intra e intermoleculares entre grupos hidroxila nas moléculas de amido (RUTENBERG e SOLAREK, 1984; WURZBURG, 1986a, 1986b). Essa modificação é mais importante para os amidos com alto teor de amilopectina (féculas ou amidos cerosos), porque os géis são mais frágeis sob aquecimento e agitação, portanto mais beneficiados pelo fortalecimento (CEREDA, 2001). Os amidos reticulados são utilizados em produtos onde é preciso uma grande estabilidade, como nos biofilmes poliméricos naturais (BELITZ e GROSCHE, 1988). O aumento no grau de reticulação torna o material mais rígido com o incremento do número de ligações covalentes na estrutura do polímero, reduzindo, assim, a sua mobilidade e melhorando a resistência do filme (DELVAL *et al.*, 2004). A presença de grupos reativos no polímero torna possível a reticulação das cadeias por três métodos: tratamento químico, tratamento enzimático e o tratamento físico.

Quanto ao tratamento físico, ele pode ser térmico e por radiação gama (γ) ou radiação UV. Estes tratamentos são usados para formar ligações intermoleculares nos filmes de proteína. Alguns estudiosos desenvolveram pesquisas de reação de reticulação pelo tratamento físico. Follain *et al.* (2005b), por exemplo, reticularam filmes à base de blendas de amido de trigo nativo e PVA (álcool polivinílico) com radiação UV, usando benzoato de sódio como foto sensibilizador. Estes autores observaram que a modificação na distribuição molecular do amido, por adição de PVA e a reticulação com radiação UV, produz um aumento na tensão na ruptura do filme. Já Sabato *et al.* (2001) reticularam filmes com isolado de proteína de soja e proteína do soro do leite com adição de PVA e carboximetilcelulose (CMC) com radiação gama. Estes autores observaram que a força e a deformação na ruptura aumentaram ao reticular os filmes de proteína de soja e proteína do soro de leite. Entretanto, a adição de PVA provocou um aumento maior da força na ruptura dos filmes de proteína de soja e proteína do soro de leite do que dos filmes com adição de CMC. Le Tien *et al.* (2000) formularam filmes de proteína de soro de leite reticulados por tratamento térmico e radiação gama. Os filmes obtidos eram insolúveis,

com boas propriedades mecânicas e alta resistência ao ataque das enzimas proteolíticas. E, por fim, Marques *et al.* (2006) reticularam filmes de amido de mandioca utilizando diacrilato tetraetileno glicol e radiação U.V. Estes autores observaram uma redução de 9 a 16% na solubilidade em água destes filmes.

Em tratamentos enzimáticos, as reações de reticulação utilizam enzimas como agentes reticulantes. A enzima mais utilizada, segundo a literatura, é a transglutaminase. A reticulação com transglutaminase tem sido utilizada na formulação de filmes como biofilmes à base de gelatina de peixe e quitosana (KOLDZIEJSKA *et al.*, 2006), quitosana e proteína de soro de leite (DI PIERRO *et al.*, 2006), gelatina e caseína (CHAMBI e GROSSO, 2006), pectina e farinha de soja (DI PIERRO *et al.*, 2005), proteína de clara de ovo (LIM *et al.*, 1998), glúten desamidado (LARRE *et al.*, 2000), proteína concentrada de α -lactoalbumina e β -lactoglobulina (ABLETSHAUSER *et al.*, 1993), e gelatina com glicerol (LIM *et al.*, 1999). CARVALHO e GROSSO (2004) diminuíram a solubilidade em 20% e a permeabilidade ao vapor de água em 35% de filmes de gelatina ao reticular com transglutaminase. Oh *et al.* (2004) reticularam com transglutaminase filmes de proteína de leite e filmes de hidrolisado de zeína. A elongação do filme de caseína foi aumentada em 41% pela ação da transglutaminase. No entanto, a reticulação enzimática não afetou significativamente a solubilidade nem a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.

No processo de elaboração de amidos modificados por tratamento químico, através de ligações cruzadas, o polímero é fortalecido através de reações das hidroxilas de amido com um agente polifuncional, como o trimetafosfato de sódio (SMTP), fosfato monossódico (SOP), tripolifosfato de sódio (STPP), epiclоридrina (EPI), oxicloreto de fósforo (POCl_3), cloreto de vinil e misturas de ácido adípico e anidrido acético, que são os principais agentes usados para amidos reticulados de grau alimentícios (WATTANCHANT *et al.*, 2003; WOO e SEIB, 1997; SINGH *et al.*, 2007). A reação inicia na quebra da ligação O–H para formar o amido aniônico (St–O⁻). O resumo do mecanismo de reação é descrito nas Equações 1 e 2, onde o St representa o amido e R o agente reticulante. O mecanismo da reação de reticulação é facilitado pela presença de reagentes alcalinos (NaOH, KOH) (KUNIAK e MARCHESSAULT, 1972).



Na maioria dos casos usa-se um grau de reticulação relativamente baixo, com cerca de uma ligação por 100 a 2000 unidades de glicose, com uma taxa média de grau de reticulação correspondendo a cerca de um para cada 20 unidades de glicose. A figura 1.5 apresenta a representação das ligações cruzadas formadas no grânulo de amido e na suspensão do amido gelificado (CEREDA *et al.*, 2003).

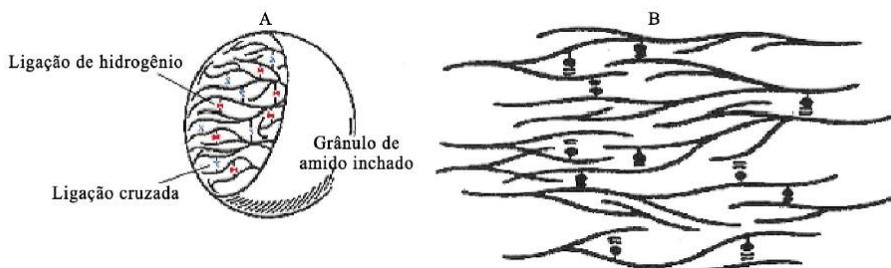


Figura 1.5. Representação das ligações cruzadas (A) no grânulo de amido e (B) localização das ligações sobre o amido gelificado.

(Fonte: CEREDA *et al.*, 2003).

O tipo do agente reticulante determina as mudanças nas propriedades funcionais dos amidos tratados. POCl_3 (oxicloreto de fósforo) é um eficiente agente reticulante em suspensão aquosa com o pH menor que 11 e na presença de um sal neutro (FELTON e SCHOPMEYER, 1943). O STMP (trimetafosfato de sódio) é relatado como um agente reticulante eficiente em altas temperaturas com amido seco e em média temperatura com amido hidratado em suspensão aquosa (KERR e CLEVELAND, 1962). Amido fosfatado comercial apresenta uma pasta clara, com alta consistência, boa estabilidade ao congelamento/descongelamento e propriedades emulsificantes. Pode ser agrupado em duas classes: o fosfato monoamido e fosfato diamido (amidos reticulados). A EPI (epicloridrina) é pouco solúvel em água, porém se decompõe parcialmente a glicerol (molécula solúvel em água). Entretanto, foi relatado que ligações cruzadas com EPI têm distribuição mais uniforme do que o STMP (SHIFTAN *et al.*, 2000).

A Tabela 1.6 apresenta um resumo dos resultados obtidos em diferentes estudos onde a reticulação química foi utilizada como uma estratégia para melhorar as propriedades dos filmes.

Tabela 1.6 Efeito da reticulação nas propriedades de filmes.

Material	Reticulante	Resultado	Referência
Amido (70% amilose)	Epicloridrina (1-10g EPI/100g polímero)	Ao aumentar o grau de reticulação, diminuiu o grau de cristalinidade do amido. Os valores máximos das propriedades mecânicas foram dos filmes com graus moderados de reticulação.	<i>RIOUX et al.</i> (2002)
Farinha com alto conteúdo de amido	Epicloridrina	O aumento na concentração de EPI (de 10 a 70 mL) tornou o material mais rígido. Devido ao aumento no número de ligações covalentes na rede do polímero, reduzindo assim a mobilidade da matriz.	<i>DELVAL et al.</i> (2004)
Amido de milho ceroso e com alto conteúdo de amilose	Epicloridrina	A tensão dos filmes aumentou com o aumento no conteúdo de amilose. Filmes de amido ceroso mostraram elongações menores às observadas nos filmes com amilose. Os filmes de amido reticulado mostraram uma variação moderada das propriedades mecânicas (tensão e elongação).	<i>LLOYD e KIRST</i> (1963)
Amido (20% amilose) e PVA	Epicloridrina	Foi observada uma queda na intensidade do pico –OH (3237 cm ⁻¹) ao aumentar o grau de reticulação (FTIR). A reticulação do filme produz temperaturas de transição vítrea (T _g) menores.	<i>SREEDHAR et al.</i> (2006)
Amido de batata e LDPE	Epicloridrina (0,1-2,0g EPI/100g amido)	Filmes de LDPE contendo 5-10% de amido reticulado apresentaram melhores propriedades mecânicas (tensão e elongação na ruptura) que os filmes de LDPE com amido de batata nativo.	<i>KIM e LEE</i> (2002)

Fonte: Adaptado de Elizondo, 2007.

Tabela 1.6 Efeito da reticulação nas propriedades de filmes (Continuação).

Material	Reticulante	Resultado	Referência
Amido de milho (HSPAN) e PVA	Epicloridrina	Foi melhorada a compatibilidade entre HSPAN/PVA pela reticulação com EPI, e assim as propriedades mecânicas dos filmes. A solubilidade em água dos filmes diminuiu com o aumento de EPI. E foi observada uma reticulação simultânea do EPI com os grupos hidroxilas do amido e do PVA	<i>KIM et al.</i> (2002)
Quitosana	Epicloridrina	Os filmes de quitosana reticulados com epicloridrina apresentaram propriedades mecânicas (tensão na ruptura) melhoradas.	<i>ZHENG et al.</i> (2000)
Amido de mandioca	Glutaraldeído	Ao aumentar o conteúdo de glutaraldeído diminuiu a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de mandioca, devido ao efeito da reticulação.	<i>PARRA et al.</i> (2004)
Isolado de proteína de amendoim	Epicloridrina Glutaraldeído	A reticulação dos filmes de isolado de proteína de amendoim com EPI melhorou as propriedades dos mesmos, ao diminuir sua permeabilidade ao vapor de água e aumentar a tensão na ruptura.	FENG e LIU (2005)
Quitosana e PVA	Formaldeído glutaraldeído gloxal	A reticulação dos filmes compostos de quitosana e PVA com três tipos de aldeídos diminuiu a permeabilidade ao vapor de água e aumentou a tensão e alongação na ruptura.	<i>CHEN et al.</i> (2005)
Amido de milho, PVA e glicerol	Ácido bórico	Os filmes obtidos a partir de amido de milho com PVA, glicerol e ácido bórico apresentaram boas propriedades mecânicas e resistência à água.	<i>YIN et al.</i> (2005)

Fonte: Adaptado de Elizondo, 2007.

Tabela 1.6 Efeito da reticulação nas propriedades de filmes (Continuação).

Material	Reticulante	Resultado	Referência
Isolado de proteína de soja e zeína	Formaldeído glutaraldeído glioxal cinamaldeído	A adição de formaldeído, glutaraldeído, glioxal e cinamaldeído como agentes de reticulação em filmes de isolado de proteína de soja e zeína, melhorou as propriedades físicas dos filmes. Em particular, o cinamaldeído foi considerado o melhor agente porque é seguro em alimentos.	LEE <i>et al.</i> (2005)
Amido de mandioca	Diacrilato tetraetileno glicol	Após a reticulação, a solubilidade em água do amido diminuiu a 9-16%. A reação de reticulação foi confirmada pela caracterização no FTIR.	MARQUES, <i>et al.</i> (2006)
Amido de milho, fibra lignocelulósica e PVA	Hexametoximetilmelamina (HMMM)	A reticulação química dos filmes de amido, fibra e PVA (todos eles polímeros com grupos hidroxila) com hexametoximetilmelamina (HMMM) aumentou a resistência à água dos filmes.	IMAM <i>et al.</i> (2005)
Amido (21% amilose), PVA, polietilenglicol	Bórax	Os filmes reticulados apresentaram maior estabilidade e menor Tg que as blendas de amido-PVA sem adição de bórax. A tensão na ruptura dos filmes aumentou e a elongação diminuiu ao aumentar a concentração de bórax adicionada.	SREEDHAR <i>et al.</i> (2005)

Fonte: Adaptado de Elizondo, 2007.

1.4.1.1 Reticulação do amido com Epicloridrina

M. Konigsberg descobriu, em 1945, que a epicloridrina podia reagir com amido granular em sistema aquoso para proporcionar ligações cruzadas nas moléculas. Este amido modificado tem propriedades semelhantes às dos amidos modificados obtidos por reação com oxícloreto de fósforo. Atualmente, a reação de amido reticulado por epicloridrina é amplamente documentada e apresenta-se como um método relativamente simples para obter amido modificado. A figura 1.6 apresenta a estrutura da epicloridrina.

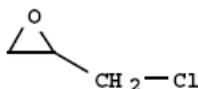


Figura 1.6. Estrutura química da epicloridrina.
(Fonte: SHIFTAN *et al.*, 2000).

A estrutura do polímero reticulado é complexa, com muitas unidades de glicose interconectadas, formando uma rede tridimensional (DELVAL *et al.*, 2004). E, além da formação de um polímero reticulado pela reação do amido com a epicloridrina, pode existir a epicloridrina homopolimerizada ao reagir com ela mesma. A figura 1.7 apresenta a rede polimérica formada pela reticulação entre o amido e a epicloridrina.

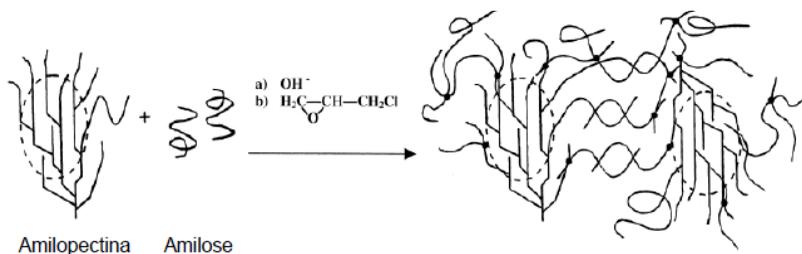


Figura 1.7 Formação da rede polimérica por reticulação do amido com a epicloridrina.
(Fonte: SHIFTAN *et al.*, 2000).

Para formar este polímero reticulado, há dois processos que podem ser utilizados para promover a reação de reticulação do amido com a epicloridrina: o processo heterogêneo e o homogêneo. Na reação heterogênea, o amido é mantido na forma granular ao se adicionar uma

baixa concentração de NaOH (0,3-0,5%) e reagindo com a epícloridrina a temperaturas baixas (20–30°C) por tempos longos (16–24h). Desta forma, é possível recuperar o amido após a reação, através da secagem. Na reação homogênea, o amido é disperso numa solução alcalina, com uma concentração de NaOH mais elevada (2-20%), e a EPI é adicionada sob agitação contínua. A temperatura da reação pode ser moderada (40-50°C) e o tempo será consideravelmente menor, cerca de 1 a 2 horas (KUNIAK & MARCHESSAULT, 1972).

Tanto Lloyd e Kirst (1963) quanto Kim e Lee (2002) utilizaram a reticulação heterogênea. No primeiro caso com um tratamento de 16 horas a 23 °C; e no segundo caso por 24 horas à temperatura ambiente, com um pH inicial de 10,5, sendo ajustado no final a pH 5,5 com ácido acético para deter a reação.

Reações do tipo homogênea foram estudadas por Kim *et al.* (2002) e Sreedhar *et al.* (2006), sendo realizada nos dois casos a 40 °C por 2 horas, com um pH inicial de 10 e com concentrações de epícloridrina que variavam entre os 5 e 20% (m/m). Para a formação de filmes de amido com alto conteúdo de amilose (70%), a reticulação do amido com EPI (1-10%) foi realizada a 50 °C por uma hora, com posterior ajuste do pH com ácido acético (RIOUX *et al.*, 2002).

Kartha e Srivastava (1985a, 1985b) estudaram a cinética e o mecanismo da reação do amido com a epícloridrina, observando que a reação segue uma cinética de segunda ordem. Baseado nas evidências encontradas na cinética da reação, esses autores propuseram os mecanismos da reação, conforme descrito na Figura 1.8.

Na reação de reticulação do amido com epícloridrina em presença de álcali, ocorre a formação do amido sódico, mostrado no passo (1) do mecanismo. No passo (2), o amido aniônico ataca a molécula da epícloridrina, e o anel epóxido é aberto, resultando na formação de um novo epóxido (i). A formação de (i) pode se dar pelo mecanismo (a) ou em duas etapas pelo mecanismo (b). No passo (3), outra molécula de amido sódico reage de maneira similar ao passo (2), dando como resultado o produto reticulado (ii).

Entretanto, o produto (i) pode reagir com a OH do meio para formar o subproduto mono glicerol éter (iii) numa reação lateral. A formação de (ii) e (iii) é resultado da competição entre StO⁻ e OH⁻/H₂O por (i). A formação preferencial de um ou outro produto dependerá da concentração destas espécies. No caso de reações sob condições homogêneas, tem sido observado que a formação de (iii) é aumentada com o incremento da razão água/amido. Outro fator que pode influenciar a formação de (ii) e (iii) é a razão amido/EPI.

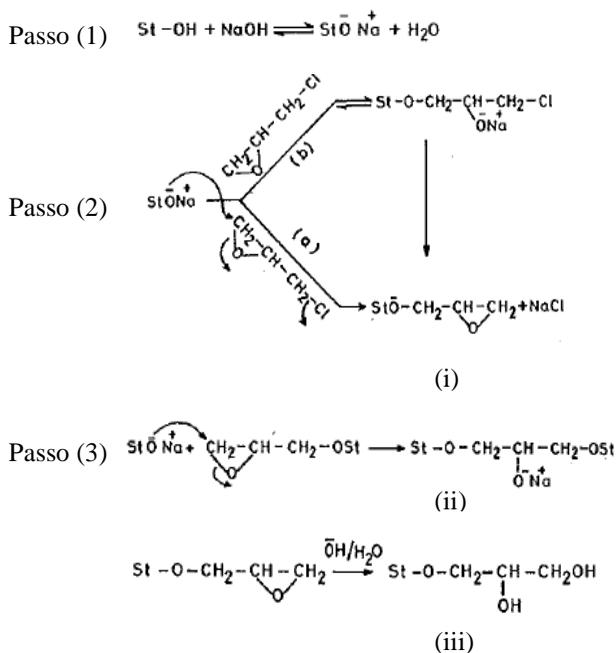


Figura 1.8. Mecanismo da reação de amido com epiclorigrina em meio alcalino.

(Fonte: KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b)

Sob condições idênticas, maiores razões amido/EPI vão favorecer a formação de (ii), que é o produto reticulado. Portanto, altas concentrações de NaOH e EPI favorecem a formação de mono glicerol éter (iii), produto não desejado na reação. Na Figura 1.9 mostra-se a formação de produtos de reações secundárias com altas concentrações de NaOH e epiclorigrina.

Em condições de abundância de NaOH e epiclorigrina no meio, a reação de reticulação envolve mais de uma unidade de epiclorigrina, formando-se o produto (iv). Outra reação lateral importante é a hidrólise da epiclorigrina, a clorigrina (v), e posteriormente o glicerol (vi). Nas reações sob condições homogêneas, observou-se que ao se aumentar o conteúdo de água no sistema, incrementa-se a formação de (v) e (vi) por hidrólise da epiclorigrina (KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b).

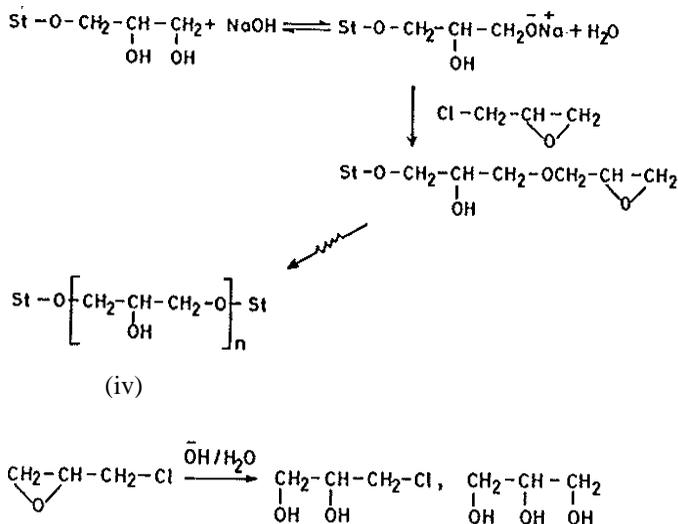


Figura 1.9. Mecanismo da reação (v) (iv) é a reação do amido (vi) epícloridrina em meio alcalino.

(Fonte: KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b).

A reação do amido com a epícloridrina é de natureza complexa. É difícil relacionar o rendimento do produto reticulado com a eficiência química da reação de reticulação, já que tanto a reticulação quanto as reações secundárias encontram-se envolvidas no processo. Hammestrand *et al.* (1960) determinaram a extensão da reação de reticulação do amido com epícloridrina ao determinar a quantidade de epícloridrina que não reagiu por análise química.

Kuniak e Marchessault (1972) reportaram que, dependendo das condições de tempo, temperatura e razão molar dos reagentes, de 5 até 25% da epícloridrina podem ser ligadas ao amido para formar mono glicerol éter (iii). Esses autores observaram que a maior eficiência da reação de reticulação foi atingida ao usar altas concentrações de amido (140-360g/L) e uma baixa razão molar de NaOH/amido, entre 0,5 e 1,0, onde as temperaturas (25-50 °C) não afetam o rendimento da reação, mas sim o tempo da mesma, sendo recomendadas temperaturas baixas.

Kartha e Srivastava (1985b) recomendaram, para condições heterogêneas de reação (onde se mantém a estrutura granular intacta), uma concentração de NaOH que não supere 1% (m/v), com temperatura inferior a 50 °C e com uma razão amido/água de 1:2. Sob estas

condições o tempo de reação foi de 16-24 horas, onde 70-85% do reagente é consumido.

1.4.2 Acetilação do amido

A acetilação do amido é um processo de esterificação, conhecida há mais de um século. Acetatos de amido, com altos grau de substituição (GS) de 2-3, receberam atenção a partir de 1950 até 1980, pela solubilidade do acetato de amido em acetona e clorofórmio e por suas propriedades plásticas (ELOMAA *et al.*, 2004). Após este período, amidos de baixos graus de acetilação, com GS de 0,01 a 0,2, mantiveram interesse comercial por apresentarem propriedades de formação de filmes, adesividade e estabilidade (GRAAF *et al.*, 1998).

O objetivo da esterificação do amido é, principalmente, introduzir cadeias laterais ou radicais de éster na amilose linear. O número de radicais introduzidos na amilose linear é expresso como Grau de Substituição (GS), que é a razão entre o número de ligações e o número de unidades de glicose. O GS pode atingir um máximo de 3 moles de substituinte acetila por mol de unidade de D-glucopiranosose (anidroglicose), significando, neste caso, que todos os 3 grupos hidroxilas, em cada unidade, formam acetilados. O grau de substituição pode variar de 0 a 3. Entretanto, o GS pode exceder a 3,0 se a unidade final tiver quatro grupos acetil (CEREDA *et al.*, 2003). Especificando, um derivado de amido com GS de 0,05 contém 5 substituições por 100 unidades de glicose como valor médio. Os ésteres e éteres de amido comerciais geralmente têm um GS abaixo de 0,2, o que significa menos que 20 substituições por 100 unidades de glicose. Na maioria dos casos, uma ligação cruzada a cada 500 a 1000 unidades de glicose é suficiente para a obtenção da estabilidade necessária sem alteração do valor nutricional (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004).

Segundo Swinkels (1996), os radicais de um derivado de amido parcialmente substituído são distribuídos entre três radicais hidroxílicos (C-2, C-3 e C-6) da unidade de glicose na molécula de amido. A distribuição é determinada pela reatividade relativa do grupo hidroxil e a natureza da reação de substituição. Os substitutivos nos acetatos de amidos comerciais, como os amidos hidróxi-álquil, carbóxi-metil e amidos catiônicos são predominantemente ligados ao carbono 2 das unidades de glicose. Os demais substitutivos são ligados principalmente à posição C-6, apenas com substituições negligenciáveis no C-3. A figura 1.10 apresenta a estrutura destes amidos estabilizados com baixo GS. A reação de amido com reagente de esterificação e eterificação é

um método para introduzir cadeias laterais, acrescentando irregularidades às cadeias de amido.

Em relação aos processos de esterificação, os mesmos são importantes na produção de ésteres de interesse comercial, principalmente nas áreas de solventes, extractantes, diluentes, plastificantes, surfactantes, polímeros, essências e fragrâncias sintéticas e, ainda, como intermediário químico para indústrias farmacêuticas, herbicidas e pesticidas (GHIOTTI e FALCONE, 1994).

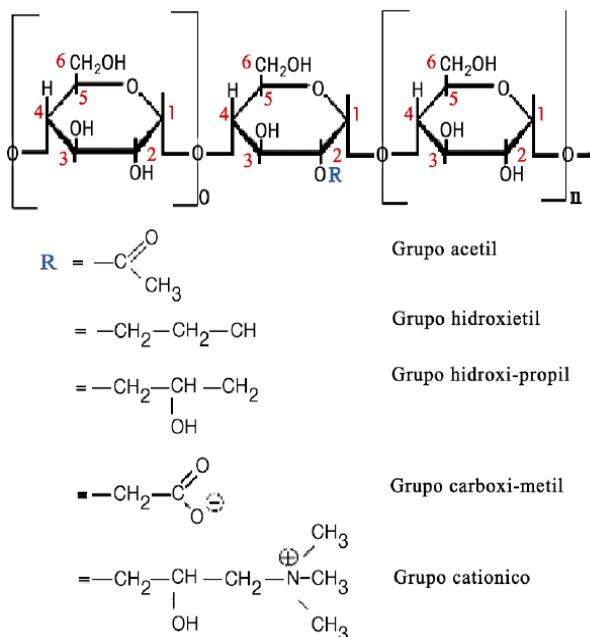


Figura 1.10 Diferentes modificações químicas para os amidos estabilizados com baixo grau de substituição.
(Fonte: CEREDA *et al.*, 2003).

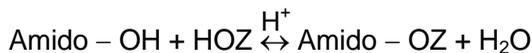
Os amidos naturais não modificados são insolúveis em solventes orgânicos e em água, dispersando a quente e dando, pelo resfriamento, géis cujas viscosidades dependem principalmente do tipo e da origem botânica do amido. Entretanto, a solubilidade de um amido acetilado depende do índice de esterificação, do grau de degradação da molécula esterificada, da fragmentação do grão de amido ou do derivado, da natureza do substituinte acila, do tipo de amido, do

solvente e da temperatura (DEGERING, 1950; ROSENTHAL, 1993; GHIOTTI e FALCONE, 1994). Assim, em graus de substituição (GS) de até 0,3, aproximadamente, os produtos continuam insolúveis; de 0,3 a 1,1 GS tornam-se solúveis em água e insolúveis em solventes orgânicos; acima desse grau de substituição são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (ROSENTHAL, 1993; GHIOTTI e FALCONE, 1994).

Em relação aos filmes de amido acetilado, a resistência mecânica é maior para a fração de amilose (triacetatos de amilose), enquanto que a fração da amilopectina dá filmes frágeis (triacetatos de amilopectina). Os amidos acetilados preparados com amido comum integral dão produtos moldáveis quebradiços e transparentes. Os preparados com amilose ou com alto teor de amilose dão plásticos moldáveis, resistentes e duros (ROSENTHAL, 1993).

Um exemplo de obtenção desses ésteres é o sistema de reagente-catalisador-solvente que foi reportado na literatura devido a pesquisas de estudiosos como Wurzburg (1960) e Rutenberg e Solarek (1984). Este sistema é utilizado para obtenção de acetato de amido em laboratório e com GS entre 2-3. Os reagentes citados por estes autores incluem ácido acético, anidrido acético, acetato vinil, ceteno, N-acetilimidazol, etil carbônico-anidrido acético, acetil guanidino, acetil fosfato e cloreto de N-acetil-metilimidazol.

O processo de esterificação pode ser efetuado por reação direta com ácido carboxílico ou indireta com derivados de ácidos anidridos, cloretos ésteres vinílicos e outros produtos reativos derivados dos respectivos ácidos (WANG e WANG, 2002). A esterificação direta do amido é uma catálise ácida, uma reação de equilíbrio controlado (Equação 3) (ROBERTS, 1965).



Sendo a água um produto da reação, e a reação catalisada por ácidos, a esterificação direta invariavelmente leva a alguma degradação da molécula de amido por hidrólise ácida, catalisada das ligações glicosídicas. Assim, com poucas exceções, a esterificação direta não é recomendada como um método para a preparação de ésteres de amido.

Na reação indireta, a substituição realiza-se principalmente por um mecanismo de adição-eliminação, e é comumente catalisada por base. Essa substituição pode ser chamada de substituição nucleofílica em um átomo de carbono insaturado (ROBERTS, 1965).

O sistema comumente utilizado para a acetilação de amido é o que utiliza uma mistura de anidrido acético – piridina, que produz altos graus de substituição com uma degradação mínima. Geralmente, o amido deve ser tratado para romper a estrutura do grão ou as ligações associativas, no caso de amilose isolada. Esse tratamento é necessário para se conseguir um material poroso, finamente dividido. Refluxando-se o amido em piridina, a 115 °C, por 1 hora, consegue-se “ativar” o amido sem que ocorra gelatinização. Outro método envolve a gelatinização do amido por aquecimento do mesmo em piridina aquosa a 60% e a destilação do azeótropo piridina-água da mistura (P.E. 93 °C). Uma gelatinização é obtida quando a temperatura alcança 80–90 °C, com os últimos traços do azeótropo sendo removidos quando a temperatura alcança 115 °C. Neste ponto, junta-se anidrido acético e a reação está 95% completa em cerca de 5 minutos, a 115 °C. Um tempo total de 1 hora é relatado como sendo suficiente para acetilar inteiramente o amido (KRUGER e RUTENBERG, 1967).

Outro processo eficiente para obtenção de derivados de altos GS é o descrito por Wurzburg (1986a). Esse processo compreende um pré-tratamento do amido gelatinizado em água e desintegrado sob forte agitação. A massa obtida é re-precipitada em álcool e seca. A esse amido pré-tratado adiciona-se piridina e anidrido acético, agita-se e aquece-se a 100 °C durante 1 a 4 horas. A solução contendo o acetato de amido, depois de resfriada, é precipitada em álcool absoluto.

O segundo processo descrito por Wurzburg (1964), baseado em trabalhos de Caldwell, diz respeito a amidos acetilados de baixo GS. Eles são preparados reagindo anidrido acético com amido granular suspenso em água com o pH 8,0 com solução de hidróxido de sódio a 3%. Após a adição de todo o anidrido, acidifica-se levemente a suspensão com ácido clorídrico diluído. Posteriormente, o produto obtido é filtrado, lavado e seco.

Graaf *et al.* (1998) descreveram um reator tubular para o processamento comercial de acetilação, onde é usada uma suspensão de amido em água, o que é comum a outros processos de fabricação. A concentração do hidróxido e a temperatura devem ser mantidas baixas para evitar gelificação do amido, o que ocasionaria sérios problemas à mistura devido ao aumento da viscosidade.

O reagente comumente utilizado para obter o acetato de amido é o anidrido acético. O anidrido acético é utilizado em solução aquosa ligeiramente alcalina para baixos graus de substituição ou, ainda, em conjunção com ácido acético e piridina para os graus de substituição variando até três (WANG e WANG, 2002). A Figura 1.11 apresenta a

equação de obtenção do acetato de amido pela reação do amido com anidrido acético. Outro reagente bastante utilizado é o ácido acético glacial, utilizado sem a presença de água para produzir acetatos de amido parcialmente degradados e de baixo grau de substituição.

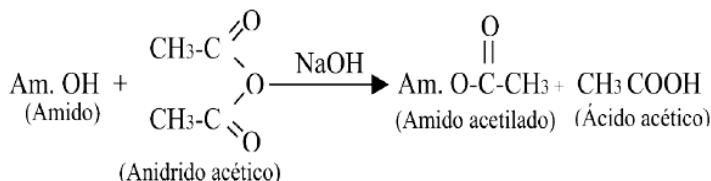


Figura 1.11 Equação de obtenção do acetato de amido pela reação do amido com anidrido acético.
(Fonte: SINGH *et al.*, 2007).

A mistura anidrido acético/ácido acético tem recebido considerável atenção por parte dos pesquisadores, por atuar como um sistema de acetilação de amido. Em baixas temperaturas, sem catalisador, a reação do amido é lenta, alcançando 4,1% de acetila em 6 horas, a 50 °C. Contudo, com 1% de ácido sulfúrico, a reação é muito mais rápida, chegando a 40,9% de acetila nas mesmas condições. A taxa de acetilação cresce com o aumento da temperatura e da concentração do catalisador ácido. Experiências mostram que, após um período curto de indução, a taxa é relativamente elevada até um teor de acetila de 35–40% ser alcançado. Após esse valor a taxa começa a decrescer. Nesse processo ocorre degradação do amido, que aumenta com a concentração, temperatura e tempo (KRUGER e RUTENBERG, 1967).

Larotonda (2002) descreveu a síntese do acetato de amido baseado, parcialmente, na patente (US Patent n° 5.710.269) de autoria de Bernice L. Feuer, depositada por Hoescht Celanes e Corp., Somerville, New Jersey (FEUER, 1998). Esta patente descreve um método para preparar acetato de amido usando um catalisador ácido. Larotonda (2002) relata que a alteração introduzida no processo foi a substituição do agente catalítico ácido metil-sulfônico por ácido sulfúrico concentrado. Este autor avaliou o grau de substituição (GS) obtido em fécula de mandioca conforme o método descrito por Wurzburg (1964). O grau de substituição obtido foi em torno de 1,7. A figura 1.12 apresenta a reação de acetilação do amido com anidrido acético/ácido acético em presença de catalisador ácido sulfúrico.

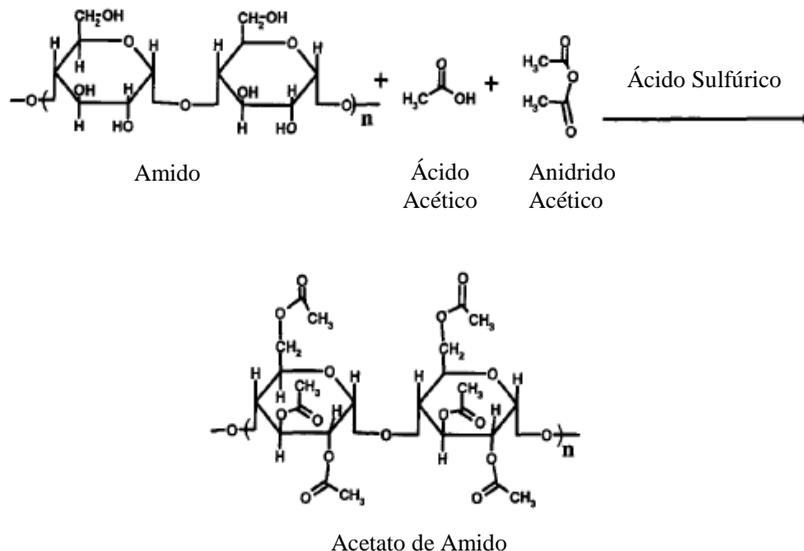


Figura 1.12. Obtenção do acetato de amido pela reação do amido com ácido acético e anidrido acético, em presença do catalisador ácido sulfúrico. (Fonte: LEPENIOTIS e FEUER, 1997).

Os resultados obtidos por Larotonda (2002) mostraram a influência da temperatura de reação no grau de substituição obtido durante a síntese de acetato de amido, conforme figura 1.13. Foi observado que o grau de substituição do acetato de amido aumenta com a elevação da temperatura de reação. Resultados similares também foram obtidos por outros autores (FEUER, 1998; LEPENIOTIS e FEUER, 1997).

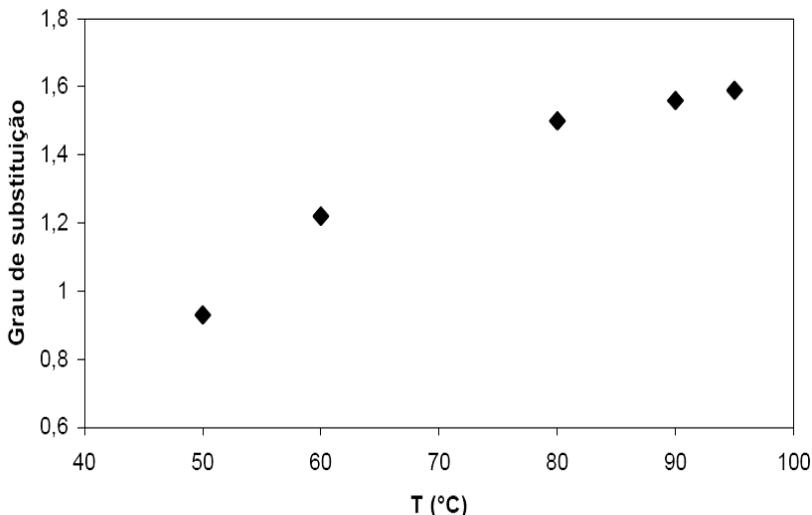


Figura 1.13 Influência da temperatura no grau de substituição (GS).
(Fonte: LAROTONDA, 2002).

1.4.3 Adição de compostos lipídicos na solução filmogênica

Coberturas e biofilmes à base de lipídios produzidos com ceras, óleos ou ácidos graxos são efetivos como barreira à umidade devido ao seu caráter hidrofóbico. Coberturas e biofilmes feitos de polissacarídeos (celulose, pectina, amido, alginatos, quitosana e gomas) apresentam boa barreira a gases (O_2 e CO_2), mas não à água, provavelmente devido à alta polaridade deste tipo de filme. As coberturas e biofilmes a partir de proteínas (caseína, gelatina, soja, zeína, glúten e albumina de ovo) são boas barreiras ao O_2 e CO_2 em ambientes com baixa umidade relativa, mas não em alta umidade devido à susceptibilidade do filme em absorver umidade e se dissolver. Filmes e coberturas compostos, ou de duas camadas, tem sido investigados, a fim de melhorar as características de permeabilidade, resistência mecânica, flexibilidade e valor nutricional (AMARANTE e BANKS, 2001).

Muitos pesquisadores têm estudado o efeito da adição de componentes lipídicos nas propriedades mecânicas e de permeabilidade de biofilmes elaborados a partir de proteínas ou polissacarídeos. De acordo com McHugh (2000), filmes formados somente à base de lipídios promovem uma boa barreira ao vapor de água, mas para obtê-lo é freqüentemente necessária a utilização de solventes orgânicos ou altas temperaturas. Além disso, eles apresentam propriedades mecânicas

pobres. Gontard e Ring (1996) encontraram problemas na aplicação de filmes lipídicos em alimentos devido à baixa adesão, características heterogêneas e quebradiças, susceptibilidade à oxidação e propriedades sensoriais não aceitáveis.

Os filmes compostos de proteínas e lipídios, por outro lado, apresentam a vantagem de reunir os pontos positivos de cada um, já que os filmes hidrofóbicos apresentam boa barreira ao vapor de água e filmes hidrofílicos apresentam boa barreira a gases, além de propiciar boas propriedades mecânicas (AMARANTE e BANKS, 2001). Biofilmes compostos de proteínas ou polissacarídeo adicionados de lipídios, como gelatina, triacetina e ácidos graxos (FAKHOURI, 2002; BERTAN *et al.*, 2005; DAVANÇO *et al.*, 2007) e farinha de amaranto e ácido esteárico (COLLA *et al.*, 2006) apresentam menor permeabilidade ao vapor de água quando comparados a filmes de caseinatos (AVENA-BUSTILLOS e KROCHTA, 1993), proteínas do soro de leite (ANKER *et al.*, 2002), zeína (WELLER *et al.*, 1998) e glúten de trigo (POMMET *et al.*, 2003; GONTARD *et al.*, 1995). O mesmo comportamento foi observado em biofilmes compostos de polissacarídeos e lipídios, elaborados com metilcelulose (DEBEAUFORT e VOILLEY, 1995; AYRANCI e TUNC, 2001; GALLO *et al.*, 2000; GARCIA *et al.*, 2000) e hidroxi-propil-metilcelulose (KAMPER e FENNEMA, 1984).

Entre os aditivos lipídicos utilizados para a elaboração de biofilmes, as ceras, os ácidos graxos saturados de cadeia longa e álcool graxo foram os mais efetivos em melhorar as propriedades de barreira à umidade em filmes de hidrocolóides (BERTAN, 2003). A eficiência dos ácidos graxos em atuarem como barreira ao vapor de água depende de alguns parâmetros como a estrutura química, grau de saturação, estado físico, assim como também da distribuição homogênea no filme (MARTIN-POLO *et al.*, 1992; CALLEGARIN *et al.*, 1997). Todos os parâmetros anteriores devem ser verificados antes da adição de ácido graxos na matriz do polímero. Os ácidos graxos encontrados em estado líquido oferecem menor resistência à passagem de gases e vapor da água através dos filmes do que aqueles apresentados na forma sólida (MCHUGH, 2000).

Além de escolha do lipídio ser importante na incorporação desse na matriz do polímero, atenção especial deve ser dada à etapa de formação de emulsão, em relação à velocidade de agitação, temperatura, possibilidade de formação de espuma, uma vez que estas propriedades exercem uma grande influência nas propriedades mecânicas e de barreira dos biofilmes obtidos. Quanto maior o número de carbonos na estrutura lipídica, mais difícil é a incorporação dos compostos lipídicos

na solução protéica. Sendo assim, quanto menor for o diâmetro dos glóbulos de lipídios obtidos e quanto mais homogênea for a distribuição, melhores serão as propriedades de barreira ao vapor de água e gases (BALDWIN *et al.*, 1997; GALLO *et al.*, 2000). Por exemplo, o ácido araquídico (22C) possui maior permeabilidade ao vapor de água que o ácido palmítico (16C) e esteárico (18C), o que pode ser explicado pelo fato de que a cadeia longa do lipídio sugere uma estrutura mais heterogênea (MORILLON *et al.*, 2002).

Outro fator que afeta as propriedades de barreira é a concentração dos lipídios na suspensão formadora dos filmes. Gontard *et al.* (1994) estudaram a adição de componentes lipídicos em biofilmes à base de glúten de trigo e verificaram que a adição destes em concentrações de até 20% (em relação à matéria seca) resultou em uma diminuição pronunciada na permeabilidade ao vapor de água. A adição em concentrações superiores levou ao aumento da transferência de vapor de água. Os autores sugeriram que, acima de 20% de lipídios, a distribuição dos mesmos na matriz estrutural da proteína pode ter sido prejudicada, formando-se zonas com maior concentração do componente apolar que, por sua vez, podem ter proporcionado o aparecimento de rachaduras e canais preferenciais, através dos quais o vapor de água difundiu-se na estrutura dos filmes. Comportamento semelhante foi observado por Ferreira (2006) que estudou filme de gelatina com triacetina e adição de ácido esteárico e ácido palmítico. Davanço *et al.* (2007) observou que a adição do ácido esteárico (10% em base seca de gelatina) aos filmes de gelatina foi mais eficiente na redução da permeabilidade ao vapor de água do que o ácido caprótico (5% em base seca de gelatina).

Em contrapartida, Hagenmaier e Shaw (1990) elaboraram biofilmes de hidroxipropil-metilcelulose e ácido esteárico, observando que a permeabilidade ao vapor de água diminuiu pronunciadamente com concentrações lipídicas superiores a 14%, obtendo-se as menores permeabilidades com adição de 40 a 50% de ácido esteárico.

O ácido esteárico é o ácido graxo saturado com 18 carbonos, com ponto de fusão de aproximadamente de 69,6 °C, massa molar de 284,5 e densidade à 70 °C é de 0,875 g/cm³.

1.4.4 Fibras Naturais

Nos últimos anos, as fibras naturais têm atraído muita atenção na fabricação de embalagens, devido às suas utilizações como reforços em polímeros termoplásticos e termorrígidos. No sentido de melhorar as propriedades mecânicas e de barreira dos biofilmes, vários autores têm

estudado a incorporação de outros materiais como uma alternativa para este fim (THARANATHAN, 2003; SEBIO, 2003; BERTAN, 2003; FOLLAIN *et al.*, 2006; LU *et al.*, 2008; MOTTERSHEAD e EICHHORN, 2007)

As fibras naturais são estruturas alongadas de seções transversais arredondadas, obtidas de inúmeras fontes naturais como algodão, cânhamo, sisal, juta, linho, bambu, palma, bagaço de cana, rami e coco (BLEDZKI e GASSAN, 1999; TAKAGI e ASANO; 2008). Estas fibras podem ser consideradas como compostos de fibrilas de celulose interligadas por uma rede de moléculas de hemicelulose e lignina permeada por pectinas, dependendo de sua fonte (JAYARAMAN, 2003). Além desses componentes, nas fibras podem ser encontrados carboidratos simples, terpenos, alcalóides, saponinas, polifenólicos, gomas, resinas, gorduras e graxas, entre outros (MOHAN *et al.*, 2006; ARAUJO *et al.*, 2008). O principal componente das fibrilas é a celulose.

A celulose é um homopolímero natural abundante e considerada como um dos recursos renováveis mais promissores e uma alternativa ecológica para os produtos derivados da indústria petroquímica. Além disso, a celulose derivada de plantas tem sido amplamente utilizada como reforço em filmes de amido, visando melhorar a resistência dos mesmos (ANGLES e DUFRESNE, 2001; AVEROUS e BOQUILLON, 2004; MOTTERSHEAD e EICHHORN, 2007; MULLER *et al.*, 2009a,b). Além da celulose das plantas, a celulose também pode ser produzida por bactérias e, neste caso, ela é chamada de celulose bacteriana (CB) ou celulose microbiana (CM).

Embora idênticas na composição química, as propriedades mecânicas e a estrutura da CB diferem da celulose das plantas. Em comparação com a celulose das plantas, a celulose bacteriana (CB) tem elevadas propriedades mecânicas, como a resistência à tração e o módulo de Young, possui maior capacidade de retenção de água, maior cristalinidade e uma fina rede entrelaçada de fibras (FONTANA *et al.*, 1997; RAMBO *et al.*, 2008). Assim, a CB é uma alternativa interesse como reforço em materiais com pouca resistência. A figura 1.14 apresenta uma microscopia eletrônica de celulose bacteriana e celulose de plantas.

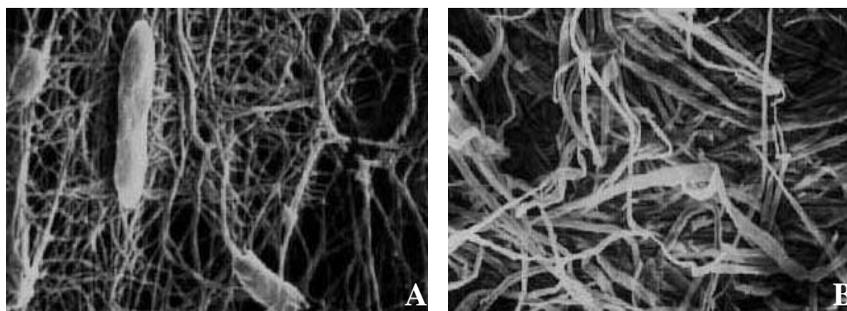


Figura 1.14. Microscopia eletrônica de (A) celulose bacteriana ($\times 20.000$) e (B) celulose de plantas ($\times 200$).
(Fonte: Desconhecida).

1.4.4.1 Uso de celulose como reforço em materiais poliméricos

O emprego de fibras como material de reforço começou no início do século XX com a utilização de celulose em resinas fenólicas (JHON e THOMAS, 2008). Recentemente a celulose bacteriana vem sendo utilizada como reforço para diferentes compósitos (YANO *et al.*, 2005; GINDL e KECKES, 2004; IFUKU *et al.*, 2007; NAKAGAITO *et al.*, 2005). Estes estudos indicam uma compatibilidade entre a matriz polimérica e as fibras, como resultado das interações intermoleculares entre os componentes, o que resultou em melhora do desempenho mecânico dos compósitos.

A maioria dos trabalhos aborda o incremento do desempenho mecânico de compósitos, através de ensaios de tração, e apontam um aumento da tração na ruptura e do módulo de Young acompanhados de uma diminuição da elongação na ruptura na medida que o teor de fibras nos materiais aumenta. Este comportamento foi atribuído ao caráter reforçador das fibras de celulose, mediante à similaridade estrutural com o amido, que permite uma forte adesão entre a matriz polimérica e a fibra (FOLLAIN *et al.*, 2006; MÜLLER *et al.*, 2009a; WAN *et al.*, 2009; WOEHL *et al.*, 2010). Pesquisas orientadas à melhoria das propriedades de barreiras de biofilmes à base de amido têm indicado que a adição de fibras naturais consegue reduzir a permeabilidade ao vapor de água em biofilmes de amido (DIAS *et al.*, 2010; MÜLLER *et al.*, 2009b). No entanto, a melhoria das propriedades de biofilmes com adição de fibras depende do grau de incorporação das fibras, o qual é

limitado em função das dificuldades de dispersão na matriz polimérica. Assim, fatores como a técnica de processamento usada, a natureza físico-química da matriz e o grau de interação matriz-fibra afetam tal incorporação (DUFRESNE *et al.*, 1997; AVÉROUS *et al.*, 2001). Neste contexto, buscou-se a adição de fibra de celulose em filmes biodegradáveis, visando melhorar as propriedades mecânicas e de barreiras.

1.4.4.2 Celulose Bacteriana

A celulose bacteriana (CB) é uma espécie de polissacarídeo extracelular presente no biofilme bacteriano produzido por várias bactérias, geralmente através da *Gluconacetobacter xylinus*, classificada por alguns autores como nanofibras (WOEHL *et al.*, 2010; TISCHER *et al.*, 2010). Este polímero é altamente cristalino e seu grau de cristalinidade varia dependendo da origem e modo de tratamento químico (GEORGE *et al.*, 2005). CB é composta por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4) formando cadeias lineares ramificadas (BROWN JR. *et al.*, 1976; ROSS *et al.*, 1991).

A produção de celulose bacteriana é um processo que envolve várias etapas reguladas por algumas bactérias e complexos bem caracterizados de enzimas e proteínas. A alfa-proteobactéria *Gluconacetobacter hansenii* (anteriormente conhecida como *Gluconacetobacter xylinum*) é frequentemente utilizada na produção de celulose bacteriana. Alguns autores apresentam a produção de celulose bacteriana por outras proteobactérias, como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas putida* e *P. fluorescens* SBW25, entre outras (ZOGAJ *et al.*, 2001; SOLANO *et al.*, 2002; GERSTEL e RÖMLING, 2003; SPIERS *et al.*, 2003; ZOGAJ *et al.*, 2003).

A celulose bacteriana, em particular, é um biopolímero puro, sem compostos biogênicos como lignina, hemicelulose e pectina, sendo atrativa devido à sua fácil produção e purificação (TISCHER *et al.*; 2010). Ela tem sido aplicada na área biomédica, pois as membranas de celulosas não porosas são utilizadas como revestimentos na substituição de ossos, em casos de trauma ou tumor, ou como proteção da pele em casos de queimadura e feridas profundas, podendo também serem aplicadas na recuperação do tecido periodontal (PLACE *et al.*, 2009; CHUNG *et al.*, 2008).

Rambo *et al.* (2008) obtiveram filme de celulose bacteriana produzida por *Gluconacetobacter hansenii*. Segundo estes autores, os

filmes de celulose bacteriana apresentaram uma ampla faixa de dimensões, variando de 1 a 25 nm em largura, o que corresponde a 10-250 cadeias de poliglicana e 1-9 μm de comprimento (formado por glicose 2000-18000 resíduos). O grau de cristalinidade da celulose influencia algumas de suas propriedades físico-químicas, como inchaço e ligação com a água.

Uma análise mais detalhada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelou que, após a secagem, o biofilme é composto por fibras longas. A figura 1.15 apresenta as micrografias da superfície e seção transversal da membrana de celulose bacteriana seca. O filme era composto por uma densa camada, perfeita e homogênea da matriz de celulose (Fig. 1.15a). A matriz era formada por uma proporção elevada de celulose em uma rede entrelaçada (Fig. 1.15b).

Outras análises neste material foram realizadas por RAMBO *et al.* (2008), como a absorção de água, a difração de raios-X e curva tensão-deformação na membrana de celulose bacteriana. A absorção de água da membrana de celulose bacteriana foi estabilizada após 1 hora, e o valor correspondente à absorção foi de 145%. Na difração de raios-X, três picos principais foram identificados, que são atribuídos aos planos de reflexões (110), (110) e (200) (TOKOH *et al.*, 1998). O grau estimado de cristalinidade da membrana do BC foi de $56 \pm 5\%$. A curva de tensão-alongamento mostrou baixo alongamento da membrana quando submetida à tração. O alongamento na ruptura da membrana celulósica foi de 3,4% e a resistência à tração foi de 32 MPa.

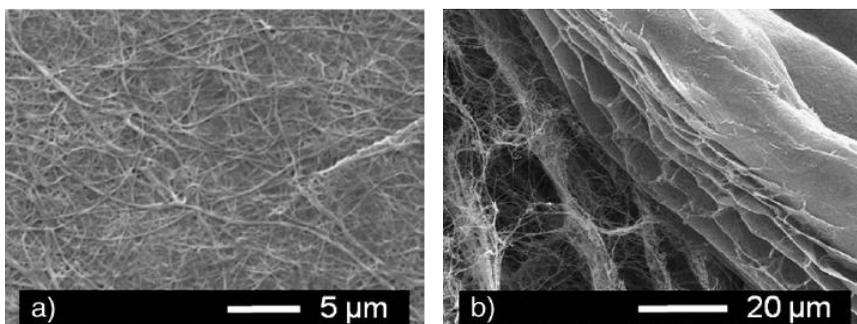


Figura 1.15. Micrografias da membrana externa (a) superfície mostrando rede de fibra óptica de alta densidade e (b) seção transversal da membrana e a complexa rede de fibra formada no interior .

(Fonte: RECOUVREUX *et al.*, 2010).

Alguns trabalhos têm sido realizados com celulose bacteriana adicionada como nanopartículas na obtenção de filmes, com a finalidade de agente reforçador. Woehl *et al.* (2010) estudaram a adição de nanofibras de bactérias como agente de reforço em filmes de amido de mandioca plastificado com glicerol antes e após o tratamento com a enzima produzida pelo micro-organismo *Trichoderma reesei*. Wan *et al.* (2009) estudaram a adição de CB em filmes de amido e glicerol. A quantidade de celulose adicionada foi 7,8, 15 e 22 % em peso. Estes autores observaram que os filmes com CB tiveram maior resistência à tração, porém menor alongamento na ruptura quando comparados com os filmes de amido nativo. Martins *et al.* (2009) usaram celulose bacteriana como reforço em materiais compósitos com uma matriz de amido termoplástico. Celulose bacteriana (1% e 5% p/p) e glicerol foram adicionados. O módulo de Young aumentou em 30 vezes (com 5% fibras), enquanto que o alongamento na ruptura foi reduzido de 144% para 24% com o aumento do teor de fibras.

CAPÍTULO 2

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentadas as metodologias utilizadas na caracterização do amido, assim como, as metodologias utilizadas para investigar os filmes de amido obtidos por: i) reação do amido com epicloridrina, ii) adição de ácido esteárico às suspensões filmogênicas de amido, iii) reação de acetilação do amido, iv) adição de celulose bacteriana (nano fibras de celulose) à suspensão de acetato de amido. Também são apresentados os métodos de caracterização dos filmes obtidos, ou seja: testes mecânicos, solubilidade em água, permeabilidade dos filmes ao vapor de água, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e isothermas de sorção de umidade.

2.1 Caracterizações do Amido

2.1.1 Teor de Umidade

O teor de umidade do amido de mandioca foi determinado pelo método gravimétrico 925.10 sugerido pela AOAC (1999), através do qual a água evaporada em estufa com circulação de ar a 105 °C.

2.1.2 Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi determinado segundo a técnica 923.03 da AOAC (1999), que consiste na completa incineração da amostra a 550 °C.

2.1.3 Teor de amilose

O teor de amilose do amido foi determinado pela técnica colorimétrica de Williams *et al.* (1970). Amostras de 20 mg de amido, foram dispersas em 10 mL de hidróxido de sódio 1N; diluídas 10 vezes com posterior adição de ácido clorídrico 0,2 N e solução I-KI (iodo, iodeto de potássio). A leitura foi realizada em espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U1800, UV visível, a 680 nm. O teor de amilose foi obtido a partir da curva padrão com o emprego de amilose e amilopectina de mandioca extraída a partir da mandioca, segundo McCready e Hassid (1943), no Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças (LFH) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

2.1.4 Densidade absoluta

A densidade absoluta dos grânulos foi determinada pelo método de deslocamento do xileno em picnômetro a 30 °C, segundo Schoch e Leach (1964).

2.1.5 Índice de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos foram determinados de acordo com o método descrito por Leach *et al.* (1959), com algumas modificações. Para esta análise foi pesado 0,4 g de amido (base úmida) em tubos de centrífuga, previamente tarados e adicionados 36 g de água destilada. A suspensão aquosa foi agitada algumas vezes e submetida a gelatinização em banho com agitação constante por 30 minutos a temperatura de 90°C. Em seguida, os tubos foram retirados do banho, as paredes externas secas e depois de resfriados foram pesados. Foi adicionada água destilada para completar 40 g, considerando a massa inicial de cada amostra. Os tubos foram fechados, homogeneizados e centrifugados em centrífuga (Hermle Z200A), por 20 minutos a 56,67 Hz (3.400 rpm). Uma alíquota de 10 mL foi retirada do sobrenadante e colocada em placas de Petri, previamente taradas e levada à estufa a 65° C por 24 horas, para determinação da massa de amido solubilizado. O amido sedimentado no tubo de centrífuga foi cuidadosamente pesado e o poder de inchamento e solubilidade determinados segundo as Equações 6 e 7.

$$\text{Poder de Inchamento (PI)} = \frac{\text{massa do material sedimentado}}{\text{massa da amostra (base seca)}} \quad (6)$$

$$\text{Índice de Solubilidade (IS)} = \frac{(\text{massa de amido solúvel} \times \text{peso da água} \times 100)}{\text{massa da amostra (base seca)} \times \text{alíquota}} \quad (7)$$

2.1.6 Viscosidade Intrínseca

Soluções de amido de concentrações 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 e 0,7 g/mL foram preparadas em KOH 1N e analisadas quanto à viscosidade intrínseca de acordo com Leach e Schoch (1963). Para determinar o tempo de escoamento do solvente (KOH 1N) e das soluções de amido, exatos 10 mL foram transferidos para um viscosímetro capilar (nº 100) de Ostwald (Schott, AVS 350, CT 53), calibrado em banho termostatzado a 30°C. O tempo de escoamento do KOH foi usado como referencial de fluxo (t_0 – tempo zero). A viscosidade relativa foi obtida da relação t/t_0 , onde t é o tempo de fluxo em segundos na concentração testada. A viscosidade específica (η_{esp}) foi dada por $\eta_{\text{esp}} - 1$, e a viscosidade reduzida (η_{red}), por η_{esp}/C (concentração do amido). A determinação da viscosidade intrínseca foi baseada na extrapolação, à concentração zero, da reta obtida por ajuste dos pontos experimentais da curva de viscosidade reduzida em função da concentração da solução. A relação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ com a massa molar (M) foi dada pela equação de Staudinger-Mark-Houwink (Equação 8), sendo que K e α são parâmetros empíricos e foram obtidos de tabelas (FOSTER, 1965).

$$[\eta] = K M^\alpha \quad (8)$$

onde, $K = 1,18 \times 10^{-3}$; $\alpha = 0,89$ (para o solvente KOH (1N))

2.2. Filmes obtidos por reação de reticulação do amido com epícloridrina

Neste tópico são apresentados os materiais e métodos utilizados no estudo de obtenção dos filmes de amido de mandioca reticulados com epícloridrina. Detalhadamente são descritos o preparo dos filmes de amido reticulados e na seqüência, o preparo dos filmes com a adição de epícloridrina, com o ajuste de pH, com plastificante (glicerol) adicionado antes da reação de reticulação e com plastificante (glicerol) adicionado depois da reação de reticulação e com reação de reticulação no grânulo de amido.

A avaliação dos procedimentos de reticulação do amido foi realizada para verificar se as propriedades mecânicas e de barreira à

água eram melhores nos filmes elaborados com amido em grão (reação heterogênea) ou com a reação de reticulação na suspensão filmogênica (reação homogênea), filme controle.

Os parâmetros tempo e temperatura de reação foram definidos a partir de testes preliminares realizados com epícloridrina e amido e dos resultados relatados por Elizondo (2007), que estudou as influências da concentração de epícloridrina, do tempo de reação e da temperatura na reação de reticulação de amido. Para isso a concentração de EPI foi variada entre 1,6 e 18,4 g EPI/100 g amido e o tempo de reação entre 12,8 e 147,2 minutos e a temperatura de reação entre 39,8 °C e 90,2 °C. Os parâmetros utilizados neste trabalho foram a temperatura de 40 °C e o tempo de reação de 120 minutos.

2.2.1. Preparo dos filmes pelo método homogêneo da reação de reticulação.

As suspensões foram preparadas com 4 g de amido de mandioca (Yoki Alimentos S.A., Paranavai, PR – Brasil), 100 g água destilada e glicerol P.A. (20 g/100 g de amido), misturadas com um agitador mecânico (Tecnal, TE-039/1), sob aquecimento, até atingir 80 °C. A suspensão foi agitada por 5 minutos para a gelatinização do amido. Após essa etapa, resfriou-se a solução filmogênica a 40 °C e ajustou-se o pH ao valor desejado, com solução de NaOH 0,1 N. Adicionou-se epícloridrina (Sigma) em diferentes concentrações escolhidas. A solução foi mantida a 40 °C por 2 horas para que a reação de reticulação fosse lenta. Para interromper a reação de reticulação, ajustou-se o pH para 6,0, com solução de HCl 0,1N. Realizou-se a remoção das bolhas e do ar dissolvido, mantendo a suspensão filmogênica em equipamento ultrasônico (Ultrasonic Clean / Unique, Model USC 1450) por 15 minutos. Em seguida, a suspensão foi espalhada em placas de teflon e submetidas a secagem à 35 °C e 55% UR por 12 a 14 horas, em estufa com controle de temperatura e umidade relativa (Marconi, Modelo MA-415UR), até que a umidade de equilíbrio fosse atingida ($9,6 \pm 1,2\%$). O fluxograma da figura 2.1 apresenta o processo homogêneo e o processo heterogêneo de elaboração dos filmes reticulados.

Estudo 1 - Avaliação da concentração de epícloridrina

Para estudar a influência do agente reticulante sobre os filmes de amido, variou-se a concentração de epícloridrina (EPI) nos filmes preparados. Soluções filmogênicas foram preparadas adicionando 4 g amido/100 g água, 20 g glicerol/100 g amido e quantidades variáveis de

epicloridrina para produzir as seguintes concentrações de EPI/amido (g/100 g): 5, 10, 15, 20, 25 e 30.

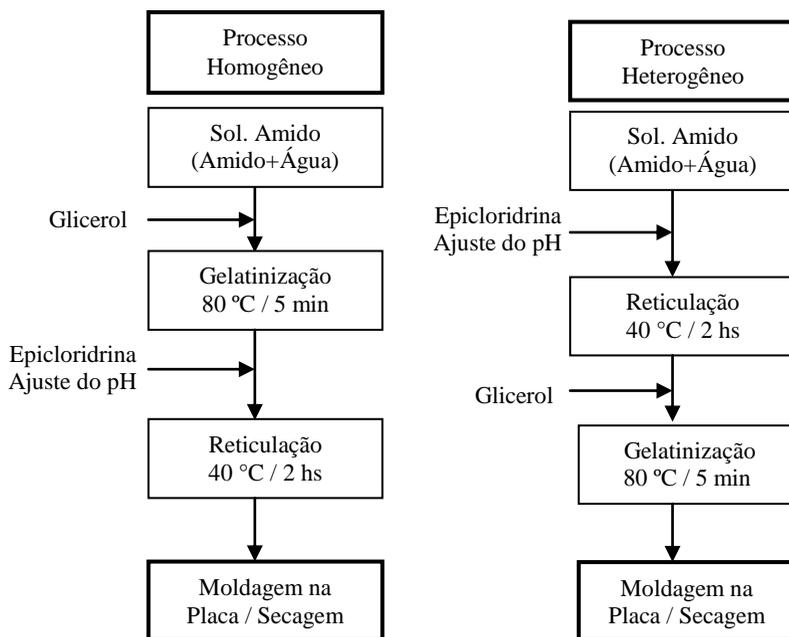


Figura 2.1. Fluxograma do preparo dos filmes de amido reticulados pelo método homogêneo e heterogêneo.

Estudo 2 - Avaliação da influência do pH

A presença de hidróxido de sódio (NaOH) na suspensão filmogênica potencializa a reação de reticulação do amido pelo fornecimento dos radicais OH^- (ROBERTS, 1965; KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b). Para avaliar a influência do pH nas propriedades dos filmes, estudou-se a reação de reticulação em diferentes valores de pH. Soluções filmogênicas foram preparadas adicionando 4 g amido/100 g água, 20 g glicerol/100 g amido, 15 g epicloridrina/100 g amido e valores variáveis de ajuste de pH inicial: 0, 5,07, 6,04, 7,03, 8,05 e 9,01.

Estudo 3 - Avaliação do efeito do glicerol

Para avaliar o efeito do glicerol na reação de reticulação, estudaram-se dois métodos de preparação da solução filmogênica: o glicerol adicionado antes da gelatinização do amido (GAG) e adicionado

somente depois da reação de reticulação (GDR). Os testes GAG e GDR foram realizados com 4 g amido/100 g água, 20 g glicerol/100 g amido, 15 g epiclorigrinalina/100 g amido.

2.2.2 Preparo dos filmes pelo método heterogêneo da reação de reticulação

O agente reticulante (15 g EPI/100 g amido) foi adicionado a uma solução de amido/água (50% w/w) a 40 °C, com o pH 10,5. Após o tempo de reação de 2 horas, o pH foi ajustado para 6,0 para interromper a reação. Após essa etapa, glicerol e água foram adicionados à suspensão formada de amido em grão reticulado, que foi aquecida a 80 °C para gelatinização do amido. O fluxograma da figura 2.1 apresenta o processo homogêneo e o processo heterogêneo de elaboração dos filmes reticulados.

2.3 Filmes preparados com acetato de amido obtido por reação de acetilação

Neste tópico é apresentado o procedimento de acetilação do amido para obtenção do acetato de amido. Em seguida é apresentado o método de determinação do grau de substituição do acetato de amido produzido, assim como o preparo dos filmes com o acetato de amido.

2.3.1 Acetilação do amido

A acetilação do amido foi realizada segundo procedimento usado por Larotonda (2002), conforme descrição a seguir:

Em um béquer de 1000 mL foram colocados 75 g de amido seco, 135 mL de ácido acético glacial P.A. (Nuclear) e 138 mL de anidrido acético P.A. (Nuclear). A mistura foi aquecida a 40°C sob agitação. Após atingir a temperatura desejada, retirou-se a mistura do aquecimento e cuidadosamente adicionou-se uma mistura catalisadora (1,05 mL de ácido sulfúrico concentrado e 12,45 mL de ácido acético glacial). Em seguida, a solução sob agitação foi aquecida ou resfriada até atingir a temperatura de reação desejada (20 °C e 37 °C) e pelo tempo de reação de 2 horas. Após este intervalo de tempo de 2 horas, adicionou-se aproximadamente 250 mL de água destilada refrigerada entre 5 °C e 6 °C para auxiliar a precipitação do acetato de amido. Após a decantação do precipitado, o sobrenadante foi retirado e descartado. O precipitado foi lavado com excesso de água destilada e filtrado em funil de Büchner para posterior secagem em estufa a 60 °C por 8 horas.

2.3.2 Grau de substituição (GS)

A determinação do GS do acetato de amido por titulação envolve hidrólise básica completa da ligação éster e titulação do álcali em excesso (RUDOLPH e GLOWAKY, 1978). O GS foi determinado pelo método de WURZBURG (1960) reportado por Elomaa *et al.* (2004). Estes autores, comparando os resultados do GS obtidos pelos métodos de hidrólise (método de titulação), de RMN e de TGA/IR, observaram que o método de hidrólise apresentou resultados semelhantes ao método RMN, por isso é uma alternativa para a determinação do GS dos filmes acetilados.

Assim, hidratou-se 1,0 g de acetato de amido em 50 mL de uma solução alcoólica (álcool etílico absoluto P.A. 75% v/v) e aqueceu-se a 50 °C por 30 minutos. Em seguida, a solução foi resfriada e 30 mL de hidróxido de potássio (0,5N) foram adicionados e a solução agitada por 72 horas à temperatura ambiente. Em seguida, o indicador fenolftaleína foi adicionado e o álcali em excesso titulado com 0,5 N de ácido clorídrico. A amostra referência foi analisada pelo mesmo método. A porcentagem de acetilação foi calculada usando a Equação 4.

$$\%A = [(V_o - V_n) \times N \times 0,043 \times 100] / M \quad (4)$$

onde:

V_o = volume de HCl (0,5N) usado para titular a amostra referência;

V_n = volume de HCl (0,5N) usado para titular a amostra de acetato;

N = Normalidade usada de HCl;

43 = massa molar do grupo acetil (g/mol);

M = quantidade da amostra pesada (g);

O grau de substituição (GS) foi calculado utilizando a porcentagem de acetilação usando a Equação 5:

$$GS = 162 \times \%A / [4300 - (42 \times \%A)] \quad (5)$$

2.3.3 Preparo dos filmes

Após a obtenção do acetato de amido com diferentes GS, prepararam-se filmes na intenção de avaliar suas propriedades mecânicas e de barreiras desses filmes. A tabela 2.1 apresenta os códigos das amostras utilizadas nos preparos dos filmes.

Uma suspensão preparada com 3 g de acetato de amido (produzido de acordo com o item 2.2.1), 100 g água destilada e duas concentrações diferentes de glicerol P.A. (25 g e 30 g/100 g de amido) foi preparada em um agitador mecânico (Tecnal, TE-039/1), sob aquecimento, até atingir 85 °C. A suspensão foi agitada por 30 minutos para a solubilização do acetato de amido. A suspensão ainda quente foi espalhada em placa de acrílico e seca a 35 °C por 7 horas, em estufa com circulação de ar (Tecnal, mod. TE 394/2, Brasil), até que a umidade de equilíbrio fosse atingida ($11,5 \pm 0,8\%$) (método ‘casting’). Após os filmes secos, as amostras foram cortadas e condicionadas em duas diferentes umidades relativas, 58% e 75%, por dois dias antes de serem testados.

Tabela 2.1. Codificação das amostras nos preparos dos filmes (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).

Amostras	Grau de Substituição (GS)	Conc. de glicerol (g/100 g amido)
AN 25 GL	-	-
0,6GS 25GL	0,6	25
1,1GS 25GL	1,1	25
AN 30 GL	-	-
0,6GS 30GL	0,6	30
1,1GS 30GL	1,1	30

2.4 Filmes de amido com adição de ácido esteárico

Neste tópico serão apresentados os materiais utilizados, além dos métodos para obtenção dos filmes de amido adicionados de ácido esteárico.

2.4.1 Preparação dos filmes com adição de ácido esteárico

Suspensões com 4 g de amido de mandioca (Yoki Alimentos S.A., Paranavai, PR – Brasil) e 100 g água destilada foram preparadas num recipiente provido de um agitador mecânico (Tecnal, TE-039/1), sob aquecimento, até atingir 70 °C. Num primeiro estudo, adicionou-se glicerol P.A. (20 g/100 g de amido) e ácido esteárico P.A. (Synth, São Paulo, Brasil), em diferentes concentrações (5–20 g/100 g de amido). De acordo com a literatura (COLLA *et al.*, 2006), a fusão do ácido

esteárico ocorre entre 67 °C e 70 °C. A suspensão foi agitada por 5 minutos para dispersão do ácido esteárico, sendo posteriormente aquecida até 80 °C e mantida nessa temperatura por 5 minutos para a gelatinização do amido. A suspensão gelatinizada foi homogeneizada ainda quente no Ultra Turrax (modelo T18-Basic, IKA Work, Brasil) por 10 minutos e à velocidade de agitação de 200 Hz (12.000 rpm), conforme descrito por Colla *et al.* (2006). A mistura filmogênica foi resfriada sob vácuo de 750 mmHg para retirar as bolhas em excesso e o ar dissolvido na emulsão. Em seguida, essa emulsão foi espalhada em placas de teflon e secadas em estufa a 40 °C por 12 horas. A figura 2.2 apresenta o fluxograma do preparo dos filmes de amido adicionados com ácido esteárico.

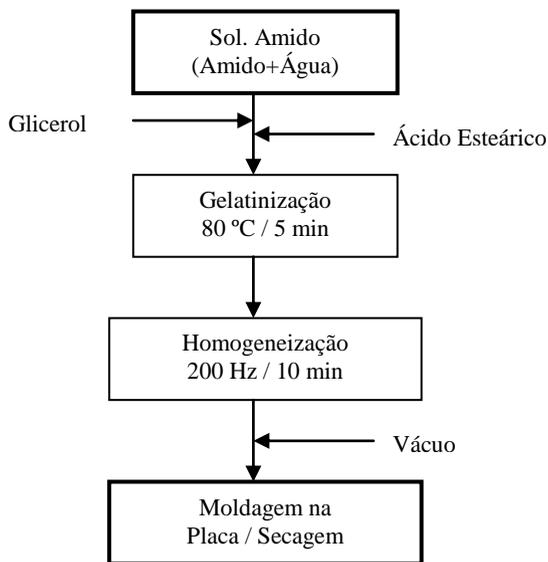


Figura 2.2. Fluxograma do preparo dos filmes de amido adicionados com ácido esteárico.

Numa segunda etapa foram preparados filmes com a mesma metodologia, com diferentes concentrações de glicerol (20,96–31,04 g/100 g amido) e ácido esteárico (2,96–13,04 g/100 g amido), segundo um planejamento experimental fatorial central com 4 pontos axiais e 3 pontos centrais.

2.4.2 Efeito das concentrações de glicerol e de ácido esteárico

O efeito da concentração de glicerol e ácido esteárico sobre as propriedades mecânicas, propriedades de barreira e solubilidade foi estudado utilizando um planejamento fatorial central $2^2 + 4$ ensaios axiais + 3 ensaios no ponto central, resultando em 11 ensaios. O interesse no planejamento foi obter modelos de segunda ordem para predição das propriedades mecânicas, da permeabilidade à água e da solubilidade em água dos filmes (variáveis dependentes) em função de 2 variáveis independentes: concentração de ácido esteárico (X_1) e concentração de glicerol (X_2). Os níveis estudados de glicerol foram 21,76, 23,00, 26,00, 29,00 e 30,24 g/100 g amido, enquanto que para o ácido esteárico as concentrações foram 3,76, 5,00, 8,00, 11,00 e 12,24 g/100 g amido. A Tabela 2.2 apresenta o planejamento experimental, com os códigos e valores reais destas variáveis.

Tabela 2.2. Matriz de Planejamento Composto Central com valores reais e codificados das variáveis ácido esteárico e glicerol.

Teste	Ácido Esteárico (g/100 g amido)	Glicerol (g/100 g amido)
01	5(-1)	23(-1)
02	11(1)	23(-1)
03	5(-1)	29(1)
04	11(1)	29(1)
05	12,24(1,41)	26(0)
06	3,76(-1,41)	26(0)
07	8(0)	30,24(1,41)
08	8(0)	21,76(-1,41)
09	8(0)	26(0)
10	8(0)	26(0)
11	8(0)	26(0)

Todos os experimentos foram realizados randomicamente e os dados foram tratados com o *software* Statistica 6.0 (StarSoft Incorporation, U.S.A.). A análise estatística para os modelos foi realizada com o teste F (ANOVA).

2.5 Filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana

Nesta seção serão apresentados os procedimentos de preparo das fibras de celulose bacteriana para serem adicionadas em filmes de acetato de amido. Também serão apresentados os métodos de obtenção da membrana de celulose bacteriana com amido adicionado no meio de cultura.

2.5.1 Obtenção da celulose bacteriana

A bactéria *Gluconacetobacter hansenii*, linhagem ATCC 23769, obtida da "Coleção da Cultura Tropical (CCT)" (Fundação André Tosello), Campinas – SP, foi utilizada para a produção de celulose bacteriana, a partir da metodologia adaptada do procedimento descrito por Recouvreux *et al.* (2010).

O inóculo foi cultivado em um recipiente de 500 mL de meio de cultura composto por manitol (25 g/l), extrato de levedura (5,0 g/l) e bactopectona (3,0 g/l). Os compostos foram diluídos em água; o pH foi ajustado para 6,5 com o auxílio de soluções de HCl e NaOH e foram esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Ao meio de cultivo esterilizado foi adicionado 10% (v/v) de inóculo obtido de uma cultura estoque de *G. hansenii*. Os refratários foram mantidos a 25 °C em condições estáticas por 30 dias. A figura 2.3 mostra o refratário pyrex (24 cm de diâmetro) utilizado para obter uma grande membrana.

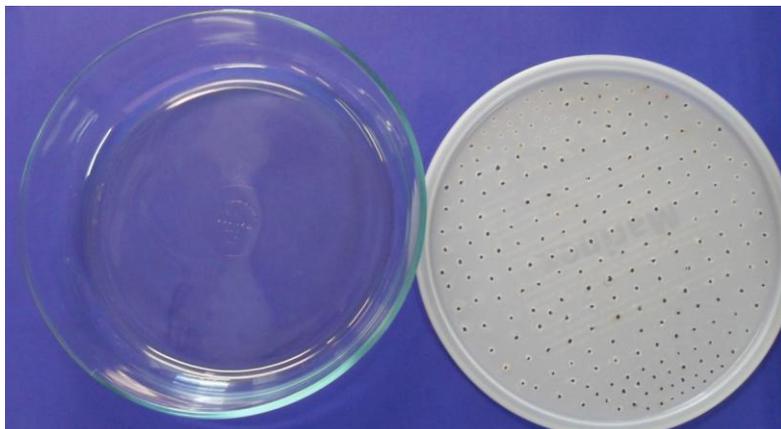


Figura 2.3 Recipiente utilizado para obtenção das membranas de celulose bacteriana.

Logo após este período as membranas de celulose foram mantidas em solução de NaOH 0,01 M por 24 horas, lavadas com água destilada. Em água destilada o pH da solução foi ajustado para 7. Após ajuste de pH, as membranas foram processadas de três modos: i) liofilizadas e moídas para incorporação nos filmes de amido, ii) conforme obtidas, ainda úmidas foram dispersas em água para incorporação nos filmes de amido e iii) o amido foi adicionado no meio de cultura para cultivo da celulose bacteriana.

2.5.2 Preparo da celulose bacteriana

Para preparo da celulose bacteriana liofilizada, primeiramente as amostras de celulose bacteriana obtidas foram congeladas e posteriormente liofilizadas (liofilizador L101, LioTop). Após a liofilização, as amostras foram moídas em moinho de facas (marca De Leo, Porto Alegre, RS, Brasil) e submetida à separação e classificação granulométrica em agitador de peneiras (marca Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras, SP, Brasil).

Para a hidratação, a celulose liofilizada foi mantida em água sob agitação constante por 48 horas. Quanto à preparação da celulose bacteriana, primeiramente foi determinada a umidade da celulose bacteriana. Depois, a celulose bacteriana úmida foi dispersa com água destilada em um homogeneizador turrax (T-25, IKA, Alemanha).

2.5.3 Preparo dos filmes de acetato de amido com celulose bacteriana

Uma suspensão preparada com 3 g de acetato de amido (produzido de acordo com o item 2.2.1), 100 g água destilada, glicerol P.A. (0,30 g/g acetato de amido), goma guar (0,06 g/g acetato de amido) e celulose bacteriana (0,025, 0,05 e 0,125 g/g acetato de amido), foi dispersa em um homogeneizador Turrax (marca IKA, Alemanha), sob aquecimento, até atingir 85 °C. A suspensão foi agitada por 30 minutos para a solubilização do acetato de amido e ainda quente foi espalhada em placa acrílica e seca posteriormente a 35 °C por 7 horas, em estufa com circulação de ar (Tecnal, mod. TE 394/2, Brasil), até que a umidade de equilíbrio fosse atingida ($11,5 \pm 0,8\%$). Após os filmes secos, as amostras foram cortadas e condicionadas em duas diferentes umidades relativas, 58% e 75%, por dois dias antes de serem testadas. O fluxograma 2.4 apresenta o preparo dos filmes de acetato de amido pelos dois métodos de preparo da celulose bacteriana.

A necessidade de incorporar goma guar (Microm Química Ltda., Brasil) nas soluções filmogênicas é para evitar sedimentação das fibras durante o processo de gelatinização (MÜLLER, 2007).

2.5.4 Preparo das membranas celulósicas com acetato de amido

Para o preparo das membranas celulósicas com acetato de amido, o mesmo foi adicionado no meio de cultura onde foi realizado o cultivo da celulose bacteriana. O intuito era rearranjar o acetato de amido na estrutura da celulose bacteriana. Para tanto, a concentração de acetato de amido (0,6 GS) utilizada foi de 3 g/100 g de meio de cultura. E foram realizados três diferentes processos de adição do acetato de amido no meio de cultura: i) autoclavado junto com o meio de cultura, ii) adicionado no meio de cultura autoclavado e reaquecido a 80 °C por 5 minutos, e iii) adicionado após o meio de cultura ser autoclavado e resfriado. Com as membranas de celulose formadas e purificadas, elas foram secas em estufa a vácuo (Tecnal, TE-395, SP, Brasil) a 60 °C por 5 horas. Depois de as membranas estarem secas, as amostras foram cortadas e condicionadas em umidades relativas de 58% por 96 horas antes de serem testadas.

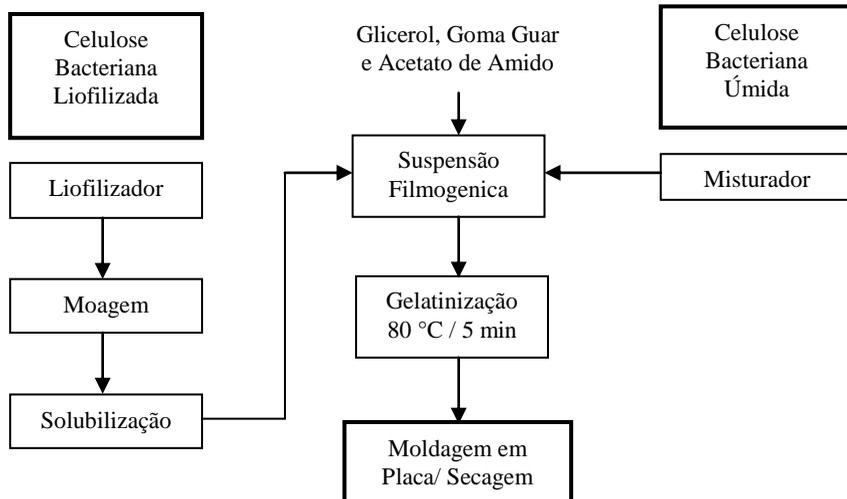


Figura 2.4 Fluxograma de preparo da celulose bacteriana.

2.6 Caracterizações dos Filmes

2.6.1 Testes mecânicos

Antes da realização dos testes mecânicos, os filmes foram acondicionados por 2 dias em ambiente climatizado a 25 °C e umidade relativa de 58% (solução saturada de brometo de sódio P.A, NaBr) e 75% (solução saturada de cloreto de sódio). O condicionamento foi aplicado a todas as amostras, pois a água absorvida pelos filmes pode agir como agente plastificante e modificar suas propriedades mecânicas (LAROTONDA *et al.*, 2003; MALI *et al.*, 2005). As espessuras dos filmes foram medidas (precisão de 1 µm) usando um micrômetro digital Digimatic (Mitutoyo Co., Japão) em 5 pontos diferentes da película.

Para determinar as propriedades mecânicas dos filmes foram realizados testes de tração (tensão na ruptura, TS; alongamento na ruptura, ε) e testes de perfuração (força na ruptura, FP; deformação na perfuração, DP), usando o analisador de textura TA-XT2i Stable Micro System (SMS, Surrey, Inglaterra). A metodologia utilizada foi baseada na norma ASTM D882-97 (1997). As amostras para o teste de tração foram cortadas em dimensões de 25,4 mm por 100 mm e ajustadas às garras do equipamento, cuja distância inicial era de 100 mm. A velocidade de tração foi de 0,8 mm/s. Quinze amostras para cada teste foram avaliadas.

Para os testes de perfuração, as amostras foram cortadas em discos e fixadas em um suporte com abertura circular de 34 mm de diâmetro. Uma probe cilíndrica de 3 mm de diâmetro foi deslocada perpendicularmente à superfície do filme, com velocidade constante de 1,0 mm/s, até a ruptura do material. Os testes foram realizados em triplicatas. A deformação na ruptura foi calculada pela Equação 9:

$$PD = L/L_o = [(D^2 + L_o^2)^{1/2} - L_o]/L_o \quad (9)$$

onde L_o é raio do disco inicial (17 mm) e D é a distância perfurada até a ruptura do material.

2.6.2 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada conforme a metodologia proposta por Gontard *et al.* (1992). Três amostras circulares de cada material, com 2 cm de diâmetro, foram cortadas e secas por 24 horas em dessecador contendo sílica-gel, à temperatura ambiente. As amostras foram pesadas e imersas em 50 mL de água destilada contendo azida

sódica (0.02% p/v), para prevenir o crescimento de micro-organismos, onde foram mantidas durante 24 horas, sob agitação constante a 0,83 Hz (50 rpm) para os filmes reticulados e para os filmes com adição de ácido esteárico. Para os filmes com acetato de amido, as amostras foram mantidas por 12 horas sem agitação. Após este período, foi determinado o conteúdo não solubilizado das amostras inicialmente secas, através de filtração e secagem a 100 °C.

2.6.3 Permeabilidade dos filmes ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água é a quantidade de vapor (g) que passa por unidade de superfície (m^2) de um material de unidade de espessura (m), por unidade de tempo (h), quando entre as paredes existe uma diferença de pressão unitária (Pa).

As permeabilidades ao vapor de água foram determinadas em células de difusão específicas para este fim (SARANTOPOULOS e OLIVEIRA, 2002), usando-se gradientes de umidade relativa (2–3 a 75%). Discos de $0,005 m^2$ de filmes foram fixados em células de difusão de alumínio tendo em seu interior os diferentes sais em cubas herméticas, contendo as soluções saturadas por 15 h a 25°C. A solução de menor umidade relativa foi colocada dentro da célula de difusão e a solução de maior umidade relativa dentro da cuba, de modo que a permeação de vapor de água fosse no sentido da cuba para dentro das células. As cápsulas eram pesadas a cada hora, durante 12 horas e após 24 horas, usando balança analítica (AM5500, Marte). A transferência do vapor de água através do filme foi medida pelo ganho de massa da cápsula em função do tempo. A permeabilidade foi determinada através da Equação 10:

$$K^w = W\delta / Sp_s (a_{w1} - a_{w2}) \quad (10)$$

onde K^w é a permeabilidade ao vapor de água, δ é a espessura média do filme, Sp_s é a área de permeação ($0,005m^2$), a_{w1} é o valor da umidade relativa de equilíbrio (URE/100) dentro da cuba, a_{w2} é o valor umidade relativa de equilíbrio no interior da cuba, p_s é a pressão de saturação da água na temperatura do experimento (25°C) e $W=GM/t$ (g de água/h) foi calculado por regressão linear dos dados de ganho de massa (GM) em função do tempo (t) no estado estacionário.

2.6.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As microscopias eletrônicas de varredura dos filmes foram obtidas utilizando um microscópio da marca JEOL JSM, modelo 6390LV, com fonte de elétrons de tungstênio e detector de elétrons secundários e retro espalhados. As amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro por um metalizador, marca LEICA, modelo EM SDC 500. Todas as amostras foram examinadas usando uma voltagem de aceleração de 10 kV. As microscopias de superfície foram obtidas da superfície dos filmes exposta à secagem e a fratura foi realizada após imersão dos filmes em nitrogênio líquido.

2.6.5 Isotermas de sorção de umidade

Isotermas de sorção de umidade dos filmes foram determinadas através do método gravimétrico estático, utilizando soluções salinas saturadas para obter diferentes umidades relativas (LABUZA e BALL, 2000). As amostras foram secas em ambiente fechado na presença de sílica por 7 dias a 25 °C. A seguir 0,500±0,001 g de amostra (em triplicata) foram pesadas em cápsulas previamente taradas e posteriormente colocadas em dessecadores, contendo diferentes soluções salinas saturadas, proporcionando umidades relativas de equilíbrio de 7, 33, 43, 53, 64, 75, 81, 84 e 90 % (cloreto de lítio, cloreto de magnésio, carbonato de potássio, nitrato de magnésio, nitrito de sódio, cloreto de sódio, sulfato de amônia, cloreto de potássio e cloreto de bário, respectivamente). Os dessecadores foram vedados com o auxílio de graxa de silicone e colocados em estufa a 25 °C, até as amostras atingirem a umidade de equilíbrio (14 dias). As umidades de equilíbrio das amostras foram determinadas através do método padrão da AOAC (1999). O modelo de Guggenheim, Anderson e de Boer (GAB) (Equação 11) foi utilizado para representar os dados experimentais de equilíbrio. Nesta equação, o parâmetro X_w é o teor de umidade de equilíbrio (g água/g de massa seca), a_w é a atividade de água (UR/100), m_0 é o teor de água de monocamada, C é a constante de Guggenheim, que representa o calor de sorção da primeira camada e k é o calor de sorção das multicamadas. Os parâmetros do modelo GAB foram determinados por regressão não-linear, utilizando o *software* Matlab (MathWorks, Natick, MA, EUA).

$$X_w = Ck m_0 a_w / [(1 - k a_w)(1 - k a_w + C k a_w)] \quad (11)$$

2.6.6 Reologia

Os ensaios foram realizados em um viscosímetro rotacional de cilindros concêntricos marca Haake, modelo VT550 (Haake, Alemanha), utilizando um sistema de temperatura controlada (30 °C). A reologia foi utilizada para investigar o comportamento do fluxo das suspensões de amido nativo e acetato de amido com diferente GS. Na intenção de comparar com trabalhos realizados na área, para o comportamento não newtoniano, a viscosidade aparente foi calculada em 400 s^{-1} e as curvas resultantes foram graficadas como a tensão de cisalhamento (τ) em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) e modeladas com a equação de fluido Ostwald de Waele ($\tau=k\dot{\gamma}^n$). Onde o k é o índice de consistência e n é o índice de comportamento do escoamento.

2.6.7 Microscopia confocal de varredura a laser (MCVL)

A morfologia dos filmes foi observada através de um microscópio confocal de varredura a laser, marca Leica DMI 6000 B FluoView, scanner confocal acoplado TCS SP5 (EUA). Para preparar os filmes, a solução de amido foi corada com o corante 'FITC', segundo a metodologia descrita por Lamprecht *et al.* (2000). Depois disso, a solução de amido contendo o corante foi agitada lentamente por 1 hora a 40 °C, antes de ser utilizada. Em paralelo, ácido esteárico foi corado com o corante 'Nile Red' ($1 \text{ mg} \cdot 30 \text{ g}^{-1}$ substância hidrofóbica), antes de produzir o filme. Depois de esperar o tempo necessário para o corante 'FITC' reagir com o amido, as soluções foram homogeneizadas por agitação e, em seguida, transferidos para placas de acrílicos para obtenção do filme. Pequenos pedaços de filme foram fixados em lâminas de vidro com fita adesiva e observados por MCVL. O laser foi ajustado para o modo de amarelo/vermelho de fluorescência, o que rendeu dois comprimentos de onda de excitação (488 nm e 514 nm). As imagens fluorescentes amarela e vermelha foram obtidas a partir de dois canais separados, e uma das imagens foi, então, resultante da fusão das duas fluorescências (mesclagem). Observações usando o modo sem contraste também foram feitas.

2.6.8 Espectroscopia Infravermelha com transformada de Fourier

Espectros Infravermelho das amostras de acetato de amido e do amido foram obtidos num espectrofotômetro ABB, modelo FTLA 2000 com sistema de registro computadorizado na região de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Os espectros foram obtidos das amostras de amido em pastilhas de KBr (1,0%; amostra/KBr). As amostras de filmes de acetato de amido foram secas em dessecador por sete dias antes das análises.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados da caracterização do amido e também os resultados relativos às alternativas estudadas, quais sejam: i) Estudo da influência da reação de reticulação do amido com epícloridrina nas propriedades dos filmes biodegradáveis; ii) Estudo das propriedades mecânicas e de barreiras ao vapor de água dos filmes de amido com ácido esteárico; iii) Estudo das propriedades de filmes de acetato de amido com diferentes graus de substituição; iv) Elaboração de filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana.

3.1. Caracterização do amido de mandioca

Nessa seção, apresentam-se os resultados da caracterização do amido, sendo relevante salientar que as características do amido podem influenciar na modificação química do mesmo. Assim, o objetivo foi realizar as análises do teor de umidade, o teor de cinzas, o teor de amilose, a densidade absoluta, o índice de inchamento, a solubilidade do grânulo e viscosidade intrínseca para conhecer melhor o amido utilizado.

Os resultados das análises físico-químicas do amido de mandioca nativo utilizado neste trabalho são apresentados na tabela 3.1.

O valor de teor de umidade encontrado para as amostras de amido foi de $11,59 \pm 0,11 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e o de cinzas foi de $0,15 \pm 0,001 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Os valores de teor de umidade obtidos para as amostras de amido estão em conformidade com a legislação, pois, de acordo com a Instrução Normativa MAPA n° 23 de 14 de dezembro de 2005, os valores para umidade são de até 14% e cinzas de até 0,20%. Para a RDC MS n° 263 de 22 de setembro de 2005, o valor do teor de umidade é de, no máximo, 18% e de cinzas de 0,50% (BRASIL, 2005).

Tabela 3.1. Características físico-químicas das amostras de amido de mandioca.

Teor de umidade (g/100g)	Cinzas (g/100g)	Teor de Amilose (%)	Densidade Absoluta (g/mL)	Viscosidade Intrínseca (mL/g)
11,59±0,11	0,15±0,001	18,02±1,75	1,68±0,06	153,88±3,63

Em relação ao teor de amilose, existe uma expressiva diferença entre os seus valores encontrados na literatura. Estas diferenças podem ser atribuídas ao emprego de padrões de amidos de outras origens, bem como aos diferentes métodos empregados na análise de determinação de amilose. O valor de amilose encontrado no amido de mandioca utilizado neste trabalho foi de $18,02 \pm 1,75\%$. O teor de amilose encontrado por Whistler e Bemiller (1997) foi de 17%; por Gunaratne e Hoover (2002) de 19,8% ; por Li e Yeh (2001) de 19,9% e Leonel *et al.* (2004) de 16,33%. Sriroth *et al.* (1999) encontraram valores de amilose que variaram de 19,5 a 24,1%. O teor de amilose é importante em reações com o amido, pois a cadeia de linear da amilose é geralmente a parte envolvida nas reações de modificações do amido.

A densidade absoluta encontrada para o amido nativo foi de $1,68 \pm 0,06 \text{ g/mL}$. Parada e Sira (2003) encontraram o valor de $1,45 \text{ g/mL}$ para densidade absoluta de amido de mandioca. Marcon (2009), por sua vez, encontrou valores de $1,56 \text{ g/mL}$ e de $1,66 \text{ g/mL}$ para amido de mandioca de lotes diferentes.

No tocante à viscosidade intrínseca, nesta pesquisa, a encontrada para o amido nativo foi de $153,88 \pm 3,63 \text{ mL/g}$, cujo valor é próximo ao valor da viscosidade intrínseca encontrado por Bertolini *et al.* (2000), Bertolini *et al.* (2001) de 169 e 183 mL/g para amido de mandioca.

A figura 3.1 apresenta os resultados de solubilidade e poder de inchamento do grânulo do amido. Observou-se que os valores de

solubilidade aumentaram com o aumento da temperatura. Desta forma, o valor de solubilidade a 85 °C foi de $22,05 \pm 1,45\%$. Nesse sentido, valores similares foram reportados por Marcon (2009), que obteve índice de solubilidade de 21,11% para polvilho azedo seco ao sol e 21,46% para polvilho azedo seco em estufa.

Assim como a solubilidade, o poder de inchamento do grânulo aumentou com o aumento da temperatura. Segundo Peroni *et al.* (2006), este comportamento sugere que os amidos apresentaram forças associativas internas frágeis para manter a estrutura do grânulo. Segundo Lindeboom *et al.* (2004), o poder de inchamento está mais associado com a estrutura do grânulo e com a composição química (teor de amilose e lipídios) do que com o tamanho dos grânulos. O valor do poder de inchamento do grânulo a 85 °C foi de $36,25 \pm 1,20$ g/100 g. Marcon (2009) reportou poder de inchamento de 31,3 e 35 g/100 g para amidos de mandioca nativos de duas marcas comerciais diferentes.

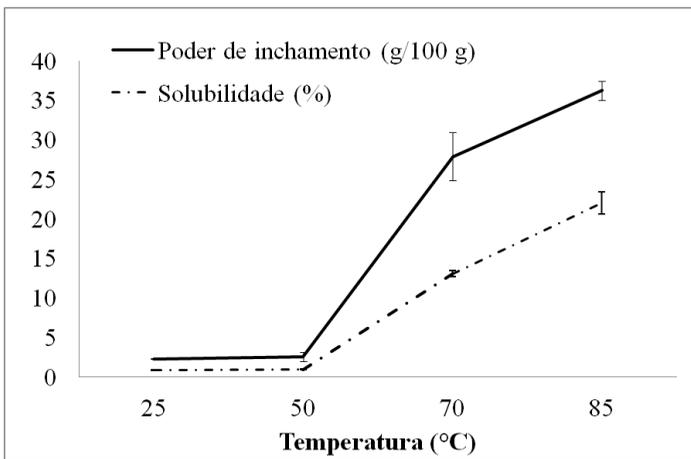


Figura 3.1. Solubilidade e poder de inchamento do amido de mandioca nativo.

Portanto, o amido utilizado neste trabalho tem características similares aos amidos semelhantes reportados na literatura. Apresentando teor de amilose, viscosidade intrínseca, poder de inchamento e solubilidade com bons valores para serem utilizados em modificações químicas.

3.2. Estudo da influência da reação de reticulação do amido com epícloridrina nas propriedades dos filmes biodegradáveis

3.2.1 Efeito da concentração de epícloridrina nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes

Nessa seção apresenta-se o estudo sobre os filmes elaborados através da reticulação do amido com a epícloridrina. Este estudo teve o objetivo de analisar as propriedades mecânicas e a solubilidade em água desses filmes. Em relação à permeabilidade ao vapor de água, a mesma foi estudada a partir daqueles filmes que apresentaram destaque nos resultados quanto à solubilidade em água e à tensão e alongamento na ruptura.

Nesta pesquisa, os filmes obtidos de amido de mandioca reticulado foram homogêneos e transparentes e com fácil manuseio. A tabela 3.2 apresenta os resultados do estudo da reação de reticulação com diferentes concentrações de epícloridrina (EPI). Embora a reação de reticulação vise o reforço da matriz polimérica, devido à formação de ligações covalentes, não foi observada uma melhora real nas propriedades mecânicas dos filmes de amido reticulados quando comparados ao filme controle (filmes de amido puro, sem reação de epícloridrina).

Tabela 3.2. Resultados de tensão e alongamento na ruptura, força e deformação na perfuração avaliando a concentração de epícloridrina.

Epícloridrina (g/100 g amido)	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Força na perfuração, FP (N)	Deformação na perfuração, DP (%)
0 (Controle)	19,59±2,51 ^a	1,54±0,16 ^a	6,08±0,59 ^{a,c}	1,73±0,16 ^{a,b}
5	20,04±2,06 ^a	1,71±0,23 ^a	1,49±0,26 ^b	1,24±0,20 ^c
10	19,59±1,26 ^a	1,75±0,20 ^a	5,50±0,89 ^a	1,22±0,10 ^c
15	17,83±1,83 ^a	1,78±0,19 ^a	6,90±0,69 ^{a,c}	1,32±0,13 ^{a,c}
20	9,27±0,87 ^b	1,60±0,18 ^a	6,73±0,99 ^{a,c}	1,86±0,24 ^b
25	9,59±1,97 ^b	1,80±0,15 ^a	8,77±1,72 ^c	1,61±0,10 ^{a,b,c}
30	8,57±0,41 ^b	1,75±0,12 ^a	6,73±0,99 ^{a,c}	1,73±0,20 ^{a,b}

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

As concentrações de epícloridrina de 5, 10 e 15 g/100 g amido seco, não tiveram influência na tensão na ruptura dos filmes, quando

comparadas aos filmes controle. Para as concentrações de 20, 25 e 30 g/100 g amido, a epiclorigrina teve um efeito negativo na resistência mecânica dos filmes, sendo que os valores de tensão na ruptura foram reduzidos em, aproximadamente, 50%, quando comparados aos filmes controle. Esse resultado pode ser explicado pelas ligações covalentes introduzidas pela epiclorigrina na matriz polimérica, dificultando as ligações naturais entre os polímeros da rede, tornando a matriz menos resistente.

Os valores do alongamento na ruptura foram pouco influenciados pela concentração de epiclorigrina. Esse comportamento pode ocorrer devido à formação de uma estrutura mais reforçada obtida pela reticulação do amido com epiclorigrina. Garg e Jana (2007) relataram que filmes obtidos com a mistura de PEBD (polietileno de baixa densidade) e 7,5% (p/p) de amido reticulado com epiclorigrina apresentaram melhores propriedades mecânicas que filmes obtidos com a mistura de PEBD e amido nativo. Os filmes obtidos com a mistura de PEBD e amido reticulado com epiclorigrina tiveram a resistência à tração de quase 92% em relação ao valor máximo de 100% para os filmes de PEBD. Elizondo (2007) reportou que os filmes de farinha de amaranto reticulados (1,6 a 18,4 g epiclorigrina/100 g farinha) os filmes reticulados não apresentaram diferença significativa nas propriedades mecânicas em relação ao filme de farinha de amaranto não modificado. Rioux *et al.* (2002) reportaram que filmes de amido com alto teor de amilose, reticulados com epiclorigrina, (1–10 g/100 g polímero) com grau de reticulação moderado, eram pobres em suas propriedades mecânicas.

Analisando os resultados de força e deformação na perfuração, observa-se que a concentração de epiclorigrina apresentou pouca influência nos valores de força na perfuração. Resultados similares foram obtidos para a deformação na perfuração por Elizondo (2007) que reportou uma ligeira diminuição da força na perfuração dos filmes de farinha de amaranto reticulados com epiclorigrina quando comparados a filmes controles de farinha de amaranto.

É sabido, por outro lado, que a solubilidade dos filmes em água está diretamente relacionada aos seus componentes, ou seja, com a sua hidrofobicidade/hidrofobicidade e estrutura (FERREIRA, 2006). A natureza hidrofílica do amido reticulado pode ter sido diminuída por causa da redução das hidroxilas funcionais pela reação de epiclorigrina (GARG e JANA, 2007). A figura 3.2 apresenta os resultados de solubilidade em água dos filmes com diferentes concentrações de epiclorigrina.

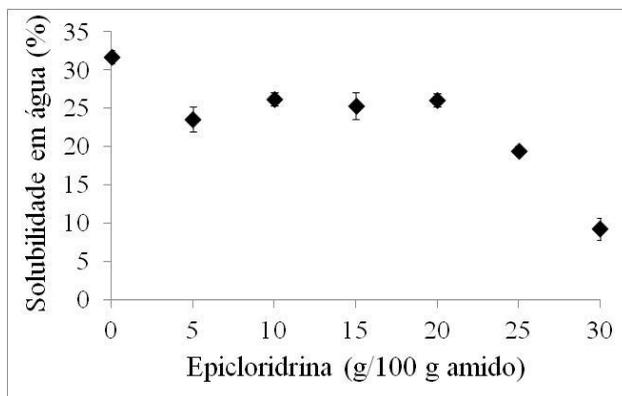


Figura 3.2. Solubilidade em água dos filmes para diferentes concentrações de epicloridrina.

Os filmes de amido reticulado apresentaram menores valores de solubilidade em água do que os filmes de amido de mandioca nativo. Os filmes elaborados com 5, 10, 15 e 20 g epicloridrina/100 g amido tiveram uma redução de 18% na solubilidade em água. A quantidade de epicloridrina nos filmes teve maior efeito nas concentrações de 25 e 30 g/100 g amido. Os filmes com concentração de epicloridrina de 25 g/100 g amido tiveram os valores de solubilidade em água de aproximadamente 40% ($19,47 \pm 0,60\%$) menor que o valor do filme controle. Os filmes elaborados com concentração de epicloridrina de 30 g/100 g amido tiveram os valores de solubilidade em água aproximadamente 70% ($9,23 \pm 1,41\%$) menores que os filmes controle. Como mencionado anteriormente, o aumento da concentração de epicloridrina reduziu a solubilidade dos filmes em água. Este comportamento era esperado, pois com o polímero reticulado, o filme tornou-se mais hidrofóbico devido às ligações covalentes que substituíram a ligação de hidrogênio, favorecendo a formação de uma rede polimérica mais reforçada. Estas novas ligações limitam a desintegração do polímero e a solubilização em água dos filmes.

3.2.2 Efeito do pH nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes

A tabela 3.3 apresenta o resultado do estudo da reação de epícloridrina (concentração de 15 g/100 g amido) em diferentes valores de pH inicial. Os filmes elaborados com os valores de pH inicial de 5, 6, 7, e com o pH 8 ajustado durante todo o tempo de reação apresentaram redução nos valores de tensão na ruptura de 16%; 25%; 36% e 38%, respectivamente. Os filmes elaborados com o meio em pH inicial 8 tiveram uma redução na tensão de ruptura ($7,25 \pm 0,5$ MPa) de aproximadamente 65% em relação ao filme controle. Os filmes elaborados com o pH igual a 9 apresentaram o menor valor ($0,67 \pm 0,1$ MPa) de tração na ruptura, sendo em média 95% menor que o valor obtido com o filme controle ($19,60 \pm 2,5$ MPa). Comparando os filmes elaborados com pH inicial 8 e 9, observa-se que a tensão na ruptura dos filmes com pH inicial 8 foi 10 vezes maior que os filmes elaborados com pH inicial 9. O alongamento na ruptura dos filmes elaborados com pH 9 tiveram valor de $47,66 \pm 3,8\%$, sendo 30 vezes maior que o observado para o filme controle. Este filme reticulado apresentou boa capacidade de alongamento, ocasionado pela presença de alta quantidade de NaOH no meio da reação, dificultando o seu manuseio. Os valores de alongamento na ruptura para os demais filmes elaborados com diferentes valores de pH inicial não apresentaram diferença significativa ao nível de 95%.

A influência do pH na reação pode ser explicada pelas altas concentrações de NaOH e epícloridrina, que favorecem a formação de mono éter glicerol e diéter glicerol, produtos não desejados na reação de reticulação (KARTHA e SRIVASTAVA, 1985b). Esses produtos podem interferir na capacidade de alongamento do filme, assim como na resistência à tração dos mesmos. Outra reação lateral que pode ocorrer é a hidrólise da epícloridrina formando cloridrina e, posteriormente, formando o glicerol. Segundo Hamerstrand *et al.* (1960) e Roberts (1965) o excesso de água no sistema pode favorecer a formação de cloridrina e glicerol.

Tabela 3.3. Resultados de tensão e alongamento na ruptura, força e deformação na perfuração avaliando os diferentes valores de pH (concentração 15 g EPI/100 g amido).

pH (pH final-pH inicial)	Volume de NaOH (mL) ¹ e HCl (mL) ²	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Força na perfuração, FP (N)	Deformação na perfuração, PD (%)
Controle (7,67-7,60)	0	19,59±2,51 ^a	1,54±0,16 ^a	6,08±0,59 ^b	1,73±0,16 ^a
9 (9,01-7,54)	0,50 ¹	0,67±0,10 ^b	47,66±3,8 ^b	1,49±0,26 ^a	37,0±2,74 ^b
8 (8,05-7,21)	0,37 ¹	7,25±0,53 ^d	1,85±0,13 ^a	5,50±0,89 ^b	2,50±0,41 ^c
8 (8,05-8,01)	0,31 ¹	12,10±2,20 ^c	1,42±0,16 ^a	6,90±0,69 ^{b,c}	1,46±0,23 ^a
7 (7,03-6,05)	0,09 ²	12,36±1,29 ^c	1,20±0,20 ^{a,c}	6,84±0,79 ^{b,c}	1,46±0,20 ^a
6 (6,04-6,06)	0,16 ²	14,69±1,39 ^c	1,02±0,14 ^c	8,77±1,72 ^c	1,41±0,20 ^a
5 (5,07-5,02)	0,21 ²	16,32±1,25 ^{b,d}	1,32±0,20 ^a	6,73±0,99 ^{b,c}	1,51±0,28 ^a

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

As propriedades de força e deformação na perfuração para os diferentes valores de pH estudados no meio de reação de reticulação com epiclorigrina não tiveram muita influência para pH inicial 8, 7, 6 e 5. Os filmes elaborados com o pH inicial 9 apresentaram influência sobre as propriedades de força e deformação na perfuração. A força na perfuração teve seu valor reduzido em 75% quando comparado ao filme controle. Para a propriedade de deformação na perfuração, o efeito do pH 9 foi inverso, ocorrendo um aumento no valor de 20 vezes quando comparado com o valor do filme controle. Esse comportamento pode ser causado pelo excesso de NaOH, levando à formação de reações paralelas, resultando em produtos como o glicerol. Estas reações paralelas também podem ocorrer com o excesso de água. Conforme reportado por Kartha e Srivastava (1985a), em reações sob condições homogêneas, onde há grande quantidade de água e há a presença de OH⁻ no meio, pode ocorrer a hidrólise da epiclorigrina, resultando na formação de clorigrina e glicerol.

A tabela 3.4 apresenta a solubilidade em água dos filmes com diferentes faixas de pH. Analisando estes resultados, observou-se que não há uma correlação entre os diferentes valores de pH e a solubilidade dos filmes.

Tabela 3.4. Solubilidade em água dos filmes com diferentes faixas de pH testados.

pH (pH inicial–pH final)	Solubilidade em água, S (%)
7,67–7,60 (Controle)	31,68±0,90 ^b
9,01–7,54	38,22±2,31 ^c
8,05–7,21	27,25±1,36 ^a
8,05–8,01	29,03±1,27 ^a
7,03–6,05	32,60±1,21 ^b
6,04–6,06	28,66±0,77 ^a
5,07–5,02	40,25±1,01 ^c

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

3.2.3 Caracterização físico-química dos filmes

O filme com concentração de 15 g epícloridrina/100 g amido foi selecionado porque apresentou bom valor de tensão na ruptura, sendo que para maiores concentrações ocorreu redução dos valores de tensão na ruptura. Os filmes elaborados com o pH 9 foram selecionados devido aos resultados de tensão e alongamento na ruptura e na solubilidade em água deste filme. As micrografias, as isotermas de sorção de umidade e as permeabilidades ao vapor d'água dos filmes de amido reticulado foram realizadas para os testes selecionados com 15 g epícloridrina/100 g amido e pH de 7,67–7,68 (EPI1) e filmes elaborados com 15 epícloridrina/100 g amido com pH 9 (EPI2).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias dos filmes de amido reticulados com 15 g epícloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e filmes elaborados com pH 9 (EPI2) são apresentadas na figura 3.3.

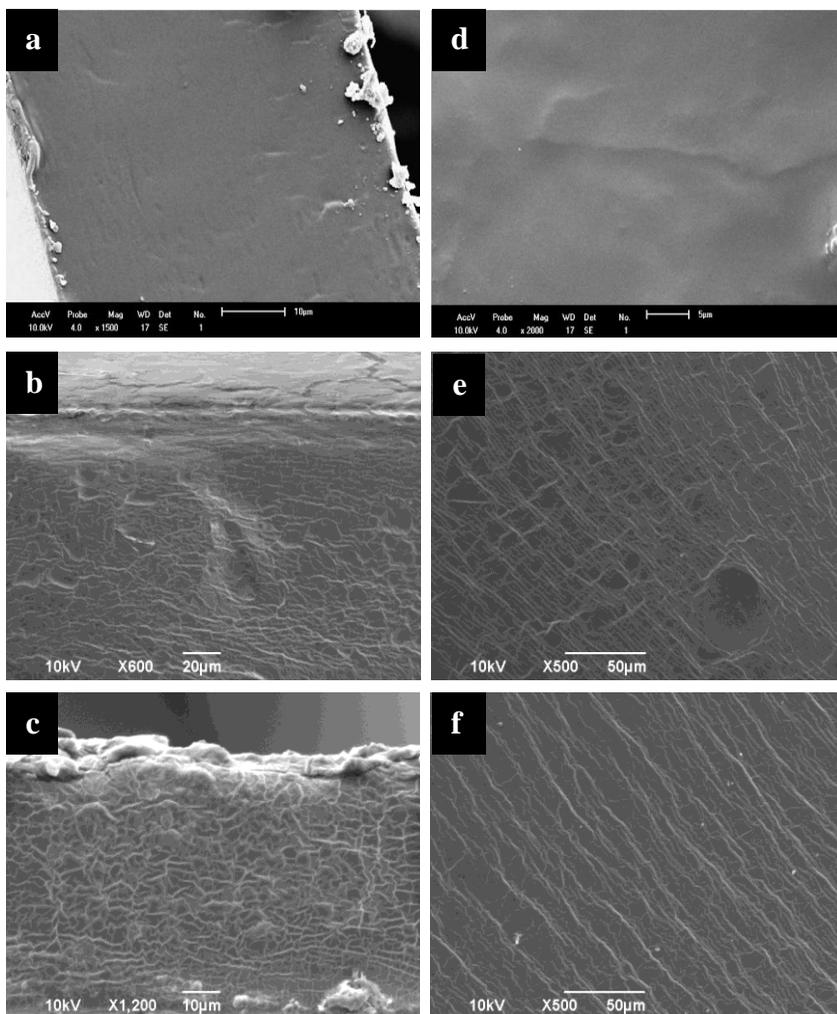


Figura 3.3. Micrografias das seções transversais dos filmes de (a) amido nativo ($\times 1500$) (b) amido reticulado com 15 g epícloridrina/100 g amido no meio de reação ($\times 600$) e (c) reação com pH 9 ($\times 1200$). Micrografias das superfícies dos filmes de (d) amido nativo ($\times 2000$) (e) amido reticulado com 15 g epícloridrina/100 g amido no meio de reação ($\times 500$) e (f) reação com pH 9 ($\times 500$).

As micrografias das superfícies dos filmes reticulados apresentam-se sem poros e rachaduras. Não foi observado grânulos de amido, sendo todo amido solubilizado. Assim, o filme apresenta-se homogêneo e contínuo. As micrografias das seções transversais dos filmes reticulados mostram os filmes homogêneos e bem compactos. Esse comportamento é característico de filmes de amido. Resultados semelhantes foram reportados por Henrique *et al.* (2008), que compararam as micrografias dos filmes de amido reticulado comercial com outros três diferentes tipos de amidos modificados. Elizondo (2007) apresentou micrografias de filmes de farinha de amaranto reticulados, que se apresentaram compactos, mas com microporos nas seções transversais.

Isotermas de sorção de umidade

A figura 3.4 apresenta as isotermas de sorção de umidade dos filmes de amido reticulados. Uma isoterma de sorção de vapor de água mostra a quantidade de vapor sorvido no equilíbrio em função da pressão parcial de vapor de água no ar, a uma temperatura constante.

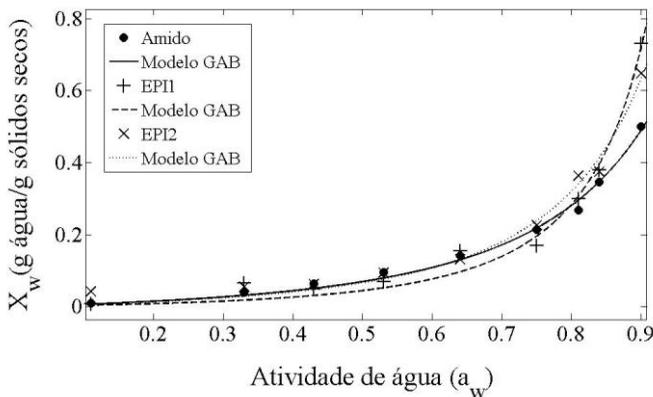


Figura 3.4. Isoterma de Sorção de Umidades e ajuste do modelo de GAB para os filmes reticulados com 15 g epícloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).

As isotermas de sorção apresentaram comportamento semelhante para o filme reticulado EPI1 e para o filme de amido nativo. Nos filmes com a_w acima de 0,8 apresentaram-se menos higroscópicos. Isto pode estar relacionado com o glicerol formado durante a reação de epícloridrina, que em altas a_w pode tornar o filme mais higroscópico. Os

valores das constantes da equação de GAB e o coeficiente de correlação (R^2) são apresentados na tabela 3.5. O modelo de GAB ajustou bem os dados das isotermas de sorção, como previamente reportado por outros autores (GODBILLOT *et al.*, 2006; MALI *et al.*, 2005; MARTELLI *et al.*, 2006, MÜLLER *et al.*, 2009a, entre outros). Observa-se que os valores de água na monocamada reduziram, indicando que os filmes tiveram sua higroscopicidade reduzida.

Tabela 3.5. Parâmetros do modelo de GAB para as isotermas de sorção de umidade dos filmes EPI1 e EPI2.

Amostras	Parâmetros GAB			R^2
	m_0 (g água/g sólido seco)	K	C	
Amido	0,07672	0,9586	1,383	>0,99
EPI 1	0,07357	0,9940	1,504	>0,99
EPI 2	0,05043	1,0370	2,492	>0,99

Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

A figura 3.5 apresenta as permeabilidades ao vapor d'água dos filmes EPI1 e EPI 2. As permeabilidades ao vapor d'água dos filmes de amido apresentaram reduções significativas devido à reação de reticulação com a epícloridrina, sendo aproximadamente 75% menores quando comparado ao filme controle.

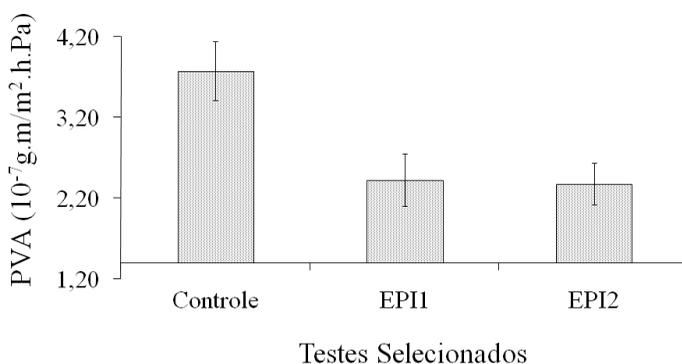


Figura 3.5. Permeabilidade ao vapor de água dos filmes reticulados com 15 g epícloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).

Os filmes EPI1 e EPI2 tiveram valores de permeabilidade ao vapor d'água bem próximos, não apresentando diferença significativa ao nível de 95%. Embora as ligações covalentes formadas por epícloridrina e o amido, na reação de reticulação, tenham sido insuficientes para melhorar as mecânicas dos filmes de amido reticulado, elas foram capazes de diminuir sua permeabilidade ao vapor d'água em relação ao filme de amido.

Na literatura são apresentados valores de PVA próximos aos obtidos neste trabalho. Elizondo (2007) apresentou redução nas permeabilidades ao vapor d'água dos filmes de farinha de amaranto reticulados ($1,4 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa) quando comparados aos filmes de farinha de amaranto não reticulado ($8,3 \times 10^{-7}$ g·m/m²·h·Pa).

Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A figura 3.6 apresenta os espectros FTIR obtidos na região de infravermelho dos filmes reticulados, EPI1 e EPI2. A tabela 3.6 apresenta o resumo das principais bandas IV observadas, suas intensidades e possíveis atribuições do grupo funcional que originam os picos.

Os espectros mostraram um pico largo na região de 3330 cm⁻¹ a 3285 cm⁻¹ atribuídos ao estiramento da ligação OH. Observa-se maior intensidade deste pico nos filmes reticulados quando comparados com o filme controle. A mudança da banda associada a grupos -OH, sugeriu um aumento do número de modos de oscilação, podendo ser atribuídos a presença de novas ligações de H⁺ (GARCIA *et al.*, 2009). A presença de novas e fortes ligações de H⁺ pode ser atribuída ao aumento da intensidade dos picos duplos de 2923 cm⁻¹ a 2853 cm⁻¹. Essa região é atribuída ao estiramento da ligação CH (CH₂ simétrico).

O pico 1150 cm⁻¹ é atribuído ao estiramento da ligação glicosídica C-O, característico do amido. Comparando o filme controle com os filmes de amido reticulado observa-se que a intensidade deste pico aumentou para os filmes de amido reticulado. Atribuição semelhante foi observada como o pico em 1078 cm⁻¹, que juntamente com o pico de 1015 cm⁻¹, são característicos do anel de anidroglicose (DELVAL *et al.*, 2004). O pico 1015 cm⁻¹ associado ao estiramento CO/CC é característico de material amorfo (VICENTINI *et al.*, 2005), e aparece no espectro do filme de amido (filme controle). Nos espectros dos filmes reticulados, este pico associado com o pico 990 cm⁻¹ formam uma banda saturada. Bergo *et al.* (2008) observaram que a banda

tornou-se mais proeminente com o aumento da concentração de glicerol de 0 a 45% nos filmes de amido de mandioca. Van Soest *et al.* (1995) observaram o pico em 1022 cm^{-1} que também é característico de amido no estado amorfo, mudando a forma e intensidade das bandas conforme o amido passa de semicristalino para amorfo. O aumento deste pico poderia corroborar a observação anterior sobre a produção de glicerol como um produto lateral da reação de reticulação.

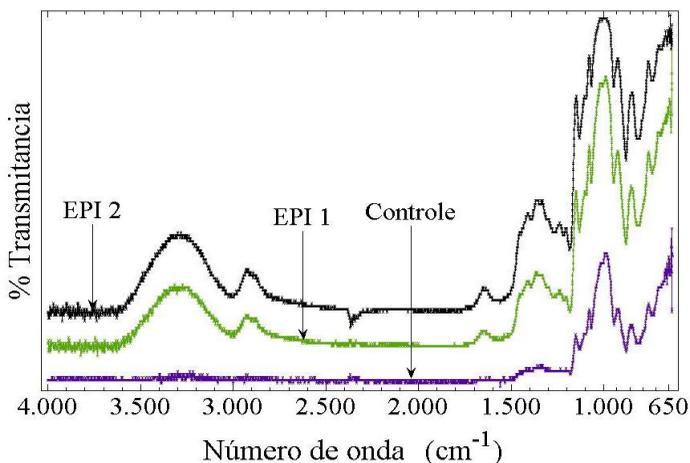


Figura 3.6. Espectros FTIR dos filmes de amido reticulado dos estudos com 15 g epícloridrina/100 g amido no meio de reação (EPI1) e reação com pH 9 (EPI2).

A banda em 990 cm^{-1} , que é principalmente devida às vibrações de COH, é sensível à influência do teor de água na ligação intramolecular de hidrogênio (VAN SOEST *et al.*, 1995). Ambas as bandas de 1015 cm^{-1} e 990 cm^{-1} apresentaram aumento na intensidade para os filmes reticulados quando comparado ao filme controle, sugerindo adicionais ligações C–O e C–C presente na ponte gliceril, característica da reação de reticulação com epícloridrina.

Os espectros de IV demonstraram que ocorreu modificação química do amido de mandioca pela reação co epícloridrina, assim como o aparecimento de reações paralelas a epícloridrina. Porém os espectros não fornecem informações sobre a localização das pontes, a mobilidade molecular dos diferentes polímeros ou das ligações paralelas que foram favorecidas.

Tabela 3.6. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR dos filmes de amido reticulado EPI1 e EPI2.

Número de onda (cm ⁻¹)		Intensidade do Pico	Atribuições**
Filme de Amido (Controle)	Filme de Amido Reticulado		
----	3297 ^b	Forte	Estiramento da ligação O–H
----	2923	Médio	Estiramento C–H (CH ₂ -simétrico)
----	2853 ^a	Fraco	Estiramento C–H (CH ₂ -simétrico)
----	1742	Fraco	Estiramento do grupo éster carbonila
----	1649-1653 ^b	Fraco	Estiramento C=O da ligação peptídica (amida I)
1416	1412	Fraco	Deformação angular C–H (CH ₂)
1371	1366	Fraco	Deformação angular C–H (CH ₂)
1335	----	Fraco	Deformação Angular da ligação C–H
1150	1154-1149 ^b	Médio	Estiramento da ligação glicosídica C–O, estiramento CO/deformação angular da ligação O–H (carboidrato).
1103	----	Fraco	Vibração do grupo carbonila (éster/ketone)
1078	1079	Médio	Estiramento da ligação C–O/ C–C
1010	1015	Forte	Estiramento da ligação C–O/ C–C
988	990	Forte	Vibração do COH
926	925	Fraco	Vibração do anel assimétrico
856	850	Médio	Deformação angular C–H
758	759	Fraco	Vibração do anel simétrico

^a Observado apenas nos filmes de amido nativo, ^b Intensidade aumentou nos filmes reticulados

**ELIZONDO, 2007.

3.2.4 Efeito da adição de glicerol nas propriedades dos filmes

A tabela 3.7 apresenta os resultados referentes à tensão e alongamento da ruptura, força e deformação na perfuração e solubilidade em água dos filmes elaborados com dois diferentes processos. Os diferentes processos utilizados na elaboração dos filmes foram: glicerol adicionado antes da reação de reticulação na suspensão filmogênica gelatinizada (GAG), glicerol adicionado depois da reação de reticulação na suspensão filmogênica gelatinizada (GDR).

Considerando a adição de glicerol antes ou depois da reação de epiclorigrina (GAG e GDR), a tensão na ruptura apresentou diferença significativa ao nível de 95%. Para o alongamento na ruptura, força na ruptura e deformação na perfuração não apresentaram diferenças

significativas com relação aos diferentes processos e ao filme controle. Resultados semelhantes foram observados para a força e deformação na perfuração que não apresentaram diferenças nos valores para os diferentes processos e o filme controle. Pode-se concluir que, por mais que o glicerol seja produzido como produto secundário da reação, sua adição antes da gelatinização do amido não influenciou as propriedades de tensão e alongamento na ruptura, assim como a força e deformação na perfuração.

Tabela 3.7. Resultados das propriedades mecânicas e de barreiras para os filmes elaborados pelos dois diferentes processos com glicerol testados.

Amostras	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Força na perfuração, FP (N)	Deformação na perfuração, DP (%)	Solubilidade em água, S (%)
Controle	19.59±2.03 ^a	1.54±0.16 ^a	6.08±0.59 ^a	1.73±0.16 ^a	31.68±0.90 ^a
GAG*	20.64±1.03 ^a	1.76±0.12 ^a	6.41±0.79 ^a	1.92±0.21 ^a	24.76±0.77 ^b
GDR**	24.38±1.61 ^b	1.82±0.17 ^a	6.89±0.79 ^a	1.75±0.19 ^a	31.73±1.24 ^a

*Glicerol adicionado antes da gelatinização. **Glicerol adicionado depois da reação de reticulação. As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

O processo GAG apresentou redução de 20% na solubilidade em água quando comparado aos filmes controles. O processo GDR não mostrou diferença no valor de solubilidade em água quando comparado ao filme controle. Sendo o glicerol um componente hidrofílico, solúvel em água, este comportamento dos filmes pode ter ocorrido devido à molécula de glicerol ficar dispersa no meio, após a reação de reticulação, pois a estrutura do polímero reticulado já estava formada com a substituição das ligações de hidrogênio e pelas ligações covalentes.

3.2.5 Reação de reticulação heterogênea

A tabela 3.8 apresenta os resultados referentes às propriedades mecânicas (tensão e alongamento da ruptura, força e deformação na perfuração) e solubilidade em água dos filmes elaborados pelo processo heterogêneo da reação de reticulação. Considerando o processo de reação de reticulação do amido realizado na suspensão homogênea (controle) e o processo heterogêneo, onde a reação de reticulação foi realizada no grânulo de amido, observou-se que tanto para a tensão na

ruptura quanto para a força e deformação na perfuração, não houve diferença significativa em nível de 95% em relação aos processos e ao filme controle. Sendo assim, para este trabalho, os filmes elaborados pela reticulação da suspensão e pela reticulação do grânulo tiveram a mesma influência nas propriedades mecânicas dos filmes.

Os filmes elaborados com o processo heterogêneo também apresentaram redução de 20% no valor da solubilidade quando comparados ao filme controle, valor este semelhante ao filme elaborado pelo processo homogêneo ($24,76 \pm 0,77$), obtido da seção 3.2.5. Esse comportamento mostra que o método de reticulação do grânulo formou uma estrutura no filme semelhante ao método de reticulação da suspensão.

Tabela 3.8. Resultados das propriedades mecânicas e de barreiras para filmes elaborados pelo processo heterogêneo.

Amostras	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Força na perfuração, FP (N)	Deformação na perfuração, DP (%)	Solubilidade em água, S (%)
Controle	$19,59 \pm 2,03^a$	$1,54 \pm 0,16^a$	$6,08 \pm 0,59^a$	$1,73 \pm 0,16^a$	$31,68 \pm 0,90^a$
Processo Heterogêneo	$20,84 \pm 2,24^a$	$1,84 \pm 0,10^b$	$7,43 \pm 1,00^a$	$1,45 \pm 0,40^a$	$25,70 \pm 1,28^b$

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

Os resultados obtidos indicaram a complexidade da reação do amido com epiclorigrina, possibilitando perceber também influência desta reação sobre as propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes de amido reticulado quando comparados aos filmes de amido nativo.

3.3. Estudo das propriedades de filmes de acetato de amido com diferentes graus de substituição

Neste tópico, o objetivo foi apresentar e discutir os resultados do estudo dos filmes de acetato de amido obtidos a partir do acetato de amido sintetizado em laboratório, ao longo desta pesquisa, de forma dialogada com os resultados de trabalhos desenvolvidos nesta área. Relevante ressaltar que, primeiramente foram analisados os acetatos de amido granular, e depois foram discutidos os resultados dos filmes de acetato com diferentes graus de substituição (0,6 e 1,1). Também foram estudadas as propriedades mecânicas, a solubilidade em água, a

permeabilidade ao vapor de água e espectroscopia FTIR nos filmes preparados com este acetato de amido.

3.3.1 Acetilação do amido

As reações de acetilação realizadas nas temperaturas de 20 °C e 47 °C resultaram em dois diferentes graus de substituição (GS) para o acetato de amido. Isso era esperado, pois, conforme reportado por Larotonda (2002) e Lepeniotis e Feuer (1997), a temperatura de reação influencia no aumento do grau de substituição obtido durante a síntese de acetato de amido. À temperatura de 47°C, obteve-se o acetato de amido solúvel em água. Acima desta temperatura os filmes formados apresentavam regiões de acetato não solúvel. A tabela 3.9 apresenta os resultados do grau de substituição do amido nas duas temperaturas estudadas.

Tabela 3.9. Grau de substituição do acetato de amido obtido em diferentes temperaturas.

Temperatura de reação (°C)	Grau de Substituição (GS)
20	0,6
47	1,1

3.3.2 Caracterização do acetato de amido

As soluções preparadas com acetato de amido apresentaram alteração na viscosidade quando comparadas com as soluções de amido. Com base nesta alteração, analisou-se a viscosidade intrínseca e a viscosidade aparente dos acetatos de amido, comparando com o amido nativo.

Houve redução na viscosidade intrínseca do amido nativo para o acetato de amido obtido por via ácida. A viscosidade intrínseca encontrada para o acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS foi de $4,20 \pm 0,1$ mL/g e $3,30 \pm 0,08$ mL/g, respectivamente. E a viscosidade intrínseca do amido de mandioca nativo, utilizado para a produção do acetato de amido, foi de $153,88 \pm 3,63$ mL/g. Isso pode ter ocorrido porque a hidrólise do amido não foi restrita apenas à superfície do grânulo, ocorrendo também na rede molecular do grânulo de amido (ZAMBRANO *et al.*, 2001). Os valores de viscosidade intrínseca

encontrados por Zambrano *et al.* (2001) foram de 258 mL/g para o amido de mandioca e de 22 mL/g para amido de mandioca modificado, utilizando, para os dois tipos de amido, a mesma metodologia deste estudo.

A viscosidade aparente foi obtida para as suspensões filmogênicas do acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do amido nativo. Na figura 3.7 são apresentadas as curvas de fluxo obtidas na reologia das suspensões filmogênicas de 3% p/p.

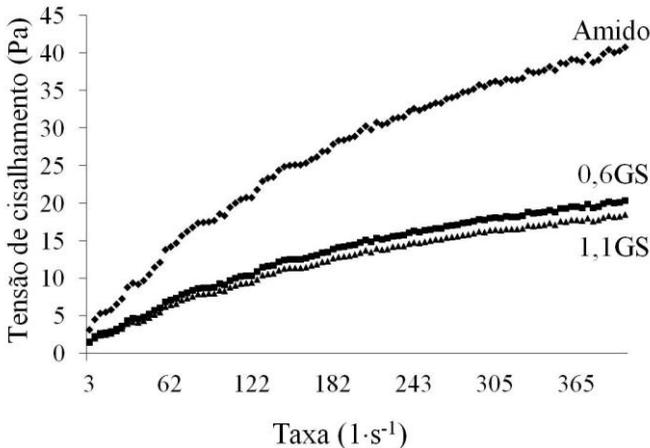


Figura 3.7. Reologia das suspensões filmogênicas do filme de amido e dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1.

Tanto as suspensões de acetato de amido como a de amido nativo apresentaram um comportamento pseudoplástico, isto é, comportamento de um fluido não newtoniano caracterizado pela diminuição da viscosidade com o aumento da tensão. Esse mesmo comportamento foi observado por López *et al* (2008) nas curvas de fluxo de suspensões filmogênicas de amido e de amidos modificados.

As curvas de fluxo das suspensões filmogênicas de acetato de amido, obtidos neste estudo, ficaram abaixo da curva de amido. As viscosidades aparentes foram obtidas pela equação de Ostwald de Waele, sendo os valores para as suspensões de amido de $87,42 \pm 2,56$ m.Pa.s e de acetato de amido de $60,23 \pm 2,32$ e $58,21 \pm 2,99$ m.Pa.s para os filmes com GS de 0,6 e 1,1, respectivamente. Assim, a modificação do acetato de amido teve uma redução maior do valor de reologia do que o próprio grau de substituição. Morton e Solarek (1984) reportaram para

acetatos de fécula de batata com 0,03-0,2 GS uma redução da viscosidade da pasta a quente e frio com o aumento do GS no amido.

Continuando a análise do grânulo de amido, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para observar o efeito causado pela reação de acetilação no grânulo de amido. Na figura 3.8 são apresentadas as micrografias dos grânulos de amido e de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1.

Não foi possível observar variações na forma dos grânulos de acetato de amido com GS de 0,6 (fig. 3.8b) quando comparados com os grânulos de amido nativo (fig. 3.8a). Por outro lado, para os grânulos de acetato de amido com GS de 1,1, observou-se um maior efeito da acetilação, porque a fusão dos grânulos de amido foi evidente, conforme as setas brancas na fig. 3.13c. Resultado semelhante foi observado por Bello-Pérez *et al.* (2010) que estudaram acetilação de amido de cevada com baixo (0,9) e alto (2,7) grau de substituição. Singh *et al.* (2007) estudaram amidos de milho e batata com baixos GS. Estes autores reportaram que com o aumento da quantidade de anidrido acético ocorreu um aumento na fusão dos grânulos de amido, sendo esta fusão atribuída à introdução de grupos hidrofílicos à molécula de amido, resultando no aumento de ligações de hidrogênio, explicando o presença de aglutinação das moléculas de amido na micrografia.

Para confirmar que a reação de acetilação modificou quimicamente os grânulos de amido, realizou-se a espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR). Assim, na figura 3.9, são apresentados os espectros FTIR obtidos dos acetatos de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do amido nativo. A tabela 3.10 apresenta o resumo das principais bandas observadas, suas intensidades e possíveis atribuições do grupo funcional que originam o pico.

Os espectros do acetato de amido com 0,6 GS e dos filmes de amido nativo foram similares. Porém o espectro do filme de acetato amido 1,1 GS teve o surgimento da banda 1750 cm^{-1} que é o pico atribuído ao grupo éster carbonila $\text{C}=\text{O}$, confirmando assim a reação de acetilação (LAROTONDA *et al.*, 2004). Muito embora o espectro do acetato de amido com 0,6 GS não tenha apresentado a banda em 1750 cm^{-1} , observou-se, porém, uma leve deformação no local desta banda, conforme indicado pela seta na figura 3.9. Isso era esperado, pois o grau de substituição obtido para este acetato (0,6GS) foi bem baixo para permitir que o acetato permanecesse solúvel em água. Segundo Fringant *et al.* (1996), os espectros de acetato são caracterizados pela presença de três importantes bandas: a banda a 1750 cm^{-1} atribuída ao grupo $\text{C}=\text{O}$; a

banda a 1375 cm^{-1} atribuída ao grupo CH_3 ; e a banda a 1240 cm^{-1} atribuída ao grupo C-O .

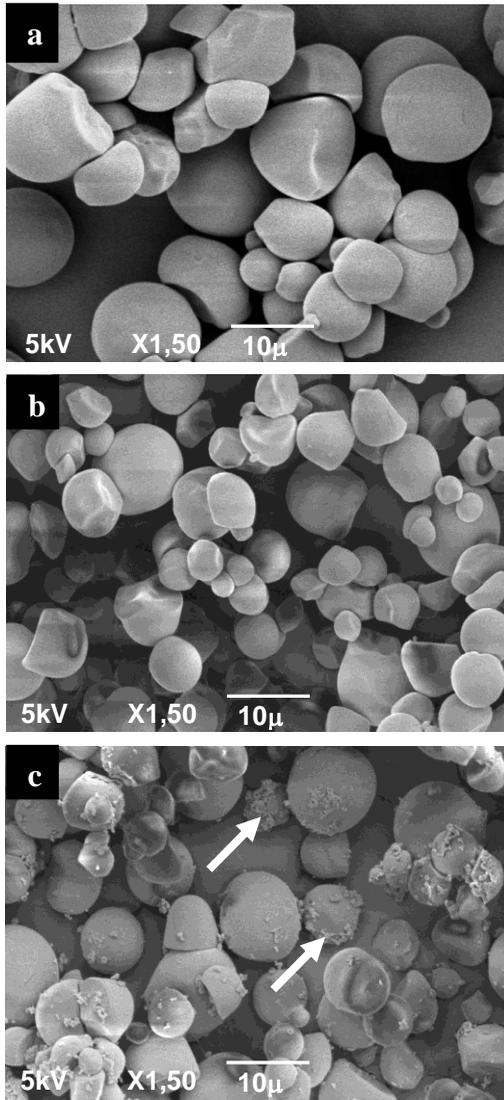


Figura 3.8. Micrografia dos amido (a) amido nativo ($\times 1500$), (b) amido acetilado com GS de 0,6 ($\times 1500$) e (c) amidos acetilados com GS de 1,1 ($\times 1500$).

Larotonda *et al.* (2004) estudaram amido de mandioca com diferentes GS e observaram a redução da banda 3500 cm^{-1} , (atribuída pelo grupo OH) e o deslocamento e aumento da banda 1750 cm^{-1} (atribuída ao grupo C=O) com o aumento da temperatura de síntese do acetato de amido, indicando, assim, o aumento do GS. Chi *et al.* (2008) estudaram amido de milho com diferentes GS e reportaram que com o aumento do GS as intensidades dos picos em 3421 cm^{-1} , 1082 cm^{-1} , 1014 cm^{-1} foram gradativamente enfraquecidas e quase desapareceram quando o GS foi de 2,89. Para estes autores, isto indica que grupos de hidroxila destas bandas podem ter participado da reação de acetilação.

Ainda em relação à análise dos espectros da figura 3.9, foram observados que três bandas tiveram alteração de sua intensidade: a banda em 1370 cm^{-1} é atribuída ao grupo C-CH₃, a banda 1242 cm^{-1} é atribuída à ligação O-H (grupo COOH) e a banda 990 cm^{-1} é atribuída à vibração do anel anidroglicose. Assim, comparando o amido com o acetato de amido com diferentes graus de substituição, observa-se que a intensidade destas bandas aumentou para os amidos acetilados.

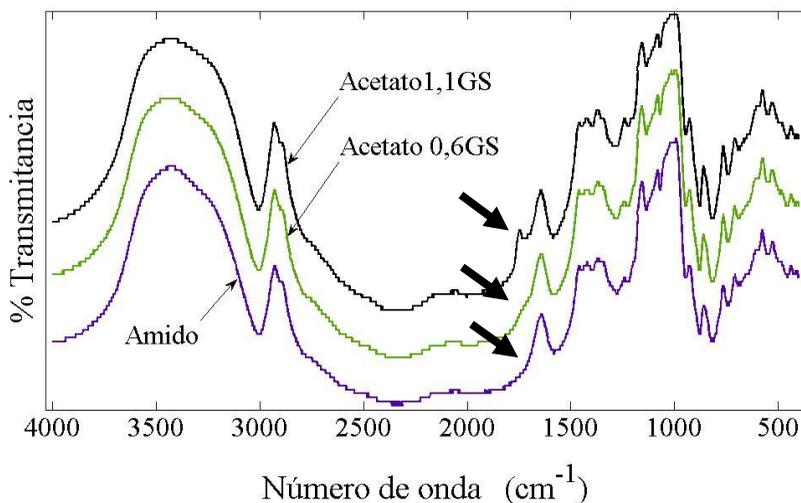


Figura 3.9. Espectros FTIR do acetato de amido com 0,6GS e 1,1GS e do amido nativo.

Resultado semelhante foi reportado por Larotonda *et al.* (2004), onde os espectros apresentados por estes autores mostram que à medida que se aumentou a temperatura de reação (aumento do grau de

substituição), as bandas 1370 cm^{-1} , 1242 cm^{-1} e 990 cm^{-1} foram aumentando de intensidade. Chi *et al.* (2008) estudaram a acetilação do amido de milho com diferente GS (0,85; 1,78 e 2,89). Estes autores reportam que os espectros de FTIR dos amidos acetilados mostraram bandas novas de absorção em 1754 cm^{-1} (atribuída à carbonila C=O), 1435 cm^{-1} (atribuída à deformação de vibração CH_3 assimétrico), 1375 cm^{-1} (atribuída à deformação de vibração CH_3 simétrico), 1.240 cm^{-1} (estiramento vibracional C–O). Para estes autores, estas novas absorções apresentadas para os espectros dos amidos acetilados sugerem que produtos da reação foram formados durante o processo de esterificação.

Tabela 3.10. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR do acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do amido nativo.

Número de onda (cm^{-1})			Atribuições
Amido Nativo	Acetato 0,6GS	Acetato 1,1GS	
3429	3422 ^b	3429 ^b	Grupo – OH
2930	2930	2930	Estiramento C–H (CH_2 –simétrico)
		1747 ^a	Estiramento do grupo éster carbonila C=O
1643	1643 ^b	1645 ^b	Estiramento C=O ou absorbância de água H–O–H (Amido I)
1460	1460 ^b	1460 ^b	Deformação angular da ligação C–H
1423	1423 ^b	1424 ^b	Deformação angular da ligação C–H (CH_2)
1370	1370 ^a	1370 ^a	Deformação angular C– CH_3
1242	1243 ^a	1241 ^a	Deformação angular da ligação O–H (grupo COOH)
1158	1158 ^b	1159 ^b	Estiramento da ligação glicosídica C–O, estiramento CO/deformação angular da ligação O–H (carboidrato)
1082	1082 ^b	1081 ^b	Estiramento da ligação C–O/ C–C
1015	1014 ^b	1015 ^b	Estiramento da ligação C–O/ C–C
994	993 ^a	993 ^a	Vibração do COH
927	927	927	Vibração do anel assimétrico
860	860	860	Deformação angular C–H
764	764	765	Vibração do anel simétrico

^aAumento da intensidade do pico, ^b redução da intensidade do pico.

3.3.3 Filmes de acetato de amido

Os filmes de acetato de amido obtidos pelo método de “casting”, nesta pesquisa, foram homogêneos, brilhantes e transparentes, com fácil manuseio e com espessura média de $95 \pm 8\mu\text{m}$. Para analisar se a modificação do amido pela acetilação gerou benefícios aos filmes, estes foram comparados aos filmes de amido nativo, preparados com a mesma concentração de plastificante (glicerol).

Os resultados de tensão e alongamento na ruptura dos filmes de acetato de amido, condicionados às umidades relativas (UR) de 58% e 75% por 96 horas, são apresentados na tabela 3.11.

Tabela 3.11. Tensão e alongamento na ruptura dos filmes de acetato de amido condicionados à umidade relativa (UR) de 58% e 75%. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25g glicerol/g amido; 30GL, 0,30g glicerol/g amido).

UR=58%			
Amostras	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Y (MPa/%)
AN25GL	$4,30 \pm 0,27$ ^{a,b}	$50,33 \pm 2,24$ ^a	$1,72 \pm 0,32$ ^{a,c}
AN30GL	$3,36 \pm 0,29$ ^a	$95,05 \pm 13,6$ ^b	$0,53 \pm 0,14$ ^b
0,6GS25GL	$8,42 \pm 0,84$ ^c	$16,11 \pm 0,91$ ^c	$2,50 \pm 0,45$ ^a
1,1GS25GL	$6,57 \pm 0,28$ ^d	$19,78 \pm 1,96$ ^c	$2,19 \pm 0,57$ ^a
0,6GS30GL	$6,25 \pm 0,35$ ^d	$30,17 \pm 1,86$ ^c	$1,15 \pm 0,21$ ^{b,c}
1,1GS30GL	$5,04 \pm 0,32$ ^b	$30,27 \pm 1,33$ ^c	$1,09 \pm 0,05$ ^{b,c}
UR=75%			
Amostras	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Y (MPa/%)
AN25GL	$3,89 \pm 0,29$ ^{a,b}	$55,96 \pm 2,02$ ^a	$0,89 \pm 0,08$ ^a
AN30GL	$2,43 \pm 0,34$ ^d	$105,0 \pm 12,7$ ^b	$1,09 \pm 0,13$ ^{a,b}
0,6GS25GL	$6,93 \pm 0,55$ ^e	$20,78 \pm 0,88$ ^c	$1,37 \pm 0,23$ ^{a,b}
1,1GS25GL	$4,91 \pm 0,29$ ^c	$24,05 \pm 1,42$ ^c	$0,43 \pm 0,09$ ^c
0,6GS30GL	$4,66 \pm 0,33$ ^{b,c}	$33,17 \pm 1,80$ ^c	$1,13 \pm 0,19$ ^{a,b}
1,1GS30GL	$3,60 \pm 0,29$ ^a	$34,37 \pm 1,43$ ^c	$1,23 \pm 0,05$ ^{a,b}

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

Os filmes de acetato condicionados à UR de 58% tiveram maiores valores de tensão na ruptura quando comparados aos filmes condicionados à UR de 75%. Resultados semelhantes foram reportados por Mali *et al.* (2005) que analisou o efeito da UR e do plastificante nas propriedades mecânicas dos filmes de amido de mandioca. Estes autores observaram que a tensão diminuía com o aumento da umidade relativa. Isso porque a água exerce um efeito plastificante, atuando como um potencializador da mobilidade; seu baixo peso molecular leva a um aumento da mobilidade molecular dos polímeros amorfos e parcialmente cristalinos devido a um aumento de volume livre (VAN DER BERG, 1991).

Ainda na tabela 3.11, observa-se que os valores de tensão na ruptura para os filmes de acetato foram 1,5 e 2 vezes maiores para filmes com GS de 1,1 e 0,6, respectivamente, quando comparados aos filmes de amido. Entretanto, o alongamento na ruptura dos filmes de acetato reduziu 2,5 e 3,0 vezes para os filmes com GS de 0,6 e 1,1, respectivamente, quando comparados aos filmes de amido. Este comportamento nas propriedades mecânicas dos filmes de acetato de amido é explicado pela substituição dos grupos OH na molécula de amido pelo grupo acetil, tornando os filmes mais rígidos (ROSENTHAL, 1993; GHIOTTI e FALCONE, 1994). Além disso, como os filmes de acetato de amido são menos higroscópicos, eles são menos plastificados com água (possuem menores teores de umidade).

Considerando a concentração de glicerol nos filmes de acetato de amido, observou-se que os mesmos, quando preparados com 25 g glicerol/100 g amido, tiveram maiores valores de tensão ao serem comparados aos filmes com 30 g glicerol/100 g amido condicionados na UR de 58% e UR de 75%. Resultados semelhantes foram reportados por López *et al.* (2008) que estudaram a concentração de glicerol em filmes de acetato de amido. Estes autores observaram que as quantidades iguais ou maiores de 2 g glicerol/100 g na suspensão filmogênica diminuía a tensão na ruptura de 40 MPa para 6 MPa e, por outro lado, aumentava o alongamento na ruptura de 5% para valores acima de 25%. Bonacucina *et al.* (2006) reportaram a influência do glicerol nas propriedades mecânicas de filmes de acetato de amido pré-gelatinizado. Com o aumento da concentração de glicerol, estes autores observaram que ocorria uma redução na tensão na ruptura e um aumento no alongamento na ruptura. Müller (2007) analisou filmes de amido de mandioca em diferentes concentrações de glicerol e sorbitol. Ambos plastificantes testados pela autora resultaram em filmes com tensão na ruptura

reduzida e maior alongamento na ruptura com o aumento da concentração de glicerol. Segundo esta autora, vários autores relataram que o teor de plastificante em filmes hidrofílicos é um fator que modifica sensivelmente as propriedades mecânicas dos mesmos (CHANG *et al.*, 2006; MALI *et al.*, 2005; VICENTINI, 2003; GONTARD *et al.*, 1993; PARRIS *et al.*, 1995).

Além das propriedades mecânicas, foram analisadas propriedades de barreiras dos filmes. Na figura 3.10 são apresentados os resultados de solubilidade em água dos filmes de acetato de amido. Para chegar a esses resultados, a solubilidade em água foi reduzida de 25% dos filmes de amido para 20% para os filmes de acetato com GS de 0,6 e 22% para os com GS de 1,1. A redução na solubilidade dos filmes de amido para os filmes de acetato pode ter ocorrido devido à substituição dos grupos OH na molécula de amido pelo grupo acetil, tornando o amido menos higroscópico (ROSENTHAL, 1993; GHIOTTI e FALCONE, 1994). López *et al.* (2008), por exemplo, reportaram valores de $19 \pm 3,48\%$ e $25 \pm 4,46\%$ para solubilidade em água de filmes de acetato de amido com concentração de glicerol de 2,5% e 3,25% p/p, respectivamente. Estes mesmos autores apresentaram que o aumento na quantidade de glicerol aumentava a solubilidade em água dos filmes devido ao caráter hidrofílico do glicerol. O glicerol, por ter um maior caráter hidrofílico, contribui para a maior afinidade dos filmes com glicerol pela água (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2001).

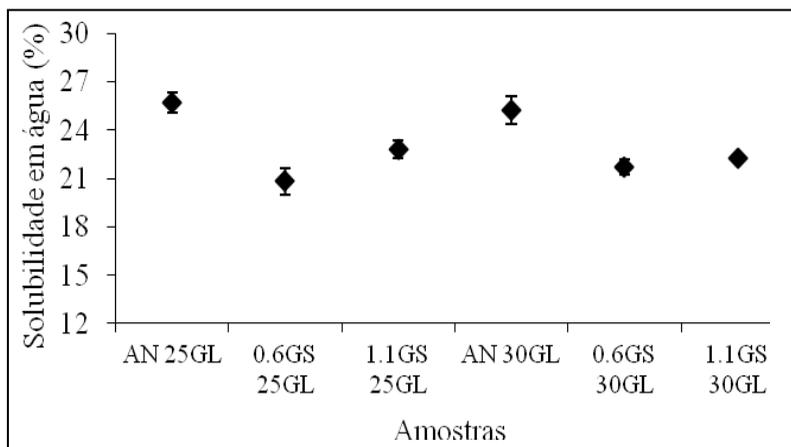


Figura 3.10. Solubilidade em água dos filmes de amido e de acetato de amido com diferentes GS e diferentes concentrações de glicerol. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g

amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).

Na figura 3.11 são apresentadas as isotermas de sorção dos filmes de acetato de amido.

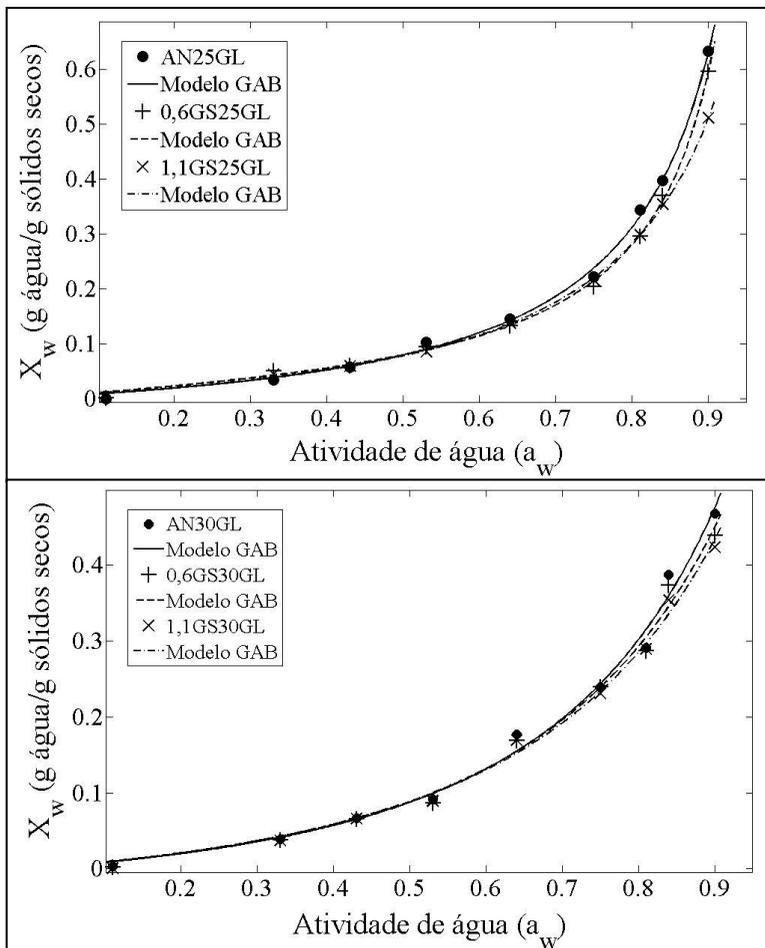


Figura 3.11. Isoterma de sorção de umidade de umidade dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1, sendo (A) com 25 g glicerol/100 g amido e (B) com 30 g glicerol/100 g amido. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).

O modelo de GAB foi o utilizado para ajustar os valores experimentais das isotermas e seus parâmetros (m_0 , C e K) e o coeficiente de determinação (R^2) são apresentados na tabela 3.12. O modelo de GAB ajustou bem os dados das isotermas de sorção, como previamente reportado por outros autores (GODBILLOT *et al.*, 2006; MALI *et al.*, 2005; LAROTONDA *et al.*, 2004; MARTELLI *et al.*, 2006, MÜLLER *et al.*, 2009a, entre outros).

Analisando as curvas de isotermas de sorção com concentração de glicerol de 25 g/100 g amido, observou-se que os filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1 tiveram suas curvas de isotermas muito próximas das curvas de isotermas do filme de amido. Isso indica que estes filmes absorveram quantidades de água semelhantes aos absorvidos pelos filmes de amido. Entretanto, as curvas de isotermas de sorção com concentração de glicerol de 30 g/100 g amido, observou-se que os filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1 tiveram suas curvas de isotermas de sorção acima das curvas do filme de amido.

Este resultado é semelhante ao reportado por Müller (2007) que estudou filmes de amido de mandioca com diferentes concentrações de glicerol. Esta autora observou que nos filmes com glicerol houve aumento das umidades de equilíbrio com o aumento do teor de plastificante em todas as faixas de atividade de água testada. Mali *et al.* (2005), estudando filmes de amido de mandioca plastificados com glicerol, também reportaram que houve um aumento das umidades de equilíbrio com o aumento do teor de plastificante.

Tabela 3.12. Parâmetros de ajuste do modelo de GAB para dados de sorção de umidade dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).

Amostras	Parâmetros GAB			R^2
	m_0 (g água/g sólido seco)	K	C	
AN 25GL	0,09591	0,9691	0,793	>0,99
0,6GS 25GL	0,06631	0,9965	1,525	>0,99
1,1GS 25GL	0,07490	0,9303	0,758	>0,99
AN 30GL	0,07303	0,7175	1,434	>0,99
0,6GS 30GL	0,06792	0,6926	1,677	>0,99
1,1GS 30GL	0,06082	0,6804	1,917	>0,99

Outro experimento realizado nos filmes de acetato de amido foi a permeabilidade ao vapor de água (PVA). Na figura 3.12 são apresentadas as permeabilidades ao vapor de água (PVA) dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1. Os valores de PVA não tiveram diferença entre os filmes de acetato com GS de 0,6 e 1,1. O mesmo comportamento foi observado entre as diferentes concentrações de glicerol. Porém, a PVA dos filmes de acetato de amido tiveram os valores levemente reduzidos quando comparados aos filmes de amido. Houve redução dos valores de PVA de $3,8 \times 10^{-7}$ para $2,4 \times 10^{-7}$ g.m/m².h.Pa quando se utilizou o acetato de amido ao invés do uso do amido nativo na preparações dos filmes.

Resultados reportados por López *et al.* (2008) mostraram que quando uma concentração de glicerol de 1,5 g/100 g de suspensão filmogênica foi adicionada a filmes de acetato de amido uma estrutura mais compacta foi obtida, reduzindo o valor de PVA. Todavia, concentrações maiores produziram um aumento significativo ($p < 0,05$) na PVA, devido ao caráter hidrofílico do glicerol. Estes autores encontraram valores de PVA entre $0,6 \times 10^{-7}$ a $9,0 \times 10^{-7}$ g.m/m².h.Pa.

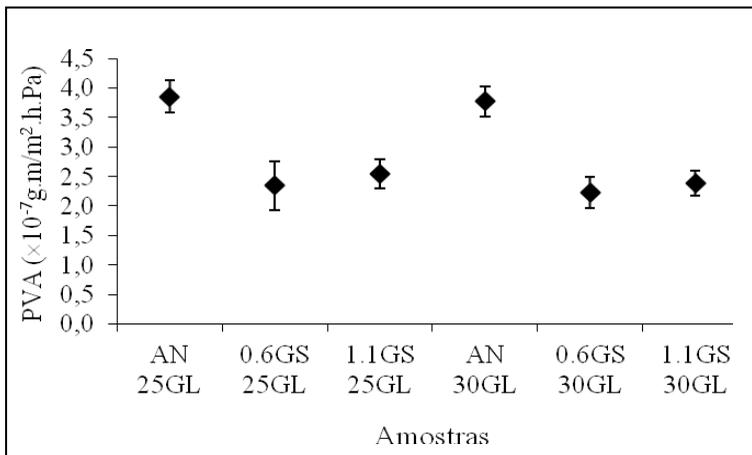


Figura 3.12. Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de acetato de amido com GS de 0,6 e 1,1. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).

Os resultados das microscopias eletrônicas de varredura (MEV) dos filmes de acetato de amido são apresentados na figura 3.13.

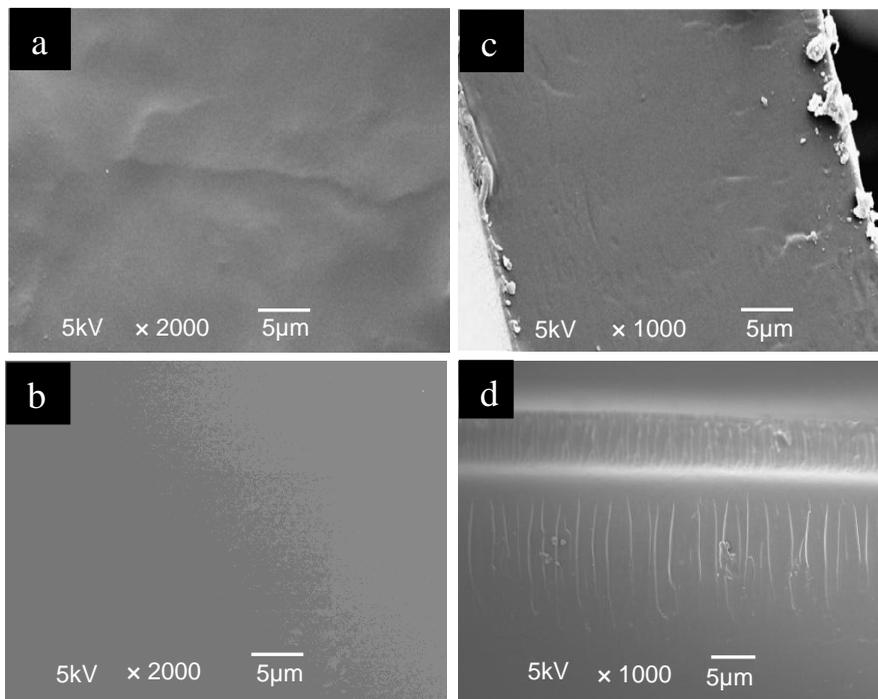


Figura 3.13. Micrografias das superfícies dos filmes (a) amido nativo ($\times 2000$) (b) acetato de amido ($\times 2000$). Micrografias das seções transversais dos filmes (c) amido nativo ($\times 1000$) (d) acetato de amido ($\times 1000$).

As micrografias de superfícies (fig. 3.13b) mostram que os filmes preparados com acetato de amido não apresentaram fraturas e nem poros. Analisando as micrografias das fraturas destes filmes (fig. 3.13d), observa-se que a estrutura formada é homogênea e lisa. As micrografias apresentadas por López *et al.* (2008) mostraram que filmes de acetato sem plastificantes tinham estruturas frágeis e rígidas, apresentando rachaduras e poros que provavelmente poderiam facilitar a transferência do vapor de água. Contudo, as seções transversais destes filmes (fig. 3.13b), apesar de apresentarem-se homogêneas, apresentavam estruturas multilaminares. Estes mesmos autores reportam que a adição do plastificante tornou os filmes de acetato de amido sem poros ou fissuras. A superfície plastificada ficou mais enrugada do que o filme não plastificado, porém suas estruturas foram mais homogêneas. Segundo Sothornvit e Krochta (2001), os

plastificantes interferem na associação da cadeia polimérica, diminuindo a rigidez da rede e produzindo, assim, uma estrutura menos ordenada.

A espectroscopia da transformada de Fourier FTIR também foi realizada nos filmes de acetato de amido. A espectroscopia de infravermelho é usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra através da região do infravermelho do espectro eletromagnético. A figura 3.14 apresenta os espectros FTIR obtidos na região de infravermelho dos filmes de acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do filme do amido nativo, ambos com 25 g glicerol/100 g de amido. Esta concentração de glicerol foi escolhida por apresentar valores um pouco maiores de tensão na ruptura que a concentração de 30 g glicerol/100 g de amido. A tabela 3.13 apresenta o resumo das principais bandas IR observadas, suas intensidades e possíveis atribuições do grupo funcional que originam o pico.

Observa-se que o espectro do filme de acetato de amido 0,6GS 25GL apresentou um pico largo na região 3297 cm^{-1} , atribuído ao estiramento da ligação O–H. Essa banda também foi observada no espectro dos filmes 1,1GS 25GL, porém em menor intensidade. A presença de novas e fortes ligações de H^+ pode ser atribuída ao aumento da intensidade dos picos duplos de 2923 cm^{-1} a 2853 cm^{-1} . Essa região é atribuída ao estiramento da ligação CH (CH_2 simétrico).

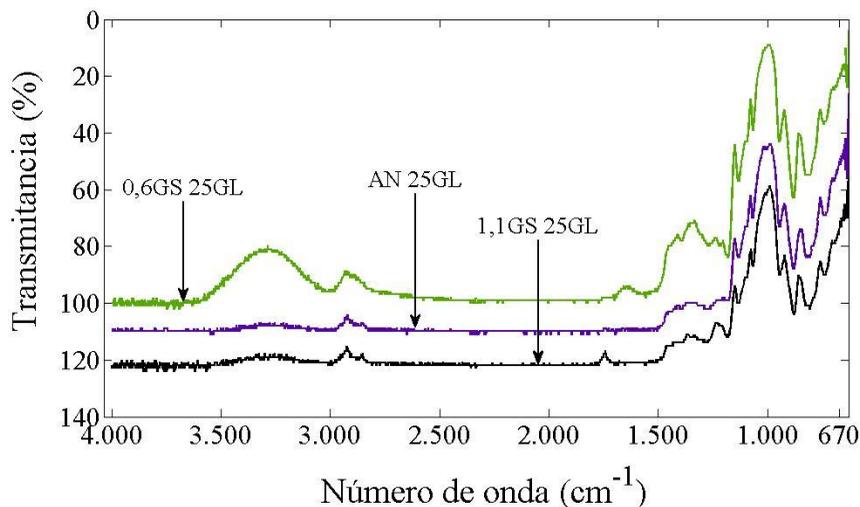


Figura 3.14. Espectros FTIR dos filmes de acetato de amido com 0,6GS e 1,1GS e do filme de amido. (AN, amido nativo; 25GL, 0,25 g glicerol/g

amido; 30GL, 0,30 g glicerol/g amido; 0,6GS, grau de substituição de 0,6; 1,1GS, grau de substituição de 1,1).

Tabela 3.13. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR dos filmes de acetato de amido com 0,6 GS e 1,1 GS e do amido nativo, com 25 g glicerol/100 g amido.

Número de onda (cm ⁻¹)			Atribuições
Amido Nativo	Acetato 0,6 GS	Acetato 1,1 GS	
----	3283	3299 ^b	Grupo – OH
2923	2926	2924	Estiramento C–H (CH ₂ -assimétrico)
2853	----	2853	Estiramento C–H (CH ₂ -simétrico)
----	----	1742	Estiramento do grupo éster carbonila C=O
----	1645	----	Estiramento C=O ou absorbância de água H-O-H (Amido I)
----	1450	1456	Deformação angular da ligação C–H
1412	1412	1426	Deformação angular da ligação C–H (CH ₂)
1366	1370	1369 ^a	Deformação angular C–CH ₃
1335	----	----	
----	1243 ^a	1241 ^a	Deformação angular da ligação O–H (grupo COOH)
1203	----	----	
1150	1150	1150	Estiramento da ligação glicosídica C–O, estiramento CO/deformação angular da ligação O–H (carboidrato)
1079	1078	1078	Estiramento da ligação C–O/ C–C
1015	----	----	Estiramento da ligação C–O/ C–C
990	993	992	Vibração do COH
924	924	924	Vibração do anel assimétrico
849	858	858	Deformação angular C–H
758	759	760	Vibração do anel simétrico

^aaumento da intensidade do pico, ^b redução da intensidade do pico.

O espectro do filme de acetato de amido 0,6GS 25GL apresentou um novo pico na banda 1645 cm⁻¹ e o filme de acetato de amido 1,1GS 25GL apresentou um novo pico na banda 1742 cm⁻¹,

quando comparados com os filmes de amido. Bello-Pérez *et al.* (2010) observaram nos espectros de amido de cevada com GS de 0,9 e 2,7 uma diminuição na intensidade da banda 3000–3500 cm^{-1} , atribuída à vibração de estiramento O–H e ao aumento na banda 1650 cm^{-1} , atribuída à vibração de flexão O–H (no amido com baixo GS). Estes autores atribuem essas mudanças à introdução do grupo acetil na molécula do amido. O novo pico na banda 1740 cm^{-1} no espectro do amido com alto GS é característica das vibrações dos grupos carbonila presentes no amido acetilado (ADEBAJO e FROST, 2004; XU *et al.*, 2004; XU e HANNA, 2005).

Ainda analisando os espectros dos acetatos de amido, foi observada uma banda nova de absorção em 1450 cm^{-1} (atribuída à deformação angular da ligação C–H), um aumento da intensidade da banda 1369–1370 cm^{-1} (atribuída à deformação de vibração CH_3 simétrico), e uma banda nova de absorção em 1241 cm^{-1} (estiramento vibracional C–O). Chi *et al.* (2008) reportou o surgimento de bandas de absorção semelhantes às apresentadas neste estudo, ao estudarem a acetilação do amido de milho com diferente GS (0,85; 1,78 e 2,89). Para estes autores, estas novas absorções apresentadas para os espectros dos amidos acetilados sugerem que produtos da reação de acetilação foram formados durante o processo de esterificação.

Na região entre 1200 cm^{-1} e 900 cm^{-1} , as bandas estão associadas a vibrações de C–O, C–C e C–O–H (MARQUES *et al.*, 2006). A banda em 990 cm^{-1} , que é atribuída às vibrações de COH, é sensível à influência do teor de água na ligação intra molecular de hidrogênio (VAN SOEST *et al.*, 1995). Observando os espectros, a banda 990 cm^{-1} apresentou um aumento na intensidade e saturação da banda para os filmes de acetato de amido quando comparado ao filme de amido. A banda 1150 cm^{-1} apresentou um aumento de intensidade nos filmes de acetato de amido quando comparados com os filmes de amido. Bergo *et al.* (2010) reportou que os espectros FTIR de filmes de amido com glicerol apresentaram pequenas diferenças em termos de forma e intensidade, e o deslocamento de bandas pode ser observado, sendo resultado da nova interações resultantes entre o glicerol e a matriz do filme polimérico. Van Soest *et al.* (1995) e Vicentini *et al.* (2005) reportam que estas modificações nas bandas 990 cm^{-1} e 1150 cm^{-1} desta região podem estar associadas com as vibrações C-O-H, hidratação com a água, ou ainda a mudanças de um estado amorfo para um estado semicristalino.

A pesquisa realizada com elaboração de filmes biodegradáveis com acetato de amido ao invés de amido nativo mostrou, portanto, que a acetilação do amido influencia as propriedades dos filmes, como tensão na ruptura, solubilidade em água e na permeabilidade ao vapor de água.

3.4. Efeito da adição de ácido esteárico nas propriedades de filmes de amido

Nesta seção são apresentados os resultados dos filmes de amido com incorporação de ácido esteárico. Foram estudadas as propriedades mecânicas, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água.

3.4.1. Efeito da concentração de ácido esteárico

A velocidade de agitação da emulsão é um fator importante na obtenção de coberturas e filmes homogêneos, permitindo melhor distribuição dos componentes dos filmes na matriz polimérica, especialmente na distribuição do ácido esteárico, evitando a formação de poros e regiões de acúmulos deste ácido graxo. Assim, a obtenção de filmes homogêneos tem grande influência em seu desempenho mecânico (GARCIA *et al.*, 2000; PEREZ-GAGO e KROCHTA, 2001).

Os filmes de amido com ácido esteárico obtidos neste estudo apresentaram superfície lisa e estrutura compacta, conforme resultados reportados na literatura (GARCIA *et al.*, 2000; COLLA *et al.*, 2006). As suas espessuras tiveram pouca variação, com valor de $84 \pm 4 \mu\text{m}$.

A tabela 3.14 apresenta os comportamentos da tensão na ruptura (TS), do alongamento na ruptura (ϵ), da força na perfuração (FP), da deformação na perfuração (DP), da solubilidade em água (S) e da permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de amido de mandioca com diferentes concentrações de ácido esteárico. Em geral, a adição de ácido esteárico apresentou um efeito negativo nas propriedades mecânicas. No entanto, nas amostras com ácido esteárico, na concentração de 5%, a tensão na ruptura e a força na perfuração apresentaram valores maiores, diminuindo para concentrações maiores (10%, 15% e 20%). Este comportamento na tensão de ruptura são semelhantes com os obtidos por outros autores (SHELLHAMMER e KROCHTA, 1997; WELLER *et al.*, 1998; ANKER *et al.*, 2002; COLLA *et al.*, 2006). Este aumento da tensão na ruptura e da força na perfuração pode ser atribuído a uma incorporação efetiva do ácido

esteárico na matriz do amido de forma uniforme, aumentando a resistência da rede. Para concentrações maiores que 5% de ácido esteárico, pode ter ocorrido uma distribuição heterogênea lipídica, provavelmente originada da pobre estabilidade do sistema de emulsão em maiores concentrações (BERTAN *et al.*, 2005). Weller *et al.* (1998) comentam que a diminuição nos valores de tensão na ruptura está relacionada a problemas de coesão do lipídio com a rede polimérica. Para Petersson e Stading (2005) essa degradação das propriedades mecânicas deve-se ao efeito de enfraquecimento da rede polimérica causada pelo ácido graxo.

Tabela 3.14. Propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes de amido com diferentes concentrações de ácido esteárico.

Ácido Esteárico (g/100 g amido)	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ε (%)	Força na perfuração, FP (N)	Deformação na perfuração DP (%)	Solubilidade em água, S (%)	Permeabilidade ao vapor de água, PVA ($\times 10^{-7}$ g·m/m ² ·h·Pa)
0 (Controle)	19,59±1,51 ^a	1,54±0,16 ^a	6,08±0,59 ^a	1,73±0,16 ^a	31,68±1,90 ^a	5,81±0,32 ^e
5	23,20±1,80 ^a	1,17±0,12 ^b	6,55±0,34 ^a	1,33±0,13 ^{a,b}	13,48±1,98 ^b	3,09±0,21 ^a
10	14,19±1,36 ^b	0,56±0,09 ^c	3,49±0,38 ^b	0,47±0,03 ^c	22,84±2,10 ^c	4,14±0,23 ^{b,c}
15	9,55±1,48 ^c	0,48±0,09 ^c	4,22±0,39 ^b	0,97±0,18 ^b	38,47±2,14 ^d	3,57±0,28 ^{a,b}
20	9,21±1,26 ^c	1,11±0,19 ^b	4,25±0,28 ^b	1,42±0,27 ^a	65,97±1,99 ^e	4,60±0,27 ^d

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

O alongamento na ruptura e a deformação na perfuração diminuíram com o aumento da concentração de ácido esteárico, resultando em filmes mais rígidos. Segundo Ferreira *et al.* (2009), os filmes à base de amido de inhame, adicionados de monoglicerídio, apresentaram-se como materiais rígidos e com baixa capacidade de alongamento. Péroval *et al.* (2002) observaram uma diminuição da alongamento ao incorporar ácidos graxos aos filmes de arabinosilana e argumentaram que alguns lipídios são incapazes de ter coesão formando uma matriz contínua com o polissacarídeo, causando menor alongamento. Entretanto, um efeito plasticizante do ácido esteárico sobre os filmes foram reportados por outros autores, como Colla *et al.* (2006) com filmes de ácido esteárico e farinha de amaranto, Shellhammer e Krochta (1997) com filmes de proteína de soro de leite e

lipídios e Fakhouri (2002) com filmes de gelatina, triacetina e ácidos graxos.

A solubilidade dos filmes em água está diretamente relacionada aos seus componentes, ou seja, com a hidrofiliicidade/hidrofobicidade e estrutura (DAVANÇO *et al.*, 2007). A solubilidade em água foi de 31,68% para os filmes de amido puro, para os filmes com concentração de 5% e 10% de ácido esteárico apresentou um valor mínimo de 13,48% e 22,84%, respectivamente. Por outro lado, observa-se que a solubilidade em água foi aumentando com maiores concentração de ácido esteárico (10%, 15% e 20%). Valores menores de solubilidade seria consequência de uma maior interação dos componentes da rede. Resultados similares, onde a solubilidade em água dos filmes aumentou com o aumento da concentração dos lipídios, foram obtidos por Davanço *et al.* (2007) com filmes de gelatina, triacetina e lipídios; Fakhouri (2002) com filmes de gelatina e vários tipos de ácidos graxos em várias concentrações; Rhim *et al.* (1999) com filmes compostos de isolado protéico de soja e ácido láurico e Gontard *et al.* (1994) com filmes compostos de glúten e lipídios.

Contudo, analisando os resultados de permeabilidade ao vapor d'água (PVA) apresentado na tabela 3.19, a adição de ácido esteárico resultou em filmes que apresentaram menores PVA ($3,84 \pm 0,6 \times 10^{-7}$ g·m/m²·Pa·h) quando comparados aos filmes de amido puro ($5,81 \pm 0,3 \times 10^{-7}$ g·m/m²·Pa·h), efeito esperado pelo caráter hidrofóbico do ácido graxo adicionado. Davanço *et al.* (2007) observou que a adição de ácidos graxos (esteárico, palmítico e blends de ambos os ácidos) em filmes de gelatina e triacetina provocaram redução da permeabilidade ao vapor de água. Yang e Paulson (2000b) avaliaram o efeito de blenda de ácido esteárico-palmítico (1:1), assim como da cera de abelha, nas propriedades dos filmes de gelatina. Os resultados revelaram que ambos, quando adicionados em concentrações apropriadas, foram efetivos na redução da permeabilidade ao vapor de água, sendo a cera a mais efetiva. Gontard *et al.* (1994) observaram que o aumento da concentração de ácidos graxos resultou numa diminuição considerável da permeabilidade ao vapor de água de filmes compostos de trigo e lipídios. Tanaka-Palmu e Grosso (2005) verificaram que a PVA reduziu em 1/3 para filmes à base de glúten adicionados de 30% da mistura de ácido esteárico-palmítico e cera de abelha, quando comparados com o mesmo filme contendo apenas 30% de cera de abelha. Kim *et al.* (2002) observaram que filmes emulsionados de isolado protéico de soja com

adição de cera de sorgo reduziu em 60% a PVA quando comparado com o filme sem cera.

3.4.2. Planejamento experimental: análise estatística do efeito da concentração de glicerol e ácido esteárico

Na Tabela 3.15 são apresentados os resultados de tensão na ruptura (TS), alongamento na ruptura (ε), força na perfuração (FP), deformação na perfuração (DP), permeabilidade ao vapor de água (PVA) e solubilidade em água (S) para as diversas condições estudadas no planejamento. Os modelos e as discussões do efeito da adição de ácido esteárico e glicerol nos filmes de amido serão apresentados na seqüência.

Nas tabelas 3.16 e 3.17 são apresentadas as análises de variância (ANOVA) dos modelos preditivos das propriedades mecânicas, solubilidade em água e PVA. Sendo preditivos os modelos gerados (Equações 12 a 16), os valores de F calculado (F_{ratio}) foram maiores que os valores dos F tabelados (F_{0,95}) para TS, ε , FP, DF e S, indicando que há diferença significativa para as variáveis de resposta em nível de 95%. Para PVA, o valor F calculado (F_{ratio}) foi menor que o valor F tabelado (F_{0,95}), indicando que não há diferença significativa a nível de 95%.

As análises de regressão foram realizadas para obter equações (Eq. 12 a 16) para TS, ε , FP, DF e S em função da concentração de ácido esteárico e glicerol. A significância estatística destes modelos foi checada com o teste *F* (ANOVA).

$$TS(MPa) = 1,06 - 1,79x_1 + 41,29x_2 + 3,73x_2^2 \quad (12)$$

$$\varepsilon(\%) = 9,16x_1 + 24,23x_2 \quad (13)$$

$$PF(N) = 4,08 - 0,99x_1 - 1,37x_2 + 0,85x_2^2 \quad (14)$$

$$DF(\%) = 4,64 + 5,21x_2 \quad (15)$$

$$S(\%) = 22,08 + 9,59x_1 - 6,32x_1^2 + 5,04x_2 \quad (16)$$

onde x_1 é a concentração de ácido esteárico e x_2 a concentração de glicerol.

Tabela 3.15. Matriz de Planejamento Composto Central com valores reais e codificados das variáveis e respostas para permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas (TS, FP, ϵ , DP).

Teste	Ácido Esteárico (g/g amido)	Glicerol (g/g amido)	TS (MPa)*	FP(N)*	ϵ (%)*	DP (%)	PVA* (10^{-7} g·m/ m ² ·h·Pa)	S (%)
01	5 (-1)	23 (-1)	8,42±1,03 ^e	5,91±0,27 ^c	1,55±0,20 ^a	2,45±0,56 ^a	3,11±0,33 ^e	28,22±1,22 ^a
02	11 (1)	23 (-1)	5,61±0,63 ^d	3,86±0,58 ^a	2,23±0,15 ^a	2,19±0,28 ^a	3,94±0,28 ^a	43,99±2,41 ^{c,d}
03	5 (-1)	29 (1)	2,87±0,40 ^{a,b,c}	3,74±0,43 ^a	49,95±3,71 ^f	8,87±0,66 ^c	4,85±0,32 ^{b,c,d}	35,05±1,48 ^b
04	11 (1)	29 (1)	2,65±0,34 ^{a,b}	3,34±0,43 ^a	13,25±3,64 ^c	8,35±0,92 ^c	4,37±0,32 ^{a,b,d}	43,10±2,18 ^{c,d}
05	12,24 (1,41)	26 (0)	4,56±0,41 ^d	3,10±0,24 ^a	3,98±0,28 ^a	2,95±0,31 ^a	4,88±0,25 ^{b,c}	45,68±1,28 ^{c,d}
06	3,76 (-1,41)	26 (0)	5,10±0,35 ^d	4,09±0,29 ^{a,b}	4,41±0,46 ^a	6,07±0,49 ^{b,c}	3,86±0,26 ^{a,d}	25,42±1,59 ^a
07	8 (0)	30,24 (1,41)	1,81±0,24 ^a	3,51±0,28 ^a	29,41±1,75 ^b	6,45±0,37 ^c	5,23±0,28 ^c	42,81±2,12 ^{c,d}
08	8 (0)	21,76 (-1,41)	8,64±0,35 ^e	5,40±0,27 ^{b,c}	2,97±0,34 ^a	2,75±0,35 ^a	4,24±0,11 ^{a,b,d}	28,75±2,01 ^a
09	8 (0)	26 (0)	3,60±0,45 ^{b,c}	3,71±0,64 ^a	7,07±1,14 ^e	5,53±0,51 ^b	4,92±0,20 ^{b,c}	41,37±1,95 ^c
10	8 (0)	26 (0)	4,42±0,75 ^{c,d}	4,06±0,20 ^a	5,21±1,40 ^d	5,06±0,46 ^b	4,53±0,28 ^{a,b,c,d}	41,60±1,17 ^c
11	8 (0)	26 (0)	2,57±0,21 ^{a,b}	3,98±0,38 ^a	5,57±1,86 ^d	5,87±0,33 ^b	4,52±0,31 ^{a,b,c,d}	43,27±1,87 ^{c,d}

* TS, tensão na ruptura; FP, força na perfuração; ELO, alongamento na ruptura; DP, deformação na perfuração; PVA, permeabilidade ao vapor de água; S, solubilidade em água. As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

Tabela 3.16. Análises de variância (ANOVA) das variáveis de respostas do planejamento experimental.

Fontes de Variação	Tensão na ruptura				Alongamento na ruptura				PVA			
	S _q ¹	Gl ²	M _q ³	F _{ratio} ⁴	S _q ¹	Gl ²	M _q ³	F _{ratio} ⁴	S _q ¹	Gl ²	M _q ³	F _{ratio} ⁴
Regressão	49,38	1	9,88	19,31	1874,5	5	374,9	8,18	1,48	3	0,30	0,94
Residual	2,56	9	0,51		363,13	5	72,63		1,57	7	0,31	
Falta de ajuste	0,86	3	0,29		302,11	3	100,7		0,58	5	0,19	
Erro Puro	1,70	2	0,85		61,03	2	30,52		0,99	2	0,49	
Erro Total	51,94	10			2237,7	10			3,05	10		
		R ² =0,94				R ² =0,87						
		F _{0,95;4;6} =4,53				F _{0,95;3;7} =4,35						

¹ soma dos quadrados, ² grau de liberdade, ³ Quadrado médio, ⁴ significância do modelo, F_{0,95} tabelado

Tabela 3.17. Análises de variância (ANOVA) das variáveis de respostas do planejamento experimental (Continuação).

Fontes de Variação	Força na Perfuração				Deformação na perfuração				Solubilidade em água			
	S _q ¹	Gl ²	M _q ³	F _{ratio} ⁴	S _q ¹	Gl ²	M _q ³	F _{ratio} ⁴	S _q ¹	Gl ²	M _q ³	F _{ratio} ⁴
Regressão	7,42	1	1,48	13,93	59,81	4	10,86	5,87	307,9	3	61,59	13,74
Residual	0,53	9	0,11		10,19	6	2,04		22,01	7	4,41	
Falta de ajuste	0,22	3	0,07		6,24	3	2,08		19,85	3	6,62	
Erro Puro	0,31	2	0,15		3,96	2	1,98		2,16	2	1,08	
Erro Total	7,95	10			70,01	10			329,9	10		
		R ² =0,98				R ² =0,97				R ² =0,97		
		F _{0,95;5;5} =5,12				F _{0,95;2;8} =4,60				F _{0,95;3;7} =5,05		

¹ soma dos quadrados, ² grau de liberdade, ³ Quadrado médio, ⁴ significância do modelo, F_{0,95} tabelado

Permeabilidade ao vapor de água (PVA). Os valores de permeabilidade ao vapor de água não variaram no intervalo de concentrações estudadas, portanto, no planejamento estatístico, os valores estudados de ácido esteárico não influenciaram a PVA. Não tendo diferença significativa entre os testes ao nível de 95%, não gerou superfície de resposta e os modelos preditivos para PVA. Isto pode ser explicado pela baixa incorporação do ácido esteárico na matriz polimérica, aumentando o número de espaços vazios na interface polissacarídeo-ácido esteárico. Davanço *et al.* (2007) observou que a adição de cera de cana-de-açúcar nos filmes emulsionados de gelatina sem ajuste de pH, em diversas concentrações (2,5%, 5%, 7,5% e 10%), não alteraram significativamente os valores de PVA.

Propriedades mecânicas. As propriedades mecânicas dos filmes foram analisadas pelas medidas da tensão na ruptura (TS), do alongamento na ruptura (ϵ), da força na perfuração (FP) e da deformação na perfuração (DP). O efeito da concentração de glicerol e ácido esteárico pode ser observado nos gráficos de superfície de resposta (figuras 3.15 e 3.16). Os testes (1,8) com concentrações de 5% e 8% de ácido esteárico e concentrações de glicerol de 21 a 23% apresentaram os maiores valores de TS e FP. Analisando o efeito do ácido esteárico nas propriedades mecânicas, observa-se o seu efeito negativo sobre as mesmas. Esse efeito da adição de lipídios nos filmes hidrofílicos já foi anteriormente relatado por Yang e Paulson (2000a), que observaram redução da tensão na ruptura e da alongação com o aumento da concentração da blenda de ácido esteárico-ácido palmítico nos filmes de gelatina. De acordo com os autores, tal resultado pode estar relacionado com a incorporação parcial dos lipídios na matriz filmogênica, onde a interação lipídios-lipídios (moléculas apolares) e lipídios-proteínas apresentaram menor energia que a ligação proteína-proteína influenciando, portanto, as propriedades mecânicas.

Quando se analisa o efeito do glicerol, verifica-se o efeito plasticizante do mesmo. No teste 8, os filmes com concentração de ácido esteárico de 8% e concentração de glicerol de 21% (menor quantidade de glicerol analisada) apresentou o maior valor de TS (9,32 MPa) e FP (5,29 N), e o menor valor para ϵ (1,58%) e DP (2,04%). Observando o teste 7, onde os filmes possuem a mesma concentração de ácido esteárico que o teste 8, mas com a concentração de glicerol de 31% (maior quantidade de glicerol analisada), estes apresentaram o menor valor de TS (1,60 MPa) e FP (3,28N) e altos valores de ϵ (34%) e DP (8%). O alongamento na ruptura (ϵ) apresentou aumento com o

aumento da concentração de glicerol, para todos os experimentos realizados.

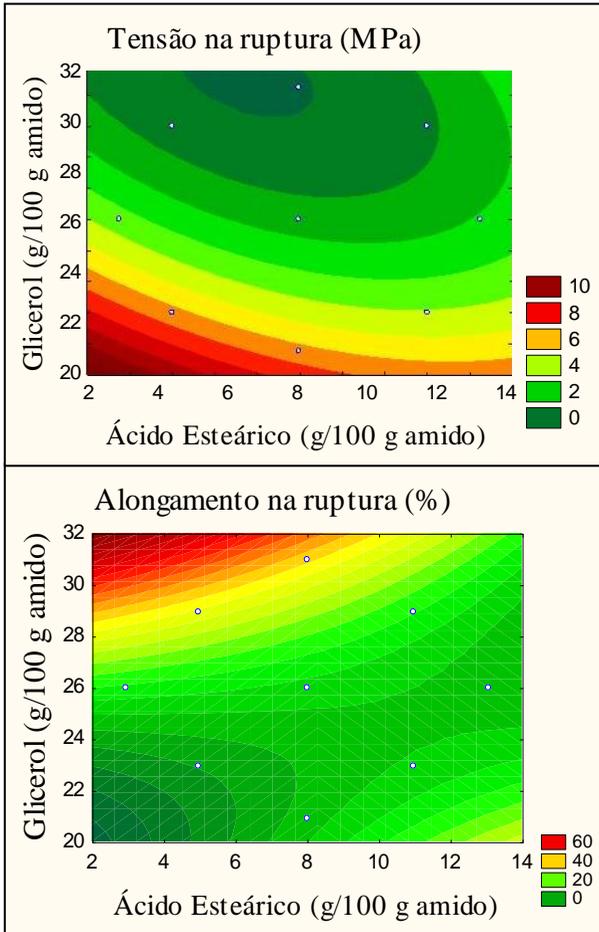


Figura 3.15. Diagrama de contorno para tração e alongamento na ruptura em função da concentração de ácido esteárico e glicerol.

Para a deformação na perfuração, o efeito foi positivo para a concentração de glicerol. A concentração de ácido esteárico apresentou efeito negativo na tensão na ruptura e na força na perfuração, apresentando pouco efeito na deformação na perfuração e no alongamento na ruptura. Quando um plastificante, como o glicerol, é

incorporado na rede do amido, interações diretas e a proximidade entre as cadeias são reduzidas.

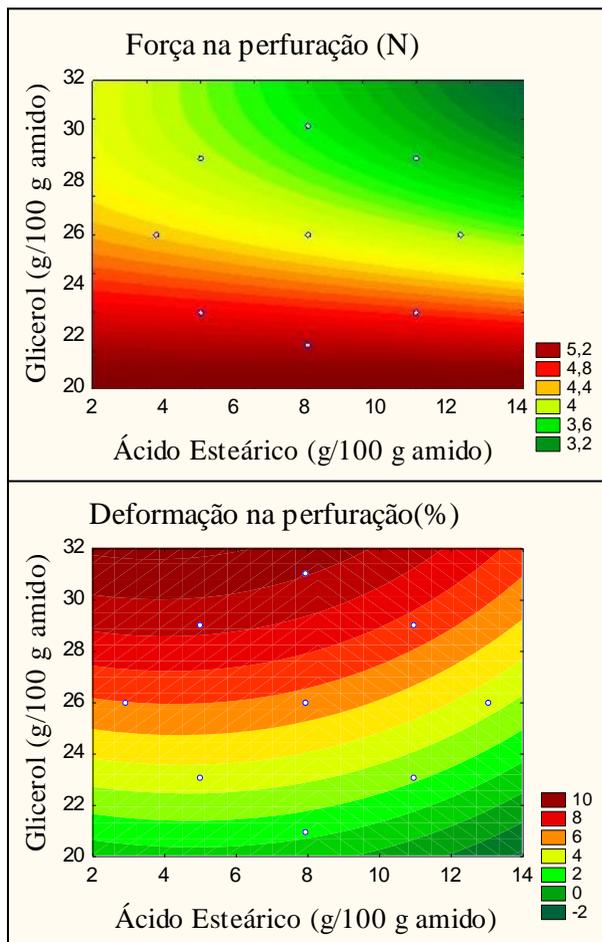


Figura 3.16. Diagrama de contorno para força e deformação na perfuração em função da concentração de ácido esteárico e glicerol.

Assim, sob tensão, os movimentos da cadeia de amido são facilitados, resultando na diminuição da temperatura de transição vítrea (T_g) destes materiais e melhorando sua flexibilidade (GARCIA *et al.*, 2000; MALI *et al.*, 2002). Plastificantes, como o glicerol, enfraquecem as forças intermoleculares entre as cadeias adjacentes do polímero,

explicando as reduções na temperatura de transição vítrea (T_g) destes materiais (SOBRAL *et al.*, 2001; VANIN *et al.* 2005). Consequentemente, o aumento da flexibilidade e extensibilidade dos filmes ocorrem ao mesmo tempo em que a resistência do material diminui. De acordo com a literatura (FOLLAIN *et al.*, 2005b; KROTCHA *et al.*, 1994; PARK *et al.*, 1994), com o aumento da quantidade de glicerol, filmes de amido de mandioca apresentam diminuição na tensão e aumento no alongamento na ruptura.

Solubilidade em água. Os filmes com concentração de 26% de glicerol e 3% de ácido esteárico apresentaram o menor valor da solubilidade em água (25%), valor menor que os de amido puro (31,7%). Entretanto, filmes com a mesma concentração de glicerol e 13% de ácido esteárico apresentaram maior valor de solubilidade (44%). Observa-se que a redução do ácido esteárico resultou na diminuição da solubilidade em água dos filmes. Estes comportamentos podem ser observados na figura 3.17, onde a concentração de ácido esteárico e glicerol apresentaram um efeito negativo na solubilidade em água.

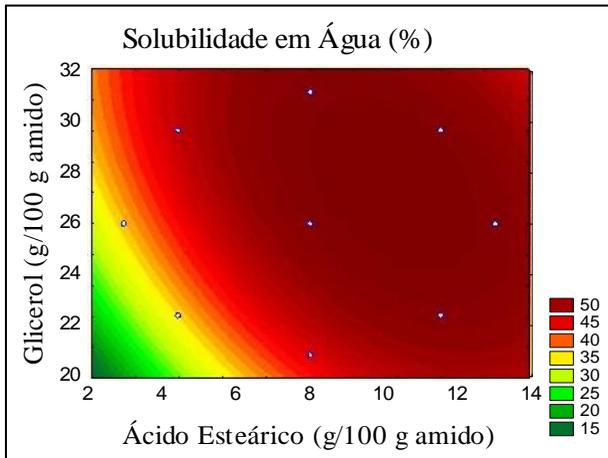


Figura 3.17. Diagrama de contorno para solubilidade em água em função da concentração de ácido esteárico e glicerol.

Esse aumento na solubilidade em água dos filmes pode ser explicado pela separação de grandes cristais de ácido graxos (SAPRU e LABUZA; 1994), que permitiriam a desestruturação da rede de amido. Bertan (2003) adicionou ácidos graxos (ácido láurico, palmítico e

esteárico) a filmes de gelatina com glicerol. Em todos os ácidos adicionados houve um aumento da solubilidade dos filmes à medida que a concentração de ácidos aumentou nas faixas estudadas. O glicerol é um material hidrofílico e solúvel em água, assim é esperado um aumento da solubilidade com o aumento da sua concentração (VANIN *et al.*, 2005; MOORE *et al.*, 2006; ALVES *et al.*, 2007). Para concentrações maiores, os efeitos são mais complexos, não obstante os valores de solubilidade são maiores. Consequentemente verifica-se uma zona de mínima solubilidade (15– 20%) para concentrações de glicerol de 20 até 22% e concentrações de esteárico de 2–4%.

3.3.3 Definição e caracterização de uma formulação escolhida

Após a análise individual das respostas para as propriedades mecânicas e propriedades de barreiras ao vapor d'água, foi possível definir uma formulação dos filmes que resulte em boas propriedades mecânicas e, especialmente, na diminuição da permeabilidade ao vapor d'água e baixa solubilidade em água, que são os objetivos principais deste trabalho. Analisando as superfícies de respostas para cada propriedade estudada, a formulação escolhida foi: 4 g de ácido esteárico/100 g amido seco e 24 g de glicerol/100 g amido seco.

A tabela 3.18 apresenta os resultados das propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor d'água e solubilidade em água dos filmes preparados com a formulação escolhida. Os resultados dos filmes elaborados com esta condição apresentaram valores de tensão ($10,4 \pm 0,9$ MPa) e alongamento ($6,0 \pm 0,7$ %) na ruptura maiores do que os resultados dos filmes obtidos no planejamento experimental. Os resultados de força ($3,9 \pm 0,20$ N) e deformação ($5,5 \pm 0,5\%$) na perfuração ficaram entre os valores obtidos anteriormente no planejamento. Os resultados de solubilidade em água ($25,4 \pm 0,5\%$) e a permeabilidade ao vapor d'água ($1,9 \times 10^{-7}$ g·m/m²·Pa·h) apresentaram redução nos valores, sendo os menores valores para os filmes elaborados com a condição pelo planejamento experimental. Essa redução pode ser explicada pela alta estabilidade do sistema de emulsão em baixas concentrações de lipídios (BERTAN *et al.*, 2005). Os filmes apresentaram-se menos higroscópicos, esse comportamento foi também verificado pelas isotermas de sorção de umidades apresentadas na figura 3.18.

Tabela 3.18. Caracterização dos filmes de amido de mandioca adicionados de ácido esteárico elaborados com a formulação escolhida pelo planejamento experimental (4 g de ácido esteárico/100 g amido seco e 24 g de glicerol/100 g amido seco).

Valores	TS (MPa)*	FP(N)	ϵ (%)	DP (%)	PVA ($\times 10^{-7}$ g·m/m ² ·h·Pa)	S (%)
Experimental	10,4 \pm 0,9	3,9 \pm 0,2	6,0 \pm 0,7	5,5 \pm 0,5	1,9 \pm 0,2	25,4 \pm 0,5
Modelo	8,98	3,78	6,42	5,89	-	24,66

* TS: tensão na ruptura, ϵ : alongamento na ruptura, FP: força na perfuração, DP: deformação na perfuração, PVA: permeabilidade ao vapor de água, S: solubilidade em água.

Com o objetivo de determinar as características de adsorção de água dos filmes, foram determinadas as isotermas de sorção de umidade dos mesmos. Isto foi feito para filmes de amido, filmes de amido com ácido esteárico na formulação com 4 g ácido esteárico/100 g de amido seco e com concentração de 10 g ácido esteárico/100 g de amido seco, ambos com 24 g glicerol/100 g amido, conforme apresentado na figura 3.18.

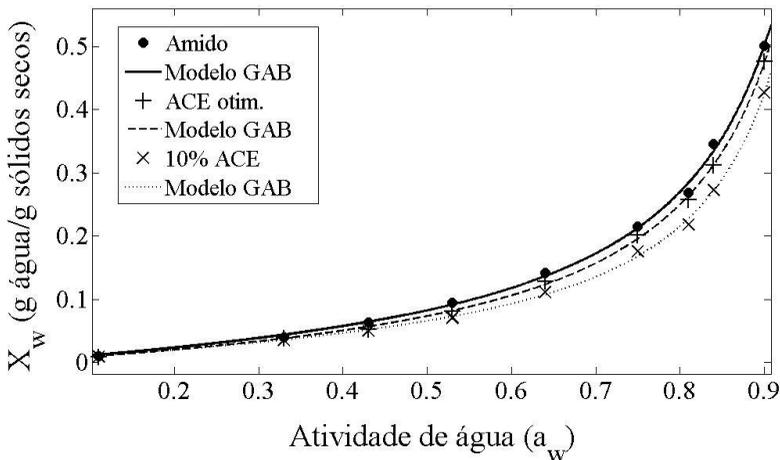


Figura 3.18. Isotermas de Sorção de umidade dos filmes de amido, filme de amido com adição de ácido esteárico formulação escolhida com 4 g ácido esteárico/100 g amido seco, 24 g glicerol/100 g amido seco e filme de amido com adição de 10 g ácido esteárico/100 g amido seco e 24 g glicerol/100g amido seco.

Os valores das constantes da equação de GAB e o coeficiente de determinação (R^2) são apresentados na tabela 3.19. O modelo de GAB ajustou bem os dados das isotermas de sorção, como previamente reportado por outros autores (GODBILLOT *et al.*, 2006; MALI *et al.*, 2005; MARTELLI *et al.*, 2006, MÜLLER *et al.*, 2009a, entre outros). Lin *et al.* (1999) e Muller *et al.* (2009a) relataram que o formato sigmoidal das curvas de isotermas de adsorção de umidade, é característico de materiais higroscópicos. Para valores elevados de umidade relativa, o ganho de umidade aumentou de forma exponencial. Os filmes elaborados com 4 g ácido esteárico/100 g amido seco e os filmes com 10 g ácido esteárico/100 g amido foram menos higroscópicos que os filmes de amido.

Tabela 3.19. Parâmetros de ajuste do modelo de GAB para dados de sorção de umidade dos filmes de amido com adição de ácido esteárico.

Amostras	Parâmetros GAB			R^2
	m_0 (g água/g sólido seco)	K	C	
Amido	0,07672	0,9586	1,383	>0,99
ACE otimizado	0,07149	0,9626	1,228	>0,99
10% ACE	0,05354	0,9816	1,732	>0,99

ACE: ácido esteárico

A figura 3.19 apresenta as micrografias da superfície e fratura do filme de amido adicionado de ácido esteárico. A superfície do filme da formulação escolhida apresentou-se homogênea e regular. Wong *et al.* (1995) observaram que a adição de ácidos graxos em solução de quitosana provocou uma variação na microestrutura dos filmes, que pode influenciar a permeabilidade ao vapor de água. Bertan *et al.* (2005) apresentou micrografias das superfícies do filme de gelatina e triacetina e filmes de gelatina, triacetina e lipídios. A superfície do filme de gelatina e triacetina apresentaram-se mais regulares, enquanto as superfícies dos filmes compostos com lipídios apresentaram-se irregulares. Resultados semelhantes foram observados por Davanço *et al.* (2007) que, com a adição de blendas de ácido esteárico-palmítico e cera de carnaúba, observaram a superfície irregular dos filmes de gelatina. As micrografias de fratura apresentam várias cavidades no interior do filme. Isso pode ser explicado pela presença de bolhas no interior do filme. Esse excesso de bolhas originadas durante o processo de emulsificação dos filmes foi causado pelo homogeneizador ultra turrax. Para retirar o excesso de ar durante a produção do filme foi

aplicado vácuo, mas esse procedimento parece não ter sido suficiente para a eliminação das bolhas.

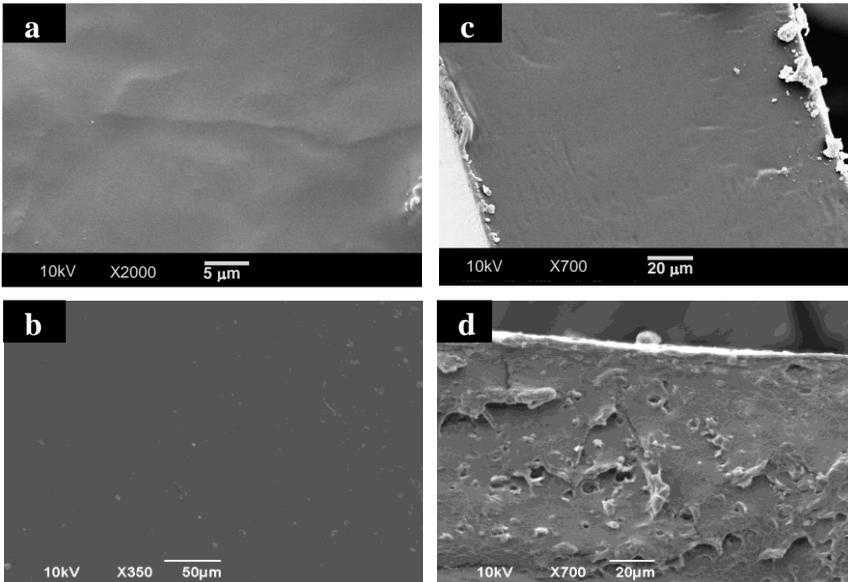


Figura 3.19. Micrografias das superfícies dos filmes (a) amido nativo ($\times 2000$) (b) amido com adição de ácido esteárico ($\times 350$). Micrografias das seções transversais dos filmes (c) amido nativo ($\times 700$) (d) amido com adição de ácido esteárico ($\times 700$).

A microscopia confocal de varredura a laser foi realizada nos filmes com 4 g ácido esteárico/100 g amido. O objetivo desta análise foi visualizar a possível incorporação do ácido esteárico na matriz do amido e, se essa incorporação estava bem distribuída ou não, podendo ter a formação de domínios. A figura 3.20 apresenta as micrografias dos filmes de amido com ácido esteárico com corantes fluorescentes capturados individualmente ou com imagens mescladas. A cor amarela refere-se ao corante 'FITC' e a cor vermelha ao corante 'Nile Red'. A figura 3.20a apresenta filme de amido com adição de ácido esteárico sem fluorescência na captura da imagem. Observou-se uma superfície lisa, sem grânulos de ácido esteárico na superfície do filme. O mesmo resultado foi observado no microscópio eletrônico de varredura, como mostrado na figura 3.19b. A figura 3.20b apresenta o amido com ácido esteárico marcado com o corante FITC. Observa-se que a matriz de amido ficou bem homogênea. A figura 3.20c apresenta o amido com

ácido esteárico associados ao corante 'Nile Red'. Com o corante 'Nile Red' foi possível visualizar os grânulos de ácido esteárico. Foram observados grânulos grandes de ácido esteárico, apesar de estarem bem distribuídos na matriz do amido. A figura 3.20d apresenta o amido, associado ao corante FITC, e o ácido esteárico, associado ao corante 'Nile Red', mesclados na mesma imagem. Foi possível observar uma boa distribuição dos grânulos de ácido esteárico na superfície da matriz. A cor laranja observada na imagem mesclada é produzida por uma superposição da fluorescência amarela e vermelha, indicando locais onde ocorre a presença tanto do amido como do ácido esteárico, mostrando a mesclagem dos dois componentes (BERTAN et al., 2005).

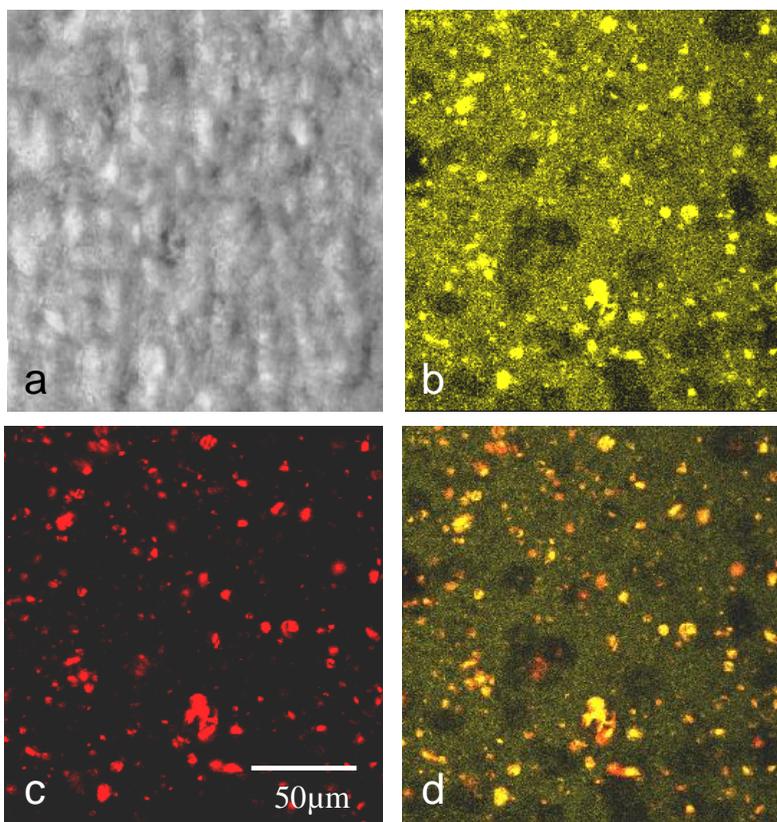


Figura 3.20. Micrografias obtidas pela microscopia confocal de varredura a laser para os filmes: (a) amido e ácido esteárico sem fluorescência, (b) amido e ácido esteárico associado com o corante FITC, (c) amido e ácido

esteárico associado com o corante 'Nile Red', (d) amido associado com o corante FITC e ácido esteárico associado com o corante 'Nile Red'.

Os resultados apresentados nesta etapa mostraram que a adição de ácido esteárico nos filmes influencia as propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes quando comparados aos filmes de amido nativo. Essa influência é observada nos resultados da formulação escolhida, obtida pela realização do planejamento experimental, que apresentou melhores resultados quando comparados com os resultados dos filmes do estudo preliminar e dos filmes de amido.

3.5 Estudo da incorporação de nanofibras de celulose bacteriana em filmes de acetato de amido

Neste tópico o objetivo é apresentar e discutir os resultados do estudo da elaboração dos filmes de acetato de amido adicionados de celulose bacteriana. Foram estudados dois métodos de preparo dos filmes de acetato de amido: celulose bacteriana adicionada a uma suspensão de acetato de amido com glicerol e acetato de amido adicionado ao meio de cultura para produção da celulose bacteriana. Para avaliar estes filmes, as propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água foram estudadas.

3.5.1 Celulose bacteriana liofilizada

Após o processo de liofilização, a celulose bacteriana ficou com aspecto semelhante a isopor. Após o processo de moagem da mesma, obteve-se um pó bem fino, porém observou-se também uma granulometria maior. Como a celulose bacteriana liofilizada ficou bem leve, teve-se dificuldade na homogeneização da granulometria.

Coincidentemente, os filmes obtidos com a celulose bacteriana liofilizada não ficaram homogêneos. Observou que após 48 horas sob agitação constante ainda havia bastante celulose bacteriana não solubilizada. Esse comportamento da celulose liofilizada permaneceu durante a gelatinização do acetato de amido. A figura 3.21 apresenta a foto da celulose bacteriana liofilizada, em pó e o filme de acetato obtido com a celulose bacteriana.



Figura 3.21 a) celulose bacteriana liofilizada, b) celulose bacteriana liofilizada e moída e c) filme de celulose bacteriana liofilizada.

É possível visualizar que a celulose não foi incorporada na matriz do acetato de amido. Assim, optou-se por não continuar a elaboração de filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana preparada pelo processo de liofilização, pois não foi possível a realização dos ensaios necessários para sua caracterização.

3.5.2 Celulose bacteriana

Os filmes obtidos de acetato de amido com celulose bacteriana apresentaram-se separação de fases, pois as fibras dispersas formaram domínios. Nos filmes com concentrações acima de 15 g fibras/100 g amido, os domínios foram percebidos facilmente, conforme apresentado na figura 3.22. Considerando os domínios formados pelas fibras celulose e pela característica de nanofibras das celuloses bacterianas, optou-se por estudar baixas concentrações de celulose bacteriana (2,5, 7,5 e 12,5g/100 g de amido). A figura 3.23 apresenta os filmes de acetato de amido com baixas concentrações de celulose bacteriana, onde observa-se que ficaram homogêneos.

Para saber os benefícios da adição de celulose bacteriana, filmes de acetato de amido com 0,6 GS e 0,30 g glicerol/g amido foram utilizados como controle. Os resultados de tensão e alongamento na ruptura e módulo de young são apresentados na tabela 3.20. O aumento da quantidade de fibras nos filmes de acetato de amido provocou diminuição do alongamento na ruptura e aumento na tensão na ruptura e módulo de Young. Resultados semelhantes foram reportados em trabalhos com amido e fibra de celulose (MÜLLER *et al.*, 2009 a, b;

CURVELO *et al.*, 2001; MA *et al.*, 2005). Estes resultados podem ser explicados pela química e compatibilidade estrutural entre as cadeias de amido e celulose (AVEROUS & BOQUILLON, 2004; MA *et al.*, 2005). A partição de glicerol entre a matriz de amido e fibras também é relatado como um fenômeno que influencia o módulo de elasticidade dos filmes, devido ao efeito não plasticizante da matriz de amido (KUNANOPPARAT *et al.*, 2008). As melhorias nas propriedades dos filmes dependem do tipo de aplicação ao qual se destinam os materiais.

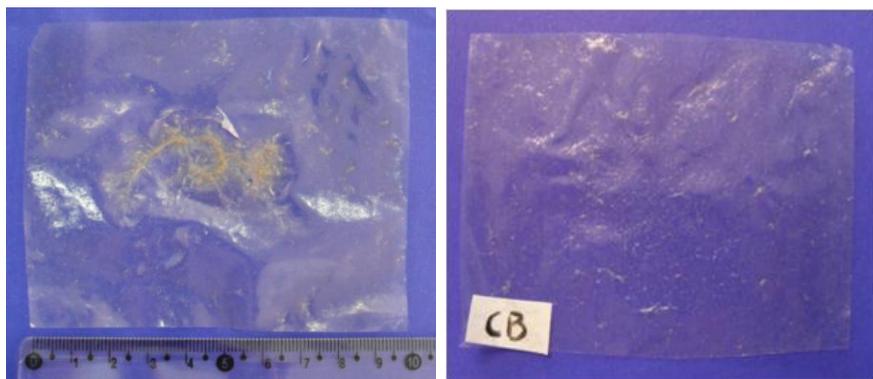


Figura 3.22 Filmes de acetato de amido com alta concentração de celulose bacteriana 20 g fibras/100g amido.

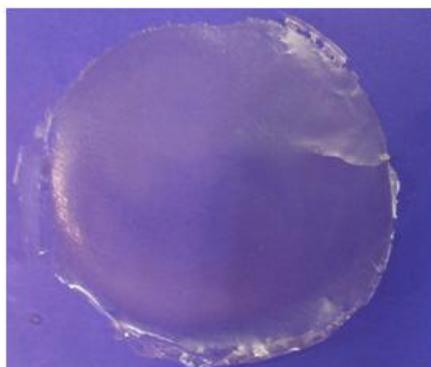


Figura 3.23 Filmes de acetato de amido com baixas concentrações de celulose bacteriana 12,5 g fibras/100 g amido.

Tabela 3.20. Resultados de tensão na ruptura, alongamento na ruptura e módulo de Young para os filmes de acetato de amido com celulose bacteriana.

Concentração de fibras (g/100g amido)	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Módulo de Young (MPa/%)
0 (controle)	2,13 \pm 0,29 ^a	140,52 \pm 22,17 ^a	0,53 \pm 0,14 ^a
2,5	4,88 \pm 0,74 ^b	42,13 \pm 0,92 ^b	1,68 \pm 0,33 ^b
7,5	6,54 \pm 0,90 ^c	15,89 \pm 1,22 ^c	2,21 \pm 0,43 ^c
12,5	14,90 \pm 0,50 ^d	4,05 \pm 0,40 ^d	6,20 \pm 0,50 ^d

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

Também foi analisada a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de acetato de amido com adição de diferentes concentrações de celulose bacteriana (2,5, 7,5 e 12,5 g/100 g acetato de amido). A adição de celulose bacteriana nos filmes de acetato de amido não influenciou a permeabilidade ao vapor de água. Apesar da interação química e compatibilidade estrutural entre as cadeias de amido e celulose, o rearranjo das fibras não influenciou na estrutura de amido.

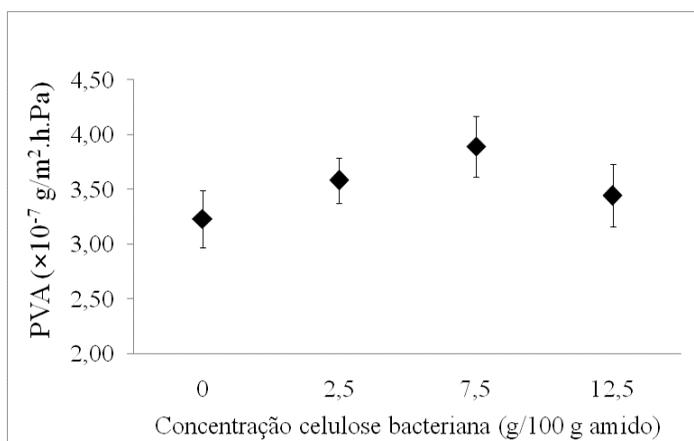


Figura 3.24 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de acetato de amido adicionado de diferentes concentrações de celulose bacteriana.

Para saber como as fibras ficaram dispersa na matriz de amido, foram realizadas micrografias dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana, conforme apresentado na figura 3.25.

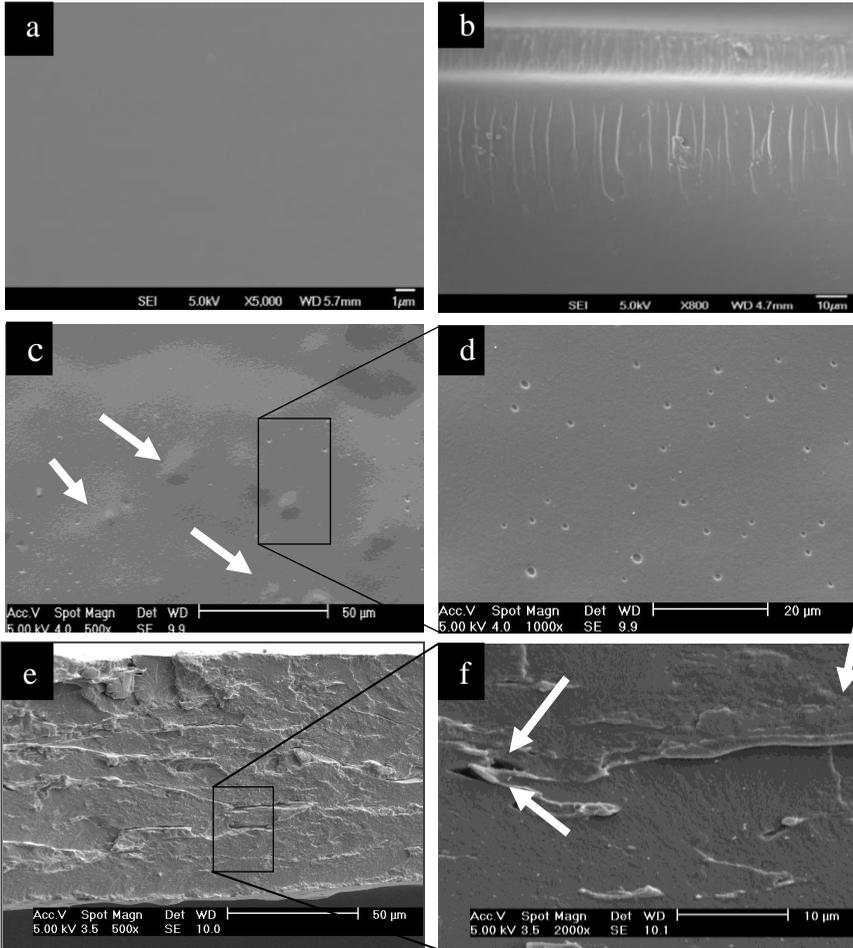


Figura 3.25 Micrografias: a) da superfície dos filmes de acetato de amido ($\times 5000$), b) da fratura dos filmes de acetato de amido ($\times 800$), c) da superfície do filme de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 500$) d) da fratura dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 1000$), e) da fratura dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 500$), f) da fratura dos

filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana (12,5 g/100 g acetato de amido) ($\times 2000$).

Comparados com os filmes de acetato de amido, os filmes obtidos neste estudo apresentaram algumas rugosidades e pequenos poros na superfície, conforme visto na figura 3.25d. Na figura 3.25c é possível visualizar os pequenos furos em um maior aumento ($1000\times$). Isso pode ser explicado pelos domínios que as fibras formaram nos filmes. Isto é, uma maior concentração de fibras em algumas regiões específicas. Nas micrografias das fraturas dos filmes não foi observado a sedimentação de nano fibra na superfície em contato com placa. Porém, a estrutura lisa e uniforme obtida nos filmes de acetato de amido foi alterada. Na figura 3.25f as setas indicam pequenos poros possivelmente formados pelas nano fibras de celulose bacteriana, sabendo-se que o comprimento das fibras varia de 1 a $9\mu\text{m}$, aproximadamente. Woehl *et al.* (2010) reportou que não houve diferença na micrografias dos filmes de amido com a adição de celulose bacteriana hidrolisada e não hidrolisada. Muller *et al.* (2009a,b) observaram superfície lisa e homogênea nos filmes de amido com adição de celulose.

3.5.3 Membranas de celulose bacteriana (MCB) com acetato de amido

Além do estudo dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana, buscou-se a incorporação do acetato de amido no meio de cultivo da celulose bacteriana. A figura 3.26 apresenta a membrana úmida obtida do meio de cultivo e a membrana após secagem a vácuo. A membrana celulósica seca se apresentou homogênea, translúcida, na coloração esbranquiçada, resistente à manipulação e ao rasgo e com espessura de $40\pm 10\mu\text{m}$. A celulose bacteriana é formada na parte superior do recipiente, conforme a figura 3.27. Buscando conseguir uma espessura homogênea foi padronizado o tempo de cultivo em 20 dias.

Realizou-se a espectroscopia da transformada de Fourier FTIR nas membranas de celulose bacteriana com o acetato de amido no intuito de saber se houve a incorporação do acetato de amido na matriz da celulose bacteriana. A figura 3.28 apresenta os espectros FTIR obtidos na região de infravermelho das membranas de celulose bacteriana, do acetato de amido e dos três processos desenvolvidos: acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura (MCB autoclavado);

adicionado no meio de cultura autoclavado e reaquecido a 70 °C por 5 minutos (MCB aquecido) e adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado (MCB frio). A tabela 3.21 apresenta o resumo das principais bandas IR observadas, suas intensidades e possíveis atribuições do grupo funcional que originam o pico.

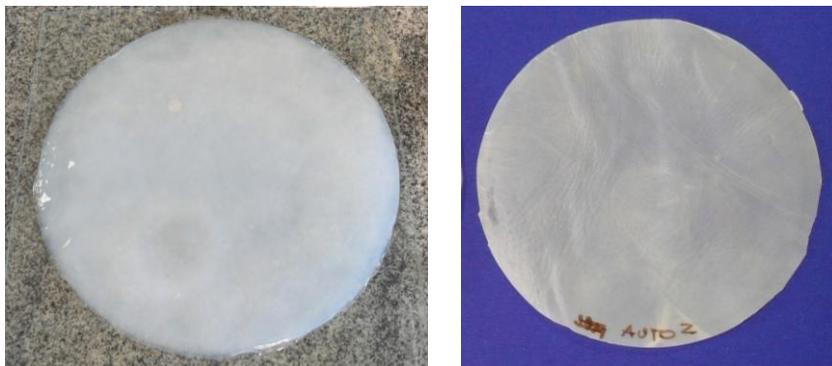


Figura 3.26 Membrana de celulose bacteriana com a adição de acetato de amido: a) obtida do meio de cultivo úmida e b) após secagem a vácuo.

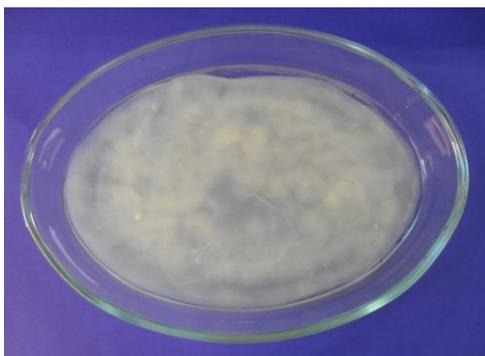


Figura 3.27 Membrana de celulose bacteriana formado no recipiente com o meio de cultivo.

Conforme se esperava, os espectros das amostras MCB frio, MCB aquecido e MCB autoclavado apresentaram-se bem semelhantes ao espectro MCB, devido à composição química do amido e celulose serem parecidas. Comparando as bandas das amostras do espectro MCB

com o espectro de MCB frio e MCB aquecido, observa-se que as bandas 3405 cm^{-1} e 3410 cm^{-1} , atribuída à presença de grupo hidroxila ($-\text{OH}$), está deslocada com relação à banda 3429 cm^{-1} da amostra MCB. Além disso, o surgimento das bandas 2967 cm^{-1} e 2965 cm^{-1} nas amostras MCB frio e MCB aquecido, pode ser devido a deslocamento da banda do acetato de amido a 2926 cm^{-1} (RECOUVREUX *et al.*, 2010).

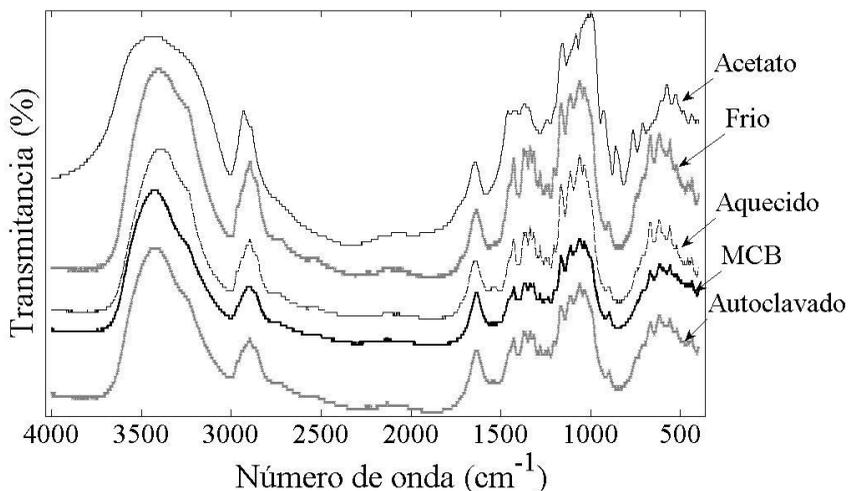


Figura 3.28. Espectros FTIR das membranas de celulose bacteriana com amido. (MCB autoclavado: acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura; MCB aquecido: acetato de amido adicionado no meio de cultura autoclavado e reaquecido a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos; MCB frio: acetato de amido adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado).

As bandas 1150 cm^{-1} , 1079 cm^{-1} , 1015 cm^{-1} , 990 cm^{-1} , 924 cm^{-1} , 850 cm^{-1} e 760 cm^{-1} são características dos amidos e acetatos de amido. Estas bandas são atribuídas ao estiramento da ligação glicosídica C–O, à vibração de COH, vibração do anel simétrico e ao anel assimétrico. Como se observa na tabela 3.21, os espectros das amostras MCB frio, MCB aquecido e MCB autoclavado não apresentaram a maioria das bandas de acetato de amido. Porém, eles apresentaram as bandas características da MCB. A banda 1060 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação C–O, a banda 900 cm^{-1} atribuída à ligação β glicosídica entre as unidades de açúcar e banda 713 cm^{-1} atribuída à celulose tipo I_{β} (RECROVEUX *et al.*, 2010). Assim, conclui-se que o amido teve pouca incorporação na matriz de celulose bacteriana.

Tabela 3.21. Atribuição provável das principais bandas do espectro IR do acetato de amido e das membranas de celulose bacteriana.

Número de onda (cm ⁻¹)					Atribuições
MCB*	Acetato de amido	MCB frio	MCB aquecido	MCB autoclavado	
3429	3283	3410 ^a	3405	3425	Grupo – OH
----	----	2967	2965	----	Estiramento C–H (CH ₂ -assimétrico)
----	2926	----	----	----	Estiramento C–H (CH ₂ -assimétrico)
2897	----	2896	2896	2896	Estiramento C–H (CH ₂ -simétrico)
1636	1645	1636	1640	1636	Estiramento C=O ou absorbância de água H-O-H (Amido I)
1542	----	----	1545	1545	Amido II
----	1450	----	----	----	Deformação angular da ligação C–H
1429	----	1429	1429	1429	Deformação angular da ligação C–H
----	1412	----	----	----	Deformação angular da ligação C–H (CH ₂)
1372	1370	1371	1372	1371	Deformação angular C–CH ₃
----	----	1361	1360	1362	
1338		1338	1338	1338	Deformação angular C–CH ₃
----	1243	----	----	----	Deformação angular da ligação O–H (grupo COOH)
1235	----	1235	1235	1234	
1165	1150	1166	1166	1166	Estiramento da ligação glicosídica C–O, estiramento CO/deformação angular da ligação O–H (carboidrato)
1060	1078	1060	1060	1060	Estiramento da ligação C–O/ C–C
1035	----	1035	1035	1035	Estiramento da ligação C–O/ C–C
----	993	----	----	----	Vibração do COH
----	924	----	----	----	Vibração do anel assimétrico
901	----	900	898	900	Ligação β glicosídica entre as unidades de açúcar
----	858	----	----	----	Deformação angular C–H
----	759	----	----	----	Vibração do anel simétrico
713	----	710	709	709	Celulose tipo I _β

^a aumento da intensidade do pico; MCB autoclavado: acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura; MCB aquecido: acetato de amido adicionado no meio

de cultura autoclavado e reaquecido a 70 °C por 5 minutos; MCB frio: acetato de amido adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado.

Na intenção de visualizar a estrutura das membranas celulósicas com a adição de acetato de amido no meio de cultura, foram realizadas as micrografias de superfície e de fraturas destes materiais, conforme mostrado na figura 3.29. As membranas de celulose bacteriana (MCB) com o acetato de amido adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado foram aparentemente menos compactas. Nas demais MCB com adição de acetato de amido foram observados uma estrutura bem semelhante a MCB sem acetato de amido. Não foram observados grânulos de acetato de amido sem solubilização e a estrutura formada apresentou-se homogênea. As micrografias de fraturas apresentaram a estrutura e as camadas que são formadas quando as membranas são produzidas. Como as fibras são produzidas por bactérias, a medida em que são produzidas, ficam depositadas na superfície, formando assim as camadas.

A membrana de celulose bacteriana com adição do acetato de amido, antes do meio de cultivo ser autoclavado, foi a escolhida para a realização dos testes mecânicos e da permeabilidade ao vapor de água. A opção pela membrana de celulose obtida por este procedimento ocorreu devido à melhor homogeneidade de espessura das amostras. A tabela 3.22 apresenta os resultados de tensão e alongamento na ruptura e módulo de Young. A MCB autoclavada apresentou maior tensão na ruptura e módulo de Young quando comparada com a MCB. O alongamento na ruptura não apresentou diferença entre as membranas. Wan *et al.* (2009) reportou aumento na resistência e módulo de Young de filmes de amido impregnados com celulose bacteriana. Woehl *et al.* (2010) pesquisaram adição de celulose bacteriana parcialmente hidrolisada e não tratada em filmes TPS (amido termo plástico). Estes autores obtiveram aumento na tensão na ruptura e módulo de Young dos filmes TPS com a adição de maiores concentrações de celulose bacteriana.

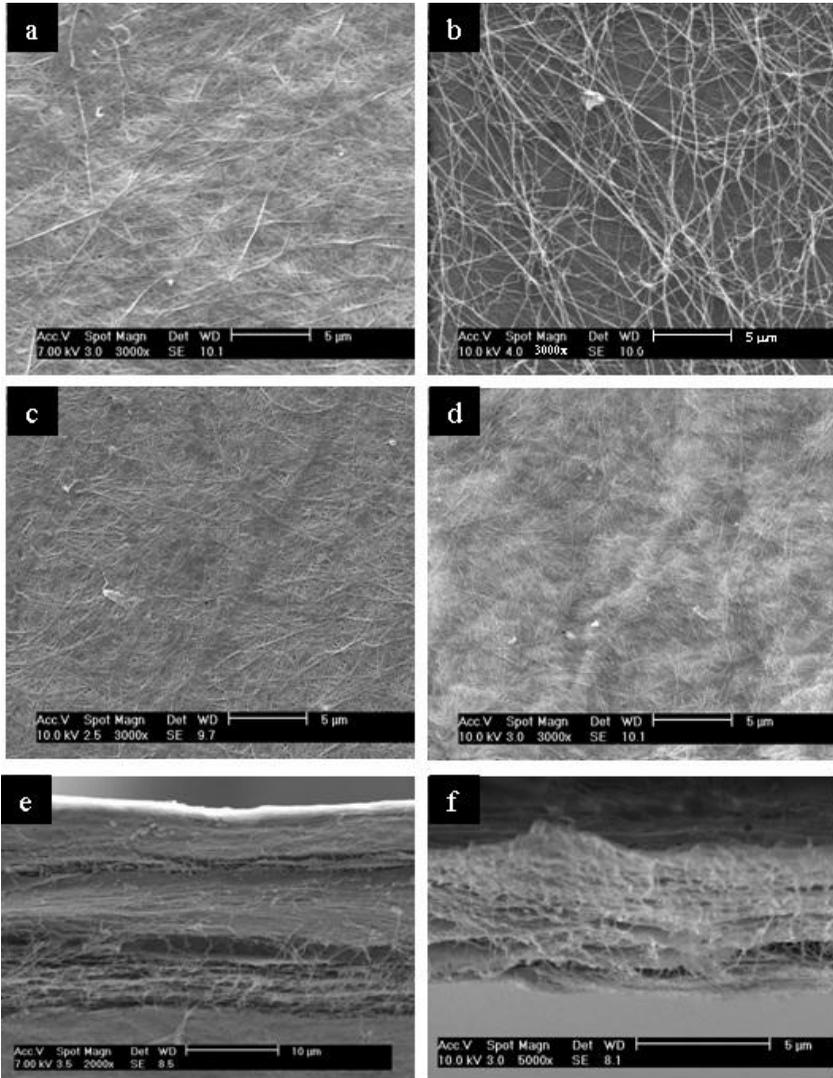


Figura 3.29 Micrografias de superfícies das membranas de celulose bacteriana (MCB): a) sem acetato de amido, b) acetato de amido adicionado após o meio de cultura autoclavado e resfriado, c) acetato de amido adicionado no meio de cultura autoclavado e reaquecido a 70 °C por 5 minutos, d) acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura. Micrografias das fraturas das membranas de celulose bacteriana: e) sem

acetato de amido, f) acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultura.

Tabela 3.22. Resultados de tensão na ruptura, alongamento na ruptura e módulo de Young para as membranas de celulose bacteriana com acetato de amido.

Amostra	Tensão na ruptura, TS (MPa)	Alongamento na ruptura, ϵ (%)	Módulo de Young (MPa/%)
MCB sem acetato	84,46±1,60 ^a	4,81±0,14 ^a	9,07±0,71 ^a
MCB autoclavado	120,95±1,39 ^b	4,62±0,84 ^b	16,26±1,02 ^b

As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) é apresentada na figura 3.30.

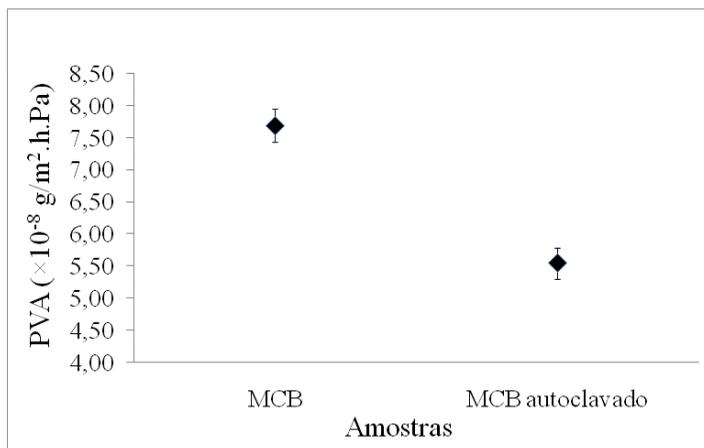


Figura 3.30 Permeabilidade ao vapor de água das membranas de celulose bacterianas sem acetato (MCB) e membrana de celulose bacteriana com acetato de amido autoclavado junto com o meio de cultivo (MCB autoclavado).

A amostra com adição de acetato de amido apresentou menor PVA quando comparado com a amostra sem acetato de amido. Este resultado pode ter ocorrido devido ao acetato de amido ter preenchido espaços vazios entre as fibras de celulose bacteriana. Os valores de PVA obtidos para as membranas de celulose bacteriana foram de

$5,5 \pm 0,20 \times 10^{-8}$ a $7,69 \pm 0,20 \times 10^{-8}$ $\text{g/m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa}$. Valores estes menores que os valores de, aproximadamente, $3,50 \pm 0,20 \times 10^{-7}$ $\text{g/m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa}$ obtidos para os filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana. O valor de PVA encontrado para os filmes de acetato amido com adição de celulose bacteriana é semelhante ao valor de PVA para os filmes de amido utilizados como controle na seção 3.2.4. ($3,77 \times 10^{-7}$ $\text{g} \cdot \text{m/m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa}$).

Pode-se inferir, portanto, que não foi possível afirmar a presença de acetato de amido rearranjado na estrutura da celulose bacteriana. Porém, foi observado mudanças nas propriedades mecânicas e na permeabilidade ao vapor de água das membranas de celulose bacteriana com acetato de amido adicionado no meio de cultivo.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os objetivos propostos por esta pesquisa que teve como intuito buscar modificações do amido com maiores propriedades mecânicas e menor permeabilidade ao vapor d' água dos filmes obtidos a partir dele, chega-se ao fim desse trabalho trazendo algumas considerações finais. Em seguida, na tabela 4.1 apresenta-se um resumo dos filme estudado.

Estudo da influência da reação de reticulação com epícloridrina nos filmes biodegradáveis de amido de mandioca.

De acordo com os resultados dos estudos realizados neste trabalho, a reação de epícloridrina foi influenciada por duas variáveis: concentração de epícloridrina e valor do pH no meio da reação. Estas variáveis devem ser controladas, pois o excesso de EPI e NaOH na reação de reticulação podem gerar produtos indesejáveis da reação. Os filmes elaborados pela reticulação do grânulo e pela reticulação da suspensão tiveram a mesma influência nas propriedades mecânicas dos filmes e na solubilidade em água. Os resultados dos estudos do glicerol adicionado antes ou depois da reação de reticulação não tiveram diferenças nas propriedades mecânicas. Porém os filmes com adição de glicerol antes da reação de reticulação tiveram solubilidades menores que os filmes com adição de glicerol depois da reação de reticulação.

Confirmando a escolha do procedimento de preparo dos filmes reticulados utilizados na pesquisa da concentração de epícloridrina e valor do pH no meio da reação.

A reação de epícloridrina pode provocar um efeito plastificante nos filmes de amido reticulados. A tensão na ruptura e força na perfuração não tiveram valores maiores que os filmes de amido nativo. Embora a reação de reticulação com epícloridrina não tenha aumentado as propriedades mecânicas dos filmes, reduziu consideravelmente a solubilidade em água ($S \approx 20\%$) e a permeabilidade ao vapor d'água ($PVA \approx 2,40 \times 10^{-7} \text{ g.m}^2.\text{h.Pa}$).

Propriedades mecânicas e de barreiras ao vapor de água dos filmes de amido com ácido esteárico.

Filmes de amidos podem ser preparados por 'casting' com soluções de amido adicionado de ácido esteárico. A incorporação de ácido esteárico nos filmes de amido aumentou a barreira ao vapor de água dos filmes. As propriedades dos filmes dependem da quantidade de ácido esteárico e glicerol presente na solução. A metodologia estatística permitiu encontrar a condição ótima para as variáveis estudadas, que foi 4 g de ácido esteárico e 24g de glicerol por 100g amido seco. Os filmes preparados com esta formulação apresentaram maiores propriedades mecânicas e menores permeabilidade ao vapor d'água e solubilidade em água. As propriedades mecânicas dos filmes obtidos nestas condições foram 10,4 MPa de tração e 6,0% de alongamento na ruptura, 5N de força e 5,5% de deformação na perfuração. O valor de solubilidade encontrado foi de 25% e a permeabilidade ao vapor d'água foi de $1,93 \times 10^{-7} \text{ g/m}^2.\text{h.Pa}$.

Propriedades de filmes de acetato de amido com diferentes graus de substituição

Apesar de o acetato de amido ser obtido com solventes orgânicos (não ambientalmente corretos), pois podem contaminar o meio ambiente e não se degradam rapidamente, o fato dos filmes de acetato de amido serem elaborados com água torna-os um material interessante para uso em filmes biodegradáveis, ambientalmente corretos. Pois solventes orgânicos podem contaminar

De acordo com os resultados desta pesquisa, os filmes biodegradáveis elaborados com acetato de amido apresentaram maiores resultados de propriedades mecânicas e de barreiras quando comparados com os filmes de amido. De maneira geral, os filmes de acetato com

grau de substituição (GS) de 0,6 apresentaram melhores resultados que os filmes elaborados com GS de 1,1, devido às características de cada material obtido. Contudo, foi observado que a umidade relativa do ar (58 e 75%) e o teor de plastificante (25 glicerol/100 g amido) afetaram as propriedades mecânicas de ambos os filmes.

Sob outro aspecto, a acetilação tornou o filme mais resistente, menos solúvel em água e com menor permeabilidade ao vapor de água. Porém, analisando os filmes de acetato em relação ao GS de 0,6 e 1,1, a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade em água não apresentaram diferença entre estes filmes. Assim, foi a reação de acetilação do amido que influenciou tanto na permeabilidade ao vapor de água e na solubilidade em água dos filmes.

Estudo da incorporação de nanofibras de celulose bacteriana em filmes de acetato de amido

Ao longo da pesquisa, foi possível observar que as características dos filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana desenvolvidos foram positivas ou negativas, dependendo da aplicação dos mesmos. Sendo assim, as características de cada processo estudado tornam-se interessantes de acordo com a aplicação destinada para cada material, isto é, podendo ser aplicado como sacolas para uso alimentício ou aplicado na área médica.

Em relação aos processos estudados aqui, não foi possível formar filme de acetato de amido com celulose bacteriana liofilizada. Nesses filmes também não foi possível solubilizar em água a celulose bacteriana para serem incorporadas à matriz do amido. Os filmes de acetato de amido adicionados de celulose bacteriana apresentaram-se mais resistentes que os filmes de amido. Porém, a permeabilidade ao vapor d'água não teve alteração quando comparados com os filmes de acetato.

Para as membranas de celulose bacteriana com amido, elas apresentaram alta resistência e baixa permeabilidade ao vapor d'água quando comparada com os filmes de acetato de amido e membranas de celulose bacteriana.

Neste contexto, pode-se concluir que as membranas de celulose bacteriana com adição de acetato de amido são materiais diferentes que os filmes de amidos e de amidos modificados estudados até agora. E estas membranas apresentam características interessantes quando pensamos em materiais biodegradáveis e suas aplicações e que, por isso, merecem pesquisas mais avançadas.

Tabela 4.1 Resumo das principais propriedades dos filmes estudados.

Estudo	TS (MPa)*	ε (%)*	Y (MPa/%)*	FP (N)*	DP (%)*	S(%)*	PVA ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa}$)*
Reação de Reticulação (15 g EPI* e 20 g GL/ 100 g amido)	17,83	1,78	-	6,90	1,32	23	$2,4 \times 10^{-7}$
Reação de acetilação (0,6GS* 30GL*)	6,30	30,20	1,15	-	-	23	$2,3 \times 10^{-7}$
Adição de Ácido Esteárico (4 g ACE e 24 g GL/100 g amido)	10,40	6,00	-	3,98	5,47	25,36	$1,93 \times 10^{-7}$
Adição de Celulose Bacteriana (12,5 g CB* e 30 g GL/100 g acetato)	14,90	4,05	6,20	-	-	-	$3,8 \times 10^{-7}$
Membrana Celulósica (autoclavado) sem GL	120,95	4,62	16,26	-	-	-	$5,5 \times 10^{-8}$

* EPI, epicloridrina, GS, grau de substituição, CB, celulose bacteriana, GL, glicerol, TS, tensão na ruptura; FP, força na perfuração; ELO, alongamento na ruptura; DP, deformação na perfuração; PVA, permeabilidade ao vapor de água; S, solubilidade em água. As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente entre si, $p < 0,05$.

CONCLUSÕES

A modificação química do amido é uma alternativa para filmes de amido mais resistentes.

Considerando as estratégias de modificações químicas estudadas neste trabalho, a reação de acetilação é a mais interessante. E entre as estratégias de incorporações de compostos hidrofóbicos, as membranas de celulose bacteriana e acetato de amido têm bons resultados de propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água.

Assim, estudos futuros podem ser desenvolvidos com as membranas de celulose com adição de acetato de amido ou filmes de acetato de amido com adição de celulose bacteriana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAM – Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. Site: www.abam.com.br. Acesso em: 05/08/2010.

ADEBAJO, M. O., FROST, R. L. Acetylation of raw cotton for oil spill cleanup application: an FTIR and ¹³C MAS NMR spectroscopic investigation. **Spectrochimica Acta Part A**, 60, 2315-2321, 2004.

ABLETSHAUSER C.B.; SCHNEIDER R.; RUPPRECHT H. Film coating of pellets with insoluble polymers obtained in situ crosslinking in the fluidized bed **Journal of Controlled Release**, v. 27, 2, 149-156, 1993.

ALVES, V. D.; MALI, S.; BELÉIA, A.; GROSSMANN M. V. E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties **Journal of Food Engineering**, 78, 941-946, 2007.

AMARANTE, C.; BANKS, N. H. Postharvest physiology and quality of coated fruits and vegetables. **Journal Horticultural Reviews**, v. 26, 161-238, 2001.

ANGLES M.N.; DUFRESNE A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposite materials. 2. Mechanical behavior. **Macromolecules**, 34, 2921-31, 2001.

ANKER, M.; BERNTSEN, J.; HERMANSSON, A.; STADING, M. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. **Innovation Food Sci Emerging Technol**, 3, 87-92, 2002.

AOAC – **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16 th ed., Gaithersburg, 1999.

ARAUJO, J. R.; WALDMAN, W. R.; DE PAOLI, M. A. Thermal properties of high density polyethylene composites with natural fibers: Coupling agent effect. **Polymer Degradation and Stability**, 93, 1770-1775, 2008.

ASTM 1997. Designation D 882-97: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. **In Annual Book of ASTM Standards**; American Society for Testing and Materials: Philadelphia, 159-197, 1997.

ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S.; YAMAMOTO, N. Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols, part 3. **Food Chemistry**, v. 60, 4, 593-604, 1997.

ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C.G. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. **Food Chemistry**, v. 62, 3, 333-342, 1998.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslink and lipid content. **Journal Food Science**, v. 58, 4, 904-907, 1993.

AVÉROUS, L.; FRINGANT, C.; MORO, L. Plasticized starch-cellulose interactions in polysaccharide composites. **Polymer**, 42, 6565-6572, 2001.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviors. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, 111-122, 2004.

AYRANCI, E.; TUNC, S. The effect of fatty acid content on the water vapour and carbon dioxide transmissions of cellulose-based edible films. **Food Chemistry**, 72, 231-236, 2001.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS, M. O.; HAGENMAIER, R. D.; BAKER, R. A. Use of lipids in coatings for food products. **Food Technology**, v. 51, 6, 56-62, 1997.

BELITZ, H.; GROSCH, W. **Química de Alimentos**. Acribia, Zaragoza, p.263, 1988.

BELLO-PÉREZ, L.A., AGAMA-ACEVEDO, E., ZAMUDIO-FLORES, P. B., MENDEZ-MONTEALVO, G., RODRIGUEZ-AMBRIZ, S. L. Effect of low and high acetylation degree in the morphological, physicochemical and structural characteristics of barley starch. **LWT - Food Science and Technology**, 43, 1434-1440, 2010.

BERGO, P., SOBRAL, P.J.A., PRISON, J.M. Effects of glycerol on physical properties of cassava starch films. **Journal of Food Processing and Preservation**, 34, 401-410, 2010.

BERGO, P. V. A.; CARVALHO R. A.; SOBRAL, P. J. A.; SANTOS, R. M. C.; SILVA, F. B. R.; PRISON, J. M.; SOLORZA-FERIA, J.; HABITANTE, A. M. Q. B. Physical properties of edible films based on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. **Packaging Technology and Science**, v. 21, 2, 85-89, 2008.

BERTAN, L.C. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Simples e Compostos a base de Gelatina, Ácidos Graxos e Breu Branco. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2003.

BERTAN, L.C., TANADA-PALMU, P.S., SIANI, A.C., GROSSO, C.R.F. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**. 19, 73-82, 2005.

BERTOLINI, A.C.; MESTRES, C., COLONNA, P. Rheological properties of acidified and UV irradiated starches. **Starch/Stärke**, 52, 340-344, 2000.

BERTOLINI, A.C.; MESTRES, C.; LOURDIN, D.; VALLE, G. D.; COLONNA, P.: Relationship between thermomechanical properties and baking expansion of sour cassava starch (Polvilho azedo). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 81, 429-435, 2001.

BERTUZZI, M.A.; VIDAURRE E.F.C.; ARMADA M.; GOTTIFREDI J.C. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 80, 3, 972-978, 2007.

BILIADERIS, C.G. Structures and phase transitions of starch in food systems. **Food Technology**, 145, 98-109, 1992.

BLEDZKI A.K.; GASSAN J. Composites reinforced with cellulose based fibres. **Progress in Polymer Science**, 24, 221-74, 1999.

BONACUCINA, G.; MARTINO, P. D.; PIOMBETTI, M.; COLOMBO, A.; ROVERSI, F.; PALMIERI, G. F. Effect of plasticizers on properties of pregelatinised starch acetate (Amprac 01) free films. **International Journal of Pharmaceutics**, 313, 72-77, 2006.

BROWN JR., R.M.; WILLISON, J.H.; RICHARDSON, C.L. Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: visualization of the site of synthesis and direct measurement of the in vivo process. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 73, 4565p., 1976.

CALLEGARIN, F.; QUEZADA GALLO, J. A.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and Biopackaging. **Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS)**, 74, 1183-1192, 1997

CARVALHO, R.A. Desenvolvimento e caracterização de biofilmes a base de gelatina. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1997.

CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, 18, 717-726, 2004.

CEREDA, M. P. Polvilho Azedo. In: BORZANI, W. Biotecnologia Industrial. São Paulo: Edgard Blucher/Ed. Universidade de São Paulo, v.3, cap.20, 413-460, 2001.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; TAKAHASHI, M. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. Editora Fundação Cargil, v. 3, cap. 3, 2003.

CHAMBI, H.; GROSSO, C. Edible films produced with gelatin and casein crosslinked with transglutaminase. **Food Research International**, v.39, 4, 458-466, 2006.

CHANG, Y.P.; CHEAN, P.B.; SEOW, C.C. Plasticizing-Antiplasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 65, 3, 445-451, 2000.

CHANG, Y.-H.; LIN, C.-L.; CHEN, J.-C. Characteristics of mung bean starch isolated by using lactic acid fermentation solution as the steeping liquor. **Food Chemistry**, 99, 794-802, 2006.

CHEN, Q.; LUE, W.; ZHANG, W.; DENG, X.; JIN, X. **Huadong Ligong Daxue Xuebao**, v.31, 3, 398-402, 2005. Journal written in chinese.

CHI, H., XU, K., WU X., CHEN Q., XUE D., SONG C., ZHANG W., WANG P. Effect of acetylation on the properties of corn starch. **Food Chemistry**, 106, 923-928, 2008.

CHUNG, S.E.; PARK, W.; SHIN, S.; LEE, S.A.; KWON, S. **Nature Material**, 7, 581-587, 2008.

COLLA, E.; SOBRAL, P.J.; MENEGALLI, F.C. *Amaranthus cruentus* flour edible films: Influence of stearic acid addition, plasticizer concentration and emulsion stirring speed on water vapor permeability and mechanical properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 6645-6653, 2006.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Rheological model for the mechanical properties of myofibrillar protein-based films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 44, 1116-1122, 1996.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected

by hydrophilic plasticized. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45, 622-626, 1997.

CURVELO, A. A .S.; CARVALHO, A. J. F.; AGNELLI, J. A.M. Thermoplastic starch-cellulosic fiber composites: preliminary results. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 45, 1, 183-188, 2001.

DA RÒZ, A. L.; CARVALHO, A. J. F.; MORAIS, L. C.; CURVELO, A. A. S. Comportamento térmico e de absorção de umidade de amidos plastificados com glicóis. **Anais do 6º Congresso Brasileiro de Polímeros**. Gramado, RS, 1544-1547, 2001.

DAVANÇO, T., TANADA-PALMU, P., GROSSO, C. Composite films made with gelatin, tracetin, stearic and caproic acids: effect of pH and surfactants addition on the functionality of films. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27, 408-416, 2007.

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Effects of Surfactants and Drying Rate on Barrier Properties of Emulsified Edible Films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, 2, 183-190,1995.

DEGERING, E. F. Derivatives of starch. In: KERR, R. W. **Chemistry and Industry of Starch**, ed. 2º, New York: Academic Press, 259-323, 1950.

DELVAL, F.; CRINI, G.; BERTINI, S.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P.M.; VEBREL, J.; TORRI, G. Characterization of crosslinked materials with spectroscopic techniques. **Journal of Applied Polymer Science**, 93, 2650-2663, 2004.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas, **Ciência Rural**, 39, 945-954, 2009.

DIAB, T.; BILIADERIS, C. G.; GERASOPOULOS, D.; SFAKIOTAKIS, E. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. **Journal of The Science of Food And Agriculture**, 81, 988-1000, 2001.

DIAS, AMANDA B.; MÜLLER, CARMEN M.O.; LAROTONDA, FÁBIO D.S.; LAURINDO, JOÃO B. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. **Journal of Cereal Science** (Print), 213-219, 2010.

DI PIERRO, P.; MARINIELLO, L.; GLOSAFATTO, C.V.L.; MASI, P.; PORTA, R. Solubility and permeability properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. **Food Biotechnology**, v.19, 1, 37-49, 2005.

DI PIERRO, P.; CHICO, B.; VILLALONGA, R.; MARINIELLO, L.; DAMIAO, A.; MASI, P.; PORTA, R. Chitosan-whey protein edible films produced in the absence or presence of transglutaminase: analysis of their mechanical and barrier properties. **Biomacromolecules**, v.7, 3, 744-749, 2006.

DUFRESNE, A.; CAVAILL, J.Y.; VIGNON, M.R. Mechanical behavior of sheets prepared from sugar beet cellulose microfibrils. **Journal of Applied Polymer Science**, 64, 1185-1194, 1997.

ELIASSON, A.C. Starch in food - **Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 605p, 2004.

ELIZONDO, N. J. Propriedades mecânicas e de barreira, solubilidade e microestrutura de filmes de farinha de amaranto modificada com epícloridrina ou misturada com poli(vinil álcool). **Dissertação de Mestrado** - Universidade Estadual de Campinas, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, 2007.

ELOMAA, M.; ASPLUND, T.; SOININEN, P.; LAATIKAINEN, R.; PELTONEN, S.; HYVÄRINEN, S.; URTTI, A. Determination of the degree of substitution of acetylated starch by hydrolysis, ¹H NMR and TGA/IR. **Carbohydrate Polymers**, 57, 261-267, 2004.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Site: www.embrapa.br, acesso em: 22/09/2010.

FAKHOURI, F. M. Coberturas comestíveis aplicadas na preservação de goiabas in natura (*Psidium guajava* L.) **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2002.

FAKHOURI, F. M., GROSSO, C. Efeito de coberturas comestíveis na vida útil de goiabas in natura (*psidium guajava* l.) mantidas sob refrigeração. **Brazilian Journal Food and Technology**, v.6, 2, 203-211, 2003.

FAO, Food and Agriculture Organization of the Unites Nations. Site: www.fao.org/page/boletin.htm. Acessado em: 23.06.07.

FELTON, G. E.; SCHOPMEYER, H. H. Thick bodied starch and method of making. **U.S. Patent 2,328, 537**, 1943.

FENG, Z.; LIU, D. Study on improving properties of peanut-protein isolate film with crosslinking. **Shipin Kexue**, v.26, 1, 52-56, 2005. Journal written in chinese.

FENIMAN, C. M. Caracterização de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do cultivar IAC 576-70 quanto à cocção, composição química e propriedades do amido em duas épocas de colheita. **Dissertação de mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2004.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993.

FERREIRA, A. H. Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e ceras de carnaúba e de cana-de-açúcar. **Dissertação de Mestrado**. UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas, 2006.

FERREIRA, F. A. B.; GROSSMANN, M.V.E.; MALI, S.; YAMASHITA F.; CARDOSO, L. P. effect of relative humidities on microstructural, barrier and mechanical properties of yam starch-monoglyceride films. **Brazilian archives of biology and technology**, v.52, 6, 1505-1512, 2009.

FEUER, B. I. Method of making starch acetate using an acid catalytic-USA **Patent no. 5,710,269**, 1998.

FOLLAIN, N.; JOLY, C.; DOLE, P.; BLIARD, C. Mechanical properties of starch based materials. Part 1. Short review and complementary experimental analysis. **Journal of Applied Polymer Science**, 97, 1783-1794, 2005a.

FOLLAIN, N.; JOLY, C.; DOLE, P.; BLIARD, C. Properties of starch based blends. Part 2.

Influence of poly(vinyl alcohol) addition and photocrosslinking on starch based materials mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, 60, 185-192, 2005b.

FOLLAIN, N; JOLY, C.; DOLE, P.; ROGE, B.; MATHLOUTHI, M. Quarternary starch based blends: Influence of a fourth component addition to the starch/water/glycerol system. **Carbohydrate Polymers**, 63, 400-407, 2006.

FONTANA, J.D.; JOERKE, C.G.; BARON, M.; MARASCHIN, M.; FERREIRA, A.G.; TORRIANI, I. Acetobacter cellulosic biofilms search for new modulators of cellulogenesis and native membrane treatments. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 63-65, 327-38, 1997.

FORSSELL, P.; LAHTINEN, M.; MYLLÄRINEN. Oxygen permeability of amilose and amilopectina films. **Carbohydrate Polymers**, 47, 125-129, 2002.

FOSTER, J.F. Physical Properties of Amylose and Amylopectin in Solution. In **Starch: Chemistry and Technology Fundamental Aspects**. Academic Press, New York, 1, 349-392, 1965.

FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas: Propriedades Gerais do amido. Campinas: **Fundação Cargill**, v. 1, 224p. 2001.

FRINGANT, C., DESBRIÈRES, J., RINAUDO, M. Physical properties of acetylated starch-based materials: relation with their molecular characteristics. **Polymer**, v.7, 13, 2663-2673, 1996.

FRINGANT, C.; RINAUDO, M.; FORAY, M. F.; BARDET, M. Preparation of mixed esters of starch or use of an external plasticizer: Two different ways to change the properties of starch acetate films. **Carbohydrate Polymers**, v.35, (1-2), 97-106, 1998.

GALDEANO, M.C.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA F.; GARCÍA, M A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. **Materials Science and Engineering C**, 29, 532–538, 2009.

GALLO, J. A.Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARI, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films and coating. **Journal of Food Science**, v. 65, 6, 941-947, 2000.

GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D. J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. **Starch**, 49, 171-179, 1997.

GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Effect of lipid and plasticizer addition on microstructure of starch-based films. **Scanning**, 21, 154–155, 1999.

GARCIA, M.A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKI, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coating. **Food Chemistry and Toxicology**, 65, 941-947, 2000.

GARCÍA, N. L., RIBBA, L., DUFRESNE, A., ARANGUREN, M. I., GOYANES, S. Physicomechanical properties of biodegradable starch nanocomposites. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 294, 3, 169–177, 2009.

GARG, S.; JANA, A. K. Studies on the properties and characteristics of starch–LDPE blend films using cross-linked, glycerol modified, cross-linked and glycerol modified starch. **European Polymer Journal**, 43, 3976–3987, 2007.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; GOODING, C. H. Measurements errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 21, 2, p. 395-409, 1994.

GEORGE, J.; RAMANA, K.V.; SABAPATHY, S.N.; BAWA, A.S. Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 21, 1323, 2005.

GERSTEL, U.; RÖMLING, U. The csg D promoter, a control unit for biofilm formation in *Salmonella typhimurium*. **Research in Microbiology**, 154, 659–667, 2003.

GHIOTTI, A. M. T.; FALCONE, S. F. Preparação de acetatos de amido. Rio de Janeiro: INT, 1994. **Nota Técnica – DEQI** – 01/94, 1994.

GINDL, W.; KECKES, J. Tensile properties of cellulose acetate butyrate composites reinforced with bacterial cellulose. **Composites Science and Technology**, v. 64, 2407–13, 2004.

GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Analysis of water binding in starch plasticized . **Food Chemistry**, 96, 380–386, 2006.

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, 190-199, 1992.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58, 1, 206–211, 1993.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, 29, 39-50, 1994.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: Technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: **Food packaging and preservation**. Mathouthi, M. ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 159-181, 1994.

GONTARD, N.; MARCHESSEAU, S.; CUQ, J.L, GUILBERT, S.; Water vapor permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. **Journal of Food Sci Technol**, 30, 49-56, 1995.

GONTARD, N.; RING, S. Edible wheat gluten film: influence of water content on glass transition temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44, 3474-3478, 1996.

GRAAF, R.A. de; BROEKROELOFS, A.; JANSSEN, L.P.B. The acetylation of starch by reactive extrusion. **Starch/Stärke**, 50, 198-205, 1998.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, 49, 425-437, 2002.

GUILBERT, S.; BIQUET, B. Technology and application of edible protective films. **Food packaging and preservation**. Ed. Elsevier Applied Science Publishers, London, U. K., 371-394, 1986.

HAGENMAIER, R.; SHAW, P. Moisture permeability of edible films made with fatty acid and hydroxypropyl methylcellulose. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 38, 1799-1803, 1990.

HAMERSTRAND, G.E.; HOFREITER, B.T.; MEHLTRETTER, C.L. Determination of the extent of reaction between epichlorohydrin and starch. **Cereal Chemistry**, 37, 519-524, 1960.

HENRIQUE C. M.; CEREDA M. P.; SARMENTO S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, 1, 231-240, 2008.

HERRINGTON, T.M.; BRANFIELD, A.C. Physico-chemical studies on sugar glasses I. Rates of crystallisation. **Journal of Food Technology**, 19, 409-425, 1984.

HIRSCH, J. B.; KOKINI, J. L. Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP, and EPI) through swelling behaviour and pasting properties of cross-linked waxy maize starches. **Cereal Chemistry**, 79, 102-107, 2002.

HOSENEY, R.C. **Principles of Cereal Science and Technology**, AACC Inc, St.Paul, Minesota, USA, 327 p., 1986.

HULLEMAN, S.H.D.; KALISVAART, M.G.; JANSSEN, F.H.P.; FEIL, H.; Vliegenthart, J.F.G. Origins of B-type crystallinity in glycerol-plasticised, compression-moulded potato starches. **Carbohydrate Polymers**, 39, 351–360, 1999.

IFUKU, S.; NOGI, M.; ABE, K.; HANDA, K.; NAKATSUBO, F.; YANO, H. Surface modification of bacterial cellulose nanofibers for property enhancement of optically transparent composites: dependence on acetyl-group DS. **Biomacromolecules**, v. 8, 1973–8, 2007.

IMAM, S.H.; CINELLI, P.; GORDON, S.H.; CHIellini, E. Characterization of biodegradable composite films prepared from blends of poly(vinyl alcohol), corn starch and lignocellulosic fiber. **Journal polymers and the enviroment**, v.13, 1, 47-55, 2005.

INNOCENTNI-MEI, L. H.; MARIANI, P. D. S. C. Visão geral sobre polímeros ou plásticos ambientalmente degradáveis- PADS, Campinas, Outubro, 2005.

JAGANNATH, J. H.; NANJAPPA, C.; DAS GUPTA, D. K.; BAWA, A. S. Mechanical and barrier properties of edible starch-protein-based films. **Journal of applied polymer science**, 88, 68-71, 2003.

JANE, J. L. Starch functionality in food processing. In P. J. Frazier, A. M. Donald, & P. Richmond (Eds.), **Starch: Structure and functionality** Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 26–35, 1997.

JAYARAMAN, K. Manufacturing sisl-polypropylene composites with minimum fibre degradation. **Composite Science and Technology**, 63, 367-374, 2003.

JHON, M.J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, 71, 3, 343-364, 2008.

JOHN, J.K.; RAJA, K.C.M. Properties of cassava starch-dicarboxylic acid complexes. **Carbohydrate Polymers**, 39, 181-186, 1999.

KAMPER, S L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 6, p. 1482-1485, 1984.

KAPLAN, D. L.; SWIFT, G.; NARAYAN R. Naturally occurring biodegradable polymers. **Polymer, Systems-Synthesis and utility** (New York, NY Hanser Publishing, forthcoming), 1994.

KAPLAN, D. L. Biopolymers from Renewable Resources. Editora Springer. New York, 1998.

KARTHA, K.P.R.; SRIVASTAVA, H.C. Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymers. Part I. Starch reaction kinetics. **Starch/Stärke**, 37, 270–276, 1985a.

KARTHA, K.P.R.; SRIVASTAVA, H.C. Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymers. Part II. Starch reaction mechanism and physicochemical properties of modified starch. **Starch/Stärke**, 37, 297–306, 1985b.

KAVITHA, R.; BEMILLER, J. N. Characterization of hydroxypropylated potato starch. **Carbohydrate Polymers**, 37, 115–121, 1998.

KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coating: a review. **Food Technology**, v.40, 4, p.47 – 59, 1986.

KERR, R. W.; CLEVELAND Jr., F. C. Thickening agent and method of making the same. **U.S. Patent 3,021,222**, 1962.

KIM, K. M.; HWANG, K. T.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. Preparation and characterization of soy protein isolate films modified with sorghum wax. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 79, n. 6, p. 615-619, 2002.

KIM, M.; LEE, S.J. Characteristics of crosslinked potato starch and starch filled linear low density polyethylene. **Carbohydrate Polymer**, 50, 331-337, 2002.

Kim, M. Evaluation of degradability of hydroxypropylated potato starch/polyethylene blend films. **Carbohydrate Polymers**, 54, 173–181, 2003.

KOLODZIEJSKA, I.; PIOTROWSKA, B.; BULGE, M.; TYLINGO, R. Effect of transglutaminase and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimine on the solubility of fish gelatin-chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v.65, 4, 404-409, 2006.

KROTCHA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPERO-CARRIEDO, M. O. In: Edible Coating and films to Improve Food Quality. Ed. Technomic Publishing Company. Inc. USA, 10a ed., 379p., 1994.

KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunities. In: GENNADIOS, A. **Protein-Based Films and Coatings**. 1ed. Boca Raton: CRC Press, 672p., 2002.

KRUGER, L. H.; RUTENBERG, M. W. Production and uses of starch acetates. In: R.L. Whistler and E. F. Paschall, ed. **Starch: Chemistry and Technology**, New York: Academic Press, 2, 369-401, 1967.

KUNANOPPARAT, T., MENUT, P., MOREL, M. H., GUILBERT, S. Reinforcement of plasticized wheat gluten with natural fibers: From mechanical improvement to deplasticizing effect. *Composites Part A*. **Applied Science and Manufacturing**, 39, 777–785, 2008.

KUNIAK, L.; MARCHESSAULT, R.H. Study of the crosslinking reaction between epichlorohydrin and starch. **Starch/Stärke**, 24, 110-116, 1972.

LABUZA, T. P.; BALL, L. N. Moisture sorption-practical aspects of isotherm measurement and use. 2nd ed., Egan:**American Association of Cereal Chemist**, 122, 2000.

LAI, H. M.; PADUA, G. W.; WEI, L. S. Properties and microstructure of zein sheets plasticized with palmitic and stearic acids. **Cereal Chemistry**, 74, 83-90, 1997.

LAMPRECHT, A; SCHAFFER, U. F.; LEHR, C-M. Characterization of microcapsules by confocal laser scanning microscopy: strututre, capsule

wall composition and encapsulation rate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.**, v. 49, 1-9, 2000.

LARRE, C.; DESSERME, C.; BARBOT, J.; GUEGUEN, J. Properties of deamidated gluten films enzymatically crosslinked. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, 11, 5444-5449, 2000.

LAROTONDA, F. D. S. Desenvolvimento de biofilmes a partir da fécula de mandioca. **Dissertação de mestrado**, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p.63, 2002.

LAROTONDA, F. D. S.; MATSUI, K. N.; PAES, S. S.; LAURINDO, J. B. Impregnation of Kraft Paper with Cassava-Starch Acetate – Analysis of the Tensile Strength, Water Absorption and Water Vapor Permeability. **Starch/Stärke**, Weinheim, 55, 504-510, 2003.

LAROTONDA, F. D. S.; MATSUI, K. N.; SOLDI, V.; LAURINDO, J. B. Biodegradable films made from raw and acetylated cassava starch. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Brasil, v. 47, 3, 477-484, 2004.

LAWTON, J. W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. **Carbohydrate Polymers**, v. 29, 203-208, 1996.

LEACH, H.W.; McCOWEN, L.D.; SCHOCH, T.J. Structure of starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v.36, 6, 534-544, 1959.

LEACH, H. W.; SCHOCH, T. J. Structure of starch granule. II. Action of various amylases on starches. **Cereal Chemistry**, v. 38, 318–327, 1963.

LE TIEN, C.; LETENDRE, M.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M.A.; DELMASPATTERSON, G.; YU, H.L.; LACROIX, M. Development of biodegradable films from whey proteins by crosslinking and entrapment in cellulose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, 5566-5575, 2000.

LEE, M.; LEE, S.; MA, Y.; PARK, S.; BAE, D.; HA, S.; SONG, K.B. Effect of plasticizer and crosslinking agent on the physical properties of protein films. **Journal of Food Science and Nutrition**, v.10, 1, 88-91, 2005.

LEONEL, M.; GARCIA A. C.D. B.; REIS, M.M. Caracterização físico-química e microscópica de amidos de batata-doce, biri, mandioca e taioba e propriedades de expansão após modificação fotoquímica **Brazilian Journal Food Technology**, v.7, 2, 129-137, 2004.

LEPENIOTIS, S.; FEUER, B.I. Synthesis of starch acetate: statistical designed experiments to optimize the reaction conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 36, 229-243, 1997.

LI, J-Y.; YEH, A- I. Relationship between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. **Journal of Food Engineering**, v.50, 141-148, 2001.

LIM, S. T.; SEIB, P. A. Location of phosphate esters in a wheat starch phosphate by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, 70, 145-152, 1993.

LIM, L.T.; MINE, Y.; TUNG, M.A. Transglutaminase crosslinked egg white protein films: tensile properties and oxygen permeability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, 10, 4022-4029, 1998.

LIM, L.T.; MINE, Y.; MONTOYA, K.; TUNG, M.A. Barrier and tensile properties of transglutaminase crosslinked gelatin films as affected by relative humidity (RH), temperature and glycerol content. **Journal of Food Science**, v.64, 4, 616-622, 1999.

LIN, L-T.; MINE, Y.; TUNG, M.A. Barrier and tensile properties of transglutaminase crosslinked gelatin films as affected by relative humidity, temperature and glicerol content. **Journal of Food Science**, Chicago, v.64, 4, 616-622, 1999.

LINDEBOOM, N., CHANG, P.R.; TYLER, R.T. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. **Starch/Stärke**, v.56, 89-99, 2004.

LIU, H.J.; RAMSDEN, L.; CORKE, H. Physical properties and enzymatic digestibility of hydroxypropylated ae wx, and normal maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, 175-182, 1999a.

LIU, H. J.; RAMSDEN, L., CORKE, H. Physical properties of crosslinked and acylated normal and waxy rice starch. **Starch/Starke**, v. 51, 7, 249–52, 1999b.

LIU H.; XIE, F.; YUA, L.; CHENA, L.; LI, L. Thermal processing of starch-based polymers **Progress in Polymer Science**, v. 34, 1348–1368, 2009.

LLOYD, N.E.; KIRST, L.C. Some factors affecting the tensile strength of starch films. **Cereal Chemistry**, v.40, 154-161, 1963.

LÓPEZ, O. V.; GARCIA M. A.; ZARITZKY, N. E. Film forming capacity of chemically modified corn starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, 573–581, 2008.

LOURDIN, D.; DELLA VALLE G. E.; COLONNA, P., Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydrate. Polymers**. v. 27, 261–270, 1995.

LOURDIN, D.; COIGNARD, H.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticized concentration on the water content and glass transition of starch materials. **Polymer**, v. 38, 5401–5406, 1997.

LU, J.; ASKELAND, P.; DRZAL, L.T. Surface modification of microfibrillated cellulose for epoxy composite applications. **Polymer**, v. 49, 1285–96, 2008.

LU, D.R.; XIAO, C.M.; XU, S.J. Starch-based completely biodegradable polymer materials. **Journal of Polymer Science Part C: Polymer Letters** 3, 366–375, 2009.

MA, X., YU, J., KENNEDY, J. F. Studies on the properties of natural fibersreinforced thermoplastics starch composites. **Carbohydrate Polymers**, 62, 19–24, 2005.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, 4, 379–386, 2002.

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**, v. 60, 283–289, 2005.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. **Journal of food engineering**, v. 75, 453-460, 2006.

MARCON, M.J.A. Proposta para o mecanismo de expansão do polvilho azedo com base nas características físico-químicas. **Tese de Doutorado** – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de ciências dos alimentos, 2009.

MARQUES, P. T.; LIMA, A.M.F.; BIANCO, G.; LAURINDO, J. B.; BORSALI, R.; LEMEIN, S.; SOLDI, V. Thermal properties and stability of cassava starch films cross-linked with tetraethylene glycol diacrylate. **Polymer Degradation and Stability**, Estados Unidos, v. 91, 4, 726-732, 2006.

MARTELLI, S. M.; MOORE, G.; PAES, S. S.; GANDOLFO, C.; LAURINDO, J. B. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. **LWT – Food Science and Technology**, 39, 292–301, 2006.

MARTIN-POLO, M.; VOILLEY, A.; BLOND, G.; COLAS, B.; MESNIER, M.; FLOQUET, N. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer 2. The influence of the physical state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40, 413–418, 1992.

MARTINS, I.M.G.; MAGINA, S.P.; OLIVEIRA, L.; FREIRE, C.S.R.; SILVESTRE A. J.D., NETO, C.P.; GANDINI, A. New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose. **Composites Science and Technology**, 69, 2163–2168, 2009.

MCHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in ediblefilms and coatings. **Nahrung**, v. 44, 3, 148-151, 2000.

- McCREADY, R.M.; HASSID, W.F. The separation and quantitative estimation of amilose and amylopectin in potato starch. **Journal of the American Chemical Society**, 65, 1154, 1943.
- MOHAN, D.; PITTMAN, C. U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review. **Energy & Fuels**, 20, 467-473, 2006.
- MOORE, G. R. P.; MARTELLI, S. M.; GANDOLFO, C.; SOBRAL, P. J. A.; LAURINDO J. B. Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films. **Food Hydrocolloids**, 20, 975–982, 2006.
- MORILLON, V.; DEBEAUFORT, F.; BLOND, G.; CAPELLE, M.; VOLLEY, A. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 2, 1, 67-89, 2002.
- MORTON, W. R.; SOLAREK, D. Starch derivatives: production and uses. In: Whistler, R. L., ed. **Starch: Chemistry and Technology**. New York: Academic Press, 88-311, 1984.
- MOTTERSHEAD, B.; EICHHORN, S.J. Deformation micromechanics of model regenerated cellulose fibre–epoxy/polyester composites. **Composites Science Technology**, v. 67, 2150–9, 2007.
- MÜLLER, C.M.O. Estudo dos processos de transferencia de massa e propriedades mecanicas de biofilmes de amido de mandioca reforçados com fibras de cellulose. **Tese de Doutorado** - Universidade Estadual de Londrina, Centro Ciências Alimentos, 2007.
- MÜLLER, C. M. O.; YAMASHITA, F ; LAURINDO, J . Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 82-87, 2008.
- MÜLLER, C. M.O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, 23, 1328–1333, 2009a.
- MÜLLER, C.M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA F. Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-

based films at different relative humidity values. **Carbohydrate Polymers**, 77, 293–299, 2009b.

MUSCAT, D.; ADHIKARI, B.; ADHIKARI R.; CHAUDHARY, D.S. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylase starches using glycerol and xylitol as plasticizers. **Journal of Food Engineering**, 109, 189–201, 2012.

MYLLÄRINEN, P.; BULEON, A.; LAHTINEN, R.; FORSSEL, P. The crystallinity of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, 41–48, 2002.

NAKAGAITO, A.N.; IWAMOTO, S.; YANO, H. Bacterial cellulose: the ultimate nano-scalar cellulose morphology for the production of high-strength composites. **Applied Physical A-Mater**, v. 80, 93–7, 2005.

OATES, C.G. Towards and understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, p.375–382, 1997.

OH, J.H.; WANG, B.; FIELD, P.D.; AGLAN, H.A. Characteristics of edible films made from dairy proteins and zein hydrolysate crosslinked with transglutaminase. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.287–294, 2004.

OTA, U.S. Congress, Office of Technology Assessment, Biopolymers: Making Materials Nature's Way-Background Paper, OTA-BP-E-102 (Washington, DC: U.S. Government Printing Office, September 1993).

PARADA, Z.M.G.; SIRA, E.E.P. Evaluacion fisicoquimica y funcional de almidones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) pregelatinizados y calentados com microondas. **Acta Cientifica Venezolana**, v. 54, p. 127–137, 2003.

PARRA, D.F.; TADINI, C.C.; PONCE, P.; LUGÃO, A.B. Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, 58, 475–481, 2004.

PARRIS, N.; COFFIN, D. R.; JOUBRAN, R. F.; PESSEN, H. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 43, 1432–1435, 1995.

PARK, J. W.; TESTIN, R. F.; PARK, H. J.; VERGANO, P. J.; WELLER, C. L. Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation and water vapor permeability of laminated edible films. **Journal of Food Science**, 59, 916-919, 1994.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, 34, 1-17, 2001.

PERERA, C.; HOOVER, R.; MARTIN, A. M. The effect of hydroxypropylation on the structure and physicochemical properties of native, defatted and heat- moisture treated potato starches. **Food Research International**, 30, 235–247, 1997.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Lipid particle size effect on the water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 49, 996-1002, 2001.

PERONI, F.H.G., ROCHA, T.S. e FRANCO, C.M.L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, v.12, n.6, p. 505–513, 2006.

PEROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipids types on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 3977-3983, 2002.

PETERSSON, M.; STADING, M. Water vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride films and effect of film forming conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 19, 123 – 132, 2005.

PLACE, E.S.; EVANS, N.D.; STEVENS, M.M. Boom time for biomaterials Nature Material, v. 4, 457, 2009.

POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M.H.; GUILBERT, S. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. **Polymer**, 44, 115–122, 2003.

PRADELLA, J. G. C. Biopolímeros e intermediários químicos. Centro de Tecnologia de Processos e Produtos. **Laboratório de Biotecnologia Industrial- LBI/CTPP**. Março, 2006.

Site: http://www.anbio.org.br/pdf/2/tr06_biopolimeros.pdf. Acesso em: 04/03/2010.

RAMBO, C.R.; RECOUVREUX, D.O.S.; CARMINATTI C.A.; PITLOVAN, A.K.; ANTÔNIO, R.V.; PORTO, L.M. Template assisted synthesis of porous nanofibrous cellulose membranes for tissue engineering. **Materials Science and Engineering**, 28, 549–554, 2008.

RECOUVREUX, D.O.S.; RAMBO, C. R.; BERTI, F. V.; CARMINATTI, C.A.; ANTÔNIO, R.V.; PORTO, L.M. **Materials Science and Engineering C** (2010), doi:10.1016/j.msec.2010.08.004

RHIM, J.W.; WU, Y.; WELLER, C. L.; SCHINEPF, M. Physical characteristics of a composite film of soy protein isolate and propyleneglycol alginate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.64, n.1. p. 149-152, 1999.

RIBEIRO, E. P.; SARAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. Editora Edgar Blücher Ltda. São Paulo, 2004.

RICHARD, F. T.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, 39, 151-165, 2004.

RICHARDSON, S.; NILSSON, G. S.; BERGQUIST, K.; GORTON, L.; MISCHNICK, P. Characterisation of the substituent distribution in hydroxypropylated potato amylopectin starch. **Carbohydrate Research**, 328, 365–373, 2000.

RIOUX, B.; ISAPS-SZABO, P.; AIT-KADI, A.; MATEESCU, M-A.; JUHÁSZ, J. Structure-properties relationship in cross-linked high amylase starch cast films. **Carbohydrate Polymers**, 50, 371-378, 2002.

ROBERTS HT. In: Whistler RC, editor. **Starch chemistry and technology**. New York: Academic Press, 482 p., 1965.

ROBINSON, D.S. **Bioquímica e valor nutritivo de los alimentos**. ed. Zaragoza, Acribia, 516p., 1991.

RODRIGUEZ, P.; SAN MARTIN, M. E.; DE LA CRUZ, G. C. Calorimetria diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Superfícies y Vacío*, 13, 61-65, 2001.

ROSENTHAL, F. R. T. Processos de síntese de acetatos de amido, intermediários para poliuretanos. Rio de Janeiro: INT, 1993. **Nota técnica – DEQI – 02/93**, 1993.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Microbiology Revision**, 1, 35, 1991.

RUDOLPH, S. E.; GLOWAKY, R. C. Preparation and properties of carboxyl-functional mixed esters of hydrolysed starch. **Journal of Polymer Science**, Polymer Chemistry Edition, 16, 2129–2140, 1978.

RUTENBERG, M. W.; SOLAREK, D. Starch derivatives: Production and uses. In R. L. Whistler, J. N. BeMiller, & E. F. Paschall (Eds.), **Starch: Chemistry and technology** London: Academic Press, 312–388, 1984.

SABATO, S.F.; OUATTARA, B.; YU, H.; D'APRANO, G.; LE TIEN, C.; MATEESCU, M.A.; LACROIX, M. Mechanical and barrier properties of crosslinked soy and whey protein based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 1397-1403, 2001.

SAPRU, V.; LABUZA, T. P. Dispersed phase concentration effects on water vapor permeability in composite methyl cellulose-stearic acid edible films. **Journal food processing and preservation**, 18, 359-368, 1994.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M. Embalagens plásticas flexíveis; principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas, **CETEA/ITAL**, 267p., 2002.

SARMENTO, A.L.S.C. Elaboração e caracterização de biofilmes a partir de gelatina reticulada. **Dissertação de Mestrado – Faculdade de**

Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 145p., 1999.

SCHOCH, T.J.; LEACH, H.W. Determination of absolute density-liquid displacement. In: Whistler, R.L. ed. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, 4, 101-103, 1964.

SEBIO, L. Desenvolvimento de plástico biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão: Avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. Campinas: UNICAMP, 2003. **Tese de Doutorado** - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

SHAW, N.B.; MONAHAN, F.J.; O'RIORDAN, E.D.; O'SULLIVAN, M. Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composite WPI Films. **Journal of food engineering**, v. 51, n. 4, pp. 299-304, 2002.

SHELLHAMMER, T. H.; KROCHTA, J. M. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. **Journal of Food Science**, Chicago, 62, 390-394, 1997.

SHI, X.; BEMILLER, J. N. Effect of sulfate and citrate salts on derivatization of amylose and amylopectin during hydroxypropylation of corn starch. **Carbohydrate Polymers**, 43, 333–336, 2000.

SHIFTAN, D.; RAVANELLE, F.; MATEESCU, A. M.; MARCHESSAULT, R. H. Change in V/B polymorphratioand T1 relaxation of epichlorohydrin cross-liked high amylose starch excipient. **Starch**, 52, 186–195, 2000.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O.J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review. **Food Hydrocolloids**, 21, 1–22, 2007.

SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, 15, 423-432, 2001.

SOLANO, C., GARCIA, B., VALLE, J., BERASAIN, C., GHIGO, J.M., GAMAZO, C. Genetic analysis of Salmonella enteritidis biofilm formation: Critical role of cellulose. **Molecular Microbiology**, 43,793–808, 2002.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of b-lactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, v. 50, 149–155, 2001.

SPIERS, A.J.; BOHANNON, J.; GEHRIG, S.M.; RAINEY, P.B. Biofilm formation at the air-liquid interface by the Pseudomonas fluorescens SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose. **Molecular Microbiology**, v. 50, 15–27, 2003.

SREEDHAR, B.; SAIRAM, M.; CHATTOPADHYAY, D.K.; RATHNAM, P.A.S.; MOHAN RAO, D.V. Thermal, mechanical and surface characterization of starch - poly(vinyl alcohol) blends and borax crosslinked films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.96, 1313-1322, 2005.

SREEDHAR, B.; CHATTOPADHYAY, D.K.; KARUNAKAR, M.S.; SASTRY, A.R. Thermal and surface characterization of plasticized starch poly(vinyl alcohol) blends crosslinked with epichlorohydrin. **Journal of Applied Polymer Science**, v.101, 25- 34, 2006.

SRIROTH, K.; SANTISOPASRI, V.; PETCHALANUWAT, C.; KUROTJANAWONG, K.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C.G. Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.38, 161-170, 1999.

STANDING, M.; RINDLAV-WESTLING, A.; GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, 3, 209–217, 2001.

SWINKELS, J. J. M. **Industrial starch chemistry**: Properties, modifications and applications of starches. Veendam: AVEBE, 48p., 1996.

TAKAGI, H.; ASANO, A. Effects of processing conditions on flexural properties of cellulose nanofiber reinforced “green” composites. **Composites**, 39, 685–9, 2008.

TANAKA-PALMU, P.S.; GROSSO, C.R.F. Effects of edible wheat gluten-based films and coating refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Postharvest Biology and Technology**, v.36, p.199–208, 2005.

TAPIA-BLACIDO, D.; MAURI, A.N.; MENEGALLI, F.C.; SOBRAL, P.J.A.; ANON, M. C. Contribution of the Starch, Protein and Lipid Fractions to the Physical, Thermal, and Structural Properties of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) Flour Films. **Journal of Food Science**, 72, 293–300, 2007.

TARVAINEN, M.; SUTINEN, R.; PELTONEN, S.; TIIHONEN, P.; PARONEN, P. Starch acetate. A novel film-forming polymer for pharmaceutical coatings. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 91, 282–289, 2002.

TARVAINEN, M.; PELTONEN, S.; MIKKONEN, H.; ELOVAARA, M.; TUUNAINEN, M.; PARONEN, R. P. Aqueous starch acetate dispersions as a novel coating material for controlled release products. **Journal of Controlled Release**, 96, 179–191, 2004.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.151–165, 2004.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v.14, p.71–78, 2003.

TISCHER, P.C.S.F.; SIERAKOWSKI, M.R.; WESTFAHL JR, H.; TISCHER, C. A. Nanostructural Reorganization of Bacterial Cellulose by Ultrasonic Treatment. **Biomacromolecules**, 11, 1217–1224, 2010.

TOKOH, C.; TAKABE, K.; FUJITA, M.; SAIKI, H. Cellulose, v. 5, 249p, 1998.

VAN DER BERG, C. Food water relationships: Progress and integration, comments and thoughts. In H. Levine, & L. Slade (Eds.), **Water relationships in foods** (pp. 21–28). New York: Plenum Press, 1991.

VAN SOEST, J.J.G.; BENES, K.; WIT, D. The influence of starch molecular mass on the properties of extruded thermoplastic starch. **Polymer**, v. 37, n. 16, 3543–3552, 1996.

VAN SOEST, J.J.G.; TOURNOIS, H.; De Wit, D.; Vliegenthart, J.F.G. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, 279, 201-214, 1995.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, 19, 899-907, 2005.

VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. 198p. **Tese (Doutorado em Agronomia)**, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

VICENTINI, N.M.; DUPUY N.; LEITZELMAN M.; CEREDA M.P.; SOBRAL P.J.A. Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. **Spect Letters**, 38, 749-767, 2005.

XU, Y., HANNA, M. A. Preparation and properties of biodegradable foams from starch acetate and poly (tetramethylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate Polymers**, 59, 521-529, 2005.

XU, Y., MILADINOV, V., HANNA, M. A. Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. **Cereal Chemistry**, 81, 735-740, 2004.

WAN, Y.Z.; LUO, H.; HE F.; LIANG, H.; HUANG, Y.; LI, X. L. Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 69, 1212–1217, 2009.

WANG, Y.-J.; WANG, L. Characterization of acetylated waxy maize starches prepared under catalysis by different alkali and alkaline-earth hydroxides. **Starch**, v. 54, 25–30, 2002.

WATTANCHANT, S.; MUHAMMAD, K.; HASHIM, D.; RAHMAN, R. A. Effect of cross-linking reagents and hydroxypropylation levels on dual-modified sago starch properties. **Food Chemistry**, v. 80, 463–471, 2003.

WELLER, C. L.; GENNADIOS, A.; SARAIVA, R. A. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.**, v. 31, 279-285, 1998.

WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F. In: **Starch: Chemistry and Technology**. Academic Press, Cambridge, p.1, 1984.

WHISTLER, R.L.; DANIEL, J.R. Carbohidratos, In: FENNEMA O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza, Acribia, 81-156, 1993.

WILLIAMS, P.C.; KUZINA, D.F.; HLINKA, I.A. Rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours. **Cereal Chemistry**, v. 7, n. 197, 412-420, 1970.

WOEHL, M. A.; CANESTRARO, C. D.; MIKOWSKI, A.; SIERAKOWSKI, M. R.; RAMOS, L. P.; WYPYCH, F. Bionanocomposites of thermoplastic starch reinforced with bacterial cellulose nanofibres: Effect of enzymatic treatment on mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, 80, 866–873, 2010.

WONG, D. W. S.; GASTINEAU, F. A.; GREGORSKI, S. S.; TILLIN, S. J.; PAVLATH, A. E. Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.40, p.540-544, 1995.

WOO, K. S.; SEIB, P. A. Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. **Carbohydrate Polymers**, 33, 263–271, 1997.

WURZBURG, O. B. Nutritional aspects and safety of modified food starches. **Nutrition Reviews**, v. 44, 74–79, 1986a.

WURZBURG, O. B. Cross-linked starches. In O. B. Wurzburg (Ed.), **Modified starches: Properties and uses**, Boca Raton, FL: CRC Press, 41–53,1986b.

WURZBURG,O.B. Acetylation. In:Whistler, R. L. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. New York:Academic Press, v. 4, 286-288, 1964.

WURZBURG, O. B. Preparation of starch derivatives **US Patent 2,935,510**, 1960.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A.; VEIGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Filmes biodegradáveis para aplicação em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brasilian Journal of Food and Tecnology**, v. 8, n. 4, 335-343, 2005.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water barriers properties of edible Gellan film. **Food Research International**, Amsterdan, v.33, n.7, p.563-570, 2000a.

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

YANO, H.; SUGIYAMA, J.; NAKAGAITO, A.N.; NOGI, M.; MATSUURA, T.; HIKITA, M. Optically transparent composites reinforced with networks of bacterial nanofibers. **Advanced Materials**, 17, 153–5, 2005.

YIN, Y.; LI, J.; LIU, Y.; LI, Z. Starch crosslinked with poly(vinyl alcohol) by boric acid. **Journal of Applied Polymer Science**, 96, 1394-1397, 2005.

YOOK, C.; PEK, U.H.; PARK, K.H. Gelatization and retrogation characteristics of hydroxypropylated and cross-linked rices. **Journal Food Science**, v. 58, 405-7, 1993.

ZAMBRANO, F.; CAMARGO, C. R. O.; TAVARES D. Amido de mandioca modificado comparado com substitutos de gordura. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, 155-161, 2001.

ZHENG, H.; DU, Y.M; YU, J.H.; XIAO, L. Properties and preparation of cross-linked chitosan films. **Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao**, v.21, n.5, p.809-812, 2000. Journal written in chinese.

ZHOU, M.; ROBARDS, K.; GLENNIE-HOLMES, M.; HELLIWELL, S. Structure and pasting properties of oat starch. **Cereal Chemistry**, v.75, n.3, p 273-281, 1998.

ZOBEL, H. F.; YOUNG, S. N.; ROCCA, L. A. Starch Gelatinization: An X-ray Diffraction Study. **Cereal Chemistry** v. 65, n. 6, 443-446, 1988.

ZOGAJ, X.; NIMTZ, M.; ROHDE, M.; BOKRANZ, W.; RÖMLING, U. The multicellular morphotypes of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* produce cellulose as the second component of the extracellular matrix. **Molecular Microbiology**, 39, 1452–1463, 2001.

ZOGAJ, X.; BOKRANZ, W.; NIMTZ, M.; RÖMLING U. Production of cellulose and curli fimbriae by members of the family Enterobacteriaceae isolated from the human gastrointestinal tract. **Infection and Immunity**, 71, 4151–4158, 2003.