



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA
GLICERINA RESIDUAL DO BIODIESEL: GOMA XANTANA
EM ESCALA DE BIORREATOR E FILMES FLEXÍVEIS
REFORÇADOS COM NANOWHISKERS

LARISSA ALVES DE SOUSA COSTA
(Engenheira de Alimentos – Universidade Federal da Paraíba/UFPB)

Salvador

2014

LARISSA ALVES DE SOUSA COSTA

DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA
GLICERINA RESIDUAL DO BIODIESEL: GOMA XANTANA
EM ESCALA DE BIORREATOR E FILMES FLEXÍVEIS
REFORÇADOS COM NANOWHISKERS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Janice Izabel Druzian

Salvador

2014

C837 Costa, Larissa Alves de Sousa

Desenvolvimento de bioprodutos a partir da glicerina residual do biodiesel: goma xantana em escala de biorreator e filmes flexíveis reforçados com nanowhiskers / Larissa Alves de Sousa Costa. – Salvador, 2014.
247 f. : il. color.

Orientadora: Profa. Dra. Janice Izabel Druzian.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Escola Politécnica, 2014.

1. Filmes flexíveis. 2. Goma xantana. 3. Biodiesel - glicerina. 4. Nanowhiskers. I. Druzian, Janice Izabel. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDD: 665.37

TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA GLICERINA RESIDUAL DO BIODIESEL: GOMA XANTANA EM ESCALA DE BIORREATOR E FILMES FLEXÍVEIS REFORÇADOS COM NANOWHISKERS

Larissa Alves de Sousa Costa

TESE APROVADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU
DE DOUTOR EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA, PELA SEGUINTE BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Janice Izabel Druzian – Orientadora
Doutora em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Prof^a.Dr^a. Valéria de Carvalho Santos Ebinuma
Doutora em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho(UNESP)

Prof^a. Dr^a. Jania Betânia Alves da Silva
Doutora em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

Prof^a. Dr^a. Nádia Mamede José
Doutora em Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Prof. Dr. Jaime Soares Boaventura Filho
Doutor em Engenharia Química, University of Delaware(UDEL)
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus queridos pais:
José Costa e Ivonete Alves Costa, por tanta
doação de amor, carinho, respeito, incentivo
e confiança durante todos os momentos da
minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre esteve ao meu lado, guiando e iluminando minha vida com tantas bênçãos, permitindo a concretização de mais uma etapa da minha vida.

Aos amores da minha vida, Mainha e Painho, por todo amor, apoio, incentivo e compreensão, pois sem eles nada seria possível.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia pela oportunidade concedida de aprimoramento profissional.

À Prof^a. Janice Druzian pela orientação e comprometimento com cada etapa desenvolvida nesta tese.

Aos amigos do LAPESCA: Carolina, Luciane, Paulo Leonardo, Lídia, Gleice, Andréa, Jaff, Tamires, Augusto pela amizade, risos e apoio ao trabalho, que, com certeza, tornaram o ambiente de trabalho muito mais agradável.

Em especial a minha iniciação científica Ananda Freitas pela dedicação e, acima de tudo, pela amizade.

A Márcio Inomata pela amizade e pelas palavras de incentivo nos momentos difíceis.

A Lilian Brandão e Denilson Assis, pelos dias que passamos na biblioteca. A redação da qualificação e da tese ficou muito mais leve com vocês.

Aos amigos conquistados no decorrer desse tempo, em especial a Verônica, Jania, Dayana, Ticiane, Andréa pelos vários momentos divertidos que passamos juntos.

Ao amigo Ricardo Freitas por ser sempre tão solícito durante impressão da tese.

À Cargill, à Comanche Biocombustíveis e à Juarez Francisco da Cruz pela concessão do amido de mandioca, da glicerina bruta e das palhas de milho utilizadas nesse estudo.

A Prof^a. Soraia Texeira Brandão pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raios-x (DRX).

À FAPESB pela bolsa concedida durante a realização do curso.

Ao edital FAPESB (Auxílio Tese e Dissertação) pelo apoio financeiro.

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

Resumo

Os plásticos sintéticos são amplamente utilizados devido a seu baixo custo, facilidade de processamento e elevada aplicabilidade, porém sua alta durabilidade confere uma desvantagem da sua aplicação na fabricação de embalagens descartáveis. Neste contexto, a presente pesquisa apresenta uma alternativa às embalagens plásticas a partir da obtenção de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca com adição de glicerol, goma xantana e reforçados com *nanowhiskers*. Assim, o objetivo do presente trabalho é preparar filmes flexíveis formulados pela incorporação de goma xantana, produzida a partir da glicerina residual do biodiesel, e *nanowhiskers* de palha de milho a uma matriz polimérica de amido de mandioca plastificada com glicerol, assim como, avaliar a eficácia da incorporação do biopolímero e do aditivo de reforço através das propriedades mecânicas, óticas, térmicas e de barreira dos bionanocompósitos resultantes. O trabalho foi conduzido em três etapas. Inicialmente a goma xantana foi produzida em biorreator de bancada (4,5 L), na qual foram investigados os efeitos da aeração (vvm) e agitação (rpm) na produção e nas propriedades das gomas xantana obtidas a partir da fermentação glicerina residual do biodiesel (GRB) por *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* cepa 2103. A segunda etapa consistiu na obtenção de *nanowhiskers* de palha de milho por hidrólise ácida (H_2SO_4 - 55%). Na terceira etapa foram elaborados e caracterizados os bionanocompósitos à base de amido de mandioca (3,5 - 5,5 %) com a incorporação de goma xantana (0,00 - 0,06 %) e *nanowhiskers* (0,00 - 0,60 %) utilizando como plastificantes o glicerol (0,60 - 1,60 %) por *casting*. Para fins comparativos foi elaborado um filme flexível sem a adição de goma xantana e *nanowhiskers* (Controle – 4,5 % de amido e 1,1 % de glicerol). A aeração e agitação apresentaram efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,05$) na produção e na viscosidade da goma xantana. A otimização apontou 1,0 vvm e 500 rpm como combinação para maximizar a produção de xantana em até 5,98 g.L⁻¹ e a viscosidade aparente em até 243,5 mPa.s. As massas moleculares das gomas xantana foram influenciadas pela taxa de oxigênio dissolvido ($p < 0,05$), e maiores massas foram obtidas em baixas aerações. Além disso, o aumento da velocidade de agitação contribuiu para aumentar a massa molecular da goma xantana. Altas agitações contribuíram para aumento do teor de glicose e manose na cadeia das xantanas. Além desta condição, o aumento na aeração leva ao aumento no teor de glicose, manose e diminuição no teor de piruvato. A palha de milho mostrou ser boa fonte de celulose tornando-se matéria-prima

viável para obtenção de *nanowhiskers* através do processo de hidrólise ácida com rendimento de 64 %, grau de cristalinidade de 55,04 % e razão L/D de $54,7 \pm 24$, o que proporcionaria reforço mecânico quando incorporados em matrizes poliméricas. Constatou-se que a atividade de água, a umidade e a permeabilidade ao vapor d'água foram influenciadas significativamente ($p < 0,01$) pelas concentrações de amido, glicerol e *nanowhiskers*. As maiores concentrações dessas variáveis resultaram na diminuição simultânea da atividade de água em até 24 % e da umidade em até 33 % em relação ao filme controle. Os *nanowhiskers* influenciaram positivamente a permeabilidade ao vapor de água, indicando que o aumento na concentração dessa variável acarreta uma redução desejável dessa propriedade em até 44 %. As maiores concentrações de goma xantana também resultam em filmes com menores umidades e permeabilidade ao vapor de água, com reduções de 33 % e de 44 %, respectivamente. A tensão máxima na ruptura nos filmes diminui em até 72 % em relação ao controle, com conseqüente aumento nos valores de deformação na ruptura. Os *nanowhiskers* influenciaram positivamente a deformação dos bionanocompósitos, indicando que o aumento na concentração dessa variável acarreta um aumento desejável de até 54 % nessa propriedade. A incorporação de goma xantana resultou no aumento da estabilidade térmica nos bionanocompósitos de até 8,3 %. Portanto, é possível constatar que apesar dos teores de goma xantana e *nanowhiskers* incorporados nos bionanocompósitos exercerem efeito significativo ($p < 0,01$) sobre a maioria das respostas avaliadas, as variáveis independentes que exerceram influência mais acentuada sobre os bionanocompósitos foram os teores de glicerol e de amido. O teor de umidade foi à única variável dependente que sofreu maior influência da concentração de *nanowhiskers*, porém o sinal negativo para a raiz (-203,765) indica que um aumento na concentração de *nanowhiskers* acarreta uma redução na umidade, efeito desejável para os bionanocompósitos.

Abstract

Synthetic plastics are widely used due its low cost, ease of processing and high applicability, but its high durability confers a disadvantage for their application in the manufacture of disposable packing. Against this background, the aim of this work was to prepare flexible films made by incorporation of xanthan gum, which was produced employing residual glycerin from biodiesel and *nanowhiskers* of corn stover to a polymeric matrix of cassava starch plasticized with glicerol. Furthermore, the biopolymer and the additive of reinforcement incorporation was evaluated through the characterization of nanobiocomposites produced. To this purpose, the work was carried out in three steps. Initially, xantham gum was produced in bioreactor (4.5L) by fermentation of *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* strain 2103 employing residual glycerin from biodiesel. The effect of aeration (vvm) and agitation (rpm) on xantham gum production was evaluated. Both parameters showed be significant ($p < 0,05$) in the production and viscosity of xantham gum. Optimization procedures indicated 1.0 vvm and 500 rpm as a better combination to maximize the xantham gum production to 5.98 g.L^{-1} and to a apparent viscosity of 243.5 mPa.s. The xanthan gum molecular mass were influenced by the rate of dissolved oxygen ($p < 0,05$) and higher molecular mass was achieved at low aeration rate. An increase in both aeration and agitation contributed to a high glucose and mannose concentration in the xantham gum chain. However, the aeration also contributed to reduce the piruvate content in the xantham gum content. Subsequently, *nanowhiskers* from corn stover was obtained by acid hydrolysis. The residue showed be a suitable source of cellulose, which can be used as feedstock to produce *nanowhiskers* with yield of 64 %, cristalinity degree of 55.04 % and length/diameter ratio of 54.7. In the third step of this work, the nanobiocomposites were produced by casting technique and characterized employing a through a 2^4 fractional central composite design (CCD) evaluating the independent variables: cassava starch (3.5 - 5.5 %), glycerol (0.60 - 1.60 %), xanthan gum (0.00 - 0.06 %) and *nanowhiskers* (0.00 - 0.60 %) on the response variables: thickness, water activity, moisture, permeability to water vapor, solubility, degree of swelling, maximum stress, elongation at break, modulus of elasticity, degradation temperature, and color parameters. In order to compare the results, a control film was prepared without xantham gum and *nanowhiskers*. It was observed that water activity and moisture were influenced significantly ($p < 0.01$) by the concentration of cassava starch, glycerol and

nanowhiskers. The highest concentration of these variables promoted a decreasing at 24 % and 33 % as compared to the control film. *Nanowhiskers* influenced positively the permeability to water vapor, an increase in the concentration of this variable causes a decrease in this characteristic until 44 %. The highest xanthan gum concentration generated in films with low levels of moisture and permeability to water vapor, with reduction of 33 % and 44 %, respectively. Besides, the incorporation of xanthan gum promoted an increase in the thermal stability of nanobiocomposites until 8.3 %. The *nanowhiskers* had a positive influence in the rate of nanobiocomposites deformation, which shows that an increase in nanowhisiker concentration promote an increase around 54 % in this film characteristic. So, it is possible to obtain nanobiocomposites of cassava starch, glycerol, xanthan gum and *nanowhiskers* by casting technique as an alternative to replace the materials currently employed. However, some characteristics needs to be improved before use these biodegradable films at industrial scale.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	21
1.1. Contribuição do Trabalho	24
1.2. Objetivos.....	24
1.2.1. Geral	25
1.2.2. Específicos	05
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
1. Introdução.....	29
2. Polímeros	31
3. Polímeros biodegradáveis.....	33
4. Amido como formador de filme	35
5. Filmes biodegradáveis a base de amido/fécula	39
6. O uso de plastificantes	43
7. Goma xantana e associação amido-goma.....	45
7.1. Glicerina bruta como substrato alternativo para a produção de goma xantana	49
8. Fibras lignocelulósicas	51
8.1. Organização hierárquica das fibras lignocelulósicas.....	56
8.2. Isolamento da celulose de fibras lignocelulósicas	58
8.3. Palha de milho	59
8.4. <i>Nanowhiskers</i> /Nanocristais de celulose.....	61
9. Bionanocompósitos	65
9.1. Produção de Filmes por <i>Casting</i>	68
10. Caracterização da goma xantana produzida a partir da glicerina residual do biodiesel	70
10.1. Reologia	70
10.1.1. Reologia da xantana.....	72
10.2. Massa molecular da goma xantana	74
10.3. Composição monomérica da goma xantana	77
10.4. Termogravimetria	80
11. Caracterização dos <i>nanowhiskers</i> de celulose obtidos a partir da palha de milho	81
11.1. Difração de raio-X (DRX).....	82

11.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	84
11.3. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	86
12. Caracterização dos bionanocompósitos.....	87
12.1. Propriedades físicas.....	88
12.1.1. Espessura.....	88
12.1.2. Solubilidade.....	89
12.1.3. Grau de intumescimento.....	89
12.2. Propriedades mecânicas.....	90
12.3. Propriedades óticas.....	90
12.4. Propriedades térmicas.....	91
12.5. Propriedades de barreira.....	91
CAPÍTULO 3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	115
1. Material.....	115
2. Obtenção da goma xantana a partir da glicerina residual do biodiesel.....	116
2.1. Meios de cultura.....	116
2.2. Curva de crescimento.....	116
2.3. Produção de goma xantana.....	117
3. Extração de celulose da palha de milho.....	118
3.1. Preparação dos <i>nanowhiskers</i> de celulose de palha de milho.....	118
4. Preparação dos filmes (bionanocompósitos).....	119
5. Técnicas de caracterização dos biomateriais.....	120
5.1. Composição centesimal.....	120
5.1.1. Glicerina residual do biodiesel (GRB).....	120
5.1.2. Amido de mandioca.....	121
5.2. Viscosidade aparente das gomas xantana.....	122
5.3. Massa molecular média das gomas xantana.....	123
5.4. Composição monomérica das gomas xantana.....	123
5.4.1. Determinação de açúcares por CLAE-IR.....	123
5.4.2. Determinação de ácidos urônicos por CLAE-UV.....	124
5.5. Análises térmicas.....	124
5.6. Composição química da palha de milho.....	125
5.7. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	125
5.8. Espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier (FTIR).....	126
5.9. Difractometria de raios-x (DRX).....	126

5.9.1. Palha de milho, celulose branqueada e <i>nanowhiskers</i>	126
5.9.2. Amido de mandioca.....	127
5.10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	128
5.11. Índice de Solubilidade (IS) e Poder de Inchamento (PI)	128
5.12. Claridade da pasta de amido	129
5.13. Medida de espessura (E)	129
5.14. Medida da atividade de água (aw)	129
5.15. Medida da umidade (U)	129
5.16. Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA)	130
5.17. Solubilidade em água dos filmes (bionanocompósitos)	130
5.18. Intumescimento em água dos filmes (bionanocompósitos).....	131
5.19. Ensaios mecânicos	131
5.20. Análise de Cor	132
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	133
1. Goma xantana.....	133
1.1. Composição centesimal da glicerina residual do biodiesel	134
1.2. Curva de crescimento	135
1.3. Ensaios do planejamento experimental de produção de goma xantana em biorreator de 4,5 L.....	136
1.4. Caracterização das gomas xantana obtidas nos sete ensaios do planejamento experimental	143
1.4.1. Massa molecular média	143
1.4.2. Composição monomérica da goma xantana	147
1.4.3. Termogravimetria (TGA) / Termogravimetria derivada (DTG)	153
2. <i>Nanowhiskers</i> /Nanocristais de celulose	157
2.1. Composição química das fibras	157
2.2. Obtenção dos <i>nanowhiskers</i> de palha de milho.....	159
2.3. Difractometria de raios-x (DRX) da fibra, polpa de celulose e <i>nanowhiskers</i>	161
2.4. Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR) da fibra, polpa de celulose e <i>nanowhiskers</i>	162
2.5. Termogravimetria (TGA) / Termogravimetria derivada (DTG) da fibra, polpa de celulose e <i>nanowhiskers</i>	164
2.6. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos <i>nanowhiskers</i>	166
2.7. Massa molecular média (MM) dos <i>nanowhiskers</i>	167

3. Amido de mandioca.....	149
3.1. Composição	168
3.2. Difractometria de raios-x (DRX)	170
3.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	171
3.4. Análise Térmica.....	154
3.4.1. Termogravimetria (TGA) / Termogravimetria derivada (DTG)	173
3.4.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	175
3.5. Índice de Solubilidade (IS) e Poder de Inchamento (PI)	177
3.6. Claridade da Pasta de Amido.....	179
4. Filmes Flexíveis (bionanocompósitos).....	180
4.1. Propriedades de barreira dos bionanocompósitos	180
4.2. Propriedades mecânicas e térmicas dos bionanocompósitos.....	194
4.3. Propriedades óticas dos bionanocompósitos	204
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES	226
ANEXOS	228

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação de polímeros biodegradáveis	34
Figura 2 - Representação esquemática da degradação de uma cadeia polimérica	35
Figura 3 - Cadeias de (a) amilose e (b) amilopectina que formam o amido	36
Figura 4 - Foto do amido/fécula de mandioca	38
Figura 5 - Fluxograma de produção de amido de mandioca	39
Figura 6 - Ciclo teórico do amido de mandioca	42
Figura 7 - Estrutura da goma xantana	45
Figura 8 - Reação de transesterificação para produção do biodiesel	50
Figura 9 - Estrutura da D-Glucose	52
Figura 10 - Estrutura molecular do polímero natural celulose e da sua unidade monomérica celobiose	53
Figura 11 - Estrutura molecular dos monômeros comumente encontrados na hemicelulose	54
Figura 12 - Estruturas esquemáticas dos alcoóis precursores da lignina: cumarílico (I), coniferílico (II) e sinapílico (III) e ilustração de uma possível estrutura polimérica da lignina	55
Figura 13 - Estrutura hierárquica de um tecido vegetal	56
Figura 14 - Representação esquemática dos níveis que precedem a formação de uma microfibrila presente em plantas superiores. (a) seção transversal da estrutura formada pelas 6 cadeias de celulose na subunidade dos complexos específicos terminais. Cada retângulo cinza representa uma cadeia de celulose; (b) seção transversal das fibrilas elementares; (c) seção transversal das microfibrilas de celulose composta de 6 fibrilas elementares; (d) seção lateral das microfibrilas mostrando a configuração em série de regiões cristalinas e amorfas	57
Figura 15 - Estrutura hierárquica da constituição de uma macrofibrila	58
Figura 16 - Etapas gerais de isolamento da celulose das fibras vegetais	58
Figura 17 - (a) Plantio de milho (<i>Zea mays</i> L.) e (b) Palha de milho	59
Figura 18 - Processo de degradação da celulose	62

Figura 19 - Esquema ilustrativo do método da hidrólise ácida. (a) Regiões amorfas e cristalinas em evidência numa fibrila. (b) Mecanismo envolvido na hidrólise ácida. (c) nanoestruturas altamente cristalinas obtidas no processo	64
Figura 20 - Fluxograma básico de elaboração dos filmes por <i>casting</i> do grupo amido-glicerol-goma xantana- <i>nanowhiskers</i>	70
Figura 21 – Curvas de escoamento de fluidos newtoniano e não-newtonianos com propriedades independentes do tempo de cisalhamento.....	71
Figura 22 - Curvas de fluxo e viscosidade para um fluido pseudoplástico	72
Figura 23 – Gráfico de TGA e sua derivada, DTG	80
Figura 24 - Representação esquemática de um difratômetro na geometria Bragg-Brentano	83
Figura 25 - Esquema básico da difração de raios-x em um material com planos cristalinos separados por uma distância d	83
Figura 26 - Micrografias de transmissão de <i>nanowhiskers</i> obtidas a partir de: (a) bactéria, (b) tunicados e (c) microcristalina	86
Figura 27 - Difratograma de Raio-x descritivo do método de índice de cristalinidade relativa adaptado à razão das intensidades difratadas	127
Figura 28 – Sistema de cor Cie Lab	132
Figura 29 - Concentração celular de <i>X. campestris</i> pv <i>mangiferaeindicae</i> cepa 2103 em função do tempo de fermentação (a); e em função da densidade ótica do meio (b) ao longo de 48 h de incubação a 28 °C e 180 rpm	135
Figura 30 – Comportamento da viscosidade aparente das gomas xantana a 0,5 % (m/v) obtidas nos sete ensaios a partir de fermentações com GRB. Em (a) a temperatura foi fixada em 25 °C e a taxa de cisalhamento variou de 25 a 1000 s ⁻¹ ; em (b) a taxa de cisalhamento foi fixada em 25s ⁻¹ e temperatura variou de 25 a 85 °C	138
Figura 31 - Gráficos de Pareto para as respostas produção (a) e viscosidade aparente (b)	140
Figura 32 - Superfícies de resposta e curvas de nível para os parâmetros produção (a ₁ e a ₂) e viscosidade aparente (b ₁ e b ₂)	142
Figura 33 - Variação de pH e do O ₂ dissolvido em função do tempo de fermentação da GRB pela cepa 2103 em biorreator de 4,5 L	143
Figura 34 – Curva de calibração Log massas moleculares x tempos de retenção obtidos por GPC CLAE-IR	144

Figura 35 - Cromatogramas das gomas xantana obtidas nos sete ensaios do planejamento fatorial E ₁ (a), E ₂ (b), E ₃ (c), E ₄ (d), E ₅ (e), E ₆ (f), E ₇ (g) e da goma xantana padrão (h)	145
Figura 36 - Cromatogramas obtidos por CLAE usando coluna Polypore Ca, para separação dos açúcares das gomas sintetizadas com <i>X. campestris</i> cepa 2103 e GRB. (a) Ensaio 1; (b) Ensaio 2; (c) Ensaio 3; (d) Ensaio 4; (e) Ensaio 5; (f) Ensaio 6; (g) Ensaio 7; (h) Glicose ¹ e Manose ² . Amostra foi hidrolizada com TFA 1 M/100 °C/10 h	148
Figura 37 - Cromatogramas obtidos por CLAE usando coluna Polypore H, para separação dos ácidos urônicos das gomas sintetizadas com <i>X. campestris</i> cepa 2103 e GRB. (a) Ensaio 1; (b) Ensaio 2; (c) Ensaio 3; (d) Ensaio 4; (e) Ensaio 5; (f) Ensaio 6; (g) Ensaio 7; (h) Ácido Glucurônico ¹ e Ácido Pirúvico ² . Amostra foi hidrolizada com TFA 1 M/ 100 °C/ 10 h.....	149
Figura 38 – Curvas TGA e sua derivada (DTG) para os sete ensaios realizados no planejamento fatorial (a-g), goma xantana sigma (h) e glicerina bruta (i), respectivamente	154
Figura 39 - Ilustração da torta de palmiste (TP), da palha de milho (PM), do sabugo de milho (SM)	158
Figura 40 - Difratoformas da palha de milho (PM); celulose obtida após o processo de branqueamento (CPM) e <i>nanowhiskers</i> liofilizados (NWC).....	161
Figura 41 - Espectros de FTIR palha de milho (PM), da polpa de celulose (CPM) e dos <i>nanowhiskers</i> (NWC)	163
Figura 42 - Curvas TGA (a) e DTG (b) da palha de milho, da polpa de celulose e dos <i>nanowhiskers</i> obtidos em atmosfera de N ₂ com razão de aquecimento de 20 °C/min.....	145
Figura 43 - Micrografias obtidas da suspensão de <i>nanowhiskers</i> de palha de milho.....	166
Figura 44 - Cromatograma da solução de <i>nanowhiskers</i> obtidos com a palha de milho	168
Figura 45 - Difratoforma de raios-x do amido de mandioca.....	171
Figura 46 - Microscopia eletrônica de varredura de grânulos de amido de mandioca em aumentos de (a) 500x, (b) 700x, (c) 1000x e (d) 2000x	172
Figura 47 - Curva TGA (—) e DTG (---) de amido de mandioca.....	173
Figura 48 - Curva DSC para o amido de mandioca.....	176
Figura 49 - Absorbância a 640 nm para o gel de amido de mandioca armazenado a 4 °C durante 5 dias.....	179
Figura 50 - Gráficos de Pareto para as respostas atividade de água (a) e permeabilidade ao vapor d'água (b) a 99 % de confiança	184

Figura 51 - Superfícies de resposta geradas a 99 % de confiança para as interações das variáveis independentes significativas sobre as variáveis respostas (atividade de água e permeabilidade ao vapor d'água) para os 27 ensaios do planejamento experimental.....	185
Figura 52 - Grau de intumescimento do filme controle (C) e dos filmes elaborados nos ensaios com maiores e menores absorção de água ao longo do tempo	193
Figura 53 - Gráficos de Pareto para as respostas tensão máxima na ruptura (a) e deformação na ruptura (b) a 99 % de confiança.....	196
Figura 54 - Superfícies de resposta geradas a 99 % de confiança para as interações das variáveis independentes significativas sobre as variáveis respostas (atividade de água e permeabilidade ao vapor d'água) para os 27 ensaios do planejamento experimental.....	198

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Geração de plásticos pós-consumo (ton/ano) em cada região do Brasil	30
Tabela 2 - Reciclagem de plástico pós-consumo por tipo de resíduo plástico (ton/ano) em cada região do Brasil	30
Tabela 3 - Razão amilose/amilopectina de amidos comerciais	37
Tabela 4 – Propriedades de grande interesse industrial da goma xantana.....	46
Tabela 5 – Aplicações funcionais da goma xantana na indústria de alimentos.....	47
Tabela 6 – Aplicações funcionais da goma xantana na indústria farmacêutica e de cosméticos	48
Tabela 7 - Composição da palha de milho	61
Tabela 8 - Condições de hidrólise com H ₂ SO ₄ utilizadas para a obtenção de <i>nanowhiskers</i> a partir da celulose de diferentes fontes de fibras naturais.....	65
Tabela 9 - Composição química (%) de biopolímeros produzidos por diferentes cepas de <i>Xanthomonas</i>	79
Tabela 10 - Aplicações da técnica termogravimétrica (TGA).....	81
Tabela 11 - Regiões espectrais do infravermelho.....	85
Tabela 12 – Dimensões médias de <i>nanowhiskers</i> originados de diferentes fontes lignocelulósicas	87
Tabela 13 – Planejamento fatorial para avaliar a influência de variáveis independentes sobre a as respostas.....	117
Tabela 14 – Matriz do planejamento experimental composta pelas variáveis amido (X ₁), glicerol (X ₂), goma xantana (X ₃) e <i>nanowhiskers</i> (X ₄) e seus respectivos níveis em valores reais e codificados.....	120
Tabela 15 - Caracterização físico-química da GRB utilizada como substrato fermentativo alternativo para a produção de goma xantana	134
Tabela 16 - Matriz do planejamento fatorial (valores codificados e reais) com as respostas produção de xantana e viscosidade aparente após 120 h de fermentação com a <i>X. campestris</i> cepa 2103 em biorreator de 4,5 L	136
Tabela 17 - Parâmetros reológicos mostrando a pseudoplasticidade da xantana sintetizada pela <i>Xanthomonas</i> cepa 2103 e GRB como substrato.....	139
Tabela 18 - Tempos de retenção dos padrões de dextranas de diferentes massas moleculares obtidas por GPC CLAE-IR	144

Tabela 19 - Valores do tempo de retenção (Tr), das massas moleculares médias (MM), dos limites de distribuição de massas moleculares (LDMM) e das viscosidades aparente (μ) de gomas xantana padrão e produzidas a partir de GRB	146
Tabela 20 - Equação da reta e R^2 obtidos para as diferentes curvas de calibração dos padrões de açúcares e ácidos urônicos	147
Tabela 21 – Concentração dos açúcares e ácidos urônicos das gomas sintetizadas com a cepa 2103 e GRB.....	150
Tabela 22 – Evento térmico, intervalos de temperatura e porcentagens de perda de massa (Δm) referentes às gomas dos sete ensaios do planejamento fatorial, a goma xantana padrão (Sigma) e a GRB.....	156
Tabela 23 – Principais constituintes da palha de milho, do sabugo de milho e da torta de palmiste.....	158
Tabela 24 - Índice de cristalinidade (%) da palha de milho, polpa de celulose e <i>nanowhiskers</i>	162
Tabela 25 - Dimensões dos <i>nanowhiskers</i> preparados por hidrólise ácida determinada a partir de imagens de TEM	167
Tabela 26 - Composição do amido de mandioca.....	169
Tabela 27 - Intervalos de temperaturas de desidratação e de decomposição, temperaturas de pico e perdas de massa obtidas por TGA do amido de mandioca	174
Tabela 28 - Parâmetros de gelatinização do amido de mandioca.....	175
Tabela 29 - Efeito da temperatura no índice de solubilidade do amido de mandioca (%).....	177
Tabela 30 – Efeito da temperatura no poder de inchamento do amido de mandioca (g H ₂ O/g amido base seca).....	177
Tabela 31 – Médias (\pm desvio padrão) das análises de caracterização das formulações dos filmes e controle (C). E (espessura - mm); aw (atividade de água); U (Umidade - %), PVA (permeabilidade ao vapor de água – g/Pa.s.m) e TPVA, (taxa de permeabilidade ao vapor de água - g/dia.m ²), S (solubilidade - %) e SW (grau de intumescimento - g água/g sólidos secos).....	182
Tabela 32 – Equações do modelo e coeficientes de determinação (R^2) para a atividade de água (aw) e permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos bionanocompósitos a 99 % de confiança, X ₁ = Amido de mandioca, X ₂ = Glicerol e X ₃ = Goma xantana e X ₄ = <i>Nanowhiskers</i>	186

Tabela 33 - Médias (\pm desvio padrão) das análises de propriedades mecânicas das diferentes formulações e controle. σ (tensão máxima- MPa); ϵ (Deformação - %); E (Módulo de elasticidade - MPa)	195
Tabela 34 – Equações do modelo e coeficientes de determinação (R^2) para a tensão (σ) e deformação na ruptura (ϵ) dos bionanocompósitos a 99 % de confiança, X_1 = Amido de mandioca, X_2 = Glicerol e X_3 = Goma xantana e X_4 = <i>Nanowhiskers</i>	199
Tabela 35 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , ΔE do controle e dos filmes a base de amido de mandioca elaborados pelo método <i>casting</i> incorporados de glicerol, goma xantana e <i>nanowhiskers</i>	205

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Esta última década foi importante para a conscientização das pessoas sobre os danos que o uso indiscriminado dos recursos pode causar ao meio ambiente, levando o consumidor a assumir uma atitude mais crítica em relação às suas opções de consumo. Características de produtos, que até há pouco tempo não eram consideradas essenciais no processo de escolha, passaram a representar um peso na percepção das pessoas em seus atos de compra, favorecendo produtos com características de preservação ambiental, isto é, biodegradáveis, não-tóxicos, feitos com matéria-prima reciclada, entre outras (BONA, 2007).

Desta forma, tratar o lixo sólido, cujos resíduos poliméricos pertencem, significa reduzir seus impactos negativos no meio ambiente e também induzir a população a perceber e questionar a maneira mais correta de usufruir do meio em que vive. Contudo, mesmo em pequena escala, as soluções devem ser buscadas.

Os polímeros biodegradáveis têm despertado enorme interesse, pois incorporam a filosofia do “design verde” e representam uma alternativa real para substituir os polímeros não-biodegradáveis principalmente em aplicações de curto prazo (DARDER et al., 2007). Por definição, polímeros biodegradáveis são aqueles que sofrem cisão em cadeia, induzida por microrganismos, em condições específicas de pH, umidade, oxigenação e presença de metais, levando a uma completa mineralização (AVELLA et al., 2005). Dentre as características mais atrativas destes polímeros destacam-se as funcionalidades químicas variadas, abundância em alguns casos, biocompatibilidade, ausência de componentes tóxicos durante a sua obtenção e durante os processos de compostagem e, em algum dos casos, completa bioassimilação (VELDE e KIEKENS, 2002). Adicionalmente, o uso de polímeros prontamente oferecidos pelo meio ambiente, a exemplo dos polissacarídeos, para o desenvolvimento de novos materiais apresenta a vantagem adicional de se basear em matérias-primas que podem ser facilmente re-inseridas nos ciclos biogeoquímicos da natureza (CHANDRA e RUSTGI, 1998; GROSS e KALRA, 2002).

Um polímero biodegradável de fonte renovável com grande potencial de aproveitamento é o amido. O amido/fécula é reserva de alimentos de plantas como

mandioca, milho, arroz, batata, entre outras; ele é encontrado abundantemente na natureza graças ao cultivo extensivo e intensivo de cereais, é renovável, possui custo relativamente baixo, é um importante segmento da economia e pode ser convertido química, física e biologicamente em compostos úteis à indústria. O amido, sob temperatura e na presença de um agente plastificante, pode ser gelatinizado e se transformar em filmes biodegradáveis e comestíveis, tornando-se uma alternativa mais viável economicamente às resinas tradicionais (MOTA, 2009).

Dentre os vários tipos de amido utilizados na preparação de filmes está o de amido de mandioca, preparados por gelatinização, que ocorre com aquecimento entre 60° - 70 °C, seguido do resfriamento, e a retrogradação, com conseqüente formação de um filme transparente, com alto brilho, atóxico e de baixo custo (HENRIQUE e CEREDA, 1999). Tais filmes possuem moderada permeabilidade ao oxigênio, baixa barreira à umidade, baixa resistência mecânica e adquirem propriedades termoplásticas quando adicionado plastificantes, como a água e/ou glicerol entre outros (VEIGA e DRUZIAN, 2007, SILVA, 2013). Existem várias estratégias para melhorar as propriedades, principalmente mecânicas e, em alguns casos, de barreira dos filmes biodegradáveis, entre elas, o uso de hidrocolóides e a adição de nanocargas (OLABARRIETA, 2005).

Os hidrocolóides representam uma nova fronteira a ser explorada na busca por materiais biodegradáveis de alta eficiência. Dentre estes hidrocolóides, a goma xantana, um exopolissacarídeo produzido por fermentação aeróbica do microrganismo *Xanthomonas campestris*, se destaca por sua grande aplicabilidade nas indústrias de alimentos, medicamentos e cosméticos devido às suas excelentes propriedades e relativa facilidade de produção (GARCIA-OCHOA et al., 2000). Embora poucos estudos tenham sido realizados empregando a xantana como principal matéria-prima ou como coadjuvante na produção de filmes de amido, de acordo com Soares et al (2005) o uso de blendas de amido e goma xantana para produção de filmes biodegradáveis é promissor e necessita ser investigado. Em geral, a adição de gomas aumenta a viscosidade de sistemas contendo amido, afetando também sua gelatinização e retrogradação (WANG et al., 2001; MANDALA e BAYAS, 2004; VEIGA-SANTOS et al., 2005; ACHAYUTHAKAN e SUPHANTHARIKA, 2008), reduz o envelhecimento e a cristalização (YOSHIMURA et al., 1999) e ajuda a manter as propriedades reológicas de pastas de amido após congelamento (NAVARRO et al., 1995). Além disso, a goma xantana apresenta aplicação aprovada e comprovada como ingrediente de

alimentos e componente da formulação de medicamentos (KATZBAUER, 1998), o que faz da xantana um bom candidato para a produção de filmes biodegradáveis e comestíveis (CHEN e NUSSINOVITCH, 2000).

As principais matérias-primas para a produção de goma xantana são glicose e sacarose. O Brasil dispõe ainda de inúmeras fontes de biomassas fermentáveis que podem ser usadas como substrato alternativo na produção deste biopolímero por fermentação, como a glicerina bruta residual do biodiesel, que quando convenientemente suplementada com sais e nutrientes (geralmente uma fonte de nitrogênio e fósforo), torna-se uma nova alternativa de uso desse co-produto e uma nova fonte de renda para o setor (BRANDÃO et al., 2008; PADILHA et al., 2010).

Os biomateriais resultantes da incorporação de nanomateriais biodegradáveis passam a receber o nome de bionanocompósitos. Entre os nanomateriais mais estudados destacam-se as nanofibras/nanocristais/*nanowhiskers* de celulose que são nanopartículas com alto grau de cristalinidade, alta área específica, e podem ser obtidos de diferentes fontes de fibras lignocelulósicas de alta disponibilidade, mantendo, portanto a biodegradabilidade do material, além do reforço mecânico. Suas propriedades de dimensões e cristalinidades dependem da fonte de celulose e do método de preparação (LIMA et al., 2003; LIMA e BORSALI, 2004; SILVA, 2013).

Em se tratando de matéria-prima renovável e em abundância no Brasil, a palha de milho é, sem sombra de dúvidas, um dos mais importantes segmentos da agroindústria nacional, com produção anual de aproximadamente 68 milhões de toneladas (temporada 2011/12) e projeções que indicam um aumento de 12,7 milhões de toneladas até a safra de 2020/2021 (CONAB, 2013). No desenvolvimento de materiais totalmente biodegradáveis, a palha de milho se torna uma alternativa interessante em pesquisas objetivando a obtenção de *nanowhiskers* de celulose a serem utilizados como reforço em bionanocompósitos.

Com o intuito de desenvolver e melhorar às deficiências nas propriedades de filmes a base de amido de mandioca foram elaborados filmes flexíveis bionanocompósitos (amido de mandioca/plastificante/goma xantana/*nanowhiskers*) por *casting*. Em uma primeira etapa, a goma xantana, produzida a partir da glicerina residual do biodiesel, e os *nanowhiskers*, obtidos da palha de milho foram caracterizados.

1.1. Contribuição do Trabalho

Com uma alternativa aos polímeros não-biodegradáveis espera-se contribuir para a validação dos processos laboratoriais já existentes, bem como ampliar o conhecimento de técnicas para elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis. Pretende-se também produzir e caracterizar a goma xantana obtida a partir da glicerina residual do biodiesel, favorecendo assim o surgimento de uma nova aplicação para esse resíduo e atenuando o impacto causado pela crescente produção de biodiesel. Com o intuito de melhorar às deficiências nas propriedades mecânicas dos filmes a base de amido de mandioca, a palha de milho será utilizada na obtenção de *nanowhiskers* de celulose. Dessa forma é possível oferecer um destino viável para esse resíduo que, além é triturado para alimentação de animais, é utilizado como cobertura em solo após a colheita mecanizada, na qual, em excesso, pode causar sérios problemas de pragas que proliferam em ambientes úmidos e desprotegidos (EMBRAPA, 2012).

Plásticos biodegradáveis e compostáveis, especialmente àqueles baseados em fontes renováveis provenientes da agricultura ou da indústria, constituem uma inovação essencial para o nosso futuro. Estas inovações oferecem impulsos substanciais para o desenvolvimento das futuras tecnologias (LÖRCKS, 1998). De acordo com a norma padrão DIN 54900 (“*Prüfung der Kompostierbarkeit von polymeren Werkstoffen*”), Alemanha, cujo significado é “Testes de Compostabilidade de Materiais Poliméricos”, os bioplásticos, provenientes de amido, são completamente biodegradáveis e compostáveis. Portanto, a inovação de tecnologias bioplásticas é um excelente exemplo para o desenvolvimento sustentável, com o uso de maneira responsável de fontes naturais disponíveis e processos de produção com ênfase nos aspectos ambientais e naturais.

1.2. Objetivos

Geral

Preparar filmes flexíveis formulados pela incorporação de goma xantana, produzida a partir da glicerina residual do biodiesel (GRB), e *nanowhiskers* de palha de milho a uma matriz polimérica de amido de mandioca plastificada com glicerol, assim como, avaliar a eficácia da incorporação do biopolímero e do aditivo de reforço através das propriedades mecânicas, óticas, térmicas e de barreira dos bionanocompósitos resultantes.

Específicos

- Estudar as condições de processo fermentativo para obtenção do biopolímero goma xantana em biorreator de 4,5L.
- Caracterizar a goma xantana obtida a partir da glicerina residual do biodiesel (GRB).
- Preparar e caracterizar *nanowhiskers* de polpa de celulose extraídos da palha de milho por hidrólise ácida, para utilizar como reforço mecânico de filmes flexíveis.
- Desenvolver bionanocompósitos (filmes flexíveis) de *nanowhiskers* com o referido biopolímero utilizando como plastificante o glicerol.
- Avaliar as propriedades mecânicas, óticas, térmicas e de barreira do biomaterial resultante desta pesquisa.

Referências

- ACHAYUTHAKAN, P.; SUPHANTHARIKA, M. Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers*, v.71, p. 9 - 17, 2008.
- AVELLA, M.; DE VLIENER, J. J.; ERRICO, M. E. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chemistry*, v. 93, p. 467-474, 2005.
- BONA, J. C. Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Florianópolis, Florianópolis – SC, 2007.
- BRANDÃO, L. V.; NERY, T. B. R.; MACHADO, B. A. S.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Produção de goma xantana obtida a partir do caldo de cana. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 217-222, 2008.
- CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Progress in Polymers Science*, v. 23, p. 1273-1335, 1998.
- CHEN, S.; NUSSINOVITCH, A. The role of xanthan gum in traditional coatings of easy peelers. *Food Hydrocolloids*, v. 14, p. 319 - 326, 2000.
- CONAB. Política agrícola. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/politica_agricola/Safra/Quadro17.xls> Acesso em: 20 jul. 2013.
- DARDER, M.; ARANDA, P.; RUIZ-HITZKY, E. Bionanocomposites: a new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials, *Advanced Materials*, v. 19, p. 1309-1319, 2007.
- EMBRAPA - Milho e sorgo. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/unidade/unidade>> Acesso em: 19 ago. 2012.
- GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, v. 18, p. 549-579, 2000.
- GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable polymers for the environment, *Science*, v. 803, p. 297, 2002.
- HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P. Utilização de biofilmes na conservação pós colheita demorando (Fragaria ananassa Duch). *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 2, p.231-240, 1999.
- KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 81 – 84, 1998.
- LIMA, D. U.; OLIVEIRA, R. C.; BUCKERIDGE, M. S. Seed storage hemicelluloses as wet-end additives in papermaking. *Carbohydrate polymers*, v. 52, p. 367-373, 2003.

LIMA, M. S.; BORSALI, R. Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, Properties, and Applications. *Macromolecules*, v. 25, p. 771–787, 2004.

LÖRCKS, J. Properties and applications of compostable starch-based plastic material. *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 245-249, 1998.

MANDALA, I. G.; BAYAS, E. Xanthan effect on swelling, solubility and viscosity of wheat starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, v. 18, p. 191 – 201, 2004.

MOTA, R. D. P. Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de fruto-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hill). Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares), Programa de Pós-Graduação em Ciências Moleculares, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis – GO, 2009.

NAVARRO, A. S.; MARTINO, M. N.; ZARITZCKY, N. E. Effects of freezing rate on rheological behavior of systems based on starch and lipid phase. *Journal of Food Engineering*, v. 26, p. 481 – 495, 1995.

OLABARRIETA, I. Strategies to improve the aging, barrier and mechanical properties of chitosan, whey and wheat gluten protein films. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) - Department of Fibre and Polymer Technology, Royal Institute of Technology, Stockholm, 2005.

PADILHA, F.F.; REIS, E.C.; ALMEIDA, M.; PEREIRA, M. A.; OLIVEIRA, C. B. Z.; VENCESLAU, E. M.; DRUZIAN, J. I.; MARIANO, R. Biopolymer synthesized by strains *Xanthomonas* sp isolate from Brazil using biodiesel-waste. *Macromol. Symp.*, v. 296, p. 347–353, 2010.

SILVA, J. B. A. Preparação e caracterização de filmes flexíveis de amido e de pbat/amido termoplástico reforçados com *nanowhiskers* por *casting* e extrusão. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2013.

SOARES, R.; LIMA, R.; OLIVEIRA, R.; PIRES, A.; SOLDI, V. Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources. *Polymer Degradation and Stability*, v. 90, p. 449 - 454, 2005.

VEIGA, P. S.; DRUZIAN, J. I. Absorvedores de umidade/antiembaçantes biodegradáveis à base de amido/fécula para serem aplicados em produtos de higiene pessoal, alimentícios ou farmacêuticos. INPI: PI 022070741371-8, 2007.

VEIGA-SANTOS, P., OLIVEIRA, L., CEREDA, M., ALVES, A., SCAMPARINI, A. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, v. 19, p. 341 – 349, 2005.

VELDE, K. V.; KIEKENS, P. Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. *Polymers Testing*, v. 21, p. 433 - 442, 2002.

WANG, F.; SUN, Z.; WANG, Y.J. Study of xanthan gum/waxy corn starch interaction by viscometry. *Food Hydrocolloids*, v. 15, p. 575 – 581, 2001.

YOSHIMURA, M; TAKAYA, T.; NISHINARI, K. Effects of xyloglucan on the gelatinization and retrogradation of corn starch studied by rheology and differential scanning calorimetry. *Food Hydrocolloids*, v.13, n. 2, p.101 - 111, 1999.

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo está dividido em seções visando uma pequena fundamentação teórica dos principais componentes deste trabalho e conseqüentemente uma revisão bibliográfica da literatura. Esses componentes incluem o amido/fécula de mandioca, o glicerol, a goma xantana e o *nanowhiskers* de celulose. Desta maneira, primeiramente são apresentados um panorama sobre o tema, bem como conceitos básicos sobre polímeros sintéticos e suas classificações, e polímeros biodegradáveis. Em seguida, a matriz amido/fécula de mandioca, o plastificante, a goma xantana e os *nanowhiskers* de celulose são apresentados e posteriormente a fabricação dos filmes biodegradáveis, com ênfase no processo de *casting*. Finalmente, são apresentadas as principais análises para a caracterização destes materiais.

1. Introdução

Os plásticos são usados em grande escala na produção de embalagens, principalmente de produtos alimentícios e utensílios domésticos, além de suas aplicações científico-tecnológicas. A popularização dos plásticos se deve, basicamente, ao seu baixo custo de produção, elevada resistência e a possibilidade de seu uso na fabricação de peças nas mais variadas formas, cores e tamanhos. Desta maneira, observa-se atualmente que é comum encontrarmos peças de plásticos, as quais inicialmente eram produzidas por outros materiais, como metal e vidro, por exemplo. Essas peças, quando devidamente projetadas e confeccionadas, cumprem seu papel nos mercados e na maioria das vezes apresentando um desempenho superior ao material antes utilizado. A utilização dos plásticos tornou-se determinante nas indústrias, principalmente devido as suas propriedades mecânicas e ao seu poder de substituição em diversos segmentos das áreas tecnológicas. Apesar dos plásticos propiciarem várias vantagens, alguns inconvenientes também surgiram com a sua utilização. Os mesmos levam muito tempo para se degradarem, permanecendo praticamente intactos ao longo dos anos, causando problemas ambientais. Iniciativas para a solução deste problema têm

sido buscadas, entre elas a reciclagem dos plásticos ou a sua utilização como fonte alternativa de energia, através da combustão.

As Tabelas 1 e 2 apresentam os números relativos à geração dos principais plásticos pós-consumo em cada região do Brasil em toneladas/ano e seus correspondentes valores de reciclagens, respectivamente, de acordo com MaxiQuim Assessoria de Mercado (2011).

Tabela 1. Geração de plásticos pós-consumo (ton/ano) em cada região do Brasil.

Tipo de resíduo plástico	Centro-Oeste	Norte	Nordeste	Sul	Sudeste	Brasil
PET ¹	24.979	22.903	84.953	59.747	187.816	380.398
PEAD ²	24.714	22.660	84.053	59.113	185.824	376.364
PVC ³	6.772	6.209	23.030	16.197	50.916	103.124
PEBD/PELBD ⁴	39.851	36.539	135.534	95.320	299.641	606.885
PP ⁵	32.935	30.197	112.012	78.777	247.637	501.558
PS ⁶	8.807	8.075	29.952	21.065	66.217	134.116
Outros tipos	4.948	4.537	16.829	11.836	37.207	75.357
Total	143.006	131.120	486.363	342.055	1.075.258	2.177.802

¹Politereftalato de etileno; ²Polietileno de alta densidade; ³Policloreto de polivinila; ⁴Polietileno de baixa densidade; ⁵Polipropileno; ⁶Poliestireno.

Tabela 2. Reciclagem de plástico pós-consumo por tipo de resíduo plástico (ton/ano) em cada região do Brasil.

Tipo de resíduo plástico	Centro-Oeste	Norte	Nordeste	Sul	Sudeste	Brasil
PET ¹	0	0	23.221	37.472	88.615	149.308
PEAD ²	3.742	0	10.817	14.177	33.871	62.607
PVC ³	0	0	4.903	4.669	7.481	17.053
PEBD/PELBD ⁴	3.575	0	5.796	24.198	46.272	79.841
PP ⁵	1.618	0	7.480	5.383	26.558	41.039
PS ⁶	0	0	0	2.753	3.550	6.303
Outros tipos	0	0	0	925	2.058	2.983
Total	8.935	0	52.217	89.577	208.405	359.134

¹Politereftalato de etileno; ²Polietileno de alta densidade; ³Policloreto de polivinila; ⁴Polietileno de baixa densidade; ⁵Polipropileno; ⁶Poliestireno.

Nas Tabelas acima pode-se constatar que o polietileno de baixa densidade é o plástico mais consumido em todo o país, independente da região. Porém, o mesmo não possui os maiores índices de reciclagem.

2. Polímeros

Quando as moléculas tornam-se muito grandes, contendo um número de átomos encadeados superior a uma centena e podendo atingir valor ilimitado, as suas propriedades ganham características próprias e se chamam macromoléculas de elevadas massas moleculares, podendo ou não ter unidades químicas repetidas. Quando a macromolécula é composta por unidades relativamente simples repetidas várias vezes, ela é denominada polímero. Portanto, os polímeros são macromoléculas caracterizadas por seu tamanho, estrutura química e interações intra e intermoleculares (MANO, 1999). Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), um polímero é definido como “uma substância composta de moléculas caracterizadas por uma repetição múltipla de uma ou mais espécies de átomos ou grupos de átomos (unidade constitucional), ligadas umas nas outras em quantidades suficientes fornecendo um conjunto de propriedades, que não variam com a adição ou remoção de uma ou algumas das unidades constitucionais”. Segundo Canevarolo (2004), o polímero é uma macromolécula composta por muitas (dezenas de milhares) unidades de repetição denominados meros, ligadas por ligações covalentes.

O monômero é a matéria-prima para a produção de um polímero. Nem todos os compostos de baixa massa molar geram polímeros, é necessário que cada monômero se combine com outros dois monômeros, no mínimo, para ocorrer à reação de polimerização (LAROTONDA, 2002).

De acordo com o comportamento mecânico, os materiais poliméricos podem ser divididos em três grandes grupos (BILLMEYER, 1984):

- As borrachas ou elastômeros são materiais que apresentam elasticidade em longa faixa à temperatura ambiente. Para apresentar esta característica, os elastômeros normalmente possuem cadeias flexíveis amarradas umas às outras, com baixa densidade de ligação cruzada.
- Os plásticos são materiais macromoleculares orgânicos usualmente tendo por base resinas sintéticas ou polímeros naturais modificados que, embora sólidos no estado final, em algum estágio de seu processamento podem tornar-se fluidos e moldáveis por ação isolada ou conjunta de calor e pressão.
- As fibras englobam macromoléculas lineares orientáveis longitudinalmente, com estreita faixa de extensibilidade, parcialmente reversíveis, termoestáveis, infusíveis em alguns casos e sem alteração substancial das propriedades mecânicas.

Através das características tecnológicas de fusão e/ou de solubilidade, os plásticos podem ser agrupados em:

- Termoplásticos que fundem por aquecimento e solidificam por resfriamento em um processo reversível e podem sofrer processo de extrusão, laminação e injeção caracterizando os polímeros lineares ou ramificados. Eles estão sujeitos a um grau de degradação química que limita o número de reciclagens. São exemplos: polietileno (PE), poliestireno (PS), poliamida (nylon), etc.
- Termorrígidos ou termofixos que fundem por aquecimento, porém sofrem reação química que causa a formação de ligações cruzadas intermoleculares, resultando numa estrutura reticulada, infusível e insolúvel. Não permitem reprocessamento, pois seu formato não pode ser modificado. São exemplos: baquelite (resina de fenol-formaldeído), resina epóxi (araldite), etc.
- Baroplásticos que com aumento da pressão e da temperatura, fluem através de rearranjos em sua conformação. O estado físico deve ser borrachoso.

Os materiais termorrígidos geralmente apresentam melhor resistência à temperatura, estabilidade dimensional, resistência química e propriedades elétricas superiores às dos termoplásticos. Entretanto, seus processos de moldagem são mais caros que aqueles aplicados para os termoplásticos (BLASS, 1988 apud MOTA, 2009).

Os plásticos convencionais podem sofrer “retrabalho” após sua utilização, aproveitando as embalagens usadas como matéria-prima para novos artefatos. A reciclagem envolve processos tecnológicos complexos e uma adequada separação dos diversos tipos de plásticos para o seu encaminhamento para as diferentes linhas de processamento (LEITE et al., 1999; MOURA, 2013).

O sucesso na reciclagem de materiais de embalagem está relacionado com fatores culturais, políticos e sócio-econômicos da população. A implementação de empresas recicladoras, a existência de programas de coleta seletiva, o desenvolvimento de tecnologias e equipamentos compatíveis, os programas de fomento para projetos de reciclagem, a redução de tributação ou isenção fiscal para a comercialização de produtos reciclados e outros (FORLIN e FARIA, 2002).

Há duas décadas, uma classe de polímeros começou a receber atenção especial devido as suas potenciais aplicações em campos relacionados com a vida humana, como a proteção ambiental e a preservação da saúde física (CHANDRA e RUSTGI, 1998). Esta nova categoria chama-se polímeros biodegradáveis. A preocupação com o meio ambiente é uma rota sem retorno, mesmo porque dela depende a humanidade e,

estimando que o petróleo é um bem finito, surge um novo campo com perspectivas incalculáveis de produção. E neste cenário o Brasil tem posição privilegiada como produtor de polímeros biodegradáveis (MOURA, 2013).

3. Polímeros biodegradáveis

O termo biodegradável significa a capacidade de um material se decompor em dióxido de carbono, metano (meio anaeróbio), água (meio aeróbio) ou compostos inorgânicos pela ação de microrganismos (AVÉROUS, 2004).

Os polímeros biodegradáveis podem ser classificados como naturais e sintéticos. Os polímeros naturais ou biopolímeros são formados na natureza durante o ciclo de alguns organismos envolvendo processos catalisados por enzimas e crescimento das cadeias por reações de polimerização, já os polímeros sintéticos podem sofrer hidrólise de sua cadeia principal, tais como poliésteres, policaprolactonas, poliamidas, pouretanas, poliuréias e polianidridos, dentre outros (CHANDRA e RUSTGI, 1998).

Existem alternativas utilizadas para os polímeros serem biodegradáveis: são as modificações na estrutura dos polímeros originais, como por exemplo, a inclusão de grupos funcionais na cadeia principal, especialmente grupo éster e carbonila os quais podem sofrer, respectivamente, clivagem da cadeia por hidrólise química e clivagem por reações fotoquímicas. Outra alternativa é adicionar polímeros biodegradáveis aos sintéticos, para que os primeiros sejam degradados por microrganismos, e o segundo fique mais exposto e acelere sua degradação (LAROTONDA, 2002) .

Os polímeros biodegradáveis variam na sua taxa de degradação no meio ambiente e podem ser classificados de acordo com o método de produção, como mostrado na Figura 1.

Os polímeros biodegradáveis foram desenvolvidos para serem empregados em indústrias de embalagens, em setores agrícolas e de liberação de fármacos, pois não requerem alta resistência mecânica. Porém os polímeros biodegradáveis possuem desempenho mecânico limitado e alto custo quando comparados com os polímeros não biodegradáveis (o preço gira em torno de 5 a 8 dólares o quilo, enquanto que o quilo de um polímero convencional custa, em média, 1 dólar). Isto se deve à produção pequena e não ao custo do material bruto (MOURA, 2013). Uma exceção a esta limitação é o amido, o qual apresenta alta disponibilidade e renovabilidade. O amido, quando convertido em um material termoplástico (TPS), mantém seu caráter biodegradável e

constitui uma interessante alternativa para polímeros sintéticos onde longos períodos de usos não se fazem necessários (TEIXEIRA, 2007). Este polímero é relativamente barato e pode ser obtido no mercado com propriedades e custos bem definidos, sendo por esse motivo um dos materiais biodegradáveis que tem recebido maior atenção por parte do meio acadêmico e do setor industrial. A elaboração de amido termoplástico (TPS) tem sido considerada como uma das opções mais econômicas para a produção de plásticos biodegradáveis (JACOB, 2006).

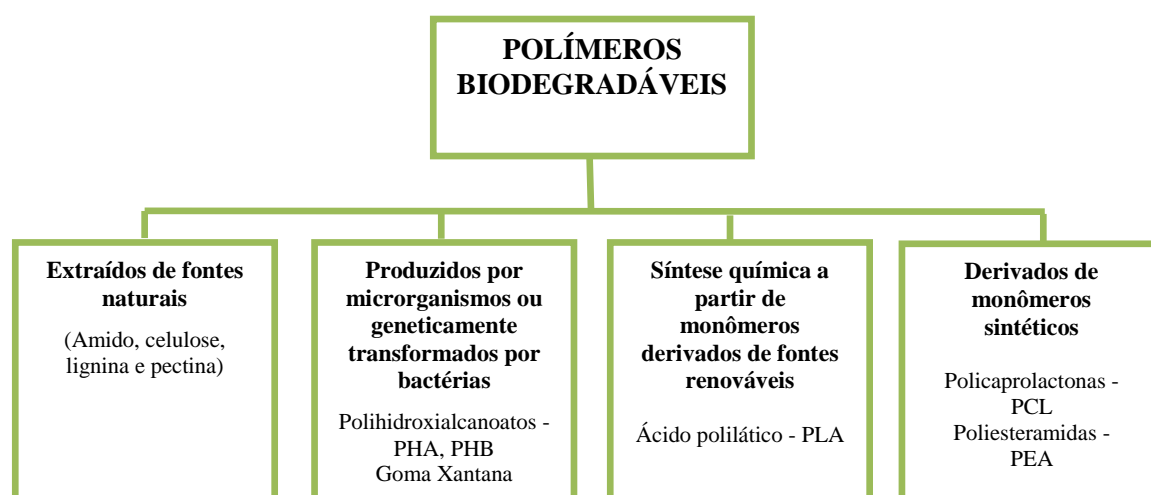


Figura 1. Classificação de polímeros biodegradáveis.
Fonte: AVÉROUS (2004).

A degradação de polímeros expostos ao ambiente pode acontecer por uma das rotas abaixo, ou uma combinação delas (INNOCENTINI e MARIANI, 2005).

a) Biodegradação ou degradação microbiana: ocorre através de enzimas, produzidas por microrganismos, que degradam o polímero em meio aeróbio ou anaeróbio. Se a remoção do polímero do ambiente for completa, sem gerar resíduos tóxicos, ele será considerado 100% biodegradável.

b) Fotodegradação: acontece através da incidência de luz UV do sol no material. A fotodegradabilidade pode ser aumentada pela incorporação de grupos fotoativos na cadeia polimérica (vinil cetonas e monóxido de carbono) ou por aditivos fotoativos. A fotodegradação tem por bem facilitar a biodegradação por incentivar a formação de grupos oxigenados e reduzir a massa molar das cadeias a pequenos fragmentos que podem ser posteriormente biodegradados pelos microrganismos presentes no meio.

c) Erosão ou desgaste ambiental: pode ser promovido pelas variáveis climáticas como correntes de vento, chuvas e temperatura. Também pode ocorrer por ação de alguns invertebrados e insetos, tais como caracóis e lesmas que povoam os jardins. A

biodegradação posterior destes fragmentos será muito importante para a sua incorporação no ciclo de vida natural.

d) Degradação química: ataque do polímero por aditivos presentes na sua formulação, como os antioxidantes que promovem reações que levam à deterioração do material. Em tais casos, oxidação de duplas ligações, presentes em ácidos graxos insaturados, óleos e borrachas de baixa massa molecular, produzem peróxidos os quais se decompõem em radicais altamente reativos. Estes atacam as cadeias e produzem fragmentos menores, que posteriormente poderão sofrer biodegradação em ambiente adequado.

De modo geral, qualquer uma das rotas de degradação acima descritas, ou uma combinação destas, pode ocorrer e contribuir para a degradação de um polímero.

A Figura 2 mostra uma representação esquemática da degradação de uma cadeia polimérica.

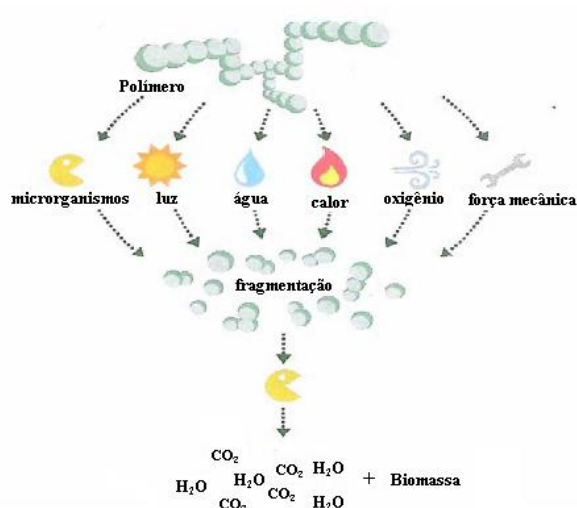


Figura 2. Representação esquemática da degradação de uma cadeia polimérica.

Fonte: INNOCENTINI e MARIANI (2005).

4. Amido como formador de filme

Pela legislação brasileira (BRASIL, 1978), denomina-se amido a fração amilácea encontrada em órgãos aéreos como grãos e frutas, e fécula, a fração amilácea encontrada em órgãos subterrâneos como raízes e tubérculos. A diferenciação não ocorre na composição química, mas sim na origem do produto e em propriedades funcionais e tecnológicas (VEIGA et al.,1994).

O amido/fécula é o principal carboidrato de reserva em todas as plantas superiores sendo armazenado sob a forma de grânulos, os quais apresentam um certo grau de organização molecular, que lhes confere um caráter parcialmente cristalino ou semicristalino (YOUNG, 1984).

Existem amidos derivados do milho, arroz, batata, mandioca, feijão, trigo, e várias outras fontes. Os diferentes amidos, que são biossintetizados e estocados pelas plantas na forma de grânulos de tamanhos variáveis, apresentam propriedades diferentes e são utilizados na indústria de alimentos com diferentes propósitos, tais como nutricional, tecnológico, funcional e estético (NELSON e LENHINGER, 2006).

O amido é constituído por dois tipos de polímeros de glicose: amilose, essencialmente sem ramificações, formada por unidades de anidroglicose unidas por ligações α -(1 \rightarrow 4) e a amilopectina, formada por unidades de anidroglicose também unidas umas as outras por ligações α -(1 \rightarrow 4). Ela se distingue da amilose por apresentar cerca de 4-5 % das unidades de anidroglicose unidas entre si por ligações α -(1 \rightarrow 6), resultando num polímero ramificado em cadeia contínua, conforme mostrado na Figura 3 (BOBBIO e BOBBIO, 1995; BULÉON et al., 1998; DA RÓZ et al., 2001; PERONI, 2003).

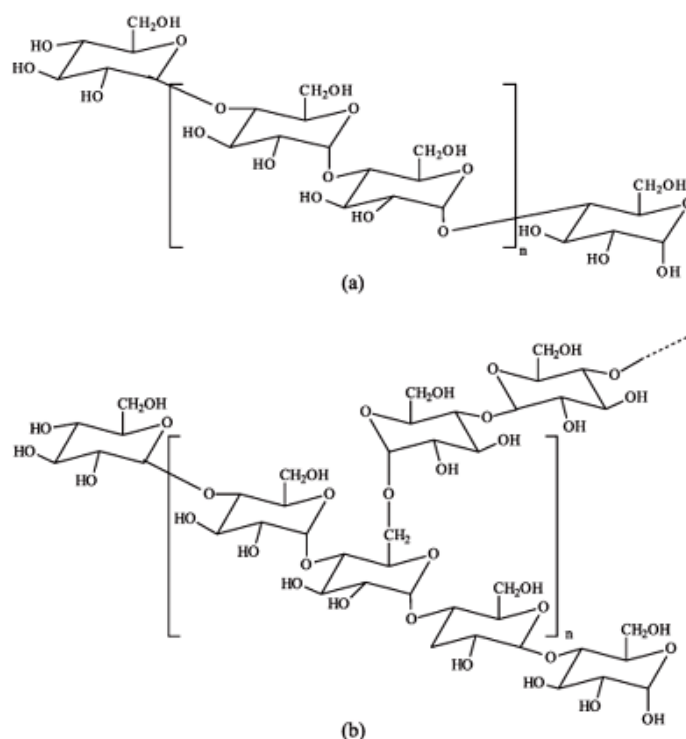


Figura 3. Cadeias de (a) amilose e (b) amilopectina que formam o amido.

Fonte: CORRADINI et al. (2005).

O amido deve muito de sua funcionalidade às duas macromoléculas que o compõem, assim como à organização física das mesmas dentro da estrutura granular (BELLO-PÉREZ et al., 2006). As propriedades dos amidos são únicas para cada fonte botânica. Muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de clarear a relação entre as características estruturais do amido e suas propriedades físico-químicas (PARKER e RING; 2001; MATSUGUMA, 2006; DA MATTA JR et al., 2011).

Amidos de diferentes fontes diferem em suas propriedades estruturais e químicas, no conteúdo de água e na razão amilose/amilopectina. Em geral, a amilose compõe 20-30 % em peso do grânulo, e a amilopectina 70-80 % (CHANDRA e RUSTGI, 1998). O amido de mandioca apresenta teores em torno de 17-18 % de amilose (SARMENTO, 1997; DEFLOOR et al., 1998) e 82-83% de amilopectina (MAMADOU, 1994). A Tabela 3 mostra a composição para diversas fontes comerciais de amido, no que diz respeito à razão amilose/amilopectina.

Tabela 3. Razão amilose/amilopectina de amidos comerciais.

Fonte de Amido	% Amilose	% Amilopectina
Arroz	30	70
Batata	20	80
Mandioca	17	83
Milho	27	73
Trigo	25	75
Waxy	0 - 1	99 - 100

Fonte: IQSC (2011)

Lipídios, proteínas e minerais também estão presentes nos grânulos de amido em pequenas quantidades e são geralmente denominados “constituintes menores” (BULÉON et al., 1998). A presença desses constituintes resulta de uma deficiência da purificação do amido durante o processo industrial de extração e, mesmo em pequenas quantidades, desempenham um importante papel nas propriedades físico-químicas e tecnológicas do amido (JAYAKODY, 2001; YONEMOTO, 2006). É importante que a matéria-prima apresente baixos teores destes constituintes e alto teor de amido, porque alguns componentes, como as fibras, podem interferir no processo de extração do amido, alterando o rendimento final e contaminando o produto (PERONI, 2003).

O arranjo estrutural destas macromoléculas permite a formação de áreas cristalinas e amorfas nos grânulos. As áreas cristalinas mantêm a estrutura dos grânulos, controlam o seu comportamento na água e os tornam relativamente resistentes ao ataque enzimático e químico (BILIADERIS, 1991). Quando uma dispersão de amido é

aquecida, os grânulos absorvem água, incham e produzem pastas viscosas que, ao se resfriarem, formam géis (CIACCO e CRUZ, 1982). Quando uma pasta de amido fica em repouso, sem agitação antes ou depois do resfriamento, a tendência é que se estabeleçam ligações intermoleculares, formando um gel. As regiões de tais ligações nos géis aumentam em número durante o período de repouso tornando a rede mais firme e compacta, em diferentes graus, segundo o número, tamanho e distribuição das regiões micelares (HODGE e OSMAN, 1985).

A aplicação do amido na produção de filmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente, para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986). Assim sendo, amidos com percentagem maior de amilose formam filmes mais estáveis (THARANATHAN, 2005), enquanto a estrutura ramificada da amilopectina geralmente leva a formação de filmes com piores propriedades mecânicas (THARANATHAN, 2003).

O amido/fécula de mandioca é obtido através das raízes de mandioca devidamente limpas, descascadas, trituradas, desintegradas, purificadas, peneiradas, centrifugadas, concentradas, desidratadas e secadas. É extremamente versátil e alcança uma eficiência incomparável em todas as suas aplicações. Quanto mais clara a cor, melhor é a qualidade do amido. A cor indica se a mandioca utilizada é velha ou não, como também a limpeza com que o amido é processado (ABAM, 2012). Na Figura 4, é mostrada a foto do amido de mandioca utilizado neste trabalho e na Figura 5, um fluxograma representando o processamento das raízes de mandioca para a obtenção do amido/fécula.



Figura 4. Foto do amido/fécula de mandioca.

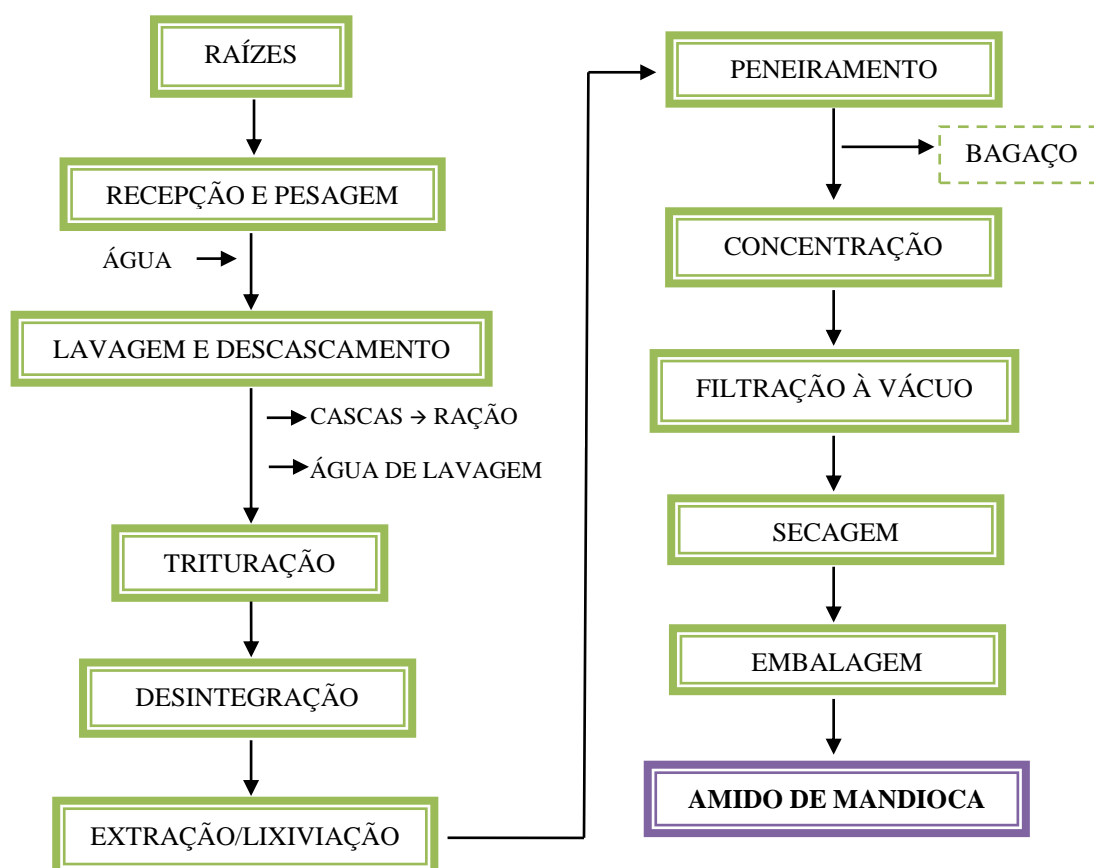


Figura 5. Fluxograma de produção de amido de mandioca.

Fonte: LAROTONDA (2002).

Dessa forma, o amido de mandioca se apresenta como excelente candidato à matéria-prima para a produção de filmes/embalagens biodegradáveis. Ele possui as vantagens de ser uma matéria-prima abundante e de baixo custo, além de apresentar baixa temperatura de gelatinização, formando géis transparentes e estáveis (SEDAS e KUBIAK, 1994; SOUZA, 2010). Além disso, como maior produtor de mandioca da América Latina, o Brasil produziu no ano de 2012 cerca de 584 mil toneladas do polissacarídeo. O Estado do Paraná concentrou cerca de 72 % da produção, movimentando aproximadamente 374 mil toneladas do amido, gerando em torno de 15 mil empregos, diretos e indiretos (ABAM, 2012).

5. Filmes biodegradáveis a base de amido/fécula

Filmes biodegradáveis são materiais finos e flexíveis produzidos a partir de polímeros naturais. Podem ser filmes comestíveis ou não e atuar como coberturas (revestimentos) de alimentos (SOBRAL e HABITANTE, 2001).

A elaboração dos filmes envolve basicamente três componentes: um agente formador de filme, um solvente e um plastificante que são capazes de formar uma estrutura contínua pelo estabelecimento de interações entre as moléculas sob ação de tratamento químico ou físico (DEBEAUFORT et al., 1998).

O amido/fécula é uma matéria-prima vegetal que vêm recebendo considerável atenção no cenário de recursos renováveis. Esse interesse deve-se ao fato dele ser encontrado abundantemente na natureza, possuir caráter renovável, custo relativamente baixo e ser uma grande fonte de exploração econômica, podendo ser convertido, química, física e biologicamente, em compostos úteis à indústria, além de permitir o desenvolvimento de produtos recicláveis (DA RÓZ et al., 2001; ROSA et al., 2001; TEXEIRA, 2007; DA MATTA JR et al., 2011).

A idéia de utilizar o amido/fécula dentro de matrizes poliméricas sintéticas surgiu na década de 70. Os primeiros estudos eram baseados na introdução do amido na matriz polimérica em quantidades menores do que 10 %, mantendo a estrutura granular intacta. Neste caso, o amido é somente um enchimento susceptível à degradação enzimática, mas incapaz de afetar as propriedades mecânicas do material final. Uma segunda abordagem foi o uso de misturas poliméricas. Para a obtenção destas misturas, a estrutura granular do amido deve ser modificada (geralmente por extrusão) para permitir uma mistura completa dos α -glucanos com o polímero sintético (LOURDIN et al., 1995).

Para a obtenção de um material termoplástico a base de amido, sua estrutura granular semicristalina precisa ser destruída dando origem a uma matriz polimérica homogênea e essencialmente amorfa, chamada de amido termoplástico (TPS). Os fenômenos que possibilitam a destruição da organização dos grânulos de amido são a gelatinização e a fusão. A gelatinização é a transformação irreversível do amido granular em uma pasta viscoelástica, fenômeno que acontece pela solubilização do amido em grandes quantidades de água, que age como solvente e como plastificante, sob temperatura de aproximadamente 70 °C e agitação e que leva à destruição da cristalinidade e da ordem molecular do grânulo através do rompimento das ligações de hidrogênio que, inicialmente, mantinham a integridade do mesmo. Por outro lado, quando o amido é aquecido na presença de pequenas quantidades de água, o fenômeno que indica o rompimento dos seus grânulos é conhecido como fusão, e exige temperaturas bem maiores para acontecer do que as temperaturas exigidas para a

gelatinização (VAN SOEST e VLIEGENTHART, 1997; SOUZA e ANDRADE, 2000; LIU, 2005).

Após a gelatinização/fusão, as moléculas de amido podem começar a se reassociar através de ligações de hidrogênio, que sob condições favoráveis podem formar uma estrutura novamente cristalina. Este fenômeno é chamado retrogradação ou recristalização, e leva ao envelhecimento dos filmes de amido tornando-os mais rígidos e quebradiços. Este efeito pode ser minimizado de acordo com as condições de armazenamento (temperatura e umidade controladas) e a temperatura de secagem dos filmes (MATHEW e DUFRESNE, 2002; COPELAND et al, 2009).

Em nível laboratorial os filmes à base de amido/fécula são produzidos pelo processo de *casting*. Nesta técnica, após a gelatinização térmica dos grânulos em presença de excesso de água se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes flexíveis (MACHADO, 2011).

O mecanismo de formação de filmes depende da concentração de sólidos e do teor de amilose. No entanto, é necessária a incorporação de um agente plastificante adicional à água para obtenção dos filmes flexíveis. Os plastificantes reduzem as forças intermoleculares e aumentam a mobilidade das cadeias dos polímeros. Compostos hidrofílicos como os polióis (glicerol, sorbitol, polietilenoglicol), açúcar invertido, sacarose e ácido láctico são comumente utilizados em formulações de filmes flexíveis e possibilitam uma maior porcentagem de alongamento, aumentando a viabilidade do material (GARCIA et al., 1998; THARANATHAN, 2003; VEIGA-SANTOS et al., 2005; SILVA, 2013).

Amidos/féculas de diferentes fontes botânicas têm sido utilizados na elaboração de filmes flexíveis (ARVANITTOYANNIS et al., 1997; KUUTTI et al., 1998; BILIADERIS et al., 1999; ARVANITTOYANNIS e BILIADERIS, 1998; GAUDIN et al., 2000; MOTA, 2009; MATA JÚNIOR, 2009). Vale ressaltar que o amido de mandioca vem sendo bastante estudado por pesquisadores brasileiros para a produção de filmes/embalagens biodegradáveis (SOUZA, 2010; MELO, 2010; MACHADO, 2011; SILVA, 2013) devido à grande disponibilidade no país e pelo baixo custo.

A Figura 6 mostra o ciclo fechado teórico do amido de mandioca, ou seja, a partir da mandioca se obtém o amido/fécula. Este amido/fécula é transformado em filmes biodegradáveis que após utilização são descartados e levados à compostagem.

Durante sua biodegradação, o composto liberará CO₂ para a atmosfera e servirá como substrato para a planta da mandioca que irá produzir o amido, fechando assim o ciclo.



Figura 6. Ciclo teórico do amido de mandioca.
Fonte: LAROTONDA (2002).

As características de um bom filme biodegradável são: ser uma barreira à umidade e a gases, possuir baixa solubilidade em água e lipídios, possuir boa aparência, boas propriedades mecânicas, não ser tóxico (GUILBERT et al., 1996), permitir o aumento da vida de prateleira do produto, manter sua integridade estrutural e mecânica, prevenir ou reduzir o desenvolvimento de microrganismos (THARANATHAN, 2003), possuir resistência a produtos químicos e temperaturas e ser de fácil utilização (CEREDA e VILPOUX, 2003).

Embora se degradem facilmente no ambiente, os filmes elaborados com amido apresentam algumas restrições. Eles são relativamente caros, quando comparados aos polímeros convencionais, não apresentam uma boa flexibilidade e são pouco resistentes a umidade, sendo necessários tratamentos especiais, como a adição de cargas, fibras, plastificantes e outros aditivos, com o objetivo de melhorar as propriedades de mecânicas e de contato com a água (THIRÉ et al., 2004; SALGADO et al., 2008).

Os filmes biodegradáveis produzidos à base de amido de mandioca compõem parte importante do cenário de pesquisa nacional e internacional, com trabalhos importantes já publicados relacionados à produção, caracterização e aplicação destes materiais, inclusive patentes envolvendo este biopolímero PI 9205651-2 (BASTIOLI et al., 1992); PI 9509684-1 (BRUCHMANN et al., 1996); PI 0205056-0 (CURVELO e CARVALHO, 2002); PI 0200174-8 (ANDRADE e SOUZA, 2002); PI 0203385-2 (ANDRADE et al., 2002); PI0303687-1 (CHANG e SEBIO, 2003); PI0602428-9 (GUIMARÃES et al., 2006); PI 0704589-1 (VEIGA-SANTOS e DRUZIAN, 2007). Entretanto, vale ressaltar que a utilização comercial destes filmes biodegradáveis como

embalagens encontra-se limitado devido às baixas propriedades mecânicas que apresentam. Torna-se necessário o desenvolvimento de filmes com propriedades melhoradas, com o intuito de torná-los resistentes ao armazenamento de produtos, viabilizando seu uso como embalagens. Nesse quesito, o teor de plastificante é um fator predominante para modificar o perfil das propriedades mecânicas de filmes de amido, uma vez que estes atuam diminuindo as forças intermoleculares existentes entre as cadeias de amido, provocando redução da temperatura de transição vítrea (T_g), diminuindo a resistência e aumentando a flexibilidade desses filmes (RHIM e NG, 2007; MALI et al., 2010).

A adição de diversos hidrocolóides (goma xantana, guar, pectina, alginato de sódio, carragena e hidroxipropilmetilcelulose) ao amido promove um grande efeito nas propriedades de pasta da mistura resultante e a extensão desta variação é altamente dependente da estrutura química do hidrocolóide adicionado (ROJAS et al., 1999). A goma xantana, quando adicionadas em soluções filmogênicas, promove decréscimo na temperatura de pasta, aumento da viscosidade máxima e um decréscimo na tendência a retrogradação da amilose (VEIGA-SANTOS e SCAMPARINI, 2004).

Outro importante parâmetro para obtenção de filmes de amido com propriedades adequadas para aplicações como embalagens está na incorporação de nanocargas, em especial as biodegradáveis como os nanocristais/*nanowhiskers* de celulose utilizados como reforço mecânico dos filmes, levando a uma maior resistência, menor capacidade de deformação e menor permeabilidade ao vapor de água quando comparados com os filmes puros. Dessa forma o emprego de *nanowhiskers* na produção de filmes de amido, em especial de amido/fécula de mandioca, é uma alternativa viável para melhorar as propriedades desses materiais, considerando suas características de biodegradabilidade e disponibilidade a partir de fontes renováveis (MAHECHA, 2009).

6. O uso de plastificantes

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade que, quando adicionados a outro material, provocam mudanças nas suas propriedades físicas, químicas e mecânicas (MCHUGH e KHOCHTA, 1994).

Os plastificantes alteram a flexibilidade dos filmes devido à habilidade em reduzir as ligações de hidrogênio entre as cadeias dos polímeros e interferir no espaço molecular (MALI e GROSSMANN, 2003).

Além da água, outras substâncias moleculares pequenas, como os polióis, podem ser usadas (STADING et al., 2000). A escolha do agente plastificante está relacionada com sua compatibilidade bioquímica (configuração, tamanho e grupos hidroxilas) com o polímero a ser utilizado e com as características que confere ao filme.

O plastificante deve ser uniformemente distribuído entre as moléculas de amido e posicionado entre elas. Ele deve assegurar certo grau de interação com o amido através de ligações de hidrogênio, de modo a evitar a separação de fases e a recristalização tanto do plastificante quanto do amido. Esse agente deve criar um espaço livre entre os amidos devido ao seu tamanho e deve armazenar água para auxiliar em seu trabalho (ZHANG e HAN, 2006b).

Durante a gelatinização dos grânulos de amido, as moléculas de amilose e amilopectina são liberadas na solução. As moléculas de amilose e amilopectina liberadas interagem principalmente mediante ligações de hidrogênio (ZHANG e HAN, 2006a). De acordo com Liu e Han (2005), sem plastificantes, a amilose e a amilopectina formariam um filme com uma estrutura bifásica, que teria uma fase rica em amilose e uma outra fase rica em amilopectina, além de ficarem quebradiços e rígidos. A rede de clusters seria embutida em um segundo plano de fase amorfa. A existência dos plastificantes no filmes de amido ajuda a interromper a formação de dupla hélice da amilose com fragmentos da amilopectina, reduzindo assim a interação entre a amilose e as moléculas da amilopectina, formando um filme flexível.

Dentre os plastificantes mais utilizados em filmes de amido estão os polióis, sendo o glicerol o mais empregado. O glicerol é um composto orgânico, de baixa massa molar, compatível com o amido e outros biopolímeros, que apresenta comprovada ação positiva sobre as propriedades mecânicas dos filmes produzidos a base de amido (LOURDIN et al., 1997; MALI et al., 2006). A goma xantana também apresenta alta compatibilidade com polióis, o que pode ser uma vantagem no desenvolvimento de materiais a base de blendas poliméricas de amido e xantana (VANDERBUILT, 2004).

Na última década, a produção mundial de glicerol sofreu um salto, impulsionado pelo aumento da produção de biodiesel. O biodiesel é um combustível produzido a partir da transesterificação de óleos e gorduras, sendo o glicerol o principal co-produto deste processo. No Brasil, a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, estabelece a obrigatoriedade da adição de 5% de biodiesel ao óleo diesel até 2014, fato este que contribuirá com aumento da produção de glicerol a procurar um destino.

7. Goma xantana e associação amido-goma

A goma xantana é um polissacarídeo microbiano, de estrutura complexa, sintetizada por fermentação aeróbica submersa de bactérias do gênero *Xanthomonas* em um meio estéril contendo carboidrato. É classificada como heteropolissacarídeo, sendo composta por mais de um monossacarídeo e outros compostos químicos (SUTHERLAND, 1994). A unidade básica repetidora da molécula de xantana é um pentassacarídeo formado por duas unidades de glicose, duas unidades de manose e uma unidade de ácido glucurônico na proporção molar 2,8; 2,0; 2,0, além de grupos piruvato e acetil. A molécula de xantana apresenta uma cadeia principal semelhante à da celulose, constituída de moléculas de glicose ligadas através de ligações β -(1 \rightarrow 4), sendo a cadeia lateral formada por um trissacarídeo ligado à segunda glicose da unidade básica. Esta cadeia lateral é formada por uma molécula de ácido glucurônico entre duas manoses. Aproximadamente a metade das D-manoses terminais contém um resíduo de ácido pirúvico ligado através de um grupo cetônico aos carbonos 4 e 6. A D-manose ligada à cadeia principal contém um grupo acetila na posição 6 (Figura 7) (SUTHERLAND e TAIT, 1992; GARCIA-OCHOA et al., 2000).

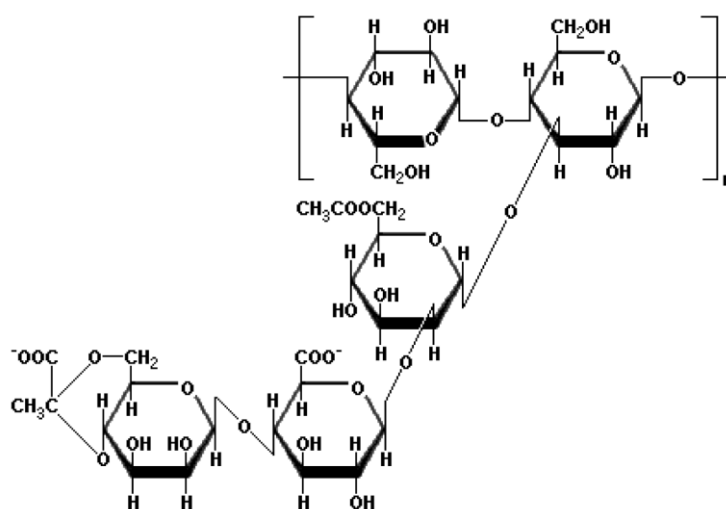


Figura 7. Estrutura da goma xantana.
Fonte: GARCÍA-OCHOA et al. (2000).

A xantana é produzida industrialmente pelo método de batelada, utilizando-se glicose ou sacarose como fontes de carbono, uma fonte de nitrogênio de origem orgânica ou inorgânica e sais. A temperatura ideal de cultivo é em torno de 28 °C e o pH na faixa da neutralidade. A fermentação dura em torno de 80 horas e a recuperação é

feita por precipitação com álcool etílico (KATZBAUER, 1998; GARCIA-OCHOA, 2000; MAUGERI FILHO, 2001; PAPAGIANNI et al., 2001).

A massa molar da goma xantana varia entre 2×10^6 e 20×10^6 Daltons. Esta distribuição molar depende da interação entre as cadeias que formam agregados de várias cadeias individuais (GARCIA-OCHOA et al., 2000). Tanto a massa molar, quanto as proporções de acetil e ácido pirúvico na molécula dependem da cepa de *Xanthomonas* (CADMUS et al., 1978; KENNEDY e BRANDSHAW, 1984) e também das condições operacionais de processo e da composição do meio de cultura utilizado (CADMUS et al., 1978). O grau de substituição das cadeias laterais exerce importante efeito nas propriedades no polímero (PACE, 1991). Além disso, o ácido pirúvico e o ácido glucurônico conferem a molécula um caráter aniônico, que é característico de exopolissacarídeos (EPS) produzidos por bactérias fitopatogênicas como é o caso do *Xanthomonas* (HOLT et al., 1994; SILVA et al., 2002).

Propriedades de grande interesse tecnológico são explicadas com base na estrutura química desta goma que lhe permite uma alta capacidade de agregação face às conformações que o polissacarídeo pode assumir em solução (COTTREL et al., 1980). Assim, considerando as propriedades reológicas (ex. alta viscosidade com baixa concentração e alta pseudoplasticidade), a goma xantana tem uma ampla aplicação em diversos setores industriais, tais como indústrias alimentícia, farmacêutica e petrolífera (YOSHIDA et al., 1993). A Tabela 4 mostra as propriedades da xantana e sua aplicação em diversos segmentos da indústria.

Tabela 4. Propriedades de grande interesse industrial da goma xantana.

Capacidade de produzir soluções viscosas em altas e baixas concentrações.

Excelente estabilidade térmica.

Estabilidade frente a enzimas, como as celulases, amilases e proteases.

Elevada solubilidade.

Alta estabilidade em uma ampla faixa de pH.

Compatibilidade e estabilidade com a maioria dos sais metálicos.

Atóxica e com testes nutricionais demonstrando que não é degradada no sistema digestivo e não sofre qualquer modificação estrutural, a xantana tornou a indústria de alimentos um dos principais consumidores, pois não afetam o sabor do produto final, sendo utilizado como emulsificante e estabilizante em alimentos, sendo capaz de manter

a perfeita homogeneidade destes (GARCIA-OCHOA et al., 2000). A Tabela 5 mostra a funcionalidade das propriedades desta goma e algumas aplicações na área de alimentos.

Tabela 5. Aplicações funcionais da goma xantana na indústria de alimentos.

Propriedade	Função	Produto	Referência
Agente estabilizante	Viscosidade uniforme	Produtos instantâneos: sopas, molhos, sobremesas, coberturas	PENNA, 2002 PINCHES e PALLEN, 1986
Agente de suspensão	Melhorar a palatabilidade	Sucos de polpa de frutas ou com alto teor de sólidos suspensos	JUNGBUNZLAUER, 2009
Agente estabilizante e emulsificante	Aumento da vida de prateleira	Enlatados de frango, atum, presunto	JUNGBUNZLAUER, 2009
Agente estabilizante	Aumentar a absorção de água durante o assamento e a estocagem dos pães	Panificação	JUNGBUNZLAUER, 2009
Agente estabilizante	Estabilizar <i>milk-shakes</i> , iogurtes e sobremesas lácteas	Laticínios	JUNGBUNZLAUER, 2009
Agente estabilizante	Melhorar a estabilidade durante os ciclos de congelamento e descongelamento	Produtos congelados	PINCHES e PALLEN, 1986 BECKER et al., 1998 PENNA, 2002
Agente estabilizante	Previne a sinerese e a retrogradação após o congelamento	Recheios de tortas e sobremesas a base de amido	JUNGBUNZLAUER, 2009
Retenção de água	Melhorar a textura e a vida de prateleira	Produtos de baixa caloria (<i>light</i>)	GARCÍA-OCHOA et al., 2000

Fonte: COSTA (2010).

Não induzindo reações alérgicas, a xantana é empregada na indústria farmacêutica e em cosméticos, por ser emulsificante, retentor de água e estabilizador de produtos, tais como cremes hidratantes, loções, tinturas para cabelo, xampus e dentifrícios, conferindo uniformidade ao produto (KATZBAUER, 1998). Algumas aplicações deste biopolímero no segmento farmacêutico e de cosméticos são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6. Aplicações funcionais da goma xantana na indústria farmacêutica e de cosméticos.

Propriedade	Função	Produto	Referência
Agente estabilizante e espessante	Aumento de viscosidade	Xaropes, cremes, emulsões	JUNGBUNZLAUER, 2009 GARCÍA-OCHOA et al., 2000
Aumentar do tempo de contato do composto ativo	Liberção prolongada do fármaco	Pastilhas e comprimidos	GARCÍA-OCHOA et al., 2000 JUNGBUNZLAUER, 2009
Agente suspensor	Ajustar a viscosidade e a propriedade de escoamento	Xampus	JUNGBUNZLAUER, 2009
Agente estabilizante	Uniformizar a pastas de dente, tornando o aspecto mais liso, facilitando a saída do tubo.	Géis dentais	KENNEDY e BRADSHAW, 1984 JUNGBUNZLAUER, 2009

Fonte: COSTA (2010).

Diversos outros segmentos industriais fazem uso desta goma, face às suas propriedades reológicas. A indústria petrolífera aplica este polímero como fluido extrativo, na recuperação secundária e terciária do petróleo, além da recuperação secundária de hidrocarbonetos (COTTRELL e KANG, 1978).

Nas interações contendo hidrocolóides e amidos podem ocorrer um efeito sinérgico entre esses ingredientes. Os fatores que interferem nesta interação e como ocorre ainda não estão totalmente esclarecidos, mas há evidências de que os hidrocolóides promovem maior estabilidade de géis de amidos (SUDHAKAR et al., 1995). A presença de goma xantana em sistemas géis de amido não previne nem mesmo retarda a retrogradação da amilopectina, mas tem um efeito notável em inibir a formação de estrutura esponjosa característica da retrogradação da amilose (FERRERO et al., 1994).

Filmes a base de amido se beneficiam da adição de goma xantana como agente de brilho (CHEN e NUSSINOVITCH, 2000) e melhorador das propriedades mecânicas, como, por exemplo, o aumento da percentagem de alongação dos filmes, já observada em filmes de amido de mandioca pela adição de goma xantana desacetilada (VEIGA-SANTOS et al., 2005). Foi atribuída também à xantana a propriedade de diminuir a

velocidade de cristalização e envelhecimento de filmes à base de amido (YOSHIMURA et al., 1999).

As características e propriedades da interação xantana-amido já tem sido estudadas por alguns autores (KATZBAUER, 1998; VEIGA-SANTOS, 2004; WANG et al., 2006), sendo que um aumento sinérgico da viscosidade foi observado em soluções de xantana com outros polissacarídeos de plantas (LACHKE, 2004) e mais especificamente com amido (KIM e YOO, 2006). Amidos com elevados teores de amilose são mais difíceis de serem dispersos em água para formar soluções filmogênicas e retrogradam em velocidade muito alta para formar gel (JOKAY e NELSON, 1967). Os plastificantes, assim como a goma xantana, poderiam auxiliar nesta questão, embora por mecanismos diferentes.

7.1. Glicerina bruta como substrato alternativo para a produção de goma xantana

A glicerina é um subproduto da produção de biodiesel, onde, para cada 100 litros de biodiesel produzido, através da reação de transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais, produz-se 10 quilos de glicerina (RAMOS, 2011). Segundo Borges (2005), devido à alta produção de biodiesel, o mercado não terá condições de absorver tal oferta, mesmo porque, para maior aplicabilidade do produto (cosmético, emulsificantes, plastificantes e outros) é necessária a sua purificação, sendo um processo com custo elevado, impactando a viabilidade econômica. Por isso, é importante desenvolver novas aplicações para a glicerina residual (bruta ou loira) e/ou purificada para atenuar o impacto causado pela crescente produção de biodiesel (LIMA, 2001).

A reação de transesterificação com o uso do metanol é tecnicamente mais viável do que com etanol (Figura 8). A separação da glicerina obtida como co-produto, no caso da síntese dos ésteres metílicos, é obtida mediante simples decantação. O processo de separação para ésteres etílicos requer um maior número de etapas (GONÇALVES, 2006; CASTELLANELLI et al., 2007; BRANDÃO, 2012).

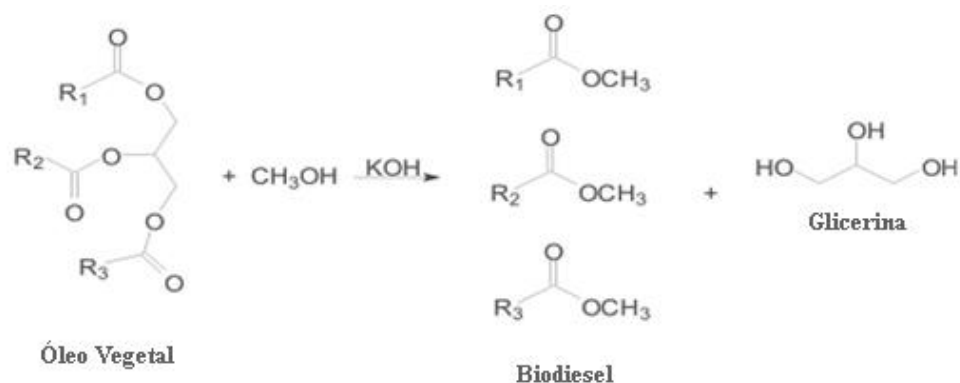


Figura 8. Reação de transesterificação para produção do biodiesel.
 Fonte: BRANDÃO (2012).

A glicerina em estado puro é um líquido viscoso, incolor, inodoro e higroscópico, entretanto, a glicerina derivada da produção do biodiesel possui baixo valor agregado, pois contém resíduos de metanol, hidróxido de sódio, ácidos graxos livres, sais de ácidos graxos, ésteres, compostos de enxofre, proteínas e minerais (THOMPSON e HE, 2006).

Após a reação de transesterificação, obtém-se uma massa constituída por duas fases, que são separáveis por decantação ou centrifugação. A fase mais densa é composta por glicerina bruta, impregnada dos excessos utilizados de álcool, de água, e de impurezas inerentes à matéria-prima, e geralmente contém 50 % de glicerol (KNOTHE e GERPEN, 2006).

Pesquisas têm sido realizadas com o intuito de dar um destino econômico para a glicerina bruta. As patentes US2005095336 (MALETTO PETE, 2005) e JP2005179255 (MATSUDA et al., 2005) são algumas das que citam a utilização de formulações de glicerina com goma xantana para aplicação em processos alimentícios, farmacêuticos e afins, no entanto, apresentam desvantagens quanto ao custo por utilizarem um complexo de gomas e reagentes orgânicos ou inorgânicos. Apenas a patente brasileira PI0705950-7 (BRANDÃO et al., 2009) propõe o uso da glicerina como substrato alternativo no meio fermentescível para a produção de biopolímero tipo goma xantana, visando a redução de custos de processo quando comparado ao processo industrial de bioconversão de glicose ou sacarose.

Em 2008, o diesel comercializado em todo território nacional passou a conter, obrigatoriamente, 3 % de biodiesel (B3), e em 2013-2014 está previsto o aumento percentual para 5 % (B5). Mas, as diretrizes governamentais já consideram a possibilidade de antecipação desta meta, condicionadas a necessidade de se encontrar

utilizações comerciais para os co-produtos, principalmente a glicerina (MOTA et al., 2009; BRANDÃO, 2012). O Brasil ao produzir biodiesel para adição de 5 % no óleo diesel (aproximadamente 2,6 milhões de toneladas do biocombustível por ano) gera quase 300 mil toneladas de glicerina por ano em média. No entanto, esta quantidade não é totalmente absorvida e o excedente de glicerina vem saturando o mercado, sendo sua oferta maior que a procura, levando assim a queda do preço desse co-produto e a estocada do mesmo sem um destino certo (MILLI et al., 2011; BRANDÃO, 2012). Devido aos inúmeros incentivos governamentais, que impulsionam a produção de biodiesel no Brasil, tal combustível está sendo produzido em larga escala, e um fator preocupante frente a este intenso crescimento, é o destino da glicerina excedente gerando problemas sérios de descarte, contribuindo para um grande problema ambiental (BRANDÃO, 2012).

A glicerina residual não pode ser depositada em aterros, pois se cria um problema ambiental, devido a sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Assim, a questão é como utilizar adequadamente essa matéria-prima, tanto sob o ponto de vista econômico como ambiental, dado que alguns estudos indicam que o mercado, no médio prazo, só conseguiria absorver 50 % dessa produção, mesmo com as novas aplicações de glicerina (ROBRA, 2006). Portanto, destinos viáveis de utilização devem ser buscados pela comunidade acadêmica e empresarial. Pesquisas mostram que a glicerina bruta possui composição rica em carbono de fácil degradação sendo utilizada por microrganismos como fonte de carbono em seu metabolismo.

8. Fibras lignocelulósicas

Nos últimos anos tem surgido grande interesse no desenvolvimento de tecnologias ‘verdes’ que possibilitem a utilização de produtos de menor impacto ambiental. A química ‘verde’, como um todo, implica no desenvolvimento de processos químicos e produtos que levem a um ambiente mais limpo, saudável e sustentável. Dentre as pesquisas nessa área, as que buscam a aplicação de recursos naturais na preparação de novos materiais vêm crescendo, podendo destacar o uso de fibras lignocelulósicas que são exemplos de sistemas complexos desenvolvidos pela natureza. Seja por suas funções no universo biológico ou pelas aplicações industriais, as fibras lignocelulósicas são um dos materiais biodegradáveis de uso bastante amplo, abrangendo desde as aplicações clássicas na indústria têxtil até o reforço de matrizes

poliméricas termoplásticas e termofixas (SILVA et al., 2009). A elevada disponibilidade destas fibras, somada a necessidade de utilização de fontes renováveis para a produção de novos materiais abre uma grande oportunidade para avanços tecnológicos que agreguem valor aos produtos da agroindústria (ROSA, 2012).

As fibras lignocelulósicas são constituídas em sua maioria por celulose, além da matriz (hemicelulose e lignina) e moléculas extraíveis com solventes orgânicos, como pectinas, carboidratos simples, saponinas, terpenos, alcalóides, polifenólicos, gomas, resinas, gorduras, graxas entre outros. A proporção destes constituintes depende do tempo de maturação, origem botânica e das condições utilizadas para se obter a fibra (MOREIRA, 2010). A matriz age como barreira natural à degradação microbiana e serve como proteção mecânica, já as fibrilas de celulose tem como função promover resistência e estabilidade estrutural à parede celular das fibras (JOHN e THOMAS, 2008; SILVA et al., 2009).

A celulose é o polímero natural mais abundante na natureza, na qual consiste em repetições de monômeros do tipo β -D-glucose ($C_6H_{12}O_6$) unidas por ligações $\beta(1\rightarrow4)$. Cada unidade de repetição contém três grupos hidroxila, que, por apresentarem afinidade por ligações de hidrogênio, são as principais responsáveis pela cristalinidade e propriedades físicas da celulose (EICHHORN et al, 2001; JOHN e THOMAS, 2008). A designação *D* vem de dextrógiro (substância que tem a propriedade de desviar o plano de polarização da luz para a direita) e refere-se ao posicionamento do grupo hidroxila à direita do átomo de carbono assimétrico C2.

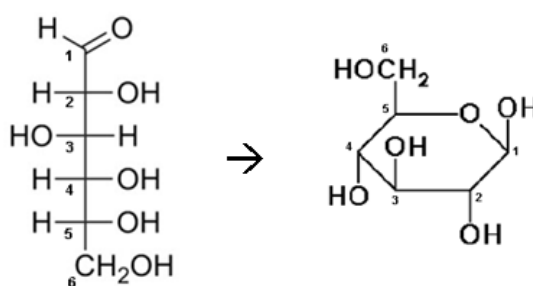


Figura 9. Estrutura da D-Glucose.
Fonte: FLAUZINO NETO (2012).

A ligação β resulta na rotação de 180° do plano das unidades alternadas da glucose, essa ligação glicosídica é do tipo 1,4, pois envolve os carbonos 1 e 4. Duas unidades de anéis glicosídicos invertidos entre si, com um ângulo de 180° em relação a

um mesmo plano, formam uma unidade de celulose denominada celobiose, Figura 10 (KLEM et al., 2005; FLAUZINO NETO, 2012).

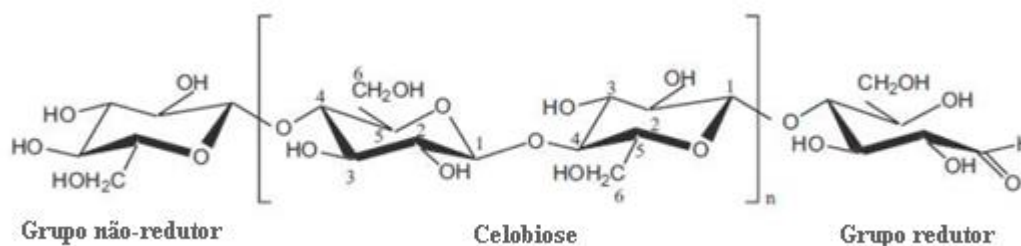


Figura 10. Estrutura molecular do polímero natural celulose e da sua unidade monomérica celobiose.

Fonte: FLAUZINO NETO (2012).

No estado sólido, a celulose pode apresentar pelo menos quatro formas polimórficas, sendo as mais comuns a celulose I e II (ESRAFILI e AHMADIM, 2012). A celulose natural (nativa) é constituída por celulose I, já a celulose II é obtida após tratamento com NaOH em solução. Por tratamentos físicos e químicos, a celulose I pode ser transformada nos outros tipos de celulose. A análise da estrutura da celulose I mostra que a mesma pode ser considerada um compósito de duas fases cristalinas diferentes, chamadas de celulose I_{α} (triclínica) e I_{β} (monoclínica) (HELBERT et al., 1996). A proporção entre essas fases depende da sua origem, por exemplo, a celulose bacteriana é rica em fase I_{α} , enquanto que a celulose de tunicados predomina-se a fase I_{β} . A forma I_{α} é menos estável, podendo ser convertida na forma I_{β} por simples aquecimento (OUDIANI et al., 2011).

A celulose forma uma estrutura microcristalina que apresenta regiões cristalinas e amorfas em sua constituição. Este fato faz da celulose uma estrutura semicristalina, formada por microfibras em forma de fios e hastes cristalinas (EICHHORN et al, 2010; SILVA, 2013). A celulose é resistente a soluções fortemente alcalinas e a agentes oxidantes, mas é facilmente hidrolisada em soluções ácidas. Neste último caso a estrutura da celulose é modificada, ocorrendo assim à formação de uma estrutura altamente cristalina, com dimensões na escala nanométrica, conhecida como *whiskers* /*nanowhiskers*/nanocelulose/nanocristais de celulose (DONG et al., 1998; SAMIR et al., 2004; BHATTACHARYA et al., 2008; ELLAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008; MELO, 2010; SILVA, 2013).

O termo hemicelulose se refere a diversos polissacarídeos de massas moleculares relativamente baixas, os quais estão intimamente associados à celulose dos

tecidos das plantas. Enquanto a celulose é uma substância química contém exclusivamente a β -D-glucose como unidade fundamental, as hemiceluloses são polímeros cuja composição pode aparecer unidades de diferentes açúcares, condensadas em proporções variadas, como apresentado na Figura 11 (KLEMM et al., 2005).

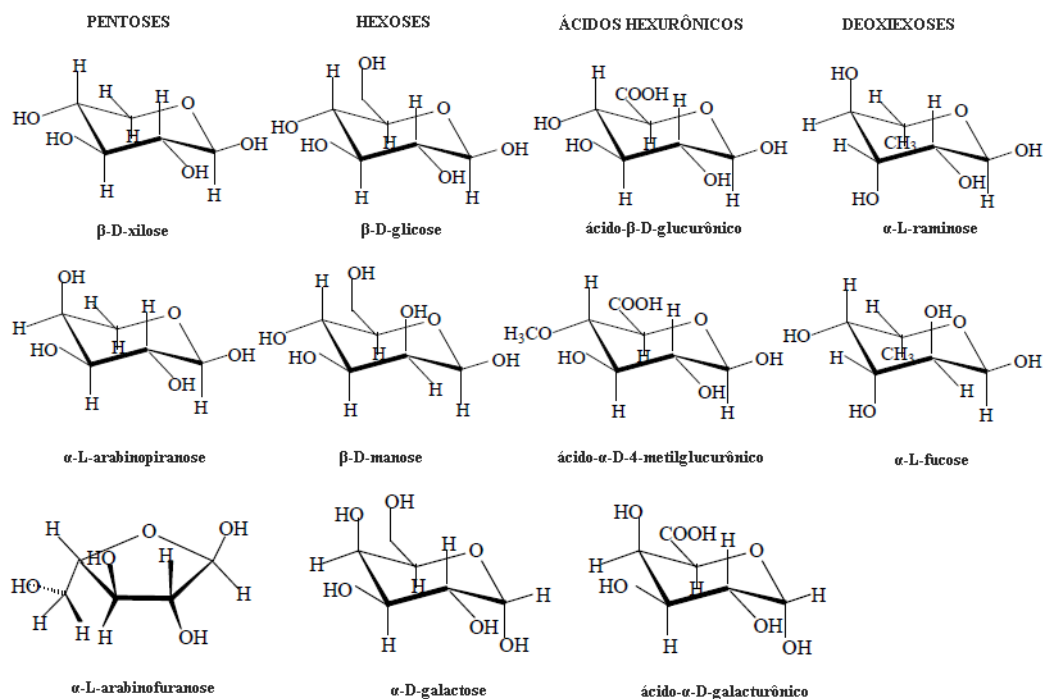


Figura 11. Estrutura molecular dos monômeros comumente encontrados na hemicelulose.

Fonte: KLEMM et al. (2005); ROSA (2012).

As hemiceluloses exercem importantes funções na regulação do crescimento das estruturas vegetais, atuam como ligantes entre celulose e lignina, mas tem pouca contribuição sobre a resistência mecânica das fibras. Devido à baixa massa molar e a estrutura amorfa, as hemiceluloses são mais facilmente hidrolisáveis em relação à celulose, desta forma, a grande importância das hemiceluloses reside em vários processos industriais como a produção de açúcares fermentáveis e combustíveis como o etanol (MOREIRA, 2010; FLAUZINO NETO, 2012).

A lignina é uma das substâncias mais complexas dentre os materiais de alta massa molar que ocorrem na natureza, sendo formada pela polimerização desidrogenativa de unidades fenilpropânicas derivadas de três alcoóis: cumarílico, coniferílico e sinapílico (Figura 12). Pode ser classificada como um polifenol, o qual é constituído por um arranjo irregular de várias unidades de fenilpropano que pode conter grupos hidroxila e metoxila como substituintes no grupo fenil. Existe uma grande

dificuldade na elucidação química da estrutura da lignina devido ao fato de não haver um método bem estabelecido que possibilite isolar essas estruturas em seu estado nativo a partir da fibra natural (SILVA et al., 2009). A Figura 12 mostra uma possível representação para a lignina.

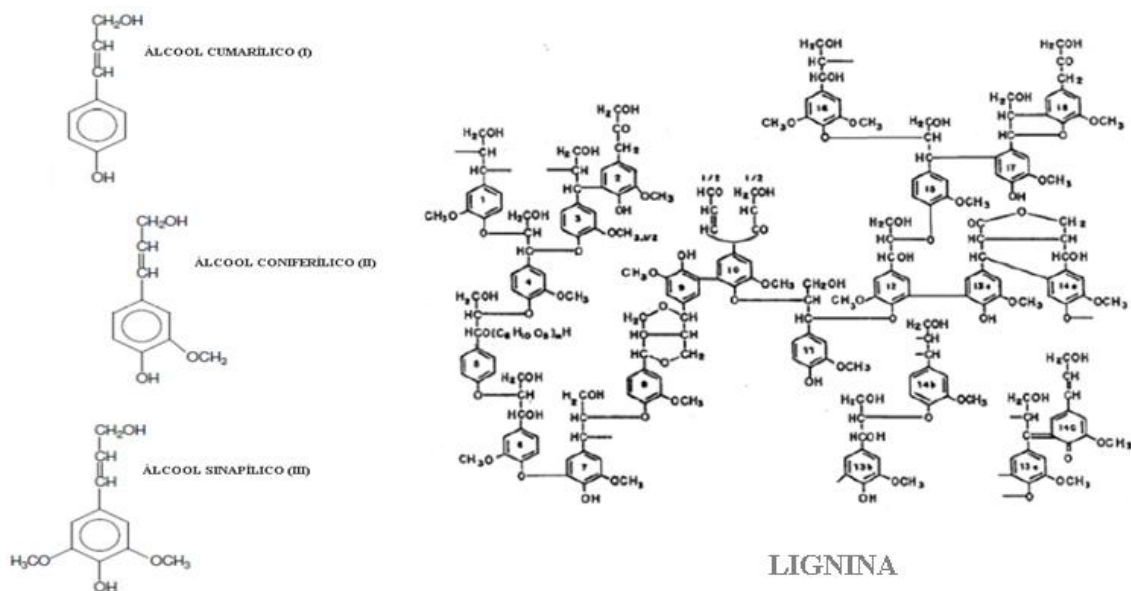


Figura 12. Estruturas esquemáticas dos alcoóis precursores da lignina: cumarílico (I), coniferílico (II) e sinapílico (III) e ilustração de uma possível estrutura polimérica da lignina.

Fonte: Adaptado de MOREIRA (2010).

A lignina confere rigidez à parede celular das fibras, atua como um cimento entre as fibrilas e como um agente enrijecedor no interior das fibras, gerando uma estrutura resistente ao impacto, compressão e dobra, além de causar um decréscimo na permeação de água através das paredes das fibras lignocelulósicas (material hidrofóbico) (MOREIRA, 2010).

As substâncias solúveis ou extrativos são compostos químicos da parede celular, geralmente formados a partir de graxas, ácidos graxos, fenóis, terpenos, esteróides, resinas ácidas, ceras e alguns outros tipos de compostos orgânicos. Estes compostos existem na forma de monômeros, dímeros e polímeros (ROWEL et al., 2005). São solúveis em água ou em solventes orgânicos neutros e estão presentes principalmente nas cascas dos resíduos agrícolas (MORAES et al., 2005).

As fibras lignocelulósicas têm sido amplamente estudadas e utilizadas como carga de reforço em polímeros. As razões se devem às características desse tipo de

material, como natureza renovável e biodisponibilidade, baixo custo, alta variedade e capacidade de reforço mecânico (JOSEPH et al., 1999; SILVA, 2013).

Considerando a tendência mundial em substituir sistemas não renováveis por materiais de origem natural renovável (JOSEPH et al., 1999; FRISONI et al., 2001; FREITAS, 2003; SATYANARAYANA et al., 2007; MORÁN et al., 2008; QIN et al., 2008; MACHADO, 2011; SILVA 2013), as fibras lignocelulósicas tem se mostrado como uma alternativa ao uso das fibras sintéticas/inorgânicas, como as fibras de vidro. O uso de tais fibras como carga de reforço em compósitos de matrizes biopoliméricas (originando o biocompósito), por exemplo, fornece benefícios ambientais no que diz respeito à disposição final de resíduos, já que estas apresentam caráter biodegradável (SILVA, 2013).

8.1. Organização hierárquica das fibras lignocelulósicas

Características particulares do polímero de celulose levam à formação das fibras vegetais, elas estão organizadas em camadas primária e secundária que são em grande parte constituídas de celulose, hemicelulose e lignina. A camada secundária é subdividida em camadas S1, S2 e S3 (Figura 13). A camada S2 é a mais espessa, responsável pela resistência mecânica da fibra, sendo basicamente constituída de celulose (~90 %) na forma de micro/macrofibrilas.



Figura 13. Estrutura hierárquica de um tecido vegetal.
Fonte: DE MESQUITA (2012).

Na natureza, a celulose não ocorre como uma molécula isolada e sim na forma de fibras. Isso ocorre porque a biossíntese é organizada por complexos específicos terminais (CTs) ligados à membrana plasmática. Para árvores e plantas, os CTs são organizados em rosetas de seis membros com cada subunidade polimerizando 6 cadeias

de celulose e o complexo todo 36 cadeias (Figura 14a). Essas cadeias são dispostas lado a lado e serão posteriormente organizadas em estruturas nanométricas chamadas de fibrilas elementares (Figura 14b). As fibrilas elementares têm cerca de 3-4 nm de diâmetro e se combinam para formar estruturas mais espessas, as microfibrilas que contém regiões amorfas e cristalinas (Figuras 14c e 14d) (ELAZZOUZI-HAFRAOUi et al., 2008; MOON et al., 2011; DE MESQUITA, 2012). Segundo o modelo estrutural proposto por Battista e Smith (1962), cada microfibrila de celulose pode ser considerada como uma corrente que contém uma sequência de unidades de celulose (cristalitos), ligadas por domínios amorfos ou defeitos estruturais (Figura 14c e 14d).

As cadeias de celulose presentes em uma microfibrila são estabilizadas tanto por forças de Van der Waals quanto por pontes de hidrogênio intra e intermoleculares que possibilitam a formação das microfibrilas (Figura 15). Portanto, as microfibrilas que compõem as fibras, resultantes do arranjo das moléculas de celulose, são constituídas de regiões cristalinas, altamente ordenadas e por regiões amorfas desordenadas. As regiões cristalinas resultam da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos enzimáticos. As regiões amorfas são resultados da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização. Essas são denominadas, por alguns autores, de regiões em que a cristalização ocorreu com defeito (MOON et al., 2011; DE MESQUITA, 2012).

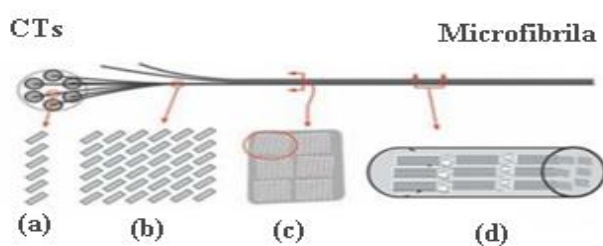


Figura 14. Representação esquemática dos níveis que precedem a formação de uma microfibrila presente em plantas superiores. (a) seção transversal da estrutura formada pelas 6 cadeias de celulose na subunidade dos complexos específicos terminais. Cada retângulo cinza representa uma cadeia de celulose; (b) seção transversal das fibrilas elementares; (c) seção transversal das microfibrilas de celulose composta de 6 fibrilas elementares; (d) seção lateral das microfibrilas mostrando a configuração em série de regiões cristalinas e amorfas. Fonte: MOON et al. (2011).

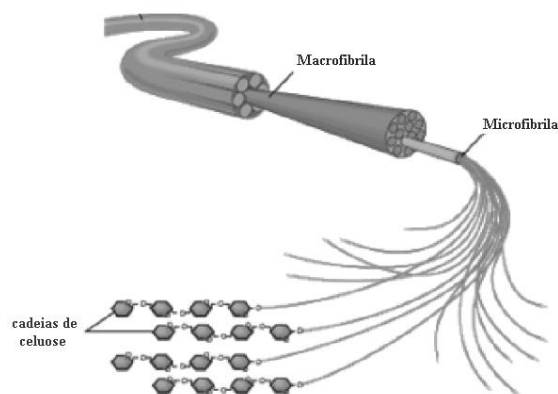


Figura 15. Estrutura hierárquica da constituição de uma macrofibrila.
 Fonte: DE MESQUITA (2012).

8.2. Isolamento da celulose de fibras lignocelulósicas

A obtenção de celulose a partir dos mais diversos tipos de matrizes lignocelulósicas envolve uma série de processos. Os extrativos são compostos indesejáveis, por isso o processo de extração da celulose começa com a pré-extração, na qual é utilizada uma seqüência de solventes de diferentes polaridades para remoção destes (MORAES et al., 2005). A seguir é feito um desmembramento do complexo lignina-celulose-hemicelulose (Figura 16), através do processo conhecido como deslignificação ou polpação que consiste basicamente na separação da celulose da lignina e da hemicelulose mediante utilização de energia química. Neste tratamento ocorre elevada degradação da lignina das fibras além de haver solubilização da hemicelulose e como o produto sólido final, a celulose em um estado quase intacto. Os métodos de polpação química classificam-se em alcalinos, como por exemplo, o método à soda e o Kraft, sendo este último o mais utilizado na fabricação de papel, e os ácidos que se baseiam na reação da lignina com $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$, NaHSO_3 ou $\text{Mg}(\text{HSO}_3)_2$ em combinação com SO_2 livre (D'ALMEIDA, 1986; MOREIRA, 2010).

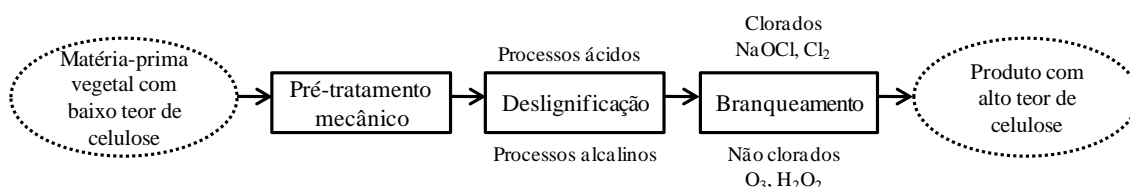


Figura 16. Etapas gerais de isolamento da celulose das fibras vegetais.
 Fonte: MOREIRA (2010).

O branqueamento consiste em um tratamento químico que visa à melhoria das propriedades ópticas da celulose como alvura, clareza e opacidade. Este tratamento envolve uma série de produtos químicos, especialmente aqueles a base de cloro (cloro, dióxido de cloro, hipoclorito de sódio), geralmente em várias etapas dependendo do grau de alvura desejado (SILVA et al., 2009).

No branqueamento ocorre a eliminação, por hidrólise e oxidação, dos grupos cromóforos da lignina residual, aumentando a brancura do produto celulósico. Além das melhorias das propriedades ópticas, este processo pode ser conduzido de forma a preservar ou remover a lignina residual presente na celulose. Neste último caso, o branqueamento pode também ser considerado como uma etapa adicional de purificação da celulose (FENGEL e WENEGER, 1984; D'ALMEIDA, 1986; KLEM et al., 1998; MOREIRA, 2010).

Na presença de produtos químicos, sob condições de branqueamento, a celulose nativa se decompõe em *nanowhiskers*/nanocristais de celulose. Devido a sua alta razão de aspecto (relação entre comprimento e diâmetro) e alto módulo de elasticidade essa celulose pode ser utilizada na preparação de compósitos de alta performance (SIQUEIRA et al., 2009).

8.3. Palha de milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta que pertence à família Gramineae/Poaceae (Figura 17), participando com mais de 36,4 % da produção nacional de grãos se posicionando logo atrás da soja (44,7 %), culturas estas que, juntas, somam mais de 80 % da produção nacional de cereais, leguminosas e oleaginosas (CONAB, 2013). É uma cultura considerada temporária, que depois de colhida necessita de novo plantio, com ciclo vegetativo variando em torno dos 140 dias, que compreende a fase da emergência à maturação do grão.

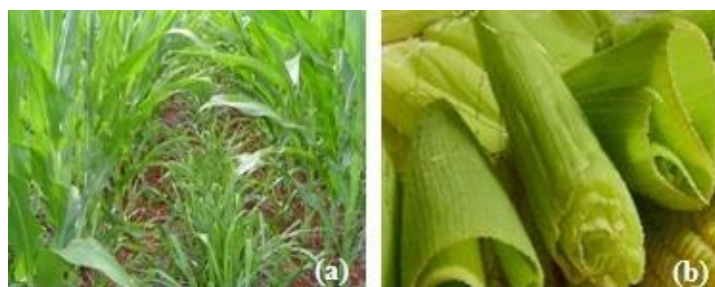


Figura 17. (a) Plantio de milho (*Zea mays* L.) e (b) Palha de milho.
Fonte: MONSANTO (2013).

No Brasil, esta é uma cultura que ocupa extensas áreas. Entre as principais regiões produtoras estão o Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O estado do Paraná é o maior produtor do país, produzindo, na safra 11/12, cerca de 16,7 milhões de toneladas, seguido do Mato Grosso com 15,6 milhões de toneladas. A produção anual, na temporada 2011/12, foi de aproximadamente 68 milhões de toneladas e as projeções indicam um aumento de 12,7 milhões de toneladas até a safra de 2020/2021 (CONAB, 2013).

Atualmente existe a crescente preocupação com o descarte dos resíduos lignocelulósicos, que podem levar a problemas ambientais pela presença de substâncias de alto valor orgânico, potenciais fontes de nutrientes para microrganismos, como também a perdas de biomassa e energia (ABUD e NARAIN, 2009). Os grãos de milho proporcionam uma série de produtos industrializados, entretanto, algumas partes da planta não possuem um uso direto. O sabugo, parte central da espiga na qual os grãos estão presos, é gerado após ser debulhado o milho. Para cada 100 kg de espigas de milho, aproximadamente 18 kg (70 % base úmida) são formados pelo sabugo. (AGUIAR, 2010). Assim como o sabugo, a palha também se torna um resíduo excedente e sem utilização definida. Na maioria vezes, é triturada para alimentação de animais, porém com pouco valor nutritivo, pode ser também queimada nas áreas rurais ou utilizada como cobertura em solo após a colheita mecanizada, na qual, em excesso, pode causar sérios problemas de pragas que proliferam em ambientes úmidos e desprotegidos (EMBRAPA, 2012).

É crescente o número de pesquisas com o objetivo de reaproveitar a palha de milho, agregando-lhe valor e renda. Países como o México estão interessados em adquirir este material, proveniente de colheita manual do Brasil (Paraná), já que lá a palha é muito utilizada para embalar alimentos. A criação de produtos artesanais também está colaborando na valorização deste abundante resíduo sendo destinada à produção de cigarros, embalagens de doces, artesanato de cestaria e de bonecas (PORTAL DO AGRONEGÓCIO, 2012). A palha tem sido utilizada também em estudos de produção de enzimas através de fermentação em estado sólido, tanto como suporte como fonte de nutrientes para os microrganismos (PANDEY et al., 1999; BORZANI, 2001). Neste contexto, a palha de milho é uma alternativa interessante em pesquisas objetivando a obtenção de *nanowhiskers*/nanocristais de celulose para serem utilizados como reforço em diferentes matrizes poliméricas. A palha possui

aproximadamente 25 a 41,2 % de celulose (SALAZAR, 2005), cerca de 34,5 % de hemicelulose (TAMANINI, 2004) e 8,7 % de lignina (SALAZAR, 2005). A Tabela 7 apresenta a composição da palha de milho.

Tabela 7. Composição da palha de milho.

Componentes	% massa em base seca
Glicose	36,80
Xilose	22,20
Arabinose	5,50
Galactose	2,90
Manose	-
Lignina	23,10
Outros	9,50

Fonte: OLSSON e AHRING (2007).

8.4. *Nanowhiskers*/Nanocristais de celulose

Uma vez isolada a celulose de uma fibra vegetal, novos processos químicos e/ou mecânicos podem provocar modificações mais profundas na estrutura desse polímero natural, conforme se pode verificar no fluxograma apresentado na Figura 18. Por hidrólise ácida é possível a obtenção de nanocristais de celulose, enquanto que por processos mecânicos é obtida, geralmente, a celulose microfibrilada.

A celulose nativa encontrada em fibras naturais como a palha de milho, sisal, coco, algodão, licuri, eucalipto etc. é classificada como um material semicristalino, pois apresenta fases cristalinas intercaladas por regiões amorfas, cujas dimensões dependem da origem do material (SILVA, 2013). As regiões amorfas surgem como imperfeições no cristal. A remoção das frações amorfas libera o conteúdo cristalino na forma de nanocristais de celulose, os *whiskers*, conforme mostrado na Figura 19. Sob condições controladas de hidrólise ácida, a região amorfa é destruída, mantendo os segmentos cristalinos intactos, uma vez que a cinética da região amorfa é mais rápida do que da região cristalina, em virtude da maior permeabilidade da região amorfa (SILVA et al., 2009).

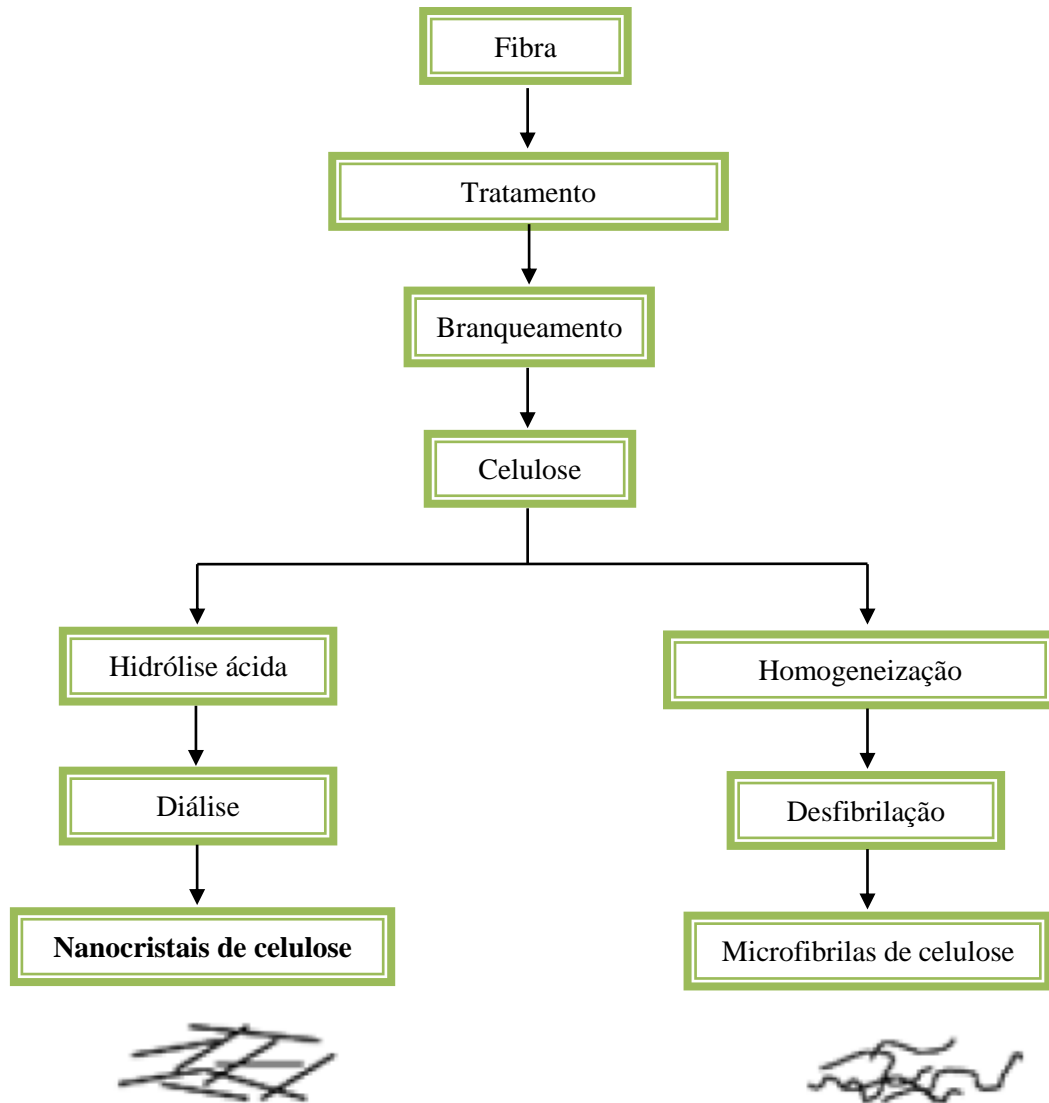


Figura 18. Processo de degradação da celulose.
Fonte: Adaptada de SIQUEIRA et al., (2009).

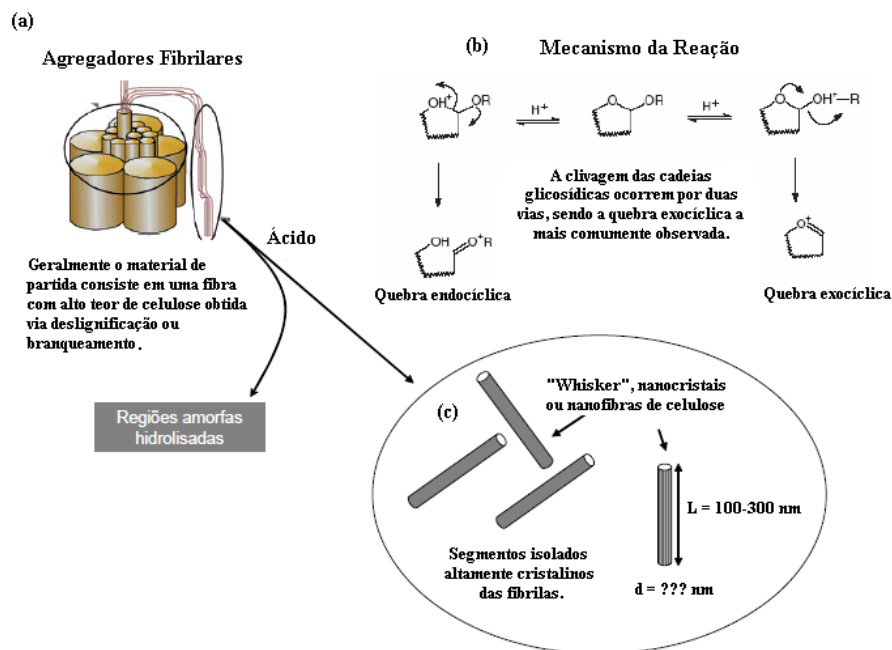


Figura 19. Esquema ilustrativo do método da hidrólise ácida. (a) Regiões amorfas e cristalinas em evidência numa fibrila. (b) Mecanismo envolvido na hidrólise ácida. (c) nanoestruturas altamente cristalinas obtidas no processo.

Fonte: MOREIRA (2010).

Os segmentos cristalinos (*whiskers*) obtidos por este método apresentam geralmente um formato de bastão ou agulhas (LARSSON et al., 1997; OKSMAN et al., 2006; PÄÄKÖ et al., 2007; ABE et al., 2007; HUGGE et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2009). Os *nanowhiskers* de celulose, também reportados na literatura como nanocristais, nanofibras, nanocelulose, cristalitos ou cristais de celulose, são os domínios cristalinos de fibras celulósicas isoladas por meio de hidrólise ácida e são assim chamados devido as suas características físicas de rigidez, de espessura e de comprimento (SOUZA-LIMA e BORSALI, 2004, SILVA, 2013).

Por apresentar um conjunto de características determinantes como abundância, natureza renovável, biodegradabilidade, alto grau de cristalinidade, grande área superficial específica (estimada em várias centenas de $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), alta razão de aspecto (comprimento/diâmetro), propriedades mecânicas comparáveis as dos nanotubos de carbono e de nanofibras inorgânicas a eminente capacidade de reforço à baixos níveis de carga, os *nanowhiskers* tem despertado grande interesse no uso como material de reforço em matrizes poliméricas (SAMIR, et al., 2005; EICHORN et al., 2010; HABIBI et al., 2010; SHANMUGANATHAN et al., 2010; MIKKONEN et al., 2010).

As dimensões nos *nanowhiskers* de celulose obtidos a partir de materiais lignocelulósicos podem variar em função do material de origem e também da

metodologia empregada na sua extração, mas são descritas com comprimento entre 100 e 300 nm (SAMIR et al., 2005; ELLAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2009; HABIBI et al., 2010; KALIA et al., 2011, SILVA, 2013). Inúmeros procedimentos de hidrólise utilizam o ácido clorídrico (HCl) e/ou ácido sulfúrico (H₂SO₄), em diversas concentrações, no entanto o ácido sulfúrico é descrito como o mais eficiente, devido à formação de cargas negativas de grupos éster sulfato na superfície dos *nanowhiskers*, o que ocasiona um efeito de repulsão eletrostática entre essas partículas favorecendo a dispersão. Este fato impede, ou reduz significativamente, a formação de aglomerados, visto que os *nanowhiskers* apresentam grande tendência de agregação, e promovem uma dispersão mais uniforme dos nanocristais na suspensão (SILVA, 2013).

No que diz respeito à extração por hidrólise ácida, o tipo do ácido, a concentração do ácido, a temperatura, o tempo de reação e a proporção de celulose/ácido são parâmetros importantes, pois afetam a morfologia e propriedades dos *nanowhiskers* (SILVA e D'ALMEIDA, 2009; HABIBI et al., 2010; PENG et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2011).

Sabe-se que a morfologia e propriedades dos *nanowhiskers* influenciam o seu desempenho como agente de reforço, também é conhecido que a morfologia e as propriedades dos *nanowhiskers* dependem da fonte original de celulose. Portanto, o desempenho dos *nanowhiskers* como partículas de reforço depende da fonte original de celulose. Assim, o desenvolvimento de *nanowhiskers* a partir de diferentes fontes de celulose é relevante (FLAUZINO NETO et al., 2013). A Tabela 8 expõe as diferentes condições de hidrólise utilizadas para a obtenção de *nanowhiskers* a partir da celulose extraída de diferentes fontes de fibras naturais.

Uma fonte viável para extração de *nanowhiskers* de celulose é a palha de milho. Este resíduo, gerado pelas indústrias de beneficiamento do milho, representa uma fonte abundante de celulose, geralmente com teores variando de 25 a 41 % do polímero, dependendo da variedade e maturidade da planta. Por se tratar do desenvolvimento de materiais totalmente biodegradáveis, a palha de milho é uma alternativa interessante em pesquisas objetivando a obtenção de *nanowhiskers* de celulose a serem utilizados como reforço em bionanocompósitos.

Tabela 8. Condições de hidrólise com H₂SO₄ utilizadas para a obtenção de *nanowhiskers* a partir da celulose de diferentes fontes de fibras naturais.

Fonte de Celulose	Conc. H ₂ SO ₄ (%)	Temp. (±2°C)	Tempo (min)	Relação celulose/ác. (g/ml)	Referência
Fibra de Conífera	65	70	10	1/10	ARAKI et al. (1998)
Fibra de Conífera	64	45	45	1/10	EDGAR e GRAY (2003)
Fibra de Kraft	64	45	100-150	-	BECK et al. (2005)
Papel de Filtro	64	45	60	1/20	PODSIADLO et al. (2005)
Fibra de Rami	65	55	30	-	HABIBI et al. (2007)
Fibra de Rami	65	55	30	-	HABIBI e DUFRESNE (2008)
Fibra de Algodão	65	63	30	-	BRAUN et al. (2008)
Fibra de Algodão	64	50	45	1/17	BRAUN et al. (2008)
Tunicados	45	55	780	-	ELAZZOZI et al. (2008)
Fibra de Algodão	60	45	75	-	TEXEIRA et al. (2009)
Fibra de Curauá	60	60	45	-	CORRÊA et al. (2009)
Fibra de Bananeira	60	45	130	1/20	PEREIRA (2010)
Bagaço de cana-de-açúcar	60	45	60	1/20	MOREIRA (2010)
Fibra de Coco	64	45	120-180	1/1	ROSA et al. (2010)
Casca de Soja	64	40	30-40	1/30	FLAUZINO NETO (2011)
Fibra de Coco	64	50	10-15	1/12	MACHADO (2011)
Testa de Arroz	64	25	30-180	1/8,75	ROSA (2012)
Casca de Soja	64	45	30-180	1/8,75	ROSA (2012)
Fibra de Licuri	64	45	15-20	1/19	SILVA (2013)

Fonte: Adaptado de SILVA (2013).

9. Bionanocompósitos

Os bionanocompósitos (filmes) são por definição materiais formados por sistemas onde matrizes poliméricas biodegradáveis são incorporados de nanopartículas também biodegradáveis. O resultado da adição dessas partículas é a melhoria considerável das propriedades deste material, que podem ser térmicas, mecânicas, de barreira, óticas ou na condutividade elétrica. (CHEN et al., 2009; MACHADO, 2011).

A incorporação das nanopartículas, denominadas de *nanowhiskers* de celulose, como reforço em matrizes poliméricas é um novo campo na nanobiotecnologia e com isso ainda existem muitos obstáculos a serem vencidos. Um dos desafios científicos nesta área de pesquisa é o desenvolvimento de bionanocompósitos formados por matrizes poliméricas biodegradáveis e *nanowhiskers* derivados de fontes renováveis. Essa nova área requer esforços multidisciplinares para atingir escalas a nível comercial (OSKMAN et al., 2008). Além disso, outros desafios devem ser atribuídos a eficiência

no isolamento destas nanopartículas de fontes renováveis, bem como, a compatibilização dos nanoreforços com a matriz polimérica utilizada e sua adequada distribuição (MACHADO, 2011).

A mistura do amido com os *nanowhiskers* é quimicamente favorecida, o que justifica o grande número de estudos relacionados, pois tanto o amido como os *nanowhiskers* de celulose apresentam características químicas semelhantes (ambos são polissacarídeos formados por monômeros de glicose), ocorrendo grande compatibilidade entre a matriz (amido) e a carga de reforço (*nanowhiskers*). Além disso, a alta área superficial dos *nanowhiskers* e a presença de grupos hidroxila, tanto na matriz como na nanopartícula, favorecem a ocorrência de interações interpartículas entre tais componentes, o que tende a modificar as propriedades dos bionanocompósitos formados, como por exemplo, as propriedades mecânicas, de barreira e morfológicas (no que diz respeito principalmente à cristalinidade) (SILVA, 2013).

Desde os primeiros trabalhos de Favier e Cavailé (1995) inúmeros bionanocompósitos poliméricos têm sido obtidos a partir da incorporação física de *nanowhiskers* de celulose em matrizes poliméricas. Entretanto, a elevada concentração dos grupos hidroxila na superfície dos *nanowhiskers* e a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio entre esses grupos produzem uma tendência à aglomeração e ao envelhecimento (WANG e SAIN, 2007). Por isso, os nanocristais de celulose, obtidos por hidrólise ácida, costumam ser mantidos em suspensão aquosa após o seu isolamento, visando reduzir as interações entre os grupos hidroxila (ROSA, 2012).

Estudos utilizando *nanowhiskers* de celulose como reforço mecânico em uma matriz de amido tem sido relatados (DUFRESNE e VIGNON, 1998; ORTZ et al., 2005; ALEMDAR e SAIN, 2008; MACHADO, 2011; SILVA, 2013). Os bionanocompósitos resultantes apresentaram propriedades melhoradas, tais como, maior módulo e alongação, decréscimo da permeabilidade a gases, aumento da resistência à água e aumento na biodegradabilidade do polímero, quando comparados com polímeros de matriz in natura ou com micro- e macro- compósitos convencionais.

A utilização de plastificantes adicional a água pode melhorar propriedades mecânicas de bionanocompósitos. Embora a sacarose e o açúcar invertido confirmem grande plasticidade a filmes de amido, o sorbitol e o glicerol estão entre os plastificantes mais utilizados (GAUDIN et al., 2000). SILVA et al. (2012) avaliaram a resistência mecânica e a água de filmes formulados com amido de mandioca, incorporados com *nanowhiskers* de eucalipto e plastificados com sacarose (0,7g/100g) e açúcar invertido

(1,4g/100g). O aumento da concentração de *nanowhiskers* nos filmes melhorou consideravelmente suas propriedades mecânicas, com aumento de mais de 400 % no módulo de elasticidade e 92 % na tensão máxima, quando comparado ao filme controle, indicando a formação de uma rede de percolação adequada com pequenas quantidades de nanopartículas de celulose. A adição de *nanowhiskers* de eucalipto diminuiu o inchaço dos filmes, indicando que as nanopartículas aumentaram a estabilidade dos filmes em água. Além disso, a solubilidade dos filmes, bem como a atividade de água, diminuiriam linearmente com o aumento da concentração de *nanowhiskers*.

Machado (2011) investigou as propriedades mecânicas de bionanocompósitos de amido de mandioca e *nanowhiskers* obtidos a partir da fibra de coco, usando glicerol como plastificante. Os resultados indicaram aumento de até 47 % na tensão máxima e 462 % no módulo de elasticidade com diminuição no percentual de deformação de 94 %, quando comparado ao filme de controle. Tal fato foi justificado pelas fortes interações existentes entre as partículas de amilopectina presentes na matriz e os *nanowhiskers* de celulose.

Anglés e Dufresne (2000) estudaram os efeitos da adição de *nanowhiskers* de celulose provenientes de tunicados em amido de milho, usando glicerol como plastificante. Neste estudo foram observados aumentos significativos no módulo de elasticidade e tensão máxima dos filmes com o aumento do percentual dos *nanowhiskers* incorporados. Mathew e Dufresne (2002) observaram o grau de cristalinidade dos bionanocompósitos obtidos com amido de milho, adicionados de *nanowhiskers* provenientes de tunicados e plastificados com sorbitol. Os resultados mostraram aumento na cristalinidade dos filmes com a incorporação de nanopartículas (0 % - 25 %), atribuído à nucleação dos *nanowhiskers* de celulose.

Kvien et al. (2007) observaram que bionanocompósitos obtidos a partir do amido de batata e sorbitol como plastificante, quando adicionado com *nanowhiskers* de celulose obtidos da celulose microcristalina. Os filmes apresentam melhorias consideráveis em suas propriedades mecânicas, como módulo de elasticidade e tensão máxima. No entanto, Berglund et al. (2009) observaram redução de cerca de 50 % na difusão de vapor d'água em bionanocompósitos de amido de batata e *nanowhiskers*, utilizando o glicerol como plastificante, em comparação ao filme de amido puro. Este resultado também foi atribuído a existência de fortes interações entre os *nanowhiskers* de celulose e as partículas que formam a matriz. Dessa forma, os *nanowhiskers* de celulose se tornam uma alternativa atraente como um material inorgânico para preparo

de nanocompósitos poliméricos, devido à suas excepcionais propriedades mecânicas e sua natureza renovável (MACHADO, 2011).

Apesar da utilização de goma xantana como aditivo em bionanocompósitos ter sido pouco estudada, sugere-se que sua adição promova um grande efeito nas propriedades de pasta da mistura resultante. A xantana tem a capacidade de promover decréscimo na temperatura de pasta, aumento da viscosidade máxima e decréscimo na tendência a retrogradação dos bionanocompósitos (DA MATTA JUNIOR, 2009). Também oferece como vantagem para este tipo de aplicação, o fato de ser resistente a variações de pH (BAIRD e PETITT, 1991), podendo ser utilizada em contato com produtos ácidos e básicos. Por ser obtida a partir de microrganismos, pode ser produzida em condições controladas, sem problemas acarretados por entressafras, assegurando a qualidade e homogeneidade de seus lotes (SILVA e SCAMPARINI, 2000).

A xantana pode enredar grânulos de amido e formar uma rede ao seu redor atuando como uma proteção física contra a perda de integridade pela aplicação de uma força. A xantana também tende a produzir sistemas mistos mais estáveis que aqueles só de amido e que poderiam ser preservados por mais tempo (MANDALA et al., 2002; VEIGA-SANTOS et al., 2005). Assim, o emprego de goma xantana e *nanowhiskers* na produção de bionanocompósitos (filmes) de amido, em especial de amido/fécula de mandioca, surge como uma alternativa viável para melhorar as propriedades desses biomateriais (MAHECHA, 2009).

9.1. Produção de Filmes por *Casting*

Esta técnica, útil para formação de bionanocompósitos (filmes), é simples e consiste na desidratação de um determinado volume de solução filmogênica depositado de maneira controlada em um suporte de área conhecida e de superfície lisa e plana (DONHOWE e FENNEMA, 1994). A solução filmogênica é obtida a partir da dispersão dos polímeros em determinado volume de água com agitação constante.

A obtenção de um filme empregando-se a técnica de *casting* está relacionada com o grau de coesão entre as moléculas do filme. Alguns fatores determinantes dessa coesão são: a estrutura química do biopolímero, as condições de produção (tempo e temperatura de secagem, técnica de evaporação do solvente e umidade relativa), a presença de plastificante, o tipo de plastificante e a espessura do filme. A coesão do filme é favorecida pela alta ordenação das cadeias poliméricas. A evaporação excessiva

do solvente ou o resfriamento pode levar à formação de filmes pouco coesos, devido à imobilização prematura do polímero (GONTARD e GUILBERT, 1996). O tempo de secagem também determina as propriedades mecânicas de filmes produzidos por *casting*, uma vez que quanto maior o tempo de evaporação, maior será a tendência a formação de cristais, os quais criam áreas de baixa elasticidade, formando filmes com tendência ao rompimento (RINDLAV et al., 1997; MELO, 2010).

O método de *casting* tem sido largamente utilizado para a produção laboratorial de filmes de amido. Suas principais vantagens para essa finalidade são a facilidade de produção, a capacidade de se produzir em escala bastante baixa, com a utilização de pouca matéria-prima e a não exigência de equipamento especializado para a sua execução. Para a produção industrial, entretanto, a produção em escala baixa e a não utilização de equipamento especializado que promova uma maior padronização dos lotes produzidos constituem em uma grande limitação do processo. Poucos autores tem se dedicado a utilizar e comparar os dois métodos para uma mesma formulação. Ao comparar filmes de amido contendo diferentes plastificantes e produzidos pelos métodos de *casting* e extrusão, Galdeano et al. (2009) observaram que os filmes apresentavam diferentes padrões de cristalinidade, além disso, os filmes produzidos por *casting* apresentaram maior resistência mecânica e menor permeabilidade ao vapor de água do que o material laminado produzido por extrusão. Isso pode se dever ao fato de que as cadeias de amido expostas a altas temperaturas e alto grau de cisalhamento da extrusão podem ser degradadas, formando um grande número de moléculas menores, que interagem formando pequenos grupamentos, diminuindo a continuidade e coesão da matriz e abrindo espaços que podem fragilizar o filme. Nos filmes produzidos por *casting* as moléculas se encontram mais intimamente empacotadas, tornando o filme mais resistente e menos permeável (MELO, 2010). A Figura 20 apresenta fluxograma de elaboração dos filmes por *casting* do grupo amido - glicerol - goma xantana - *nanowhiskers*.

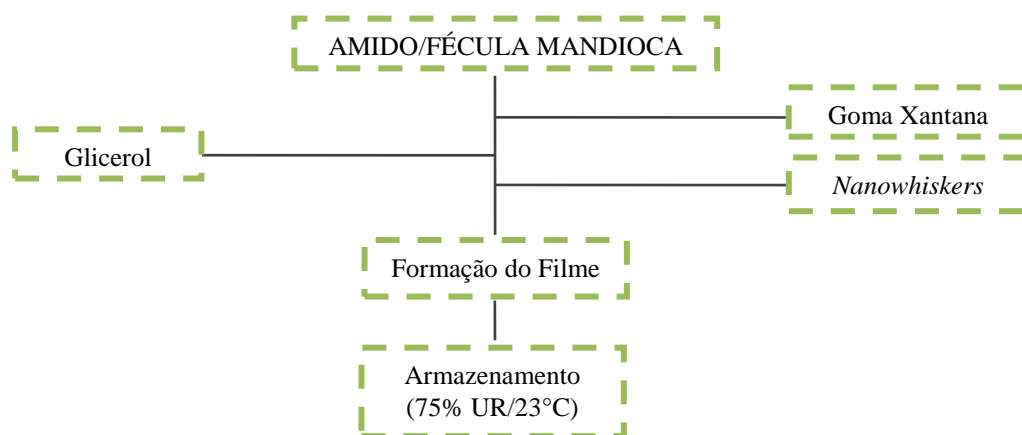


Figura 20. Fluxograma básico de elaboração dos filmes por *casting* do grupo amido - glicerol - goma xantana - *nanowhiskers*.

10. Caracterização da goma xantana produzida a partir da glicerina residual do biodiesel

10.1. Reologia

A reologia estuda a deformação e o escoamento da matéria, sendo conceitos aplicados à matéria nos estados sólido e líquido, respectivamente. As propriedades reológicas de interesse são a elasticidade para sólidos e a viscosidade para líquidos. A viscosidade pode ser interpretada como a resistência que um fluido oferece para escoar ou como a medida da fricção interna do mesmo. No entanto, há materiais que não podem ser diferenciados em sólidos ou líquidos; então, a propriedade reológica de interesse nesta situação é a viscoelasticidade (PASQUEL, 1999; RAO, 1999).

De acordo ao seu comportamento, os fluidos se classificam em Newtonianos ou não-Newtonianos. Nos fluidos Newtonianos, a deformação cresce contínua e linearmente, qualquer que seja a tensão aplicada e a resistência ao escoamento é proporcional à taxa de deformação, enquanto que nos não-Newtonianos, a viscosidade varia conforme a taxa de cisalhamento. Dentre eles, estão os pseudoplásticos, cuja viscosidade diminui ao aumentar a taxa de cisalhamento (LEWIS, 1993; OLIVEIRA, 2009). A Figura 21 mostra o comportamento reológico de fluidos newtonianos e não-newtonianos independentes do tempo.

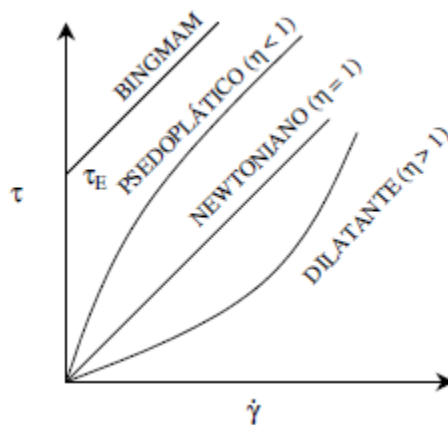


Figura 21. Curvas de escoamento de fluidos newtoniano e não-newtonianos com propriedades independentes do tempo de cisalhamento.
 Fonte: TONELI et al. (2005).

Sistemas reais se comportam como sólidos e líquidos. Em um material viscoelástico, uma parte da tensão aplicada pode ser parcialmente recuperada, face às propriedades elásticas, e a outra, dissipada devido às propriedades viscosas (NAVARRO, 1997).

A viscoplasticidade é um fenômeno caracterizado por um valor residual na tensão de cisalhamento, que deve ser excedido para que o material apresente um comportamento viscoso. Este comportamento está associado a composições com interações partícula-partícula acentuadas, considerados fluidos com alta concentração de sólidos, acima do valor crítico (*ex.* lamas, polpas de frutas) que se comportam como um sólido plástico, com tensão residual, sendo denominados fluidos viscoplásticos ideais (NAVARRO, 1997).

A viscoplasticidade é um fenômeno tempo-dependente, ocorrendo só em sistemas poliméricos, apresentando um comportamento não-newtoniano em soluções diluídas, cujas moléculas, em repouso, podem assumir uma posição equilibrada de formas (conformação) e aleatória de orientações (configurações) (KREVELEN, 1990). As moléculas se alinham com as vizinhas, reduzindo a aleatoriedade do sistema molecular, tomando uma orientação global típica de sólidos, originando o comportamento viscoelástico. Sob cisalhamento, as moléculas mudam de forma, afastando-se da conformação de equilíbrio. (NAVARRO, 1997).

A viscosidade de um líquido está relacionada à resistência interna oferecida ao movimento relativo das diferentes partes desse líquido (RAO, 1999). Assim, o conhecimento do comportamento reológico de soluções é vital para o seu processamento, avaliação, controle de qualidade e aceitabilidade de um produto

alimentício pelo consumidor (STEFFE, 1996). Para isto, testes reológicos a baixa tensão de cisalhamento são feitos, simulando as condições de utilização do produto (SACAMPARINI, 1991), enquanto que altas tensões de cisalhamento são utilizadas nos estudos reológicos de condições do processamento de determinadas soluções ou produtos (SHAW, 1975).

10.1.1. Reologia da xantana

Soluções de biopolímeros bacterianos com propriedades reológicas interessantes do ponto de vista industrial exibem geralmente propriedades pseudoplásticas, viscoelásticas e tensão residual elevada (SUTHERLAND, 2001), que se caracteriza pela diminuição da viscosidade, ocorrendo à medida que a velocidade de deformação aplicada no sistema aumenta (Figura 22) (SHAW, 1975; YOUNG, 1981; NAVARRO, 1997).

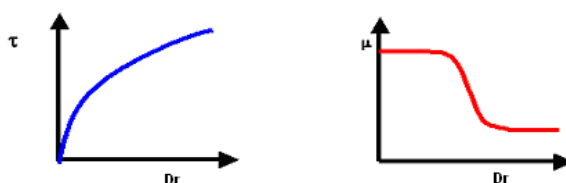


Figura 22. Curvas de fluxo e viscosidade para um fluido pseudoplástico.
Fonte: COSTA (2010).

A viscoelasticidade é uma das propriedades reológicas mais simples de substâncias de comportamento reológico complexo, como nos biopolímeros de aplicação comercial com capacidade de formar géis verdadeiros em baixas concentrações com características intermediárias entre sólidos e fluidos (SZCZESNIAK, 1983).

A viscosidade aparente do meio fermentado foi o parâmetro utilizado para avaliar a qualidade do biopolímero (BUENO e GARCIA-CRUZ, 2000). Contudo, a análise da viscosidade em soluções aquosas de xantana revela com maior precisão seu potencial de aplicação industrial (agente espessante, estruturante ou gelificante), determinando a viscosidade aparente em solução aquosa de baixa concentração (RAO, 1999; ANTUNES, 2000; DIAZ, 2002; FORESTI, 2003).

A viscosidade da solução de um polímero está diretamente associada à rigidez da molécula, um atributo das estruturas primária e secundária, das interações intermoleculares, da composição química, das ramificações e da massa molecular do polímero. Isto está, ainda, relacionado à cepa utilizada e às condições operacionais do processo (RAO, 1999; GARCIA-OCHOA et al., 2000).

Em relação às ramificações do polímero, alguns estudos preconizam que estas reduzem o enovelamento da cadeia linear, diminuindo a viscosidade, enquanto outros indicam que ramificações longas provocam um maior enovelamento, aumentando a viscosidade, gerando um comprimento de cadeia maior que o comprimento crítico (NAVARRO, 1997; RAO, 1999).

As soluções aquosas de xantana possuem características reológicas peculiares, comparadas a outros polímeros, como altas viscosidades em baixas concentrações (0,01 a 3 %), altos níveis de pseudoplasticidade e estabilidade frente às variações de temperatura, pH e presença de sais (PASQUEL, 1999; SUTHERLAND, 2001) e elevada solubilidade em água quente ou fria (ROCKS, 1971), despertando o interesse industrial.

Do ponto de vista sensorial, os polissacarídeos com comportamento pseudoplástico provocam menor sensação de gomosidade na boca do que aqueles com comportamento newtoniano (NAVARRO, 1997). Considerando que a taxa de cisalhamento da mastigação oscila entre 50-200 s⁻¹, ao exibir baixas viscosidades, a xantana torna o produto alimentício, ao qual foi adicionada, menos viscoso ao paladar (MORRIS, 1984; CHALLEN, 1993), um efeito que é potencializado com a adição de hidrocolóides, como proteínas e outros biopolímeros (GARCIA-OCHOA et al., 2000).

A pseudoplasticidade de soluções de xantana é afetada pelo tempo e a temperatura da fermentação. Gomas obtidas de processos acima de 55 horas possuem altas viscosidades, enquanto que a temperaturas maiores que 28 °C, o polímero apresenta baixos teores de acetato e piruvato e menor massa molecular; conseqüentemente, as soluções aquosas terão viscosidades baixas. O aumento na concentração inicial de nitrogênio gera viscosidades menores (CASAS et al., 2000). Porém, a viscosidade dessas soluções não é influenciada por mudanças de pH entre 1 e 11 (MORRIS, 1984),

A adição de sais confere estabilidade às formulações de xantana, provavelmente pela manutenção de alguns graus de ordem e a diminuição da temperatura de transição da conformação estrutural (SUTHERLAND, 2001). Em algumas formulações comerciais, são adicionados sais (KCl, CaCl₂, NaCl) para facilitar a solubilização,

aumentar a viscosidade e manter a estabilidade (MORRIS, 1996). Os sais permitem manter estas propriedades ainda a temperaturas próximas de 100 °C (PINTO, 2005).

Os sais influenciam a viscosidade das soluções aquosas de goma xantana. Alguns sais aumentam a viscosidade das soluções, como resultado da estabilização da estrutura ordenada da goma ao aumentar a associação intermolecular. No entanto, em concentrações de polímeros abaixo de 0,2 %, a adição de sais causa uma leve diminuição da viscosidade. Esta aumenta em altas concentrações de xantana ou ao ser adicionada uma grande quantidade de sais. Isto se deve, provavelmente, ao aumento da interação entre as moléculas do biopolímero (XUEWU et al., 1996).

Alterações qualitativas e quantitativas na viscosidade de soluções de xantana dependem de modificações na composição química (MOREIRA, 2002). As mudanças qualitativas estão relacionadas a variações na composição química, decorrentes de aspectos genéticos de cepas de *Xanthomonas* (ANTUNES et al., 2000), enquanto que as quantitativas podem ser associadas as condições do processo fermentativo (meio de cultura, aeração, agitação, pH, temperatura, tempo) (MOREIRA et al., 2001). A massa molecular e os grupos substituintes (pirúvil e acetil) na xantana são decorrentes dos parâmetros citados (CADMUS et al., 1978; GARCIA-OCHOA et al., 2000).

10.2. Massa molecular da goma xantana

A cadeia de um biopolímero é sintetizada através de uma reação enzimática que adicionada os monômeros, ocorrendo à polimerização de cadeias com diferentes comprimentos. Em decorrência, haverá uma distribuição de massas moleculares, não sendo possível obter um valor único e definido da massa molecular do polímero, daí, que o cálculo da massa molecular média (MM) seja efetuado com base na média dos limites distribuição das massas moleculares (LDMM) (GARCIA-OCHOA et al., 2000).

As propriedades físicas, reológicas, mecânicas, térmicas e o comportamento de um dado biopolímero durante o processamento dependem do tamanho médio e da distribuição de comprimentos das cadeias do polímero. Se a estrutura química do biopolímero é igual, MM e/ou LDMM diferentes podem alterar as propriedades do biopolímero. Por isto, um dos fatores de caracterização dos polímeros é sua massa molecular (GARCIA-OCHOA et al., 2000).

As condições operacionais do processo fermentativo, a composição do meio de cultura e do substrato e as características genéticas da bactéria de *Xanthomonas*,

influenciam a MM da goma xantana, sendo produzidos biopolímeros com massas moleculares médias diferentes (ROSALAM e ENGLAND, 2006).

O controle industrial da qualidade da goma xantana produzida é de extrema importância, como uma forma de controlar a massa molecular do polímero durante sua síntese, pois a MM influencia as propriedades finais da molécula.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é um dos métodos mais utilizados para separar e analisar polímeros acoplando o sistema a um detector de Índice de Refração (IR). Especificamente, a técnica de cromatografia de permeação em gel (GPC - Gel Permeation Chromatography) ou cromatografia de exclusão molecular permite fornecer informações referentes a massa molecular média e à distribuição da mesma mediante programas estatísticos específicos incorporados aos cromatógrafos (CIOLA, 1998).

A técnica GPC permite uma seletiva e dinâmica distribuição das moléculas do polímero (soluto) na fase móvel mediante a eluição com fluxo controlado (solvente-fase móvel), que depende fase estacionária, da porosidade da resina da coluna. A técnica pode ser aplicada de maneira à eluir moléculas com densidade e formas similares, fornecendo um método rápido e útil para avaliar a MM e LDMM (CANEVAROLO, 2004).

O mecanismo de separação da cromatografia por exclusão está baseada na propriedade da resina empacotada na coluna, que são macromoléculas com ligações cruzadas e afinidade pelos solventes, mas que são insolúveis nos mesmos. A resina da fase estacionária é um gel não carregado equilibrado no mesmo eluente que separa as moléculas em análise (COLLINS et al., 1995). Na fase estacionária, o espaço intersticial entre as partículas da resina é ocupado pelo líquido que ao fluir, elue as moléculas a serem separadas. A porosidade da fase estacionária controla a eluição, de maneira que a variação no fluxo imprime uma velocidade que promove a separação (MANO, 1985).

A separação das moléculas acontece quando o fluxo da fase móvel passa através dos poros da fase estacionária. A escolha desta malha permite a exclusão das moléculas, de forma que as menores são retidas nesses poros e as maiores são eluídas primeiro, havendo a separação contínua de substâncias por tamanho molecular. O mecanismo de separação depende principalmente do tamanho (massa molecular), da estrutura e da conformação química das macromoléculas (DRUZIAN, 2000).

Face as dificuldade na determinação da MM de polímeros aquosos, principalmente aqueles de elevada massa molecular, a CPG apresenta propriedades

como simplicidade da técnica e possibilidade de separar a substância com MM menores de 1 kDa ou acima de 1000 kDa, apenas variando a matriz do gel da fase estacionária (COLLINS et al., 1995). As moléculas de alta MM penetram nos poros, passando rapidamente por entre os espaços intersticiais, apresentando um menor tempo de retenção (Tr); diferentemente das partículas que ao penetrarem os poros percorrem a coluna lentamente, portanto, com um maior Tr (MANO, 1985).

Para determinar a MM, uma curva de calibração com padrões de massas moleculares definida e estrutura química análoga é feita para obter a relação massa molecular:volume de eluição. Muitos destes padrões moleculares não estão disponíveis comercialmente (COLLINS et al., 1995).

No caso específico da determinação da MM ou dos LDMM relativos da goma xantana, foram utilizados padrões moleculares de dextranas. Assim, empregando-se uma coluna de exclusão molecular acoplada a um detector IR, os biopolímeros foram separados e a MM média calculada por comparação com tempo retenção dos padrões de dextranas (DRUZIAN, 2000).

A MM da goma xantana é influenciada pelo microrganismo produtor e pelas condições operacionais aplicadas durante a fermentação. Uma ampla faixa de valores propostos relatados ($1,1$ a 47×10^6 g mol⁻¹) também pode ser resultado da aplicação de diferentes técnicas, tais como, espalhamento de luz e viscosidade intrínseca, além da cromatografia de exclusão por tamanho (SUTHERLAND, 1996).

Diversos estudos têm mostrado a influência da cepa de *Xanthomonas*, da agitação, da temperatura, sendo observadas variações na massa molecular. Os resultados de Shatwell et al. (1990) indicaram variações entre $0,9 \times 10^6$ a $1,27 \times 10^6$ Da, quando utilizadas as linhagem *campestris* 646, a $1,27 \times 10^6$ e *phaseoli* 1128, pela técnica de espalhamento de luz, enquanto a MM determinada pela técnica de viscosidade intrínseca oscilou entre $2,4 \times 10^6$ a $6,3 \times 10^6$ Da para essas cepas, respectivamente.

Com o aumento da velocidade de agitação durante a fermentação, a MM atingiu valores de $6,9 \times 10^6$ Da e $8,6 \times 10^6$ Da, a 200 e 800 rpm, respectivamente (PETERS et al., 1989). Entretanto, Papagianni et al. (2001), não obtiram essa correlação entre a MM da xantana com a velocidade de agitação (5×10^5 rpm). Em termos de temperatura, o aumento de 25 para 34 °C reduziu a massa molar do polímero (CASAS et al., 2000).

Quanto à composição química, há uma relação entre o teor de piruvil e acetil e a MM da xantana (CALLET et al., 1987). Variações de MM foram observadas ao se compararem valores entre xantana livre de piruvato ($2,3 \times 10^6$ Da), a xantana livre de

acetil e piruvato ($2,3 \times 10^6$ Da) em relação à xantana nativa ($5,2 \times 10^6$ Da). A desacetilação não afetou o conteúdo de ácido pirúvico nem a massa molar da xantana.

Embora a influência das condições operacionais na relação estrutura molecular e MM da xantana estejam descritas, não há concordância entre os resultados obtidos, pois, geralmente, apenas uma única variável é estudada (CASAS et al., 2000).

Sendo a goma xantana um heteropolissacarídeo, ramificado, aniônico e com grupos substituintes acetil e piruvil, além da massa molecular média e de sua distribuição, e a composição química, a disposição molecular e conformação moleculares do polímero irão influenciar as propriedades da goma xantana, portanto elas devem ser avaliadas.

10.3. Composição monomérica da goma xantana

As espécies e patovares da bactéria *Xanthomonas* utilizados no processo de fermentação pode ser um fator que influencia a composição do biopolímero formado. O polissacarídeo xantana produzido por diferentes espécies de *Xanthomonas* contém normalmente glicose, manose e ácido glucurônico. (GARCIA-OCHOA et al., 2000). Ocorre a presença de ramnose e xilose nos polissacarídeos produzidos pelos patovares *juglandis* e *phaseoli*, respectivamente (SLONEKER e JEANES, 1962; SOUZA e VENDRUSCULO, 1999). A goma xantana sintetizada pelo patovar *pruni* apresenta o monossacarídeo ramnose em sua composição (SOUZA e VENDRUSCULO, 1999). A presença de ramnose na composição da xantana é uma característica desejável, já que nas gomas xantana das quais faz parte possuem capacidade de formar géis verdadeiros. A goma xantana comercial não apresenta ramnose na sua composição (MCNELLY e KANG 1977).

A composição monomérica da unidade repetitiva da xantana tem sido amplamente estudada por se tratar de uma estrutura passível de mudanças ocasionadas também pelas diferentes condições operacionais aplicadas durante a fermentação. Diferentes métodos têm sido utilizados para determinação da composição deste biopolímero, incluem desde técnicas simples, como cromatografia de camada delgada e métodos colorimétricos, até a utilização de cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e também técnicas espectrométricas, como a de infravermelho e de ressonância magnética (CHAPLIN, 1994; CANEVAROLO, 2004; BRANDÃO 2012).

A cromatografia líquida de alta eficiência pode ser usada por injeção direta da amostra do biopolímero hidrolisado no CLAE com detecção de índice de refração para açúcares e, ultravioleta ou arranjo de diodos para ácidos. O uso de colunas com fase estacionária ligada a NH₂ com a mistura acetonitrila:água como eluente em CLAE tem sido muito utilizada para separação de carboidratos e polióis com detecção de índice de refração (DRUZIAN, 2000).

O primeiro passo na análise de biopolímeros é a clivagem das ligações entre as unidades básicas que os compõem. Isto é normalmente realizado por hidrólise ácida e/ou enzimática. Para uma identificação precisa, assim como para uma análise quantitativa das unidades que compõem a goma xantana, é necessário que a hidrólise ácida seja realizada em condições suficientemente brandas para não causar degradação dos açúcares, mas permitindo a quebra de todas as ligações glicosídicas (DRUZIAN, 2000). Os agentes de hidrólise mais comumente usados são ácido sulfúrico, ácido trifluoracético (TFA), ácido clorídrico ou ácido sulfúrico em metanol absoluto, ácido fluorídrico e vários outros usados em clivagem redutiva. A maior desvantagem do ácido sulfúrico está na incapacidade para hidrolisar completamente ligações α (1 \rightarrow 4) de ácido poliglucurônico e na dificuldade de remover o ácido após hidrólise, já na hidrólise com TFA o ácido pode ser facilmente removido por evaporação após este processo (FORNARI, 2006).

A literatura tem mostrado que variações quantitativas entre polímeros produzidos por diferentes microrganismos do gênero *Xanthomonas* são mais comuns que diferenças qualitativas, e as principais variações estão relacionadas com o conteúdo dos substituintes piruvato e acetato. O conteúdo de ácido pirúvico no polissacarídeo de diferentes espécies e cepas de *Xanthomonas* foi avaliado, inicialmente, por Orentas et al. (1963) com variações de 1,05 % a 7,64 % (p/v). Vários trabalhos sucederam-se, mostrando a influência da espécie, patovar e cepa na composição química qualitativa e quantitativa do polímero (Tabela 9).

Tabela 9. Composição química (%) de biopolímeros produzidos por diferentes cepas de *Xanthomonas*.

Microrganismo	Glc (%)	Man (%)	Aglc (%)	Ac (%)	Ap (%)	Referência
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> 646	40,2	36,0	23,8	4,5	4,4	SHATWELL et al. (1990)
<i>X. campestris</i> pv <i>oryzae</i> PXO61	40,6	37,7	21,7	14,3	0,3	
<i>X. campestris</i> pv <i>phaseoli</i> 556	40,5	38,7	20,8	1,6	6,0	
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> 10	-	-	-	10,0	0,24	SÁNCHEZ et al. (1997)
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> 11	-	-	-	8,1	0,50	
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> E2	-	-	-	7,3	2,56	
<i>X. campestris</i> pv <i>manihotis</i> 16	-	-	-	4,6	6,82	
<i>X. fragaria</i> 1822	24,6	26,1	14,0	5,5	4,9	KENNEDY e
<i>X. gummosudans</i> 2182	34,8	30,7	16,5	10,0	4,7	BRADSHAW
<i>X. juglandis</i> 411	33,2	30,2	16,8	6,4	6,9	(1984) apud
<i>X. phaseoli</i> 1128	20,9	28,6	15,3	6,4	1,8	GARCÍA-OCHOA
<i>X. vasculorum</i> 702	34,9	30,2	17,9	6,3	6,6	et al. (2000)
<i>X. arboricola</i> pv <i>pruni</i> 115	-	-	-	2,8	0,8	BORGES (2007)
<i>X. campestris</i> pv <i>mangiferaeindicae</i> 2103	38,6	31,6	11,2	-	18,6	BRANDÃO (2012)

Glc = Glicose; Man = Manose; Aglc = Ácido glucurônico; Ac = Ácido acético; Ap = Ácido pirúvico
 Fonte: Adaptado de BRANDÃO (2012).

Os polissacarídeos extracelulares produzidos por bactérias *Xanthomonas* têm sido amplamente caracterizados. Primeiramente, o polímero produzido pela bactéria *Xanthomonas phaseoli* foi analisado, sendo composto de D-glucose, D-manose e D-ácido glucurônico na proporção de 1:1:1 (LESLEY e HOCHSTER, 1959). Após este trabalho, Sloneker e Jeanes (1962) estudaram o polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris* cepa NRRL B-1459, e verificaram que este é composto de D-glucose, D-manose e D-ácido glucurônico na proporção 2,8:3,0:2,0 além de ácido acético e ácido pirúvico, na proporção 1,73:0,627. No estudo de Brandão (2012), o biopolímero produzido pela *Xanthomonas* cepa 2103, utilizando a glicerina bruta como substrato alternativo, é composto de D-glucose, D-manose e D-ácido glucurônico na proporção 3,3:2,8:1,0.

A composição química não influencia apenas a viscosidade, mas também as propriedades viscoelásticas. O efeito da presença de piruvato na interação macromolecular aumenta a capacidade gelificante da xantana, quando combinada com outros polímeros. Xantanas com alto grau de piruvatação formam um gel altamente termoresistente, enquanto xantanas despiruvatadas ou naturalmente livres de piruvato reduzem a interação depreciando a formação do gel (LECHNER et al., 1996).

10.4. Termogravimetria (TGA)

Termogravimetria é a técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto está sendo submetida a uma programação controlada (COSTA, 2010).

O termo Termogravimetria (TGA) é usualmente empregado em vez de TG, particularmente em polímeros, por ser um precedente histórico e para minimizar a ambigüidade com T_g , uma abreviação utilizada para a temperatura de transição vítrea. A Figura 23 mostra o modelo das curvas TGA e sua derivada (DTG). A ordenada é apresentada usualmente em percentual de perda de massa ou em mg, fato este que proporciona uma fácil comparação entre várias curvas em uma base normalizada. As curvas DTG aperfeiçoam a resolução e são mais facilmente comparadas a outras medidas (RODRIGUES e MARCHETTO, 2007).

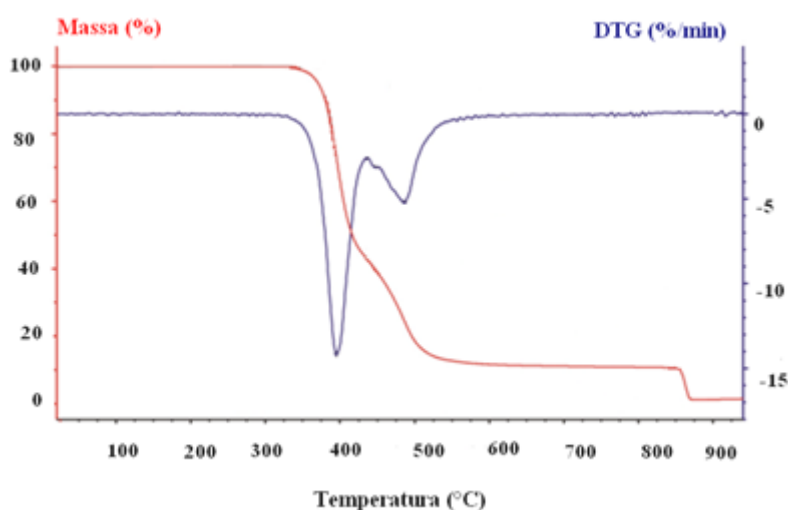


Figura 23. Gráfico de TGA e sua derivada, DTG.
Fonte: RODRIGUES e MARCHETTO (2007).

As curvas de TGA podem ser classificadas em: isotérmica, quase-isotérmica e dinâmica. Na TGA isotérmica, a variação de massa é registrada em função do tempo à temperatura constante. Na TGA quase isotérmica, o aquecimento é interrompido no início do evento de perda de massa permanecendo isotérmico até obtenção de massa constante, e na TGA dinâmica, há um acompanhamento das variações de massa sofrida pela amostra em função da temperatura quando esta é submetida a um resfriamento ou aquecimento linear. Essas curvas permitem obter informações importantes sobre a estabilidade térmica da amostra e dos compostos intermediários do processo de

termodecomposição, sobre a composição dos produtos intermediários e do resíduo (PINHO, 1999; CARVALHO FILHO, 2000; BRANDÃO, 2012).

Existem diversos fatores que podem afetar as curvas TGA, sendo os mais frequentes: a razão de aquecimento, atmosfera gasosa do forno, características da amostra (tamanho das partículas, cristalinidade), geometria e composição do cadinho (alumínio, platina, quartzo), peso da amostra, calor de reação e defasagens de até $\pm 10\%$ na temperatura programada pode provocar erros consideráveis (PINHO, 1999; BRANDÃO, 2012).

O principal interesse pelo método de TG é a possibilidade de eliminar o tratamento da amostra para retirada de interferentes e também diminuir o tempo de análise, além das informações complementares que cada técnica pode fornecer. A Tabela 10 mostra algumas das inúmeras aplicações existentes da termogravimetria.

Tabela 10. Aplicações da técnica termogravimétrica (TGA)

Calcinação e torrefação de minerais
Degradação térmica oxidativa de substâncias poliméricas
Corrosão de materiais em várias atmosferas de pressão
Curvas de adsorção e desadsorção
Decomposição de materiais explosivos
Desenvolvimento de processos gravimétricos analíticos (peso constante)
Decomposição térmica ou pirólise de materiais orgânicos e inorgânicos
Destilação e evaporação de líquidos
Determinação da pressão de vapor e entalpia de vaporização de aditivos voláteis
Determinação de umidade, volatilidade e composição de cinzas
Estudo da cinética de reações envolvendo espécies voláteis
Estudo da desidratação e da higroscopicidade
Identificação de polímeros novos, conhecidos e intermediários
Propriedades magnéticas como temperatura Curie, suscetibilidade magnética
Reações no estado sólido que liberam produtos voláteis

11. Caracterização dos *nanowhiskers* de celulose obtidos a partir da palha de milho

A caracterização dos *nanowhiskers* de celulose é realizada com o objetivo de avaliar as características dimensionais, a carga de superfície, a cristalinidade, a estabilidade na suspensão e seu desempenho em matrizes poliméricas (MACHADO, 2011). Os *nanowhiskers* obtidos a partir da palha de milho foram avaliados por difração de raio-x (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e termogravimetria (TGA). As características morfológicas das nanoestruturas foram estudadas usando microscopia eletrônica de transmissão (TEM).

11.1. Difração de raio-X (DRX)

A difratometria de raios-x corresponde a uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de compostos cristalinos, sejam eles inorgânicos ou orgânicos (SMITH, 1981). Um feixe de raios-x ao ser difratado por uma amostra contém informações sobre os tipos de átomos que constituem o material, arranjo atômico e geometria cristalina.

Os planos de difração e suas respectivas distâncias interplanares, bem como as densidades dos átomos (elétrons) ao longo de cada plano cristalino, são características específicas e únicas de cada substância cristalina, da mesma forma que o padrão difratométrico por ela gerado (WANG et al., 2006).

Um difratograma consiste de um registro da intensidade de raios difratados versus o dobro do ângulo de difração (2θ). A geometria mais utilizada para os difratômetros é a de Bragg-Brentano, onde um feixe de radiação monocromática incide em uma amostra na forma de pó compactado, rotacionada em um ângulo θ , enquanto os dados são coletados por um detector que se move em 2θ . Nos trabalhos de determinação da cristalinidade dos *nanowhiskers* de celulose, a prática comum é gerar um espectro com ângulo (2θ) variando de 2° a 80° sendo as intensidades registradas em porcentagem da relação entre a raia mais intensa (100%) com os demais picos da fase (EDGAR e GRAY, 2003; SAMIR et. al., 2005; HABIBI e DUFRESNE, 2008; ROSA et al., 2010; MACHADO, 2011; SILVA, 2013).

Um esquema simplificado do funcionamento de um difratômetro é mostrado na Figura 24.

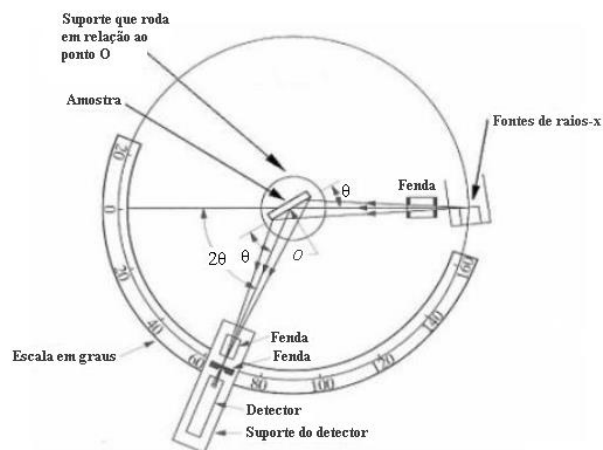


Figura 24. Representação esquemática de um difratômetro na geometria Bragg-Brentano.

Fonte: SMITH (1981) apud LENGOWSKI (2012).

Os raios-x são gerados através da colisão de um feixe de elétrons acelerados por uma diferença de potencial em direção a um metal, frequentemente chamado de alvo. Ao colidir, a formação dos raios-x se dá por dois mecanismos: primeiro, a desaceleração das partículas carregadas gera radiação, cujo comprimento de onda forma a parte contínua do espectro. Segundo, devido à interação dos elétrons com o material do alvo, que promovem transições eletrônicas que produzem fótons característicos destas transições, emitindo raios-x, específicos do elemento que compõe o alvo. Vários materiais podem servir como alvo, como por exemplo, cobre, molibdênio, cobalto e cromo (LENGOWSKI, 2012). Nesse estudo o alvo utilizado foi o alvo de cobre, que gera uma linha $\lambda\alpha$ intensa de comprimento de onda de $1,5418 \text{ \AA}$.

Quando o feixe de raios-x incide num sólido, há espalhamento em todas as direções e as ondas que estão em fase interferem de maneira construtiva e difratam pela rede cristalina do material, trazendo informações sobre a orientação cristalográfica e o tamanho dos cristalitos. A Figura 25 mostra um esquema básico de um feixe de raios-x que difrata ao incidir em um sólido que possui estrutura cristalina bem definida.

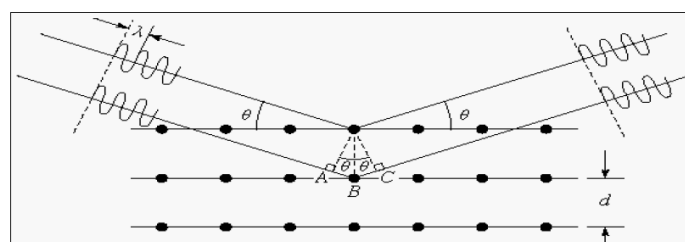


Figura 25. Esquema básico da difração de raios-x em um material com planos cristalinos separados por uma distância d .

Fonte: SMITH (1981) apud LENGOWSKI (2012).

O método de cálculo utilizado na determinação da cristalinidade dos materiais em estudo foi desenvolvido por SEGAL et al. (1959) no qual o percentual de cristalinidade (I_c) é determinado pela diferença da intensidade entre o pico de maior intensidade e o pico de menor intensidade, sendo o pico de maior intensidade o pico cristalino e o de menor a porção amorfa, seguindo a equação (HENG e KOO, 2001; WANG et al., 2006):

$$I_c = \frac{I(002) - I(am)}{I(002)} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

A proporção entre as regiões cristalina e amorfa, que determina o grau de cristalinidade e as características dimensionais dos domínios cristalinos, é variável (SOUZA LIMA e BORSALI, 2004). As regiões cristalinas são resultados da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos enzimáticos. As regiões amorfas são resultados da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização. Essas são denominadas, por alguns autores, de regiões em que a cristalização ocorreu com defeito (EICHHORN et al., 2001; SAMIR et al., 2005; HABIBI et al., 2007).

11.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia é o estudo das interações da radiação eletromagnética com a matéria (HARRIS e BERTOLUCCI, 1978) e podem levar a transições entre os níveis de energia dos átomos e moléculas e, o resultado destas interações depende diretamente da energia incidente, associada ao comprimento de onda da radiação (SKOOG et al., 2006; BRUICE, 2006). É tipicamente usada na medição quantitativa de grupos funcionais orgânicos, especialmente O-H, N-H, e C=O (SCAFI, 2005).

A região espectral do infravermelho compreende o intervalo de comprimento de onda de 0,78 μm até 1000 μm (12.800 a 10 cm^{-1}). O espectro infravermelho pode ser dividido em infravermelho próximo (FTNIR), médio (FTIR) e distante (FAR) (Tabela 11) (SILVERSTEIN et al., 2007; HOLLER, 2009).

Tabela 11. Regiões espectrais do infravermelho.

Região Espectral	Número de onda (cm⁻¹)	Comprimento de onda (nm)	Frequência (Hz)
Próximo (FTNIR)	12.800 a 4.000	780 a 2.500	3,8x10 ¹⁴ a 1,2x10 ¹⁴
Médio (FTIR)	4.000 a 200	2500 a 5000	1,2x10 ¹⁴ a 6,0x10 ¹²
Distante (FAR)	200 a 10	5000 a 100.000	6,0x10 ¹² a 3,0x10 ¹¹

Fonte: SKOOG et al. (2006)

O espectro FTNIR contém informações relacionadas com a diferença entre as forças de ligações químicas, espécies químicas presentes, eletronegatividade e a ligação de hidrogênio. A luz pode interagir com a amostra por meio de reflexão, refração, absorção, espalhamento, difração e transmissão. A perda no sinal pode ocorrer por refletância difusa especular, espalhamento interno e uma completa absorção (SCAFI e PASQUINI, 2001).

O espectro no infravermelho médio (FTIR) apresenta vibrações fundamentais, onde as bandas são intensas e bem definidas. O espectro de FTIR pode ser subdividido em duas regiões, sendo a região de 4.000 a 1.400 cm⁻¹, correspondente a bandas de absorção da maioria dos grupos funcionais. Já a região de 1.400 a 600 cm⁻¹ é conhecida como região de impressão digital, onde cada material apresenta um padrão específico de bandas de absorção (GIVENS et al., 1997; HOLLER, 2009; PAVIA et al., 2010).

Desta forma, as moléculas estão sujeitas ao desenvolvimento de vários efeitos inerentes às ondas eletromagnéticas. A interação da radiação eletromagnética com a matéria pode ocorrer, por exemplo, por meio de absorção, reflexão e espalhamento. Estas interações são características dos átomos presente nas moléculas, bem como da região do espectro envolvida, permitindo a identificação de compostos (SILVERSTEIN et al., 2007).

As técnicas de espectroscopia no infravermelho próximo (FTNIR) e no infravermelho médio (FTIR) são cada vez mais utilizadas no controle de qualidade de processos e produtos industriais (BLANCO et al., 1999), principalmente porque as medidas são rápidas, utilizam pequena quantidade de amostra e envolvem preparação rápida e simples das amostras. Tanto técnicas de FTNIR como de FTIR permitem ainda a determinação simultânea de diferentes parâmetros (CAMPESTRINI, 2005; CEN e HE, 2007), além de serem métodos não destrutivos, limpos, sem uso de reagentes agressivos e nem geração de resíduos (HELFER et al., 2006). Esta técnica está presente

em praticamente todas as áreas, devido ao nível de desenvolvimento que esta tecnologia atingiu nos últimos anos (CARNEIRO, 2008).

A espectroscopia no FTIR é uma técnica muito usada na caracterização dos *nanowhiskers* de celulose por apresentar uma série de vantagens como, por exemplo: determinação direta (sem pré-tratamento) na amostra; obtenção rápida de resultados (em intervalos de tempo da ordem de minutos); podem ser analisados na forma líquida (em solução) ou sólida (liofilizados) com autenticidade dos resultados; a análise não é destrutiva; além de serem acompanhadas em tempo real (SCAFI, 2005, CARNEIRO, 2008).

11.3. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A caracterização morfológica dos *nanowhiskers* tanto pode ser realizada em suspensão (SOUZA LIMA e BORSALI, 2003; SOUZA LIMA e BORSALI, 2004; BRAUN et al., 2008) quanto em estruturas de matrizes *nanowhiskers*/polímero (BECK-CANDANEDO et al., 2005; KVIEN et al., 2005; ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008) sendo que essas nanopartículas em matrizes também podem ser avaliadas em testes de desempenho (LU et al., 2005; WANG et al., 2006; CAO et al., 2008).

Dentre as técnicas atuais, a mais poderosa para a observação direta de sua estrutura, formando imagens a níveis atômicos, é o TEM (Transmission Electron Microscope). Uma ilustração de imagem está na Figura 26. Ela também gera padrões de difração que contêm informações da estrutura cristalina, como a repetibilidade das distâncias na rede e sua forma (BECK-CANDANEDO et al., 2005; KVIEN et al., 2005; ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008).

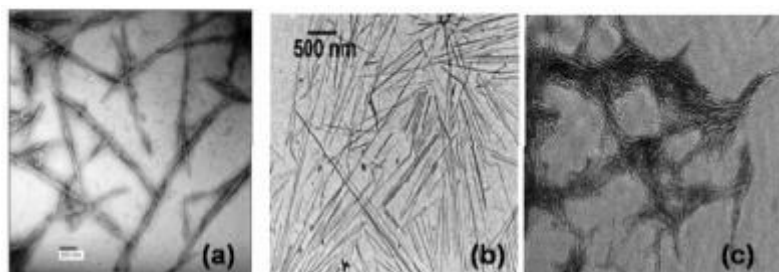


Figura 26. Micrografias de transmissão de *nanowhiskers* obtidas a partir de: (a) bactéria, (b) tunicados e (c) microcristalina.

Fonte: SILVA (2013).

Dependendo da fonte de onde são extraídos e também de acordo com o processo de extração utilizado, os *nanowhiskers* apresentam variações nas suas características dimensionais e superficiais, conseqüentemente, no seu desempenho como partícula de reforço em compósitos. Como exemplo, pode-se citar o estado de agregação dos cristais (Figura 25) e a razão de aspecto (L/D), onde L é o comprimento da fibra e D seu diâmetro. Quando maior a razão de aspecto dos nanocristais, maior a capacidade de reforço em matrizes poliméricas. A Tabela 12 mostra as dimensões de *nanowhiskers* de celulose originados de diferentes fontes.

Tabela 12. Dimensões médias de *nanowhiskers* originados de diferentes fontes lignocelulósicas.

Fonte de origem	Comprimento (L), nm	Diâmetro (D), nm	Referência
Algodão	105-141	21-27	ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al. (2008)
Algodão	100-300	8-10	SOUZA LIMA e BORSALI (2004)
Celulose microcristalina	105	12	ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al. (2008)
Tunicados	1073	28	ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al. (2008)
Tunicados	1000-2000	15	VAN DEN BERG et al. (2007)
Eucalipto	147	4,8	BECK-CANDANEDO et al. (2005)
Fibra de coco	201	5,6	MACHADO (2011)
Fibra de Licuri	155	5,6	SILVA (2013)

FONTE: Adaptado de SILVA E D'ALMEIDA (2009).

12. Caracterização dos bionanocompósitos

Filmes biodegradáveis produzidos a base de amido são largamente estudados por não apresentar sabor, odor ou cor e por apresentar baixa permeabilidade ao oxigênio, em baixas condições de umidade relativa (PHAN-THE et. al., 2009; MACHADO, 2011). Porém muitos pesquisadores afirmam que o uso do amido como biopolímero, não é muito viável, devido algumas propriedades, tais como, baixa barreira à umidade, baixa resistência mecânica e a água, além do rápido envelhecimento (retrogradação) (VEIGA-SANTOS e SCAMPARINI, 2004). A incorporação de goma xantana em matrizes poliméricas biodegradáveis tem com o objetivo promover o decréscimo na temperatura de pasta, o aumento da viscosidade máxima e um decréscimo na tendência a

retrogradação da amilose. Já os *nanowhiskers* de celulose, quando incorporados em filmes de amido, têm por finalidade melhorar as propriedades térmicas, mecânicas e de barreira dos biopolímeros, formando assim um bionanocompósito, fato que contribui para tornar esse biomaterial resistente ao armazenamento quando utilizado como embalagem (CHEN et al., 2009). Nesse estudo, os bionanocompósitos foram caracterizados quanto às propriedades físicas, mecânicas, óticas, térmicas e de barreira.

12.1. Propriedades físicas

12.1.1. Espessura

Espessura é definida como a distância entre as duas superfícies principais do material, é um parâmetro importante para filmes plásticos mono ou multicamadas. Conhecendo-se a espessura é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira ao vapor de água e a gases do material, bem como fazer estimativas sobre a vida útil de alimentos acondicionados nestes materiais. Por meio da determinação da espessura é possível avaliar a homogeneidade de um filme quanto a este parâmetro. Variações na espessura de um material acarretam problemas no seu desempenho mecânico e flutuações nas propriedades de barreiras (CETEA, 1996).

De acordo com SOBRAL (2000), quando se produzem filmes por *casting*, o controle da espessura depende largamente da viscosidade da solução filmogênica. No caso de soluções muito viscosas, que se comportam como fluídos de Bingham (não fluem sob a ação do seu próprio peso), a solução deve ser espalhada com um equipamento conveniente, mantendo-se uma espessura da solução no suporte que permitirá o conhecimento da espessura do filme depois de seco. Quando se trabalha com soluções diluídas, o controle da espessura ocorre através do conhecimento da gramatura do material obtido. Esta técnica exige um controle rigoroso da forma do suporte e do nível da estufa, para evitar diferenças na espessura provocadas por desníveis durante a secagem (MALI et. al., 2010; MACHADO, 2011).

Para a análise de espessura, recomenda-se que as medidas sejam realizadas em corpos de prova sem irregularidade, a pelo menos 6 mm da borda. As amostras devem ser previamente acondicionadas em ambiente com umidade e temperatura controladas. Além disso, as superfícies de medição do micrômetro devem ser limpas com óleo anticorrosivo, como éter de petróleo, e anteriormente à análise, o micrômetro deve ser

sempre zerado. A espessura é mais comumente expressa em μm (SARANTÓPOULOS et al., 2002; MACHADO, 2011).

12.1.2. Solubilidade

A afinidade pela água é uma importante propriedade dos filmes de amido. Dependendo da sua aplicação pode requerer insolubilidade, para proteger a integridade do produto e resistência à água, ou solubilidade no caso de encapsulação de alimento ou de aditivo (BERTUZZI et al., 2007).

Vicentini (2003) avaliou filmes de amido de mandioca e glúten encontrando valores baixos de solubilidade, comportamento atribuído ao fato de os filmes não conterem plastificantes e assim, constarem de uma matriz mais coesa e de maiores espessuras.

De acordo com Muller et al. (2008), a solubilidade é influenciada pelo tipo e pela concentração do plastificante. Esses autores constataram que o glicerol e os grupamentos (-OH) do sorbitol aumentaram os valores de solubilidade do filme. Para o armazenamento é requerida uma baixa solubilidade do filme, porém para alimentos que sofrerão cocção com os filmes, uma solubilidade alta é desejada.

12.1.3. Grau de intumescimento

O grau de intumescimento está diretamente relacionado com a solubilidade dos filmes em água. É descrito como o aumento no volume dos filmes quando este está imerso em um determinado solvente. Os mecanismos de intumescimento de filmes são dependentes da difusão do solvente penetrante e da estabilidade polimérica (DE ANGELIS et al., 2001).

Uma parte importante do comportamento físico do bionanocompósito é sua absorção de fluido. Um dos possíveis processos de intumescimento é: um filme biodegradável é colocado na água. Então a sua cadeia macromolecular interage com as moléculas do solvente devido a uma boa compatibilidade termodinâmica. Assim a rede expande para o estado solvatado. A força termodinâmica de intumescimento é contraposta pela força das ligações cruzadas da estrutura e o equilíbrio é atingido, para um solvente particular a uma determinada temperatura, quando as duas forças se igualam o grau de intumescimento pode ser calculado como a razão entre o volume

atual e o volume no estado seco (RATNER et al., 1996), ou também pode ser determinado a partir da quantidade massa de fluido absorvida pelo polímero em relação a sua massa inicial, isto é, a diferença do peso intumescido e o peso seco, dividida pelo peso seco (CAMPOS, 2005; NETO, 2005; ZHANG et al., 2007).

12.2. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas de filmes de amido podem ser medidas através de testes de perfuração, tração e relaxação. Nos testes de perfuração, uma sonda cilíndrica desce perpendicularmente à superfície do filme, que está fixado sobre um suporte de medida, até que ocorra o rompimento da amostra, são medidas a força e deformação na ruptura através dos gráficos de força *versus* deslocamento. As propriedades de tração são as mais relatadas e expressam a resistência do material ao alongamento e ao rompimento, quando submetido à tração (MALI et. al., 2010). As metodologias de análise das propriedades mecânicas se baseiam principalmente nas normas da ASTM (ASTM D-882-91, 1996), que se aplica à determinação das propriedades de tração de filmes com espessura inferior a 1 mm e a 638-93 (ASTM D-638-93, 1993), para filmes com espessura igual ou superior a 1 mm. Dentre as propriedades de tração mais estudadas estão à resistência máxima à tração, o alongamento na ruptura e o módulo de Young ou de elasticidade (OLIVEIRA, 1996, MACHADO, 2011).

12.3. Propriedades óticas

A cor é parâmetro de fundamental importância de um produto, porém são poucos os trabalhos que realizam essa determinação para filmes biodegradáveis e, quando o fazem utilizam diferença de cor (ΔE), com os valores obtidos no sistema $L^* a^* b^*$, em que L^* varia de preto a branco (0 a 100), a^* varia do verde ao vermelho (-60 a +60) e b^* varia de azul a amarelo (-60 a +60).

A cor dos filmes pode ser influenciada pela fonte de amido. De acordo com Silva et al. (2007) os filmes de amido de mandioca apresentam maior diferença de cor que filmes de amido de batata e milho. Essa diferença foi explicada pelo fato que durante o processo de gelatinização do amido ocorrem mudanças na coloração devido à perda de estrutura e cristalinidade dos grânulos de amido, tornando o gel uma estrutura com certa opacidade.

12.4. Propriedades térmicas

Característica importante a ser analisada no filme de amido é sua propriedade térmica. Entende-se por análises térmicas o conjunto de técnicas que permitem medir as mudanças de uma propriedade física em função da temperatura. Nesse estudo, a termogravimetria foi à técnica utilizada para acompanhar a mudança da massa dos bionanocompósitos em uma larga faixa de temperatura.

Através das propriedades térmicas pode-se determinar a mobilidade de uma cadeia polimérica, a qual está diretamente ligada com as características físicas dos bionanocompósitos, tais como a fragilidade e resistência. A presença de material cristalino nos filmes também influencia fortemente suas propriedades (LUCAS et al.2001).

12.5. Propriedades de barreira

A Norma ASTM E96-95 (*American Society for Testing and Materials*) define a permeabilidade ao vapor de água como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através do filme, de espessura conhecida, induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, de temperatura e umidade relativa especificada (ASTM, 1990). Uma das formas mais utilizadas para avaliar a taxa de permeabilidade ao vapor d'água dos filmes biodegradáveis é através de método gravimétrico. Tal método consiste em pesagens sucessivas de uma cápsula hermeticamente fechada, contendo o filme na sua superfície e substância dessecante (cloreto de cálcio ou sílica gel) no seu interior, colocadas em ambientes com umidade controlada. Caso o filme tenha grande afinidade pela água, é necessária a utilização de corpos de prova adicionais, preparados sem dessecante (branco) para que possa ser descontada ou acrescida à variação de peso do material. Alternativamente, a solução com umidade controlada também pode ser colocada no interior da cápsula, e no seu exterior, o material dessecante (SARANTÓPOULOS et al., 2002, MACHADO, 2011).

Referências

- ABAM – Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. Disponível em <<http://www.abam.com.br/prod.amido.est.php>>, acesso dia 28 de agosto de 2012.
- ABE, K.; IWAMOTO, S.; YANO, H. Obtaining cellulose nanofibers with a uniform width of 15 nm from wood. *Biomacromolecules*, v. 8, p. 3276-3278, 2007.
- ABUD, A. K. S.; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, n. 4, p. 257-265, 2009.
- AGUIAR, C. M. Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulases produzidas pelo fungo *Aspergillus niger*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR, 2010.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – Wheat straw and soy hulls. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 1664-1671, 2008.
- ANDRADE, C. T.; SIMÃO, R. A.; THIRÉ, R. M. S. M. Filme biodegradável à base de amido termoplástico ou desestruturado, com sensibilidade à água reduzida, e processo para sua produção. INPI: PI 0203385-2, 2002.
- ANDRADE, C. T.; SOUZA, R. C. R. Processo de preparação de composição totalmente biodegradável à base de amido termoplástico ou desestruturado e polímeros naturais e composição obtida a partir do referido processo. INPI: PI 0200174-8, 2002.
- ANGLÉS, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural analysis. *Macromolecules*, v. 33, p. 8344-8353, 2000.
- ANTUNES, A. E. C. Produção, viscosidade e composição de xantana por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* em meios convencionais e alternativos. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas - RS, 2000.
- ANTUNES, A. E. C.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Síntese de biopolímero xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 6, n. 2, p. 123-125, 2000.
- ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyolplasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. *Food Chemistry*, v. 62, n. 3, p. 333-342, 1998.
- 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, n. 4, p. 503-604, 1997.

ASTM. American Society for Testing and Materials. Standard test method for slow rate penetration resistance of flexible barrier films and laminates - F 1306-90 (Reapproved 2008). In: *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: ASTM, 1990.

ASTM. American Society for Testing and Materials. Standard test methods for water vapor transmission of material – D638-93. In: *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: ASTM, 1993.

ASTM. American Society for Testing and Materials. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting – D882-91. In: *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: ASTM, 1996.

AVÉROUS, L. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. *Journal of Macromolecular Science – Polymer Reviews*. v. 44, n. 3, p.231-274, 2004.

BAIRD, J. K.; PETTITT, D. J. *Biogums used in food and made by fermentation. Biotechnology and Food Ingredients*. Ed. Goldberg, I. & Williams, R. Nova York. p. 223-265. 1991.

BASTIOLI, C.; BELLOTTI, V.; MONTINO, A. Composição polimérica termoplástica e processo para preparação de composição polimérica. INPI: PI 9205651-2, 1992.

BATTISTA, O. A.; SMITH, P. A. Microcrystalline cellulose the oldest polymer finds new industrial uses. *Industrial and Engineering Chemistry*, v. 54, p. 20-29, 1962.

BECK, C. S.; ROMAN, M.; GRAY, D. G. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 1048-1054, 2005.

BECKER, A.; KATZEN, F.; PUHLER, A.; IELPI, L. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical / genetic perspective. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 50, p. 145-152, 1998.

BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCIA SUAREZ, F. J.; MENDEZ-MONTEALVO, G.; NASCIMENTO J. R. O.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Isolation and Characterization of starch from seeds of *Araucária brasiliensis*: A novel starch for application in food industry. *Starch/Stärke*, v. 58, n. 6, p. 283-291, 2006.

BERTUZZI, M. A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering*, v. 82, p. 17-25, 2007.

BHATTACHARYA, D., GERMINARIO, L. T., WINTER, W. T., Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibrils obtained from bagasse, *Carbohydrate Polymers*, v. 73, p. 371–377, 2008.

BILIADERIS, C. G.; LAZARIDOU, A.; ARVANITOYANNIS, I. Glass transition and physical properties of polyol-plasticised pullulan-starch blends at low moisture. *Carbohydrates Polymers*, v. 40, p. 29-47, 1999

BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 69, p. 60 -78, 1991.

BILLMEYER, Jr. F. W. *Textbook of Polymer Science*. 3 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1984.

BLANCO, M.; COELHO, J.; ITURRIAGA, H.; MASPOCH, S.; PAGES, J. Calibration in non-linear near infrared reflectance spectroscopy: a comparison of several methods. *Analytica Chimica Acta*, v. 384, n. 2, p. 207 – 214, 1999.

BLASS, A. *Processamento de polímeros*. Florianópolis: UFSC, 1988.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. *Química do processamento de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Varela, 1995.

BORGES, S. M. S.; ALMEIDA, P. M. M. QUINTELLA, C. M. Recuperação secundária de petróleo parafínico com injeção de glicerina bruta (GB), co-produto do biodiesel, em função da porosidade. *Sociedade Brasileira de Química*, 2005.

BORZANI, W.; SCHIMIDELL W.; LIMA U. A.; AQUARONE E. *Biotechnologia Industrial – Engenharia Bioquímica*. São Paulo: v. 2, Ed. Edgard Blucher, 2001.

BRANDÃO, L. V. Goma xantana obtida por fermentação da Glicerina bruta residual do biodiesel: Produção, caracterização e aplicação para fluido de perfuração de poços de petróleo. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2012.

BRANDÃO, L. V.; NERY, T. B. R.; DRUZIAN, J. I. Produção de polissacarídeo tipo goma xantana por *Xanthomonas* em meio fermentativo com glicerol ou glicerina. INPI: PI0705950-7, 2009.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto nº 12.486 de 20 de outubro de 1978. Normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário Oficial do Estado de São Paulo*, 21 out. 1987, p. 20.

BRAUN, B.; DORGAN, J. R.; CHANDLER, J. P. Cellulosic nanowhiskers. Theory and application of light scattering from polydisperse spheroids in the rayleigh-gans-debye regime. *Biomacromolecules*, v. 9, n. 4, p. 1525-1263, 2008.

BRUCHMANN, B.; WARZELHAN, V.; SEELIGER, U.; YAMAMOTO, M.; BAUER, P.; BOECKH, D. Éster polyester biodegradável, polímero biodegradável, composição de termoplásticos moldáveis biodegradáveis, processo para a preparação de um éster poliéster biodegradável, processo para a preparação de um polímero biodegradável, processo para a preparação de uma composição de termoplásticos moldáveis biodegradáveis, uso dos mesmos, plástico moldável compostável, adesivo, mistura biodegradável, processo para a produção de uma mistura biodegradável, e, espuma biodegradável. INPI: PI 9509684-1, 1996.

BRUICE, P. Y. *Química Orgânica*. 4 ed. São Paulo: Pearson/Prentice Hall, 2006.

BUENO, S.M.; GARCIA-CRUZ, C.H. Influência do tempo de fermentação e presença de sais na reologia do caldo de fermentação de uma bactéria do gênero *Pseudomonas* isolada do solo. In: *Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Fortaleza. Livro de Resumos, v. 17, p. 9-47, 2000.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Mini review. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 23, n. 2, p. 85–112, 1998.

CADMUS, M.C.; KNSUTON, C.A.; LAGODA, A.A.; PITTSLEY, J.E.; BURTON, K.A. Synthetic media form production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 20, p.1003-1014, 1978.

CALLET, F.; MILAS, M.; RINAUDO, M. Influence of acetyl and piruvate contens on rheological properties of xanthan in dilute solution. *International Journal Biological Macromolecular*, v. 9, p. 291-293, 1987.

CAMPESTRINI, E. Utilização de Equipamento NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) nos estudos de valores nutricionais (Composição química e digestibilidade) de Alimentos para não ruminantes. *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 2, n. 5, p. 240 - 251, 2005.

CAMPOS, M. G. N.; GROSSO, C. R. F.; CÁDENAS, G.; MEI, L. H. I. Effects of neutralization process on preparation and characterization of chitosan membranes for wound dressing. *Macromolecular Symposian*, v. 229, p. 253-257, 2005.

CANEVAROLO JÚNIOR, S. V.; *Técnicas de Caracterização de Polímeros*, São Paulo: Artliber, 2004.

CAO, X.; CHEN, Y.; CHANG, P. R.; STUMBORG, M.; HUNEAULT, M. A. Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 109, n. 6, p. 3804-3810, 2008.

CARNEIRO, M. E. Classificação de lâminas de madeira de *Pinus spp* por espectroscopia óptica. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, 2008.

CARVALHO FILHO, M. A. da S. Preparação e estudo termoanalítico dos cinamatos de terras raras, exceto (Escândio), no estado sólido. Tese (Doutorado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara - SP, 2000.

CASAS, J.A.; SANTOS, V.E.; GARCÍA-OCHOA, F. Xanthan gum production under several operacional conditions: molecular structure and rheological properties. *Enzyme and Microbiology Technology*, v. 26, n. 2-4, p. 282-291, 2000.

CASTELLANELLI, C. A.; ROOS, C.; CASTELLANELLI, M.; ROSA, L. C. Biodiesel como fonte de energia em praças de pedágio: uma análise econômica e ambiental. *Anais*

do XXVII Encontro Nacional de Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina, dezembro, 2007.

CEN, H.; HE, Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality trends. *Food Science and Technology*, v. 18, p. 72 – 83, 2007.

CENTRO DE TECNOLOGIA DE EMBALAGENS- CETEA. *Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis*. Campinas, p. 219, 1996.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. *Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, v.3, cap.18, p. 449-474, 2003.

CHALLEN, I.A. Xanthan gum: a multifunctional stabiliser for food products. In: NISHINARI, K.; DOI, E. *Food Hydrocolloids: structures, properties, and functions*. New York: Plenum Press, p.135-140, 1993.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. *Progress in Polymer Science*, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHANG, Y. K.; SEBIO, L. Plástico biodegradável desenvolvido a base de amido e gelatina pelo processo de extrusão. INPI: PI0303687-1, 2003.

CHAPLIN. M. F. Monosaccharides. In: CHAPLIN, M. F.; KENNEDY, J. F. *Carbohydrate analysis – a practical approach*. New York: Oxford University Press, p. 1-42, 1994.

CHEN, S., NUSSINOVITCH, A. The role of xanthan gum in traditional coatings of easy peelers. *Food Hydrocolloids*, v. 14, p. 319 – 326, 2000.

CHEN, Y.; LIU, C.; CHANG, P. R.; CAO, X.; ANDERSON, D. P. Bionanocomposite based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. *Carbohydrate Polymers*, v. 76, p. 607-615, 2009.

CIACCO, C.F.; CRUZ, R. *Fabricação de amido e sua utilização*. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. 1982 (Série Tecnologia Agroindustrial, v. 7).

CIOLA, R. *Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho - HPLC*. São Paulo: Edgar Blucher, p.179, 1998.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. *Introdução a métodos cromatográficos*. Campinas: Editora Unicamp, p.13, 1995.

CONAB. Política agrícola. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/politica_agricola/Safra/Quadro17.xls>. Acesso em: 20 jul. 2013.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*. v. 23, p. 1527-1534, 2009.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E.S.; CARVALHO, A.A.S.; MATTOSO, L.H.C. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

COSTA, L. A. S. Biossíntese de goma xantana a partir da casca de camarão: parâmetros de fermentação e caracterização do biopolímero. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BA, 2010.

COTTREL, I. W.; KANG, K. S.; KOVACS, P. Xanthan gum. In: DAVIDSON, R.L. *Handbook of water-soluble gums and resins*. New York: McGraw-Hill, p. 1-31, 1980.

COTTRELL, I. W.; KANG, K. S. Xanthan gum, a unique bacterial polysaccharide for food applications. *Developments in Industrial Microbiology*, v. 19, p. 117-131, 1978.

CURVELO, A. A. S.; CARVALHO, A. J. F. Processo de preparação de composto termoplástico biodegradável de amido com reforço de fibras celulósicas e compósitos assim obtidos. INPI: PI 0205056-0, 2002.

D'ALMEIDA, M. L. O. *Celulose e papel – Tecnologia de fabricação da pasta celulósica*, volume 1; 2ª edição, Escola Senai, ITP, São Paulo - SP, p. 45-105, 169-312, 427-509, 1986.

DA MATTA JR., M. D. Caracterização de biofilmes obtidos a partir de amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 2009.

DA MATTA JR., M. D.; SARMENTO, S. B. S.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 21, n. 1, p. 67-72, 2011.

DA RÓZ, 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, 2001.

DE ANGELIS, C. D.; SEGRE, A.; CRESCENZI, V. NMR study of a novel chitosan-based hydrogel. *Polymer Preparation*, v. 42, p. 45-48, 2001.

DE MESQUITA, J. P. Nanocristais de celulose para preparação de bionanocompósitos com quitosana e carbonos nanoestruturados para aplicações tecnológicas e ambientais. Tese (Doutorado em Ciências - Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 2012.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY A. Edible films and coatings: tomorrows packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J.A. Physico-chemical properties of cassava starch. *Starch/Starke*, v. 50, n. 2-3, p. 58-64, 1998.

DIAZ, P.S. Influência de parâmetros físicos e químicos e da adição de íons no comportamento reológico de gomas xantana. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS, 2002.

DONG, X. M.; REVOL, J. F.; GRAY, D. G. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose. *Cellulose*, v. 5, p. 19-32, 1998.

DONHOWE, I. G.; FENNEMA, O. *Edible films and casting: characteristics, formation, definitions, and testing methods*. In: KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROSCARRIEDO, M. O. (Ed.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc., p.1-24, 1994.

DRUZIAN J. I. Estudo da estrutura de exopolissacarídeo produzidos por espécies de *Rhizobium* uma de *Bradyrhizobium* isolados de solo de cultivar de feijão de corda (*Vigna unguiculata L.*). Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2000.

DUFRESNE, A.; VIGNON, M. R. Improvement of starch film performances using cellulose microfibrils. *Macromolecules*, v. 31, p. 2693-2696, 1998.

EDGAR, C. D.; GRAY, D. G.. Smooth model cellulose I surfaces from nanocrystal suspensions. *Cellulose*, v. 10, p. 299-306, 2003.

EICHHORN, S. J.; BAILLIE, C. A.; ZAFEIROPOULOS, N.; MWAIKAMBO, L. Y.; ANSELL, M. P.; DUFRESNE, A.; ENTWISTLE, K. M.; HERRERA-FRANCO, G. C.; ESCAMILLA, P. J.; GROOM, L.; HUGHES, M.; HILL, C.; RIALS, T. G.; WILD, P. M. Review - Current international research into cellulosic fibres and composites. *Journal of Materials Science*, v. 36, p. 2107-2131, 2001.

EICHHORN, S. J.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; MARCOVICH, N. E.; CAPADONA, J. R.; ROWAN, S. J.; WEDER, C.; THIELEMANS, W.; ROMAN, M.; RENNECKAR, S.; GINDL, W.; VEIGEL, S.; KECKES, J.; YANO, H.; ABE, K.; NOGI, M.; NAKAGAITO, A. N.; MANGALAM, A.; SIMONSEN, J.; BENIGHT, A. S.; BISMARCK, A.; BERGLUND, L. A.; PEIJS, T. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *Journal of Materials Science*, v. 45, n. 1, p. 1-33, 2010.

ELAZZOUI-HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J. L. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. *Biomacromolecules*, v. 9, p. 57-65, 2008.

EMBRAPA - Milho e sorgo. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/unidade/unidade>> Acesso em: 19 ago. 2012.

- ESRAFILI, M. D.; AHMADIM, H. *Carbohydrate Polymers*, v. 347, n. 99, 2012.
- FAVIER, V.; CHANZY, H.; CAVAILLE, J. Y. Polymer nanocomposites reinforced by cellulose whiskers. *Macromolecules*, v. 28, p. 134-137, 1995.
- FENGEL, D.; WENEGER, G., *Wood – Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, Walter de Gruyter, Berlim, New York, 1984.
- FERRERO, C.; MARTINO, M. N.; ZARITSKY, N. E. Corn starch-xanthan gum interaction and its effect on the stability during storage of frozen gelatinized suspensions. *Starch/Starke*, v. 46, p. 300-308, 1994.
- FLAUZINO NETO, W. P. Extração e caracterização de nanocristais de celulose a partir de casca de soja, e sua aplicação como agente de reforço em nanocompósitos poliméricos utilizando carboximetilcelulose como matriz. Dissertação (Mestrado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2012.
- FLAUZINO NETO, W. P.; SILVÉRIO, H. A.; DANTAS, N. O.; PASQUINI, D. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue - soy hulls. *Industrial Crops and Products*, v.42, p. 480-488, 2013.
- FORESTI, A.P. Produção e qualidade reológica da xantana sintetizada por diferentes cepas de *Xanthomonas campestris* em meios modificados. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS, 2003.
- FORLIN, F. J.; FARIA, J. A. F. A. Considerações Sobre a Reciclagem de Embalagens Plásticas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 12, nº 1, p. 1-10, 2002.
- FORNARI, R. C. G. Aproveitamento do soro de queijo para produção de goma xantana. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erichim - RS, 2006.
- FREITAS, M. T. Utilização da casca de semente de algodão como substrato para produção microbológica de xilitol. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola), Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2003.
- FRISONI, G.; BALARDO, M.; SCANDOLLA, M. Natural cellulose fibers: heterogeneous acetylation kinetics and biodegradation behavior. *Biomacromolecules*, v. 2, p. 476-482, 2001.
- GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S.; BELLO-PEREZ, L. A.; GARCIA, M. A. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. *Materials Science & Engineering*, v. 29, p. 492 – 498, 2009.

- GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria x Ananassa*) quality and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 3578–3767, 1998.
- GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, v. 18, p. 549-579, 2000.
- GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; FORSELL, P. M.; COLONNA, P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. *Carbohydrate Polymers*, v. 43, p.33-37, 2000.
- GIVENS, D. I.; DEAVILLE, E. R. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutrition Research Reviews*, v. 10, p. 83 - 114, 1997.
- GONÇALVES, V. L. C. Biogásolina: produção de éteres e ésteres da glicerina. *I Congresso da rede brasileira de tecnologia em biodiesel*, v. 2, p. 14-19, 2006.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. Agro polymers for edible biodegradable films: review of agricultural polymeric materials: physical and chemical characteristics. In: HAN, JH, (Ed.). *Innovations in Food Packaging*. Oxford: Elsevier Academic Press, p. 263 – 276, 2005.
- GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L.G.M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *LWT- Food Science and Technology*, v. 29, p. 10-17, 1996.
- GUIMARÃES, J. L.; SATYANARAYANA, K. G.; WYPYCH, F.; RAMOS, L. P. Termomoldagem direta de laminados compósitos baseados em amido plastificado com glicerol hidratado recuperado, reforçados com fibras de origem vegetal e/ou mineral (bananeira, cana de açúcar, luffa cylindrica e de fibras de amianto crisotila. INPI: PI0602428-9, 2006.
- HABIBI, Y.; FOULON, L.; AGUIÉ-BÉGHIN, V.; MOLINARI, M.; DOUILLARD, R. Langmuir–Blodgett films of cellulose nanocrystals: Preparation and characterization. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 316, p. 388-397, 2007.
- HABIBI, Y.; DUFRESNE, A. Highly Filled Bionanocomposites from functionalized polysaccharide nanocrystals. *Biomacromolecules*, v. 9, p. 1974-1980, 2008.
- HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly and applications. *Chemical Reviews*, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.
- HARRIS, D. C.; BERTOLUCCI, M. D. *Symmetry and spectroscopy, and introduction to vibrational and electronic spectroscopy*. Nova York, Dover Publications, 1978.
- HELBERT, W.; CAVAILLE, J. Y.; DUFRESNE, A. Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part 1: Processing and mechanical behavior. *Polymer Composites*, v. 17, p. 604-611, 1996.

HELPER, G. A.; FERRÃO, M. A.; FERREIRA, C. DE V.; HERMES, N. Aplicação de métodos de análise multivariada no controle qualitativo de essências alimentícias empregando espectroscopia no infravermelho médio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 4, p. 779 - 786, 2006.

HENG, P. W. S.; KOO, O. M. Y. A study of the effects of the physical characteristics of microcrystalline cellulose on performance in extrusion spheronization. *Pharmaceutical Research*, v. 18, n. 4, p. 480-487, 2001.

HODGE, J.E.; OSMAN. E.M. Hidratos de carbono. In: FENNEMA, O.R. Introdução a La ciencia de los alimentos. *Barcelona: Reverté*, v. 1, p. 48-160, 1985.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*. 6. ed. Porto Alegre, 2009.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STANLEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. (eds.), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 787p., 1994.

HUGGE, M. A.; ROJAS, O. J.; LUCIA, L. A.; SAIN, M. Cellulosic Nanocomposites: A review, *Bioresource*, v. 3, p. 928-980, 2008.

INNOCENTINI-MEI, L.H.; MARIANI, P.D.S.C. *Visão Geral sobre Polímeros ou Plásticos Ambientalmente Degradáveis*. Unicamp: Campinas, 2005, IQSC, Instituto de Química de São Carlos - USP. Disponível em: <http://www.iqsc.sc.usp.br/pet/sem_amido.htm>. Acesso em: 19/10/2011.

JACOB, R. F. Estudo das propriedades das blendas de amido termoplástico e látex natural. Tese (Doutorado em Ciências Físico-químicas), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 2006.

JAYAKODY, J.A.L.P. The effect of acid hydrolysis on granular morphology and physicochemical properties of native cereal starch granules. Thesis (Master of Science), Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, Newfoundland, Canada, 2001.

JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, p. 343-364, 2008.

JOKAY, L.; NELSON, E. G.; POWELL, E. L. Development of edible amylaceous coatings for foods. *Food Technology*, v. 21, p. 12-14, 1967.

JOSEPH, K.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, L. H. Compósitos de matriz poliéster reforçados por fibras curtas de sisal. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 9, n. 4, p. 136-141, 1999.

JUNGBUNZLAUER, Disponível em: <<http://www.jungbunzlauer.com/products-applications/products/xanthan-gum/xanthan-gum/applications.html>> Acesso em: Setembro 2009.

KALIA, S.; DUFRESNE, A.; CHERIAN, B. M.; KAITH, B. S.; AVÉROUS, L.; NJUGUNA, J.; NASSIOPOULOS, E. Cellulose-based bio-and nanocomposites: A review. *International Journal of Polymer Science*, v. 2, p. 1-35, 2011.

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 81-84, 1998.

KENNEDY, J. F.; BRADSHAW, I. J. Production, properties and applications of xanthan. *Program Industrial Microbiology*, v. 19, p. 319-371, 1984.

KIM, C.; YOO, B. Rheological properties of rice starch-xanthan gum mixtures. *Journal of Food Engineering*, v. 75, p. 120 - 128, 2006.

KLEM, D.; PHILIPP, B.; HEINZE, T.; HEINZE, U.; WAGENKNECHT, W.; *Comprehensive Cellulose Chemistry*, Volume 1, Fundamentals and Analytical Methods, Wiley, Weinheim, 1998.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie-International Edition*, v. 44, n. 22, p. 3358-3393, 2005.

KNOTHE, G.; GERPEN, J.V. Produção de Biodiesel. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P. Manual de Biodiesel. São Paulo: Edgard Blücher, p. 29-54, 2006.

KUUTTI, L.; PELTONEN, J.; MYLLÄRINEN, P.; TELEMAN, O. & FORSSELL, P. AFM in studies of thermoplastic starches during ageing. *Carbohydrate Polymers*, v. 37, n. 1, p. 7-12. 1998.

KVIEN, I.; SUGIYAMA, J.; VOTRUBEC, M.; OKSMAN, K. Characterization of starch based nanocomposites. *Journal of Materials Science*, v. 42, p. 8163-8171, 2007.

KVIEN, I.; TANEM, B. S.; OKSMAN, K. Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force end electron microscopy. *Biomacromolecules*. v. 6, p. 3160-3165, 2005.

LACHKE, A. Xanthan – a versatile gum. *Resonance*, p. 25 - 33, 2004.

LAROTONDA, F. D. S. Desenvolvimento de biofilmes A partir da fécula de mandioca. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2002.

LARSSON, P.; WICKHOLM, K.; IVERSEN, T.; A CP/MAS ¹³C NMR investigation of molecular ordering in cellulose, *Carbohydrate Research*, v. 302, p. 19-25, 1997.

LECHNER, M. D.; GEHRKE, K.; NORDMEIER, E. *Makromolekulare chemie*. Berlin: Birkhäuser, p. 532, 1996.

LEITE, P. J. F.; LIMA, A. A. G.; LIMA, A. M. F.; NASCIMENTO, F. R. Poliestireno biodegradável para embalagens descartáveis: desenvolvimento da blenda pela incorporação de amido de mandioca. *TECBAHIA Revista Baiana de Tecnologia*, v. 14, n. 1, p. 126–130, 1999.

LENGOWSKI, E. C. Caracterização e predição da cristalinidade de celulose através de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, 2012.

LESLEY, S. M.; HOCHSTER, R. M. The extracellular polysaccharide of *Xanthomonas phaseoli*. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 4, p. 513-529, 1959.

LEWIS, M.J. *Propriedades físicas de los alimentos y los sistemas de procesado*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda., v. 3, p. 125-154, 2001.

LIU, Z. Edible films and coatings from starches. In: HAN JH, (Ed.). *Innovations in Food Packaging*. Oxford: Elsevier Academic Press, p. 318 – 337, 2005.

LIU, Z.; HAN, J. H. Film-forming characteristics of starch. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 1, p. 31-36, 2005.

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymers*, v. 38, n. 21, p. 5401-5406, 1997.

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

LU, Y.; WENG, L.; CAO, X. Biocomposites of plasticized starch reinforced with cellulose crystallites from cottonseed linter. *Macromolecular Bioscience*, v. 5, p. 1101-1107, 2005.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. *Caracterização de Polímeros*. Rio de Janeiro, E-Papers, 2001.

MACHADO, B. A. S. Desenvolvimento e caracterização de filmes flexíveis de amido de mandioca com nanocelulose de coco. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2011.

MAHECHA, M. M. A. Elaboração e caracterização de biofilmes de farinha de biri (*Canna indica* L.). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2009.

- MALETTO PETE. Low carbohydrate ice cream. US2005095336, 2005.
- MALI, S.; GROSSMAN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 24, p. 7055-7011, 2003.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZY, N. E. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *Journal of Food Engineering*, v. 75, p. 453 – 460, 2006.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. *Semana: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.
- MAMADOU, S. Etude du procédé defabrication de barquettes a base de produits mylaces expanses, application au manioc. Diplome d'études approfondies (D.E.A.) en génie des procédés option agro- alimentaire-L'Ecoie Nationale Supérieure des Industries Agricoies et Alimentaires (E.N.S.I.A.), Massy, 1994.
- MANDALA, I. G.; PALOGO, E. D.; KOSTAROPOULOS, A. E. Influence of preparation and storage conditions on texture of xanthan–starch mixtures. *Journal of Food Engineering*, v. 53, p. 27–38, 2002.
- MANO, E. B. *Introdução a Polímeros*. 2ª ed., São Paulo: Edgard Blucher, 1985.
- MANO, E. B.; MENDES, L. C. *Introdução a Polímeros*. 2.ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.
- MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. *Industrial Crops and Products*, v. 33, p. 63-66, 2011.
- MATHEW, A. P.; DUFRESNE, A. Morphological investigation of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. *Biomacromolecules*, v. 3, p. 609-617, 2002.
- MATSUDA, K.; NIHEI, T.; KASHIWAI, T.; YAMAGATA, Y. Gel composition for patch. JP2005179255, 2005.
- MATSUGUMA, L. S. Caracterização do amido de mandiocinha salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) nativo e modificado por oxidação. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, 2006.
- MAUGERI FILHO, F. Produção de Polissacarídeos. In: BORZANI, W.; AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; SCHMIDELL, W. *Biotechnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blucher, p. 125-154, 2001.

MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 42, n. 4, p. 841-845, 1994.

MCNELLY, W.; KANG, K. PS-7 a new bacterial heteropolysaccharide. In: SANDFORD P. A.; LASKIN, A. *Extracellular Microbial Polysaccharides*, Washington, D. C: American Chemical Society, p. 220-230, 1977.

MELO, C. P. Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca e goma xantana. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, 2010.

MELO, G. T. Utilização de fibras de sisal para obtenção de novos materiais poliméricos: *whiskers* de celulose como reforço para bionanocompósito. Dissertação (Mestrado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, Universidade do Estado da Bahia, Salvador – BA, 2010.

MIKKONEN, K. S.; MATHEW, A. P.; PIRKKALAINEN, K.; SERIMAN, R.; XU, C.; MILLI, B. B.; GRIPA, D. C.; SIMONELLI, G. Aplicações alternativas da glicerina oriunda do biodiesel. *Enciclopédia Bioesfera*, Centro Científico Conhecer, v. 7, n. 12, 2011.

MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, v. 40, p. 3941-3994, 2011.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de pinus oocarpa parte I – estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. *Sociedade de Investigações Florestais*, v. 29, n. 3, p. 461-470, 2005.

MORÁN, J. L.; ALVAREZ, V. A.; CYRAS, V. P.; VÁZQUEZ, A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, v. 15, p. 149-159, 2008.

MOREIRA, A.S; VENDRUSCOLO, J.L.S; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCOLO, C.T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris pv pruni*. *Food Hydrocolloids*, v.15, p.469-474, 2001.

MOREIRA, A.S. Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de *Xanthomonas campestris pv pruni*. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS, 2002.

MOREIRA, F. K. V. Desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos biodegradáveis a partir de pectina, amido e nanofibras de celulose. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2010.

MORRIS, E.R. Rheology of hydrocolloids. In: PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. *Gums and stabilisers for the food industry*. Oxford: Pergamon Press, p.57-78, 1984.

MORRIS, E.R. Rheology of xanthan: suspension of particles and stabilization of emulsions. *Food & Ingredients Journal of Japan*, v. 167, p. 31-36, 1996.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A. da; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Revista Química Nova*, v. 32, p. 639-648, 2009.

MOTA, R. D. P. Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido do fruto-dolobo (*Solanum lycocarpum* St. Hill). Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares), Escola de Farmácia, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis – GO, 2009.

MULLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. 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.

NAVARRO, R.F. *Fundamentos de Reologia de Polímeros*. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, p. 300, 1997.

NELSON, C.; LENHINGER, A. L. *Princípios de Bioquímica*. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

NETO, C. G. T. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. *Carbohydrate Research*, v. 340, p. 2630-2636, 2005.

OKSMAN, K.; MATHEW, A. P.; BONDESON, D.; KVIEN, I. Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites. *Composites Science Technology*, v. 66, n. 15, p. 2776–2784, 2006.

OLIVEIRA, K. S. M. Diferentes parâmetros de produção e extração de goma xantana pela fermentação de *Xanthomonas campestris pv campestris*. Dissertação (Mestrado em Biociências), Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo - SP, 2009.

OLIVEIRA, L. M. *Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis*. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA, 1996.

OLSSON, L.; AHRING, B. K. *Bioethanol production from lignocellulosic material*. In: *Polysaccharides Structural diversity and functional versatility*. Ed. Marcel Dekker, New York, p. 957-993, 2007.

ORENTAS, D. G.; SLONEKER, J. H.; JEANES, A. Pyruvic acid content and constituentsugars of exocellular polysaccharides from different species of the genus *Xanthomonas*. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 9, n. 3, p. 427-430, 1963.

ORTS, W. J.; SHEY, J.; IMAM, S. H.; GLENN, G. M.; GUTTMAN, M. E.; REVOL, J. F. Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. *Journal of Polymers at the Environment*, v. 13, n. 4, p. 301–306, 2005.

OUDIANI, A. E.; CHAABOUNI, Y., MSAHLI, S.; SAKLI, F. Crystal transition from cellulose I to cellulose II in NaOH treated *Agave americana* L. fibre. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 1221– 1229, 2011.

PÄÄKÖ, M.; ANKERFORS, M.; KOSONEN, H.; NYKANEN, A.; AHOLA, S.; OSTERBERG, M.; RUOKOLAINEN, J.; LAINE, J.; LARSSON, P. T.; IKKALA, O.; LINDSTROM, T.; Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels, *Biomacromolecules*, v.8, p. 1934-1941, 2007.

PACE, G. W. Polímeros Microbianos. In: BULLOCK, J.; KRISTIANSEN, B. *Bioteχνología Básica*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991.

PANDEY, A.; BENJAMIN, S.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; KRIEGER, N.; SOCOOL, V. T. The realm of microbial lipases in biotechnology. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 29, p. 119-131, 1999.

PAPAGIANNI, M.; PSOMAS, S. K.; BATSILAS, L.; PARAS, S. V.; KYRIAKIDIS, D. A.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures. *Process Biochemistry*, v. 37, n. 1, p. 73-80, 2001.

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

PASQUEL, A. Gomas: utilização e aspectos reológicos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 33, n. 1, p. 86-87, 1999.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. *Introdução à Espectroscopia*. Tradução de: Barros, Pedro. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PENG, B. L.; DHAR, N., LIU, H. L., TAM, K. C. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, v.9, p. 1-16, 2011.

PENNA, A. L. B. Hidrocolóides: usos em alimentos. *Food Ingredients*, v. 3, n. 17, p. 58-64, 2002.

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

PETERS, H. U.; HERBST, H.; HESSELINK, P. G. M.; LU, ÈNDSORF. H.; SCHUMPE, A.; DECKWER, W. D. The influence of agitation rate on xanthan

production by *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology & Bioengineering*, v. 34, p. 1393-1397, 1989.

PHAN THE, D.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A.; LUU, D. Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on ágar, cassava starch and arabinoxylan blends. *Journal of Food Engineering*, v. 90, p. 548-558, 2009.

PINCHES, A.; PALLENT, L. Rate and yield relationships in the production of xanthan gum by batch fermentations using complex and chemically defined growth media. *Biotechnology & Bioengineering*, v. 28, p. 1484-1496, 1986.

PINHO, J. de J. R. G. Desenvolvimento de comprimidos de cloridrato de metformina de liberação convencional e modificada: influência dos excipientes sobre o perfil de dissolução e avaliação termoanalítica. Tese (Doutorado em Fármaco e Medicamentos), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 1999.

PINTO, E. P. Desacetilação de Xantana: influência no comportamento reológico. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS, 2005.

PORTAL DO AGRONEGÓCIO. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br> Acesso em: 14 ago. 2012.

QIN, C.; SOYKEABKAEW, N.; XIUYUAN, N.; PEIJS, T. The effect of fibre volume fraction and mercerization on the properties of all-cellulose composites. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, p. 458-467, 2008.

RAMOS, B. F. M. Produção de goma xantana em água produzida da indústria de petróleo. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2011.

RAO, M.A. *Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications*. New York: Aspen Publishers, p. 433, 1999.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. *Biomaterials science. An introduction to materials in medicine*. San Diego: Academic Press, 1996.

RHIM, J.; NG, P. K. W. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 47, p. 411-433, 2007.

RINDLAV, A.; HULLEMAN, S.H.D.; GATENHOLM, P. Formation of starch films with varying crystallinity. *Carbohydrate Polymer*, v. 34, p. 25 - 30, 1997.

ROBRA, S. Uso da glicerina bruta em biodigestão anaeróbica: aspectos tecnológicos, ambientais e ecológicos. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus - BA, 2006.

ROCKS, J.K. Unusual rheological properties and heat, acid, and salt stabilities make glucose-derived hydrocolloid a versatile food additive. *Food Technology*, v. 25, p. 476-484, 1971.

RODRIGUES, G.V.; MARCHETTO, O. *Análises Térmicas*. Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

ROJAS, J. A.; ROSELL, C. M.; BARBER, C. B. Pasting properties of different wheat flour-hydrocolloid systems. *Food Hydrocolloids*, v. 13, p. 27-33, 1999.

ROSA, D. S., FRANCO, B. L. M., CALIL, M. R. Biodegradability and mechanical properties of polymeric mixtures. *Polímeros*, v. 11, n. 2, p. 82-88, 2001.

ROSA, M. de F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, v. 81, p. 83-92, 2010.

ROSA, S. M. L. Estudo das propriedades de compósitos de polipropileno com casca de arroz. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica), *Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2007*.

ROSA, S. M. L. Isolamento de nanocristais de celulose de resíduos agrícolas e emprego em nanocompósitos de polipropileno. Tese (Doutorado em Química), *Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2012*.

ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 39, p. 197-207, 2006.

ROWELL, R. M.; PETTERSEN, R.; HAN, J. S.; ROWELL, J. S.; TSHABALALA, M. A. Cell wall chemistry. Cap 03 do livro *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. Ed. Roger M. Rowell. Ed Taylor & Francis Group, 2005.

SALAZAR, R. F. S.; SILVA, G. L. P.; SILVA, M. L. C. P. Estudo da composição da palha de milho para posterior utilização como suporte na preparação de compósitos. In: *VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica*. Unicamp, 2005. Disponível em: <<http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/top15.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2012.

SALGADO, P.R.; SCHMIDT, V.C.; ORTIZ, S.E.M.; MAURI, A.N.; LAURINDO, J. Biodegradable foams based on cassava starch, sunflower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. *Journal of Food Engineering*, v. 85, p. 435-443, 2008.

SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; SANCHEZ, J. Y.; KISSI, N. E.; DUFRESNE, A. Preparation of cellulose whiskers reinforced nanocomposites from an organic medium suspension. *Macromolecules*, v. 37, p. 1386-1393, 2004.

SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 612-626, 2005.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. *Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades*. 1. ed. Campinas: CETEA/ITAL, p. 267, 2002.

SARMENTO, S. B. S. Caracterização da fécula de mandioca (*Vanillo esculenta* C.) no período de colheita de cultivares de uso industrial. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição Experimental). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 1997.

SATYANARAYANA, K. G.; GUIMARÃES, J. L.; WYPYCH, F. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part I: Source, production, morphology, properties and applications. *Composites: Part A*, v. 38, p. 1694-1709, 2007.

SCAFI, S. H. F., PASQUINI, C.; Identification of counterfeit drugs using near-infrared spectroscopy for identification of falsified. *The Analyst*, v. 126, p. 2218-2224, 2001.

SCAFI, S. H. F. Sistema de Monitoramento em Tempo Real de Destilações de Petróleo e Derivados Empregando a Espectroscopia no Infravermelho Próximo. Tese (Doutorado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2005.

SEDAS, V. T. P.; KUBIAK, K. N. W. Cassava starch in the food industry. *Food Marketing and Technology*, v. 8, p. 18 - 20, 1994.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, S. L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.

SHANMUGANATHAN, K.; CAPADONA, J. R.; ROWAN, S. J.; WEDER, C. Bioinspired mechanically-adaptive nanocomposites derived from cotton cellulose whiskers. *Journal of Materials Chemistry*. v. 20, p. 180-186, 2010.

SHATWELL, K. P.; SUTHERLAND, I. W.; ROSS-MURPHY, S. B. Influence of acetyl and pyruvate substituents on the solution properties of xanthan polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 12, n. 2, p. 71-78, 1990.

SHAW, D.J. *Introdução a química dos colóides e de superfícies*. São Paulo: Edgard Blucher, p.180, 1975.

SILVA, A. M. S; CARMO, M. G. F; OLIVARES, F. O; PEREIRA, A. J. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de tomate: eficiência na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* e efeitos sobre as sementes. *Fitopatologia Brasileira*, v. 27, p. 587-593, 2002.

SILVA, D. J.; D'ALMEIDA, M. L. O. Cellulose Whiskers. *O Papel*, v. 70, p. 34-52, 2009.

SILVA, J. B. A. Preparação e caracterização de filmes flexíveis de amido e de pbat/amido termoplástico reforçados com *nanowhiskers* por *casting* e extrusão. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2013.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

SILVA, W. A.; PEREIRA, J.; CARVALHO, W. P.; FERRUA, F. Q. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, p. 154-163, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; FRANCIS X. R.; KIEMLE, D. J. W. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIQUEIRA, G.; ABDILLAH, H.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from *Syngonanthus nitens*. *Cellulose*, v. 17, p. 289-298, 2009.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulose *whiskers* versus microfibrils: influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites, *Biomacromolecules*, v. 10, p.425-432, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M. *Fundamentos de Química Analítica*. 8. ed. Madrid: Thomson-Paraninfo, 2005.

SLONEKER, J. H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B - 1459. *Canadian Journal of Chemistry*, v. 40, n. 11, p. 2066-2071, 1962.

SMITH, K.D. *Metals Handbook: Diffraction Methods*, v. 10, p. 326-355, 1981.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

SOBRAL, P. J. A. Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes. Tese de Livre Docência, Universidade de São Paulo, Pirassununga - SP, 2000.

SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Phase transitions of pigskin gelatin. *Food Hydrocolloids*, v.15, 377-382, 2001.

SOUZA, A. da S.; VENDRUSCOLO, C. T. Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepas 24 e 58. *Ciência e Engenharia*, v. 8, n. 2, p. 115-123, 1999.

SOUZA, C. O. Preparação, caracterização e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis a base de fécula de mandioca e incorporados com polpa de manga e de acerola como aditivos antioxidantes. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BA, 2010.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Gelatinização e extrusão de amido. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

SOUZA-LIMA, M. M.; WONG, J. T.; PAILLET, M.; BORSALI, R.; PECORA, R. Translational and rotational dynamics of rodlike cellulose whiskers. *Langmuir*, v. 19, p. 24-29, 2003.

SOUZA-LIMA, M. M.; BORSALI, R. Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, Properties, and Applications. *Macromolecular Rapid Communications*, v. 25, p. 771-787, 2004.

STADING, M.; RINDLAV-WESTLING, A.; GATENHOL, M. P. Humidity-induced structural transitions in amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, v. 45, p. 209-217, 2000.

SUDHAKAR, V.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Effect of sucrose on starch hydrocolloid interactions. *Food Chemistry*, v. 207, p. 281-284, 1995.

SUTHERLAND, I. W.; TAIT, M. I. Biopolymers. *Encyclopedia of Microbiology*, v. 1, 1992.

SUTHERLAND, I. W.; TAIT, M. I. *Biopolymers*. In : *Encyclopedia of Microbiology*, v. 1, 1994.

SUTHERLAND, I.W.; KENNEDY, L. Polysaccharide lyases from gellan-producing *Sphingomonas spp*. *Microbiology*, v. 142, p. 867-872, 1996.

SUTHERLAND, I.W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*, v. 11, p. 663–674, 2001.

SZCESNIAK, A.S. Physical properties of foods: What they are. In: PELEG, M.; BAGLEY, E.B. *Physical properties of foods*. New York: AVI, p. 1-37, 1983.

TAMANINI, C.; HAULY, M. C. O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 25, n. 4, p. 315-330, 2004. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_25_4_19_6.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2012.

TEIXEIRA, E. M. Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos. Tese (Doutorado em Físico-Química), I Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2007.

TEIXEIRA, E. M.; BONDANCIA, T. J.; TEODORO, K. B. R.; CORRÊA, A. C.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. *Industrial Crops and Products*, v. 33, p. 63-66, 2011.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science and Technology*, v. 14, p. 71-78, 2003.

THARANTHAN, R. N. Starch – value addition by modification. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 45, p. 371 - 384, 2005.

THIRÉ, R. M. S.; SIMÃO, R. A.; ARAÚJO, P. J. G.; ANCHETE, C. A. Redução da hidrofobicidade de filmes biodegradáveis a base de amido por meio de polimerização por plasma. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 14, p. 57-62, 2004.

THOMPSON, J. C.; HE, B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. *Applied Engineering in Agriculture*, v. 22, p. 261-265, 2006.

TONELI, J.T.C.L.; MURR, F.E.X.; PARK, K.J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v. 7, p. 181-204, 2005.

VAN SOEST, J.J.G.; VLIEGENTHART, J.F.G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. *Trends in Biotechnology*, v. 15, n. 6, p. 208 – 213, 1997.

VANDERBUILT Inc. Co. Vanzan: xanthan gum, the natural choice. Vanderbuilt Catalog, 2004.

VEIGA, P. S.; DRUZIAN, J. I. Absorvedores de umidade/antiembaçantes biodegradáveis à base de amido/fécula para serem aplicados em produtos de higiene pessoal, alimentícios ou farmacêuticos. INPI: PI 0704589-1, 2007.

VEIGA, P.; VILPOUX, O.; CEREDA, M. P. Possíveis usos da fécula de mandioca: critérios de qualidade. Botucatu: Centro de raízes e amidos tropicais – Universidade Estadual Paulista, 1994.

VEIGA-SANTOS, P. Elaboração, aditivação e caracterização de biofilmes à base de fécula de mandioca. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2004.

VEIGA-SANTOS, P.; SCAMPARINI, A. R. P. Indicador irreversível de temperatura utilizando carboidratos. INPI: PI0403610-7, 2004.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M.; CEREDA, M. P.; ALVES, A. J.; SCAMPARINI, A. R. P. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: Effect of additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, v. 19, p. 341-349, 2005.

VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. Tese (Doutorado em Agronomia - Área de concentração em Horticultura). Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu - SP, 2003.

WANG, B.; SAIN, M; OKSMAN, K. Study of structural morphology of hemp fiber from the micro to the nanoscale. *Applied Composite Materials*, v. 14, n. 2, p. 89-103, 2007.

WANG, S.; CHENG, Q.; RIALS, T. G.; LEE, S. H. Cellulose microfibril/nanofibril and its nanocomposites. 8 Pacific Rim Bio-Based Composites Symposium. Tennessee Forest Products Center, University Tennessee, 2006.

WANG, Y.; CAO, X.; ZHANG, L. Effects of cellulose whiskers on properties of soy protein thermoplastics. *Macromolecular Bioscience*, v. 6, p. 524-531, 2006.

WILLFOR, S.; OKSMAN, K.; TENKANEN. M. Glucomannan composite films with cellulose nanowhiskers. *Cellulose*, v. 17, p. 69-81, 2010.

WURZBURG, O. B. Cross-linking starches. In: Wurzburg, O. B. Modified Starches: properties and uses. Boca Raton: CRC Press, p. 41 – 53, 1986.

XUEWU, Z.; XIN, L.; DEXIANG, G.; WEI, Z.; TONG, X.; YONGHONG, M. Rheological models for xanthan gum. *Journal of Food Engineering*, v. 27, p. 203–209, 1996.

YONEMOTO, P. G. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto – SP, 2006.

YOSHIDA, T.; TANNER, R. D. *Bioproducts and bioprocess*. Berlin: Springer-Verlag, 1993.

YOSHIMURA, M.; TAKAYA, T.; NISHINARI, K. Effects of xyloglucan on the gelatinization and retrogradation of corn starch as studied by rheology and differential scanning calorimetry. *Food Hydrocolloids*, v. 13, p. 101-111, 1999.

YOUNG, H. *Fractionation of starch*. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F. (Ed.). *Starch Chemistry and Technology*. 2. ed. Orlando (USA): Academic Press, p. 249-283, 1984.

YOUNG, R J. *Introduction to polymer*. Publisher: Chapman & Hall, 1981.

ZHANG, Y.; HAN, J.H. Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, v. 71, n. 2, p. 109-118, 2006a.

ZHANG, Y.; HAN, J.H. Plasticization of pea starch films with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, v. 71, n. 6, p. 253-261, 2006b.

CAPÍTULO III

MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo é apresentado às metodologias analíticas empregadas na obtenção da goma xantana, dos *nanowhiskers* de celulose e dos bionanocompósitos e as matérias-primas utilizadas, cita os planejamentos experimentais adotados e relaciona os reagentes necessários ao desenvolvimento experimental.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pescado e Cromatografia Aplicada – LAPESCA da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia. Nesse laboratório foram realizados e desenvolvidos também algumas caracterizações do biopolímero, dos *nanowhiskers* e dos bionanocompósitos.

A análise de Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foi realizada no Laboratório de Síntese, Eletrossíntese Orgânica e Química Medicinal - UFMG. As análises de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Difractometria de raio-X (DRX) foi realizada no Laboratório de Raio X - Instituto de Química – UFBA. A curva de crescimento da *Xanthomonas campestris* cepa 2103 foi realizada no Laboratório de Biomateriais - ITP - UNIT.

1. Material

Foram utilizados como matérias-primas para obtenção da goma xantana, dos *nanowhiskers* e dos bionanocompósitos: GRB (doada pela Comanche Biocombustíveis da Bahia Ltda, Salvador-BA); *Xanthomonas campestris* pv. *Mangiferaeindicae* cepa 2103 (doada pela Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico (IBSBF), Campinas-SP); Palha de milho (doada pela empresa Juarez Francisco da Cruz Ltda, Salvador-BA); Amido de mandioca (doado pela Cargill Agrícola SA, Porto Ferreira-SP); Glicerol (Synth®); Extrato de malte, extrato de levedura e peptona bacteriológica (Acumedia); Glicose, sulfato de cobre e sulfato de potássio (Synth®); Ágar (Micromed); Fosfato monobásico de potássio, clorofórmio e isooctano (Quemis); Uréia, hipoclorito de sódio, ácido sulfúrico, ácido acético, metanol, ácido bórico e cloreto de sódio (Vetec); BF₃ (Merck); Membrana de celulose para diálise D9777 - 100 FTO (Sigma-Aldrich).

2. Obtenção da goma xantana a partir da glicerina residual do biodiesel

2.1. Meios de cultura

Para a preparação do inóculo foi utilizado o meio YM padrão (Yeast-Malt) líquido, contendo (p/v): 1,0 % glicose; 0,5 % peptona bacteriológica; 0,3 % extrato de levedura; 0,3 % extrato de malte (GARCÍA-OCHOA et al., 2000) para o volume de 50 mL. O pH do meio foi ajustado para 7,0 e a esterilização foi realizada por meio de vapor úmido (autoclave) a 121 °C por um período de 15 minutos utilizando-se Erlenmeyer de 250 mL. O meio foi esfriado e inoculado com uma alçada da cultura de *Xanthomonas campestris* e incubado a 28 °C, 180 rpm, 24 h em agitador rotativo (*Shaker* - Tecnal, mod. TE-424).

A repicagem da cepa *Xanthomonas campestris* foi realizada em placas de Petri. As placas com meio YM-ágar (sólido), contendo (m/v) 1,0 % glicose; 0,5 % peptona bacteriológica; 0,3 % extrato de levedura; 0,3 % extrato de malte e 2,0 % de ágar puro, foram esterilizadas à temperatura de 121 °C por 15 minutos e esfriadas à temperatura ambiente. Os repiques foram realizados a cada 30 dias e armazenados a ± 4 °C a fim de verificar algumas características morfológicas das colônias.

Para preservar as culturas e diminuir o risco de alteração no perfil genético, foi realizado o congelamento da cepa em ultrafreezer a -80 °C. O procedimento de congelamento constou das seguintes etapas: incubação da cultura em meio YM líquido a 28 °C ± 2 °C durante 48 h; adição de um agente crioprotetor estéril (glicerol 50 % p/v); homogeneização da mistura, sendo a suspensão aliquoteada em microtubos estéreis (1,5 mL), devidamente identificados seguido de congelamento imediato -80 °C. Todos os procedimentos foram realizados de forma asséptica (STABURY et al., 1995).

2.2. Curva de crescimento

A curva de crescimento microbiano foi obtida através da transferência asséptica, em triplicata, de uma alçada do inóculo para 50 mL de meio YM líquido. Este foi incubado em agitador orbital a 28 ± 2 °C, 180 rpm por 48h. Amostras do meio fermentado foram coletadas a cada 3 horas e analisadas quanto ao crescimento celular. Esta avaliação foi feita através da leitura de absorbância, em comprimento de onda de 620 nm em espectrofotômetro UV/VIS Perkin Elmer (mod. Lambda 35), contra um branco constituído de YM sem inóculo; e por contagem em YM-ágar através da técnica

de profundidade (Pour plate). As curvas de crescimento foram montadas com as médias dos dados de absorvância e contagem total de colônias (UFC.mL⁻¹) em função do tempo.

2.3. Produção de Goma Xantana

Para a produção de goma xantana foram transferidos 20 % do inóculo para o Biorreator Tecnal (mod. TecBio-V) de 4,5 L, 3,0 L de volume útil. O meio de produção de biopolímero foi elaborado com 2,0 % (m/v) de GRB suplementado com 0,01 % de uréia e 0,1 % de KH₂PO₄ e pH ajustado para 7,0. A esterilização foi realizada por meio de vapor úmido (autoclave) a 121 °C por um período de 15 minutos.

Foi realizado um planejamento fatorial 2² com três repetições no ponto central, totalizando sete ensaios (Tabela 13). As variáveis independentes testadas para formular o meio fermentativo foram: aeração (% de O₂ dissolvido) (0,5 % a 1,5 % vvm) e agitação (300 a 700 rpm). Esses valores foram adotados a fim de verificar se tais condições iriam influenciar ou não o comportamento do sistema. As respostas ou variáveis dependentes de cada um dos ensaios foram monitoradas com 120h de fermentação. O tratamento dos dados foi realizado utilizando-se o software Statistica 7 produzido pela StatSoft para construção dos Gráficos de Pareto e Superfícies de Resposta para as variáveis dependentes com diferença significativa (p<0,05).

Tabela 13. Planejamento fatorial para avaliar a influência de variáveis independentes sobre a as respostas.

Ensaio	Valores Codificados		Valores Reais	
	Aeração (X ₁)	Agitação (X ₂)	Aeração (vvm)	Agitação (rpm)
1	-1	-1	0,5	300
2	+1	-1	1,5	300
3	-1	+1	0,5	300
4	+1	+1	1,5	700
5*	0	0	0,0	500
6*	0	0	0,0	500
7*	0	0	0,0	500

* Pontos Centrais

Para recuperação da goma xantana, o caldo fermentativo foi centrifugado na velocidade de 18800xg (12000 rpm) por 30 minutos, a uma temperatura de 5 °C para remoção celular (Hitachi mod. CR22GIII). Ao sobrenadante foi adicionado etanol

96°GL (1:3 v/v) para precipitação da goma. As gomas precipitadas foram retiradas com auxílio de um bastão de vidro e transferidas para placas previamente taradas. As gomas foram secas em estufa (35 ± 2 °C) até massa constante, e em seguida foram moídas. O polissacarídeo foi armazenado em frasco vedado para análises posteriores.

Para a purificação da goma xantana, soluções aquosas a 2,0 % (m/v) foram dialisadas, sob agitação, contra água ultrapura (durante 72 horas a 4 °C, em membranas de peso semipermeáveis de celulose com limite de exclusão molecular de 12.000-16.000 Da e porosidade de 24 Å. A troca da água foi realizada de 3 a 5 vezes ao dia. Após a diálise, as soluções de biopolímeros foram congeladas, liofilizadas (LIOTOP mod. L101) e armazenadas em embalagens herméticas. Com as gomas xantana purificadas e submetidas a radiação UV para inativação celular, foram realizadas as análises de caracterização.

3. Extração de celulose da palha de milho

A metodologia para extração da polpa de celulose foi adaptada da literatura, utilizando como referência os trabalhos realizados por SAMIR et. al. (2005) e ROSA et al. (2010). As palhas de milho foram secas em estufa, cortadas em pequenos pedaços, trituradas em processador para obtenção de um fino particulado e peneirada em peneira de malha 40. Em seguida foram lavadas (30 gramas) com solução de NaOH 2,0 % (1.200 ml), durante 4 horas sob agitação constante a uma temperatura de 80 °C. A solução resultante foi filtrada e lavada com água deionizada para a obtenção da polpa. O procedimento foi repetido por três vezes para a remoção completa dos agentes solúveis em água.

Após a lavagem do material, foi realizado o processo de deslignificação da polpa por meio do processo de branqueamento utilizando uma mistura de hipoclorito de sódio 1,7 % (300 ml) e solução tampão (300 ml). A solução resultante foi colocada sob agitação constante numa temperatura de 80 °C por 6 horas, filtrada, seca em estufa (60 °C por até 24 h), obtendo-se assim a polpa de celulose. Em seguida foram pulverizadas em moinho Cadense Ltda, Brasil.

3.1. Preparação dos nanowhiskers de celulose de palha de milho

A metodologia para preparação dos *nanowhiskers* de celulose foi adaptada da literatura, utilizando como referência os trabalhos realizados por Mesquita et al (2010) e Silva et al (2012). Os *nanowhiskers* de celulose de palha de milho (NWC) foram

preparados por hidrólise ácida utilizando H₂SO₄ (55 %). Um total de 9 mL/g de polpa de celulose foi submetido à agitação constante durante um período de 15 - 20 minutos, numa temperatura de 50 ± 2 °C. Após o tratamento de hidrólise ácida, as amostras foram filtradas, avolumadas e centrifugadas durante 10 minutos, 3300xg (4400 rpm), 10 °C. Este procedimento foi repetido até nãoapresentar mais sobrenadante. Em seguida as suspensões foram submetidas à diálise, até atingir o pH entre 6 – 7. Após atingir o pH desejado, as amostras foram colocadas em banho ultrassônico (Tecnal mod. USC-1850) por aproximadamente 5 minutos.

4. Preparação dos filmes (bionanocompósitos)

Os bionanocompósitos foram preparados segundo a técnica *casting*, que consistiu no preparo de uma solução filmogênica, onde inicialmente dissolveu-se em água destilada, o amido de mandioca (3,5 a 5,5 %, g/100g), o glicerol (0,6 a 1,6 %, g/100g), a goma xantana (0,0 a 0,06 %, g/100g) e a solução de *nanowhiskers* de celulose (0,0 a 0,6 %, g/100g). Posteriormente a solução foi aquecida até a temperatura de gelatinização do amido sob agitação constante. A solução filmogênica foi pesada (50 g) em placas de Petri de poliestireno e desidratada em estufa com circulação de ar (35 ± 2 °C) por 10 a 12 horas. Os bionanocompósitos obtidos foram acondicionados (75 %UR, 25 °C) em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio, por 10 dias, antes de serem caracterizados, conforme adaptação da metodologia proposta por Veiga-Santos e Scamparini (2004).

Foi realizado um planejamento estatístico DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) fracionado 2⁴, com dois pontos axiais ($\alpha = \pm 1,41$) para cada variável independente e triplicata do ponto central, totalizando 27 experimentos.

A Tabela 14 mostra os níveis e valores codificados, onde -1 refere-se ao menor nível das variáveis, 0 corresponde ao ponto central e +1 ao maior. Os valores codificados foram calculados de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Valor codificado} = \frac{(\text{valor atual} - (\text{maior nível} + \text{menor nível}) / 2)}{(\text{maior nível} - \text{menor nível}) / 2} \quad (\text{Eq. 2})$$

Tabela 14. Matriz do planejamento experimental composta pelas variáveis amido (X1), glicerol (X2), goma xantana (X3) e nanowhiskers (X4) e seus respectivos níveis em valores reais e codificados.

Ensaio	Valores Codificados				Valores Reais			
	Amido (X1)	Glicerol (X2)	GX (X3)	NWC (X4)	Amido (%)	Glicerol (%)	GX (%)	NWC (%)
1	-1	-1	-1	-1	4,00	0,85	0,015	0,15
2	-1	-1	-1	+1	4,00	0,85	0,015	0,45
3	-1	-1	+1	-1	4,00	0,85	0,045	0,15
4	-1	-1	+1	+1	4,00	0,85	0,045	0,45
5	-1	+1	-1	-1	4,00	1,35	0,015	0,15
6	-1	+1	-1	+1	4,00	1,35	0,015	0,45
7	-1	+1	+1	-1	4,00	1,35	0,045	0,15
8	-1	+1	+1	+1	4,00	1,35	0,045	0,45
9	+1	-1	-1	-1	5,00	0,85	0,015	0,15
10	+1	-1	-1	+1	5,00	0,85	0,015	0,45
11	+1	-1	+1	-1	5,00	0,85	0,045	0,15
12	+1	-1	+1	+1	5,00	0,85	0,045	0,45
13	+1	+1	-1	-1	5,00	1,35	0,015	0,15
14	+1	+1	-1	+1	5,00	1,35	0,015	0,45
15	+1	+1	+1	-1	5,00	1,35	0,045	0,15
16	+1	+1	+1	+1	5,00	1,35	0,045	0,45
17	-1,41	0	0	0	3,50	1,10	0,030	0,30
18	+1,41	0	0	0	5,50	1,10	0,030	0,30
19	0	-1,41	0	0	4,50	0,60	0,030	0,30
20	0	+1,41	0	0	4,50	1,60	0,030	0,30
21	0	0	-1,41	0	4,50	1,10	0,000	0,30
22	0	0	+1,41	0	4,50	1,10	0,060	0,30
23	0	0	0	-1,41	4,50	1,10	0,030	0,00
24	0	0	0	+1,41	4,50	1,10	0,030	0,60
25*	0	0	0	0	4,50	1,10	0,030	0,30
26*	0	0	0	0	4,50	1,10	0,030	0,30
27*	0	0	0	0	4,50	1,10	0,030	0,30

* Pontos Centrais

5. Técnicas de caracterização dos biomateriais

5.1. Composição centesimal

5.1.1. Glicerina residual do biodiesel (GRB)

Foi testado o substrato alternativo para bioconversão a goma xantana, a glicerina residual do biodiesel (GRB). A composição centesimal da GRB inclui a determinação do teor de umidade, cinzas, proteína bruta, lipídios totais e carboidratos. Estes parâmetros são importantes considerando que a *Xanthomonas* necessita de nutrientes essenciais, como fonte de carbono e nitrogênio, para produzir goma xantana.

- Umidade: foi determinada pelo método de secagem em estufa a 105 °C com circulação de ar de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC,1997).
- Cinzas: foi determinado por incineração em mufla a 550 °C de acordo com a AOAC (1997).
- Proteína bruta: foi calculada a partir dos teores de nitrogênio total, usando os fatores de conversão. O fator geral de 6,25 foi usado para calcular as proteínas que não possuíam um fator de conversão específico. O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl, segundo AOAC (1997).
- Lipídios totais: foram determinados pelo método de extração Bligh-Dyer (1959), segundo AOAC (1997).
- Carboidratos: O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de umidade, proteína, lipídios totais e cinzas. Os valores de carboidratos incluem a fibra alimentar total. Esta fração representa a fonte de carbono disponível para ser bioconvertida à goma xantana pelas cepas de *Xanthomonas*.

5.1.2. Amido de mandioca

O amido de mandioca foi avaliado quanto ao teor de umidade e de substâncias acompanhantes. A umidade foi determinada em equipamento AND (mod. MX-50), utilizando-se 3 g da amostra. Para avaliação do grau de pureza do amido de mandioca foram avaliados os teores de lipídios totais, proteína bruta, cinzas e fibras, segundo os métodos descritos pela AOAC (1997). O teor de amilose total foi determinado de

acordo com a metodologia ISO 6647 (International Organization for Standardization, 1987).

5.2. Viscosidade aparente das gomas xantana

As amostras de goma xantana dialisadas obtidas pela fermentação da GRB sintetizadas pela cepa 2103 foram dissolvidas em água destilada na concentração de 0,5 % (m/v). A dissolução ocorreu sob agitação mecânica (agitador Ika mod. C-MAGH57) por aproximadamente 15 minutos em temperatura ambiente para total absorção da água e formação do gel. As soluções repousaram durante 12 h à temperatura ambiente antes da leitura da viscosidade visando à retirada de bolhas.

A viscosidade aparente (μ) das gomas obtidas foi determinada em função da taxa de cisalhamento (CHHABRA e RICHARDSON, 1999), a partir da tensão de cisalhamento e da taxa de cisalhamento medidas em um reômetro Haake Rheotest (mod. 2.1), com dispositivo de cilindros concêntricos, acoplado a um banho-maria. As medidas foram feitas nas temperaturas de 25, 45, 65 e 85 °C e em taxa de cisalhamento entre 25 e 1000 s⁻¹.

Neste modelo de viscosímetro, utiliza-se 25 mL de solução de goma xantana. Uma velocidade de rotação variável é aplicada ao cilindro interno e mede-se a tensão de cisalhamento resultante.

Para investigação do comportamento pseudoplástico das soluções de goma, foi realizado o ajuste do modelo de Otswald-de Waele ($\sigma = K \cdot \gamma^n$) aos dados experimentais, a partir da regressão da lei de potência, usando o software Excel 2007, onde K é o índice de consistência; n é o índice do comportamento do fluxo; σ é a tensão de cisalhamento e γ é a taxa de cisalhamento. A partir do gráfico σ x $\log \gamma$, obteve-se os valores de K e n e as equações das retas, podendo-se então através da análise estatística, demonstrar o ajuste do modelo aos dados experimentais.

Os resultados foram expressos em gráficos da viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento e viscosidade aparente em função da temperatura. As unidades de medidas utilizadas foram: miliPascoal por segundo (mPa.s) para a viscosidade aparente, 1/segundo (s⁻¹) para a taxa de cisalhamento e miliPascoal (mPa) para a tensão de cisalhamento.

5.3. Massa molecular média da goma xantana

A determinação da massa molecular média (MM) foi realizada para todas as gomas xantana produzidas por GPC CLAE-IR (PerkinElmer Series 200), utilizando colunas Shodex SB 803, 804, 805, 806 conectadas em série, tendo como fase móvel solução aquosa de nitrato de sódio (0,5 % m/v) a um fluxo de 1,0 mL/min. Foram injetados 80 µL das soluções aquosas (0,5 % m/v) de padrões de dextrana (American Polymer Standards) de diferentes pesos moleculares (102000, 207200, 431800, 655200, 759400, 1360000, 2025000, 2800000, 34500000, 5900000), das gomas xantana obtidas por fermentação da GRB, bem como a goma xantana padrão (Sigma) (0,5 % m/v). Os valores das massas moleculares foram obtidos a partir de uma curva de calibração (log Massa Molecular x Tempo de Retenção) dos padrões de dextranas.

5.4. Composição monomérica da goma xantana

Os métodos para determinação de açúcares e ácidos urônicos por CLAE foram adaptados de Druzian (2000). As gomas xantana obtidas a partir da GRB foram inicialmente hidratadas por 24 h / 30 °C e em seguida hidrolisadas utilizando solução 1M de ácido tri-fluoroacético (TFA) sendo posteriormente aquecidas a 100 °C por 10 horas (Estufa Tecnal mod. TE 394/2).

5.4.1. Determinação de açúcares por CLAE-IR

O método para a determinação de açúcares utilizou um sistema por GPC CLAE-RI (PerkinElmer Séries 200), utilizando uma pré-coluna Polypore Ca (30 mm x 4,6 mm x 10 µm) seguida de uma coluna Polypore Ca (220 mm x 4,6 mm x 10 µm). As colunas foram acondicionadas em um forno a 80 °C. A fase móvel utilizada foi água grau cromatográfico sob um fluxo de 0,1 mL / min. O volume de injeção foi de 5 µL.

A identificação foi realizada por comparação de tempo de retenção (T_r) entre os picos de padrões de glicose e manose e das amostras de goma hidrolisada. A quantificação foi obtida por padrão externo, utilizando soluções aquosas dos padrões de glicose e manose para a obtenção das curvas.

5.4.2. Determinação de ácidos urônicos por CLAE-UV

O método para a determinação dos ácidos urônicos utilizou um sistema por GPC CLAE (PerkinElmer Séries 200), com detector Ultravioleta (UV) em um comprimento de onda de 195 nm, utilizando uma pré-coluna Polypore H (30 mm x 4,6 mm x 10 µm) seguida de uma coluna Polypore H (220 mm x 4,6 mm x 10 µm). As colunas foram acondicionadas em um forno a 50 °C. A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de H₂SO₄, pH 1,9 sob um fluxo de 0,4 mL / min. O volume de injeção foi de 10 µL.

A identificação foi realizada por comparação de tempo de retenção (Tr) entre os picos dos padrões dos ácidos glucurônico e pirúvico e das amostras de goma hidrolisada. A quantificação foi obtida por padronização externa, utilizando soluções aquosas dos padrões para a obtenção das curvas.

5.5. Análises Térmicas

Os equipamentos utilizados foram o Pyris 1 e DSC 60 da PerkinElmer e Shimadzu, respectivamente, ambos calibrados seguindo as normas dos fabricantes. As amostras foram mantidas em dessecador até serem pesadas e acondicionadas em cadinhos pré-tarados na balança.

As curvas termogravimétricas das gomas xantana (6,0 mg) foram obtidas da temperatura ambiente até 400 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, para determinar o perfil de decomposição térmica das amostras, sendo a atmosfera do forno constituída por nitrogênio numa vazão média de 20 mL.min⁻¹. Na termogravimetria da palha de milho, celulose branqueada e *nanowhiskers* de celulose foram usadas condições similares as da goma xantana no intervalo de temperatura de 25 a 800 °C.

Para a matriz polimérica amido de mandioca, bem como para os filmes (bionanocompósitos) obtidos nos 27 ensaios do planejamento experimental, a termogravimetria foi realizada nas seguintes condições: massa da amostra de aproximadamente 6,0 mg, atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 50 mL min⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, de 25 °C a 650 °C.

Em todas as análises, as curvas DTG, correspondentes à derivada primeira das curvas de TGA, foram usadas para determinar os intervalos de temperatura correspondente às percentagens de desidratação e decomposição de material orgânico.

O programa Pyris Manager (PerkinElmer) foi utilizado para obtenção dos valores observados na curva.

Com a finalidade de conhecer a temperatura de gelatinização da matriz amido de mandioca, uma amostra foi levada a análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC). O amido foi misturado à água (proporção amido: água de 1:4), deixado em repouso por 2 horas para intumescimento dos grânulos com o objetivo de obter a entalpia de gelatinização conforme método descrito por Liu et al. (2005), com modificações. A curva DSC foi realizada na seguinte condição: massa da amostra de 2,5 mg, 10 µL de água deionizada pesada em panelinha de aço inoxidável de alta pressão e selada em prensa universal (B013-9005) com adaptador (B050- 5340), atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 50 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e faixa de temperatura de 30 °C a 110 °C. Um cadinho selado vazio foi utilizado como referência. Com base na curva foram obtidos os seguintes valores de gelatinização: temperatura de início (T₀), temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f), faixa de temperatura ($\Delta T = T_f - T_i$) e variação de entalpia (ΔH). O programa TA 60 (Shimadzu) foi utilizado para obtenção dos valores observados na curva.

5.6. Composição química da palha de milho

Para a determinação dos principais constituintes da palha de milho (lignina, hemicelulose e celulose) foram utilizados os métodos de Van Soest (1965), (TAPPI 2000), (TAPPI 222 m-88) e (TAPPI T19 m-54).

5.7. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A solução de *nanowhiskers* de polpa de celulose extraídos da palha de milho foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão a fim de determinar o comprimento das fibras (L), largura (D), relação de aspecto (L/D) e para indicar o estado de agregação dos cristais. A solução de nanocelulose foi misturada em volumes iguais com acetato de uranila aquosa a 2 % (UA) e 10 mL da mistura UA-nanocelulose foi dispensado em uma grade de cobre 400 mesh, deixada em repouso durante 30-60 segundos. A grade foi seca e visualizada em um microscópio eletrônico de varredura CM12-transmissão (STEM) operando no modo de campo claro em 80 kV. Os comprimentos e larguras foram medidos diretamente das micrografias eletrônicas de

transmissão usando Image Tool 3.0 com 34 medições para determinar os valores de média e desvio padrão.

5.8. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As medidas de FTIR da palha de milho, celulose branqueada e *nanowhiskers* foram realizadas no espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier modelo IRPrestige-21 da Shimadzu, com pastilhas de KBr, na região de 400-4000 cm⁻¹, resolução de 1 cm⁻⁴ e 50 varreduras. As amostras foram incorporadas ao KBr e submetidas a alta pressão para a produção de pastilhas.

5.9. Difratomia de raios-x (DRX)

5.9.1. Palha de milho, celulose branqueada e *nanowhiskers*

As análises da palha de milho, da celulose branqueada e dos *nanowhiskers* liofilizados foram realizadas em Difrátômetro de raios-x Shimadzu (mod. XRD 7000), com passo de 2°/min e radiação de cobre $\lambda = 1,5433 \text{ \AA}$, operando com 40 kV, corrente de 30 mA e varredura entre 5° e 80°.

Com os resultados obtidos no difratômetro foi possível calcular os índices de cristalinidade da palha, da celulose e dos *nanowhiskers* (Equação 3) de acordo com o método empírico de Segal et al. (1959), que fornece um valor aproximado de cristalinidade:

$$I_c = \frac{I(002) - I(am)}{I(002)} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

I_c = Índice de cristalinidade em percentagem

$I(002)$ = máxima intensidade do pico de difração que representa o material.

$I(am)$ = mínima intensidade do pico de difração que representa o material amorfo.

5.9.2. Amido de mandioca

Com o intuito de caracterizar os grânulos de amido, a amostra foi submetida a um Difrator de raios-x Shimadzu (mod. XRD 7000) com radiação de cobalto 40 kV, 30 mA, velocidade de varredura de 1°/min. sob ângulo 2θ variando de 4 a 80°. O grau de cristalinidade relativa do amido de mandioca foi determinado quantitativamente seguindo a metodologia descrita por Nara e Komiya (1986) com a utilização do *software* Origin 7.5.

O índice de cristalinidade relativa (I_C) foi quantitativamente determinado segundo Hayakawa et al. (1997), traçando no difratograma uma linha base dos picos principais (Figura 27). O I_C foi definido com a razão entre a área cristalina e a área total coberta pela curva, composto pela área da região cristalina e a área da região amorfa, como mostra Equação 4 (ROCHA et al., 2008).

$$I_C = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

onde, A_c = área cristalina e A_a = área amorfa no difratograma.

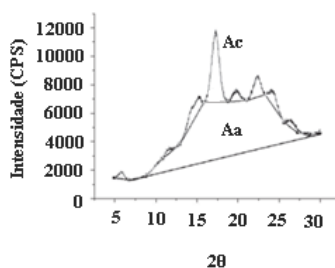


Figura 27. Difratograma de Raio-x descritivo do método de índice de cristalinidade relativa adaptado à razão das intensidades difratadas.

Fonte: ROCHA et al. (2008)

A proporção entre as regiões cristalina e amorfa, que determina o grau de cristalinidade e as características dimensionais dos domínios cristalinos, é variável (SOUZA LIMA e BORSALI, 2004). As regiões cristalinas são resultados da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos enzimáticos. As regiões amorfas são resultados da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização. Essas são denominadas, por alguns autores, de

regiões em que a cristalização ocorreu com defeito (EICHHORN et al., 2001; SAMIR et al., 2005; HABIBI et al., 2007).

5.10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Esta técnica foi utilizada para observar o aspecto geral dos grânulos do amido de mandioca. A amostra foi previamente desidratada em estufa a 70 °C e analisadas em microscópio eletrônico de varredura Shimadzu (mod. SS 550), sob amperagem de 80 mA e voltagem de 5 Kv. A montagem da amostra foi feita em suportes (*stubs*) com fita adesiva dupla face, onde o amido foi fixado e coberto com uma fina camada de ouro em metalizador BAL-TEC SCD 050 por 7 minutos com amperagem de 6 mA. As fotomicrografias foram obtidas através de um aumento de 500, 700, 1000 e 2000 vezes.

5.11. Índice de Solubilidade (IS) e Poder de Inchamento (PI)

Através da metodologia descrita por Schoch (1964), na qual 1 g de amido de mandioca em base seca (b.s.) e 40 mL de água foram colocados em Erlenmeyers, previamente tarados, e levados a aquecimento em banho-maria com agitação por 30 minutos nas temperaturas de 25 °C, 55 °C, 65 °C, 75 °C, 85 °C e 95 °C. A suspensão de amido foi então colocada em tubos e centrifugada a 3300xg por 30 minutos. O sobrenadante foi cuidadosamente separado e uma alíquota de 10 mL foi retirada, seca em estufa e pesada, para avaliar o percentual de solubilidade. O índice de solubilidade (IS) e poder de inchamento (PI) foram calculados a partir das relações abaixo:

$$\text{Índice de Solubilidade (IS)} = \frac{\text{massa final (g)}}{\text{massa da amostra em base seca (g)}} \times 100 \quad (\text{Eq.5})$$

$$\text{Poder de Inchamento(PI)} = \frac{\text{resíduo da centrifugação (g)}}{\text{massa da amostra em base seca (g)}} \quad (\text{Eq.6})$$

5.12. Claridade da pasta de amido

A claridade da pasta de amido foi determinada utilizando como referência o método descrito por Perera e Hoover (1999). A suspensão de amido a 1 % em água foi aquecida sob agitação até obtenção de um gel translúcido. O material foi distribuído em tubos de 50 mL e logo após esfriados até temperatura ambiente. Os tubos foram estocados por 5 dias a 4 °C e a turbidez medida por absorvância a 640 nm em espectrofotômetro UV/VIS *Perkin-Elmer* (mod. Lambda 35) a partir do tempo zero acada 24 h.

5.13. Medida de espessura (E)

A espessura dos filmes (bionanocompósitos) pré-acondicionados (75 %UR, 25 °C) foi avaliada através da espessura média de 06 medições em posições aleatórias, por meio de micrômetro digital Mitutoyo (mod. MDC 25 SB) de ponta plana (com resolução de 1µm) em triplicata (CHOI e HAN, 2001).

5.14. Medida da atividade de água (aw)

As medições de atividade de água (aw) dos filmes (bionanocompósitos) foram realizadas com um decágono, AQUALAB LITE. Como padrões para a calibração do equipamento foram utilizados a água pura (aw 1,000% ± 0,001) e LiCl (aw 0,500% ± 0,015). As amostras, pré-acondicionadas em 75 % de Umidade Relativa a 25 °C, foram avaliadas em triplicata (VEIGA-SANTOS et al., 2005; OLIVATO et al., 2006).

5.15. Medida da Umidade (U)

A umidade dos filmes (bionanocompósitos) foi obtida por secagem no infravermelho, em equipamento Unidade de Secagem Mettler LTJ ajustando-se a intensidade da radiação emitida de modo que a amostra atingisse 110°C.

5.16. Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA)

A taxa de permeabilidade ao vapor d'água e a permeabilidade dos filmes foram determinadas de acordo com a norma ASTM E 96/E 96 M-05 - *Standard test methods for water vapor transmission of materials* (ASTM, 2005). A realização das medidas foi utilizada em recipientes de vidro, água destilada e um adesivo impermeável (resina epóxi de secagem rápida).

As amostras dos filmes foram cortadas e acopladas aos copos de vidros com auxílio da resina epóxi, após a secagem da resina, os copos foram pesados e deixados em dessecador. O acompanhamento gravimétrico foi feito utilizando uma balança analítica. As medidas foram realizadas a cada 24 horas por um período de 5 dias. A temperatura foi controlada pela climatização da sala do laboratório com valor médio de 23 ± 2 °C com umidade relativa controlada. Os valores da taxa de permeabilidade e a permeabilidade foram obtidos pelas equações abaixo:

$$TPVA = G/t.A_p \quad (\text{Eq. 7})$$

$$P = TPVA \cdot e / S(R_1 - R_2) \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde *TPVA* é a taxa de permeação de vapor de água, *e* é a espessura do filme, *S* é a pressão de saturação do vapor de água na temperatura do ensaio, *R1* e *R2* são as umidades relativas do ar em cada uma das faces da amostra, *G* é a variação da massa, *t* é o tempo, *A_p* a área de permeação e *S* é um constante.

5.17. Solubilidade em água dos filmes (bionanocompósitos)

Os filmes utilizados para as análises de solubilidade foram armazenados por três dias em dessecadores contendo solução super saturada de cloreto de sódio (75 % UR). A solubilidade em água foi avaliada segundo método proposto por Gontard et al. (1994). Foram cortados círculos de 2 cm de diâmetro dos filmes em triplicata, em seguida as amostras foram transferidas para placas e secas em estufas com circulação de ar (70 °C), até peso constante (Tecnal mod. TE - 394/2). Os pedaços desidratados foram pesados colocados em béquer contendo 50 mL de água destilada. Os béqueres foram recobertos com papel alumínio e incubados a 25 °C, 100 rpm por 24 h em agitador rotativo tipo

Shaker, marca Tecnal, modelo TE-424. Após 24 h, os filmes foram novamente desidratados a 70 °C até peso constante. A solubilidade foi expressa em porcentagem de material seco solubilizado através da Equação 9, onde W0 representa o peso inicial e W1, o peso final da amostra.

$$\% \text{ Solubilidade} = [(W0 - W2) / W0] \times 100 \quad (\text{Eq. 9})$$

5.18. Intumescimento em água dos filmes (bionanocompósitos)

Para a determinação do inchamento em água destilada, amostras dos filmes em triplicata com 6 cm² foram pesadas e transferidas para vidros de relógio. Este procedimento fez-se necessário para a determinação da massa inicial de sólidos de cada uma das amostras. Em seguida, as amostras foram imersas em 75 mL de água destilada, em Erlenmeyers de 125 mL, e colocadas em estufas com circulação de ar (Tecnal mod. TE - 394/2) a 25 °C por 6 h. Decorrido esse tempo, as amostras foram transferidas para um papel de filtro, a fim de remover o excesso de água da superfície dos filmes, e em seguida pesadas para calcular a quantidade de água que cada filme absorveu durante o tempo de análise. O grau de intumescimento (SW) foi calculado segundo a equação:

$$\% \text{ Intumescimento} = (W1 - W0) / W0 \times 100 \quad (\text{Eq. 10})$$

Onde W0 representa a massa seca inicial e W1, representam a massa da amostra após a submersão em água destilada durante um período determinado de acordo com a metodologia usada por Lee et al. (2004).

5.19. Ensaio mecânicos

Os ensaios mecânicos dos filmes (bionanocompósitos) pré-acondicionados (75 %UR, 25 °C) foram realizados em uma máquina universal de ensaios da marca EMIC (mod. DL2000/700), com carga máxima de 20KN, seguindo a norma ASTM D-882, com velocidade de 12,5 mm.min⁻¹ e temperatura de 25 °C. Foram realizados ensaios de tração em 10 corpos de prova para cada amostra. Os corpos de prova possuíam dimensões de 50 mm de comprimento e 25 mm de largura.

5.20. Análise de Cor

A cor dos filmes foi avaliada utilizando colorímetro Konica Minolta, em triplicata.

Para a avaliação da cor dos filmes foi utilizado o parâmetro de diferença de cor (ΔE). Sendo utilizada D_{65} (luz do dia) e os padrões CIE Lab (Figura 28) na qual L^* varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* varia do verde (-) ao vermelho (+) e b^* varia do azul (-) ao amarelo (+) (HELMAN, 2004).

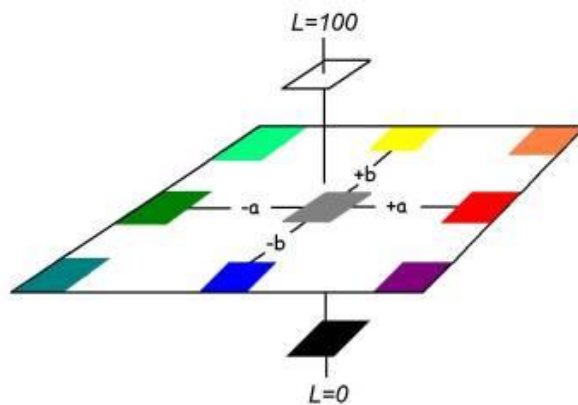


Figura 18. Sistema de cor Cie Lab.
Fonte: CMDMC, 2012.

A diferença de cor (ΔE) dos filmes foi determinada utilizando a Equação 11, onde ΔL^* , Δa^* e Δb^* são os diferenciais entre os cromas das amostras e do padrão branco (SOBRAL et al., 2004).

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5} \quad (\text{Eq. 11})$$

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo está dividido em seções na qual primeiramente é apresentado os resultados de produção e caracterização da goma xantana obtida por fermentação da glicerina residual do biodiesel (GRB), em seguida é descrito o método de preparação dos *nanowhiskers* de polpa de celulose extraídos da palha de milho (NWC) e as técnicas de caracterização deste nanomaterial, também é descrito neste capítulo as técnicas de caracterização da matriz polimérica amido de mandioca. Finalmente, são apresentadas as etapas de elaboração dos filmes flexíveis (bionanocompósitos) a base de amido de mandioca/glicerol/goma xantana/*nanowhiskers*, seguidos das principais técnicas de caracterização destes materiais.

1. Goma xantana

Em testes iniciais, realizado por Brandão (2012), doze cepas de *Xanthomonas* foram testadas, quanto à produção de goma xantana e viscosidade aparente, utilizando a glicerina residual do biodiesel como fonte de carbono em meio minimamente suplementado com 0,01 % de uréia e 0,1% de KH_2PO_4 e fermentado em agitador rotativo (*shaker*). A cepa que melhor se adaptou ao meio fermentativo foi a *X. campestris* pv *mangiferaeindicae* 2103 com produção de $5,5 \pm 0,10 \text{ g.L}^{-1}$ e viscosidade aparente de 69,50 mPa.s, sendo então escolhida para dar continuidade ao estudo.

Primeiramente foi caracterizado o substrato fermentativo (GRB) utilizado na produção de goma xantana. Com a cepa selecionada, foi avaliado, em biorreator de 4,5 L, o efeito da aeração (% de O_2 dissolvido) e agitação na produção e na viscosidade aparente da xantana através do planejamento fatorial 2^2 com três repetições no ponto central, totalizando sete ensaios. As gomas xantana resultantes do planejamento fatorial foram caracterizadas quanto a massa molecular média, composição monomérica e termogravimetria dos biopolímeros.

1.1. Composição centesimal da glicerina residual do biodiesel

Os valores médios da caracterização físico-química da GRB utilizada como substrato fermentativo alternativo para obtenção de goma xantana, são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Caracterização físico-química da GRB utilizada como substrato fermentativo alternativo para a produção de goma xantana.

Composição	GRB (%)
Umidade	53,50 ± 0,01
Cinzas	3,40 ± 0,01
Proteína bruta	2,71 ± 0,03
Lipídios totais	6,70 ± 0,02
Carboidratos	33,69 ± 0,02

Dos resultados da caracterização físico-química expostos na Tabela 15, verifica-se que a GRB, empregada no processo fermentativo para a produção de goma xantana, apresentou elevados teores de minerais, nitrogênio orgânico e lipídios totais sendo atribuído aos resíduos das oleaginosas, ácidos graxos livres e triglicerídeos não hidrolisados derivados do processamento de biodiesel (ASSIS, 2013).

Em geral, os meios fermentativos contêm de 2 a 4 % de glicose ou sacarose como fonte de carbono, 0,05 a 0,1% de nitrogênio, fósforo e traços de outros minerais e resultam numa conversão de 50 a 70 % da fonte de carbono em goma xantana (ROTTAVA, 2005). De Vuyst et al. (1987) relatam que a xantana é produzida como um metabólito secundário, propondo a dissociação do processo em duas fases distintas: 1) a fase de crescimento celular, com um maior requerimento de nitrogênio e 2) a fase de produção, que requer uma maior concentração de carbono para o acúmulo do produto. A relação entre a C:N da GRB é de aproximadamente 15:1, correspondendo a 0,54 g de glicerina, 0,10 g de lipídios e 0,04 g de proteínas em 80 mL de meio fermentativo (Tabela 15). Com base nisto e na caracterização da GRB torna necessário a suplementação do meio, com nitrogênio livre e fósforo, para a produção de goma xantana.

Portanto, os resultados experimentais indicam que a GRB, como um subproduto da produção do biodiesel, tem um alto potencial, podendo ser utilizada como substrato em processos fermentativos que agregam valor ao produto obtido.

1.2. Curva de crescimento

As curvas de crescimento de *X. campestris* pv *mangiferaeindicae* cepa 2103 foram construídas a fim de se obter informações da fase exponencial da bactéria, através da variação da concentração celular ao longo do processo. O conhecimento a cerca desse estudo permite maior reprodutibilidade dos experimentos, uma vez que os inóculos contem a mesma faixa de concentração celular.

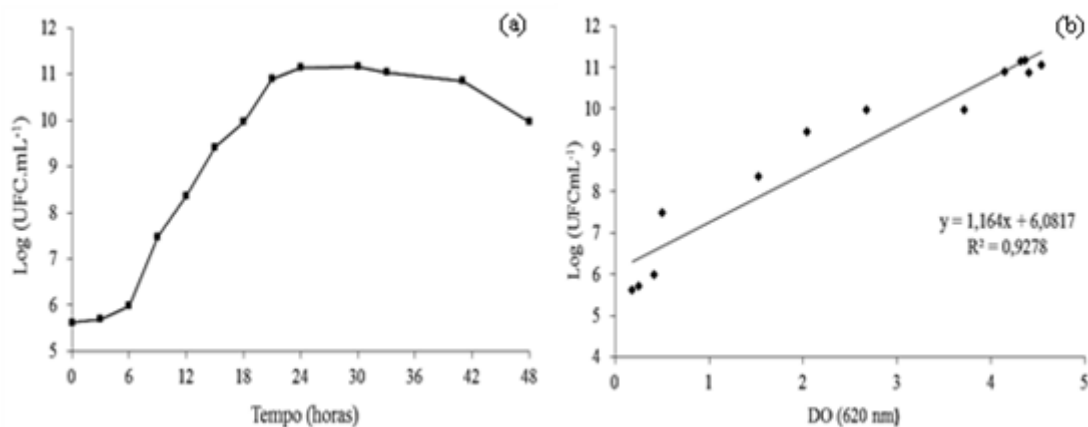


Figura 29. Concentração celular de *X. campestris* pv *mangiferaeindicae* cepa 2103 em função do tempo de fermentação (a); e em função da densidade ótica do meio (b) ao longo de 48 h de incubação a 28 °C e 180 rpm.

A partir da análise da Figura 29(a), pode-se observar que a *Xanthomonas* apresentam fase lag compreendida entre as seis primeiras horas de incubação. Isso indica que as condições de processo favorecem à rápida adaptação da bactéria ao meio de cultura. A partir de 6 horas, se iniciou a fase de crescimento exponencial, cujo ápice ocorre em 24 horas de incubação. A partir de então, inicia-se a fase estacionária de crescimento celular, na qual a concentração atinge o valor máximo e se mantém praticamente constante. Como as concentrações celulares entre 24 e 33 horas são similares, adotou-se 24 horas de incubação como tempo ideal para obtenção de máxima concentração celular do inóculo a ser transferido para o meio fermentativo contendo GRB. Neste período a concentração celular foi em média $1,03 \times 10^{11}$ UFC.mL⁻¹.

A Figura 29(b) mostra a regressão linear entre a média das medidas de Densidade Ótica (DO) e o log da média das contagens de colônias, com uma correlação de 92,78 %. A baixa correlação pode estar associada à inclusão do exopolissacarídeo na leitura de densidade óptica do meio, uma vez que há formação do polímero ao longo do

processo de incubação. Sendo assim, torna-se mais preditivo a utilização da curva composta da concentração de microrganismo em função do tempo de incubação (Pour Plate).

1.3. Ensaio do planejamento experimental de produção de goma xantana em biorreator de 4,5L

A agitação e a aeração são parâmetros necessários para evitar condições de anaerobiose decorrentes da alta viscosidade do meio pela formação do polissacarídeo, visto que a bactéria é estritamente aeróbia. Logo, a combinação adequada, para os níveis destes parâmetros, deve ser estudada para evitar a limitação na transferência de oxigênio ou condições de estresse hidrodinâmico (SUTHERLAND, 1993; CASAS et al., 2000).

A Tabela 16 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2² composto de três repetições no ponto central com os valores codificados e reais, bem como as respostas produção e viscosidade aparente (0,5% (m/v), 25°C, 25s⁻¹) das gomas xantana produzidas em biorreator de 4,5 L, pela *X. campestris* cepa 2103 após 120 h de fermentação a 28 °C. Para a variável dependente viscosidade aparente foram também calculados os índices de fluxo (n), os índices de consistência (K) e os coeficientes de correlação (R²) para as quatro gomas com as melhores viscosidades aparentes.

Tabela 16. Matriz do planejamento fatorial (valores codificados e reais) com as respostas produção de xantana e viscosidade aparente após 120 h de fermentação com a *X. campestris* cepa 2103 em biorreator de 4,5 L.

Ensaio	Aeração (vvm)	Agitação (rpm)	Produção(g.L ⁻¹) ¹	Viscosidade (mPa.s) ²
1	-1 (300)	-1 (0,5)	2,86	76,7
2	+1 (700)	-1 (0,5)	3,76	169,1
3	-1 (300)	+1 (1,5)	4,12	20,3
4	+1 (700)	+1 (1,5)	5,71	42,2
5*	0 (500)	0 (1,0)	6,03	252,4
6*	0 (500)	0 (1,0)	5,98	240,1
7*	0 (500)	0 (1,0)	5,92	238,0
PO	0 (500)	0 (1,0)	5,58	243,5

¹ 2,0 % substrato, 28 °C; ² 0,5 % (m/v), 25°C, 25s⁻¹; *Pontos centrais; PO – Ponto otimizado

O tratamento dos dados foi realizado utilizando-se o software Statistica 7 produzido pela StatSoft, na qual os dados obtidos nos ensaios do planejamento fatorial

com a cepa 2103 foram tratados estatisticamente, sendo que cada resposta foi avaliada independentemente.

A maior produção de xantana foi obtida no ensaio 5 (6,03 g.L⁻¹), com as seguintes condições de processo: 2,0 % de GRB, 500 rpm e 1,0 vvm (Tabela 16). Convém salientar que os ensaios 4, 6 e 7 também apresentaram um alta produção nas seguintes condições de análise, 2,0 % de GRB, 700 rpm e 1,5 vvm e 2,0 % de GRB, 500 rpm e 1,0 vvm, respectivamente.

Para verificar a qualidade das xantanas produzidas nos sete ensaios, as gomas foram primeiramente dialisadas utilizando membranas semi permeáveis de celulose e, após 48 h sob agitação constante, liofilizadas. As soluções aquosas das gomas dialisadas foram avaliadas quanto à viscosidade aparente a 25 °C e 25 s⁻¹ (Tabela 16). Analisando individualmente as leituras de viscosidade das soluções aquosas, observa-se que a solução da goma do ensaio 5, correspondente ao ponto central, foi a que apresentou a maior viscosidade com 120 h de fermentação e a cepa 2103. Neste ensaio, a concentração de substrato no meio fermentativo foi de 2,0 %, 0,01 % de uréia, 0,1 % de KH₂PO₄, 500 rpm e 1,0 vvm de oxigênio dissolvido. Os ensaios 2 (700 rpm e 0,5 vvm), 6 (500 rpm e 1,0 vvm) e 7 (500 rpm e 1,5 vvm) também apresentaram um alta viscosidade aparente, entretanto produções mais elevadas foram obtidas nos ensaios 6 e 7. Estes dados são muito relevantes do ponto de vista da aplicação da goma produzida, pois em alguns casos são necessárias altas produções e em outros, viscosidades elevadas (NAVARRO, 1997).

A Figura 30 apresenta o efeito da taxa de cisalhamento sobre a viscosidade de soluções aquosas de xantana obtidas com a GRB, bem como o efeito de diferentes temperaturas (25, 45, 65 e 85 °C). A partir dos gráficos dessa figura foram determinados os índices de fluxo (n), os índices de consistência (K) e os coeficientes de correlação (R²) para as quatro gomas xantana com as melhores viscosidades aparentes (Tabela 17). O cálculo foi feito de acordo com modelo de Ostwald-de-Waele ($\mu = K.(\dot{\gamma})^{n-1}$) de ampla utilização na descrição do comportamento de fluidos em campos petrolíferos (CHHABRA e RICHARDSON, 1999).

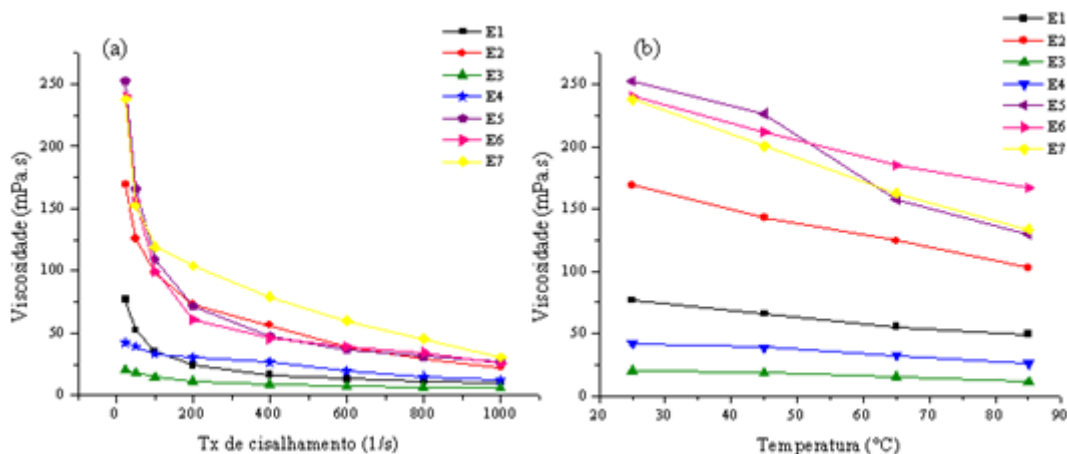


Figura 30. Comportamento da viscosidade aparente das gomas xantana a 0,5 % (m/v) obtidas nos sete ensaios a partir de fermentações com GRB. Em (a) a temperatura foi fixada em 25 °C e a taxa de cisalhamento variou de 25 a 1000 s⁻¹; em (b) a taxa de cisalhamento foi fixada em 25 s⁻¹ e temperatura variou de 25 a 85 °C.

Os resultados com a GRB indicam que as gomas obtidas possuem o comportamento pseudoplástico característico de soluções de xantana (Figura 30, a), sendo esta uma característica muito importante, por acentuar qualidades sensoriais, realçando o sabor e diminuindo a sensação de gomosidade (flavour, “mouth feel”). A xantana que exibe viscosidades muito baixas torna o produto alimentício menos viscoso ao paladar (CHALLEN, 1993).

O comportamento pseudoplástico das soluções aquosas de xantana foi confirmado através do ajuste do modelo de Ostwald-de-Waele aos dados experimentais mediante uma regressão da lei de potência. Todas as soluções aquosas de amostras de gomas xantana a 0,5 % (m/v) obtidas a partir da GRB obedeceram ao modelo descrito, apresentando coeficientes de correlação (R^2) que variaram de 0,97 a 0,99, com valor de $n < 1$, indicando um comportamento pseudoplástico acentuado. A pseudoplasticidade das gomas testadas foi diminuída com o aumento da temperatura. Estes resultados são mostrados na Tabela 17.

O valor do índice de consistência (K) indica o grau de resistência do fluido diante do escoamento; assim, quanto maior o valor de K mais viscoso será o fluido. O alto valor de K é desejável em fluidos de perfuração, pois alta viscosidade é necessária para manter em suspensão o cascalho gerado durante a perfuração (SHAH e ASHTAPUTRE, 1999; MACHADO, 2002). O maior valor de K foi determinado com o ensaio 5 resultado de maior viscosidade aparente (252,4 mPa.s). Os coeficientes de

correlação (R^2) variaram entre 0,97 e 0,99, mostrando que o modelo pode ser usado na representação do comportamento das soluções de gomas.

Tabela 17. Parâmetros reológicos mostrando a pseudoplasticidade da xantana sintetizada pela *Xanthomonas* cepa 2103 e GRB como substrato.

Parâmetros Reológicos						
T (°C)	Ensaio 2			Ensaio 5		
	n	K	R ²	n	K	R ²
25	0,49	741,9	0,99	0,38	1997,2	0,99
45	0,50	537,0	0,99	0,58	1448,9	0,97
65	0,52	322,0	0,99	0,60	1020,2	0,98
85	0,55	289,4	0,99	0,62	787,8	0,98
T (°C)	Ensaio 6			Ensaio 7		
	n	K	R ²	n	K	R ²
25	0,58	1410,6	0,99	0,58	1372,8	0,99
45	0,59	1007,2	0,98	0,59	981,3	0,99
65	0,60	706,3	0,99	0,60	619,8	0,99
85	0,62	569,2	0,99	0,61	434,7	0,99

*Solução aquosa da goma xantana obtida a partir da GRB (0,5% m/v), 25s⁻¹.

A temperatura é um fator que influencia a viscosidade de um polímero. Comumente, na perfuração dos poços de petróleo, a temperatura varia entre a ambiente (na superfície) até 60 °C (no fundo do poço). Ainda existem poços cujas temperaturas são mais altas e podem alcançar valores acima de 150 °C (MACHADO, 2002). No processamento de alimentos ou de cosméticos a temperatura também apresenta grande variação. Desta forma, é interessante que o polímero utilizado mantenha sua alta capacidade viscosificante na faixa de temperatura em que será utilizado.

A viscosidade das soluções aquosas das gomas xantana obtidas a partir da bioconversão da GRB diminui ao aumentar a temperatura entre 25 e 85 °C. A 85 °C e 25 s⁻¹ houve queda na viscosidade das soluções dos polímeros produzidos com a GRB e a cepa 2103 (Figura 30, b). Este decréscimo está associado a mudanças conformacionais das moléculas de xantana, decorrentes da elevação da temperatura, que gera uma transição de conformação de uma estrutura ordenada, rígida, para uma conformação desordenada (MILAS e RINAUDO, 1979; MEDEIROS et al., 2000).

Para a análise estatística das respostas foram construídos os Gráficos de Pareto, mostrado na Figura 31, que possibilitaram verificar a influência dos efeitos significativos das variáveis independentes sobre as variáveis respostas (produção e

viscosidade aparente). A linha vertical vermelha indica o valor mínimo para que isso ocorra, e o efeito é tão mais significativo quanto mais à direita dessa linha ele estiver.

O valor do coeficiente P está ao nível de significância da variável independente sobre a variável resposta em estudo. Normalmente é escolhido como intervalo de confiança, o valor de 95 %. Sendo assim, pode-se afirmar que, para valores de P inferiores 0,05, a influência da variável independente é considerada estatisticamente significativa (BARROS NETO et al., 2002).

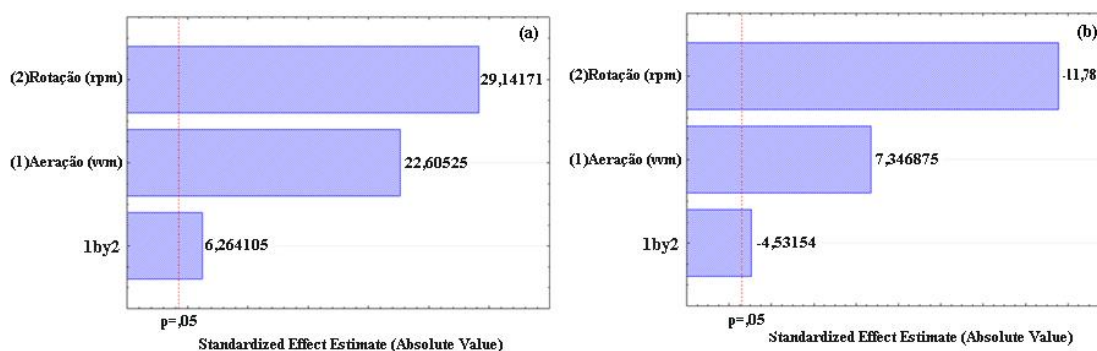


Figura 31. Gráficos de Pareto para as respostas produção (a) e viscosidade aparente (b).

Através da análise dos resultados, observa-se que os efeitos principais são importantes, com um nível menor que 5 % de significância (Figura 31). A interação de primeira ordem entre a aeração e agitação foi significativa para a produção e viscosidade, uma vez que o *p-valor* é menor que 0,05. O teste-F não deve ser aplicado para esse tipo de planejamento, pois não existem graus de liberdade suficientes para o cálculo da soma quadrática do erro não sendo possível validar o modelo, mas torna possível prever comportamento do processo (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

O efeito estimado indica o quanto cada fator (variável independente) influi nas respostas estudadas. Quanto maior for o efeito, maior será a sua influência, e um efeito positivo indica que, a variável, ao passar de um valor mínimo a um valor máximo, a resposta aumenta. Já um efeito negativo indica o contrário, ou seja, ao passar de um valor mínimo para o valor máximo, a resposta diminui (BARROS NETO et al., 2002). Percebe-se que a agitação é a variável que mais influencia a produção e a viscosidade da goma xantana, porém uma maior agitação indica acréscimo na produção, já para viscosidade, agitações menores geram gomas com maior qualidade reológica.

Para a cepa 2103, em 120 h de fermentação (Figura 28, a) a agitação e a aeração foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$), indicando que no intervalo estudado, as

variáveis independentes influenciaram na variável resposta (produção de xantana). Casas et al. (2000) cita que em sistemas não-newtonianos, como na fermentação para produção de xantana, a agitação é mais significativa para a transferência de oxigênio do que a aeração. Na Figura 28 (b), o Gráfico de Pareto indica que um aumento na aeração individualmente acarretaria um aumento na viscosidade da xantana, porém a agitação foi estatisticamente significativa e negativa, indicando que um aumento nessa variável acarreta uma redução na viscosidade do biopolímero. O efeito da interação entre essas duas variáveis é negativo, não sendo eficaz um aumento simultâneo da aeração e agitação, visto que acarretaria uma diminuição na viscosidade da goma obtida.

Casas et al. (2000) avaliaram a produção de xantana em diferentes velocidades de agitação (100, 300, 500 e 800 rpm), com aeração de 1 vvm. Segundo estes autores, o crescimento de biomassa e a produção de xantana alcançaram um máximo com velocidade de agitação fixada em 500 rpm.

Os resultados apresentados nos Gráficos de Pareto podem também ser visualizados através da superfície de resposta, cujo objetivo foi melhorar as condições de processo e conhecer como as variáveis respostas (produção de xantana e viscosidade aparente) são afetadas pelos fatores (agitação e aeração) dentro da faixa estudada. Neste caso, a superfície tem a forma de um plano, visto que o modelo matemático é linear. As curvas de nível fornecem uma análise da tendência de resposta das variáveis dependentes (produção e viscosidade). Quando as linhas não têm curvatura, pode-se dizer que não há efeito de interação entre as variáveis colocadas nos eixos (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

Analisando da Figura 32 (a₁) fica evidente que a região de máxima capacidade de produção de xantana, representada pela área mais escura e mais alta, é atingida com o aumento dos índices de agitação e aeração no sistema. Porém, em altas velocidades de agitação, a viscosidade aparente das gomas decai consideravelmente, se tornando mais evidente quando se utiliza baixa aeração no sistema fermentativo (Figura 32, b₁).

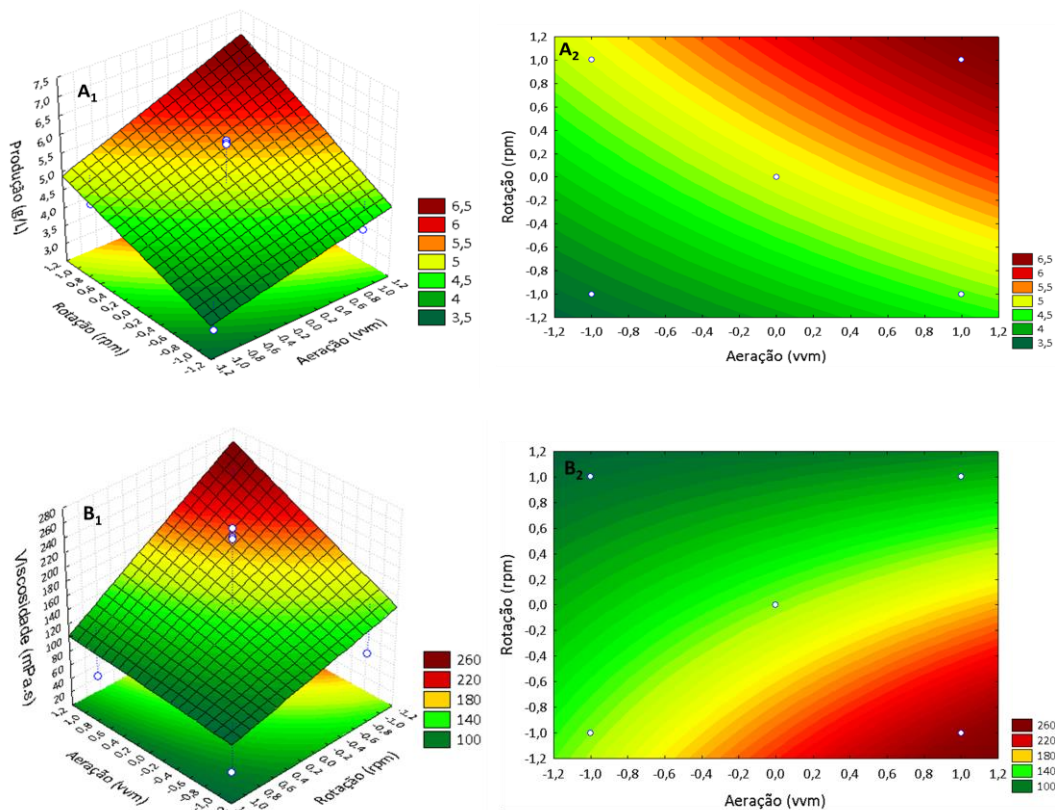


Figura 32. Superfícies de resposta e curvas de nível para os parâmetros produção (a₁ e a₂) e viscosidade aparente (b₁ e b₂).

Box e Wetz (1973) cita que os planejamentos fatoriais 2² geram modelos lineares. Os modelos codificados propostos para representar a produção (PR) e a viscosidade aparente (VA) da goma xantana, é o seguinte:

$$PR (g/L) = 4,91 + 0,62 * X_1 + 0,80 * X_2 + 0,17 * X_1 * X_2$$

$$VA(mPa.s) = 148,40 + 28,57 * X_1 - 45,82 * X_2 - 17,62 * X_1 * X_2$$

As variações de taxa de oxigênio dissolvido e do pH, ao longo do tempo até 120 horas, foi monitorada durante a fermentação da GRB em biorreator de 4,5 L com a cepa 2103 nas condições operacionais do ponto otimizado de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação conforme mostrado da Figura 33.

O oxigênio dissolvido, no início da fermentação até 50 horas apresentou uma variação da taxa de oxigênio dissolvido pelo meio e de 55 a 120 horas de fermentação manteve numa faixa constante de 95 a 98 % de oxigênio (Figura 30). Sutherland (1993)

cita que é necessário conhecer o sistema estudado para evitar limitação na transferência de oxigênio ou condições de estresse hidrodinâmico.

O pH do meio fermentado foi ajustado inicialmente a 7,0, ao longo da fermentação em reator, o pH decaiu para 6,0 e manteve constante nesse pH até o período de 120 horas (Figura 33). O pH é um fator operacional que pode influenciar na produção de xantana. A maioria dos pesquisadores aponta o pH neutro como ótimo para o crescimento da *Xanthomonas campestris*, sendo que este decresce até 5,0 durante a produção de xantana, devido aos grupos ácidos presentes no polímero. Quando o pH é controlado, a produção da goma cessa uma vez que a fase de crescimento estacionária seja atingida, e este efeito é independente do álcali usado para controlar o pH. Quando o pH não é controlado, a produção da goma continua durante a fase estacionária de crescimento (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; SCAMPARINI e LUVIELMO, 2009).

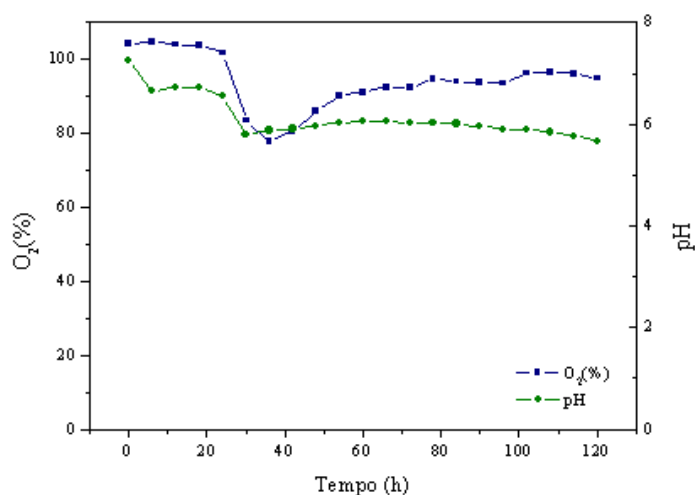


Figura 33. Variação de pH e do O₂ dissolvido em função do tempo de fermentação da GRB pela cepa 2103 em biorreator de 4,5 L .

1.4. Caracterização das gomas xantana obtidas nos sete ensaios do planejamento experimental

1.4.1. Massa molecular média (MM)

As massas moleculares de todas as amostras de gomas xantana dialisadas obtidas nos sete ensaios do planejamento fatorial 2² com triplicata no ponto central foram determinadas por GPC CLAE-IR através do uso de soluções aquosas de padrões de dextranas com diferentes massas moleculares, para se obter as massas moleculares

médias e os limites de distribuições. A Tabela 18 mostra os tempos de retenção (Tr) de cada padrão de dextrana e a Figura 34 mostra a curva linearizada do log MM versus Tr com $R^2 = 0,97$.

Tabela 18. Tempos de retenção dos padrões de dextransas de diferentes massas moleculares obtidas por GPC CLAE-IR.

MM Dextransas	Tr (min)	MM Dextransas	Tr (min)
102.000	31,56	1.360.000	27,29
207.200	30,83	2.025.000	27,22
431.800	29,75	2.800.000	26,91
655.200	29,2	3.450.000	26,68
759.400	28,83	5.900.000	26,43

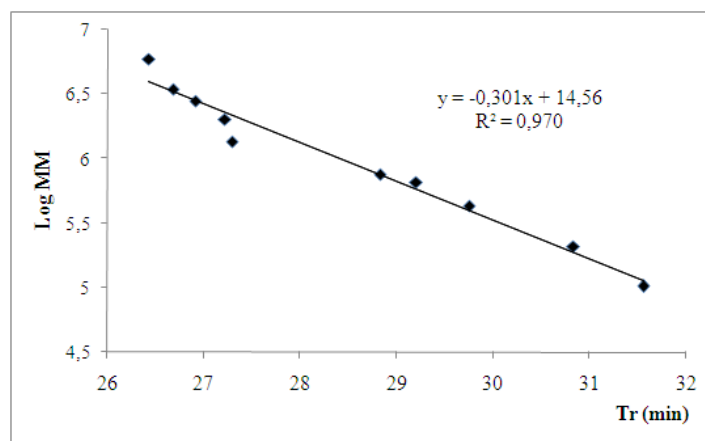


Figura 34. Curva de calibração Log massas moleculares x tempos de retenção obtidos por GPC CLAE-IR.

De acordo com a Figura 34 nota-se que a massa molecular tem uma relação inversa com o tempo de retenção. Assim, a menor massa molecular foi separada em 31,56 minutos e a maior massa molecular em 26,43 minutos. Porém as gomas xantana obtidas neste trabalho apresentaram Tr menores do que 26,43 minutos, indicando, portanto, massas moleculares muito maiores que $5,9 \times 10^6$ Da (Figura 34, Tabela 19).

Segundo Mano (1985), as moléculas de alta massa molecular penetram nos poros da matriz da fase estacionária, passando rapidamente entre os espaços intersticiais, apresentando um menor tempo de retenção (Tr), diferentemente das moléculas de baixa massa molecular, que ao penetrarem os poros percorrem a coluna lentamente conferindo, portanto, um maior tempo de retenção.

Figura 35 mostra os cromatogramas GPC CLAE-IR das soluções aquosas de gomas xantana dialisadas obtidas nos sete ensaios do planejamento fatorial 2^2 , bem

como da solução aquosa da xantana padrão (Sigma). Para melhor compreensão dos resultados, os cromatogramas, que fornecem uma distribuição de áreas em função do tempo de retenção dos compostos na coluna, foram plotados separadamente.

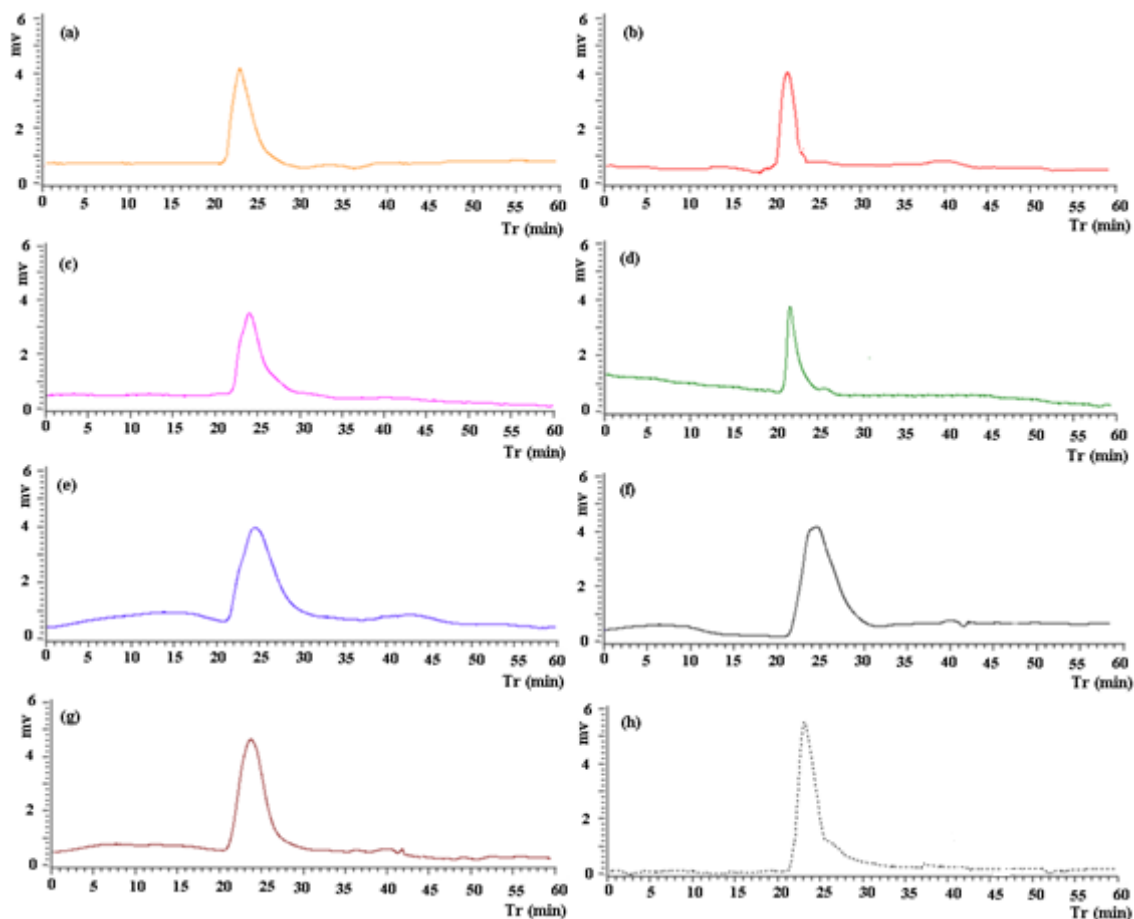


Figura 35. Cromatogramas das gomas xantana obtidas nos sete ensaios do planejamento fatorial E₁ (a), E₂ (b), E₃ (c), E₄ (d), E₅ (e), E₆ (f), E₇ (g) e da goma xantana padrão (h).

O tempo de retenção ou tempo de eluição é o tempo necessário para que uma amostra passe através de uma coluna cromatográfica. Este tempo de retenção é medido como o tempo desde a injeção da amostra até os componentes da mesma emergir da coluna e serem detectados (DRUZIAN, 2000). Os cromatogramas das xantanas obtidas a partir da GRB(Figura 35) mostram a presença de um pico que indica o aparecimento da goma xantana. Quanto maior a massa molecular média menor será o tempo de retenção na coluna tipo GPC. A Tabela 19 mostra os valores de Tr, MM médias, limites de distribuição de massas moleculares (LDMM) e viscosidades aparente relacionados as xantanas obtidas nos sete ensaios e a padrão.

Tabela 19. Valores do tempo de retenção (Tr), das massas moleculares médias (MM), dos limites de distribuição de massas moleculares (LDMM) e das viscosidades aparente (μ) de gomas xantana padrão e produzidas a partir de GRB.

P ¹	GX Sigma	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
Tr ²	22,33	23,12	22,8	24,08	23,75	24,40	24,63	24,75
MM ³	58,50x10 ⁶	25,57x10 ⁶	49,44x10 ⁶	20,33x10 ⁶	22,50x10 ⁶	18,71x10 ⁶	18,37x10 ⁶	17,88x10 ⁶
LD	479.433-	2,20-	14,88-	4,79-	7,48-	1,50-	1,44-	1.42-
MM	146,13x10 ⁶	86,14x10 ⁶	126,17x10 ⁶	100,34x10 ⁶	126,17x10 ⁶	112,13x10 ⁶	117,34 x10 ⁶	117,71x10 ⁶
μ ⁴	275,80	76,7	169,1	20,3	42,2	252,4	240,1	238,0

¹ P = parâmetro; ² Tr (min); ³ MM (Da); ⁴ μ (mPa.s)

Os tempos de retenção das gomas xantana produzidas a partir GRB foram maiores que o da goma xantana Sigma (22,33 min). Este resultado sugere que as massas moleculares médias das xantanas produzidas com a GRB são menores que o da xantana padrão, conforme valores relacionados na Tabela 19. Sutherland (1996) cita uma ampla faixa de valores propostos para a massa molecular da xantana (1,1 e 47 x 10⁶ Da). De maneira geral, menores tempos de retenção, produziram gomas com maiores massas moleculares e maiores viscosidades aparentes, com exceção do ponto central que produziram gomas de melhor qualidade reológica. As diferenças observadas pode ser explicada com base na influência de alguns fatores, tais como condições operacionais e nutricionais, que têm um impacto significativo sobre a estrutura molecular das gomas sintetizadas, gerando polissacarídeos com diferentes massas moleculares (SUTHERLAND, 1993; GALINDO et al., 1994; GARCIA-OCHOA et al., 2000). Portanto, estas variáveis devem ser minuciosamente avaliadas e definidas com o intuito de gerar um polímero homogêneo e, conseqüentemente, com qualidade reprodutível.

Existem diversos trabalhos sobre a influência das condições operacionais (concentração do inóculo, agitação, temperatura, aeração, pH e tempo de cultivo) na estrutura e na massa molecular média da goma xantana, mas cada autor estuda somente uma variável e assim não existe concordância nas conclusões obtidas. O aumento da velocidade de agitação empregada durante a fermentação, segundo Peters et al. (1989), influenciou a massa molecular da xantana, alcançando 6,9x10⁶ Da em 200 rpm e 8,6x10⁶ Da em 800 rpm. Entretanto, Papagianni et al. (2001) não conseguiram correlacionar a massa molecular da xantana com a velocidade de agitação utilizada durante a fermentação, obtendo 5x10⁶ Da.

O LDPM de um polímero é uma variável importante, uma vez que se relaciona com várias propriedades físicas, como adesão, resistência, força elástica, fragilidade, permeabilidade a gases. Os limites desta distribuição permitiu observar que a goma xantana sigma apresentou um maior intervalo de LDMM ($479.433-146,13 \times 10^6$ Da) quando comparada aos intervalos de LDMM das gomas sintetizadas nos sete ensaios do planejamento fatorial (Tabela 19). Segundo Pace (1991), as xantanas exibem uma combinação de propriedades que são essenciais para sua aplicação final. Tais propriedades são determinadas por sua composição química, agrupamentos e ligações moleculares, massa molecular média e sua distribuição.

1.4.2. Composição monomérica da goma xantana

Com o objetivo de caracterizar os monossacarídeos presentes nas gomas sintetizadas, neste estudo realizou-se análise de cromatografia líquida de alta eficiência.

A composição monomérica da goma xantana é fundamental para sua funcionalidade e aplicação. As gomas de interesse comercial devem ser capazes de formar estruturas secundárias, terciárias e, às vezes, quaternárias em meio aquoso. Por esse motivo à estrutura primária não pode constituir-se num impedimento espacial. A goma xantana é capaz de formar estas estruturas (MORRIS, 1984).

Na Tabela 20 pode-se verificar a equação da reta e o R^2 que foram obtidos através das curvas de calibração construídas a partir das áreas dos picos de padrões externos dos monossacarídeos (glicose, manose, ácido glucurônico e ácido pirúvico) *versus* concentração (mg.L^{-1}).

Tabela 20. Equação da reta e R^2 obtidos para as diferentes curvas de calibração dos padrões de açúcares e ácidos urônicos.

Monossacarídeos	Equação da Reta	R^2
Glicose	$y = 64068x$ (área do pico) - 3502	0,99
Manose	$y = 64015x$ (área do pico) - 2057	0,99
Ácido Glucurônico	$y = 1437x$ (área do pico) - 1726	0,99
Ácido Pirúvico	$y = 13209x$ (área do pico) - 13508	0,99

Observa-se nas Figuras 36 e 37 que as gomas xantana sintetizadas pela cepa 2103 nos sete ensaios do planejamento fatorial apresentaram perfis cromatográficos

semelhantes, não havendo diferença na composição monomérica. Nos sete ensaios do planejamento fatorial foram identificados glicose, manose, ácido glucurônico e ácido pirúvico. Segundo Padilha, (2003), esta composição é a mais comumente encontrada na goma xantana, pois em seu trabalho, realizou análises através de CLAE e verificou que a goma xantana produzida pelas cepas 289 e CA110 apresentaram a mesma composição de monossacarídeos.

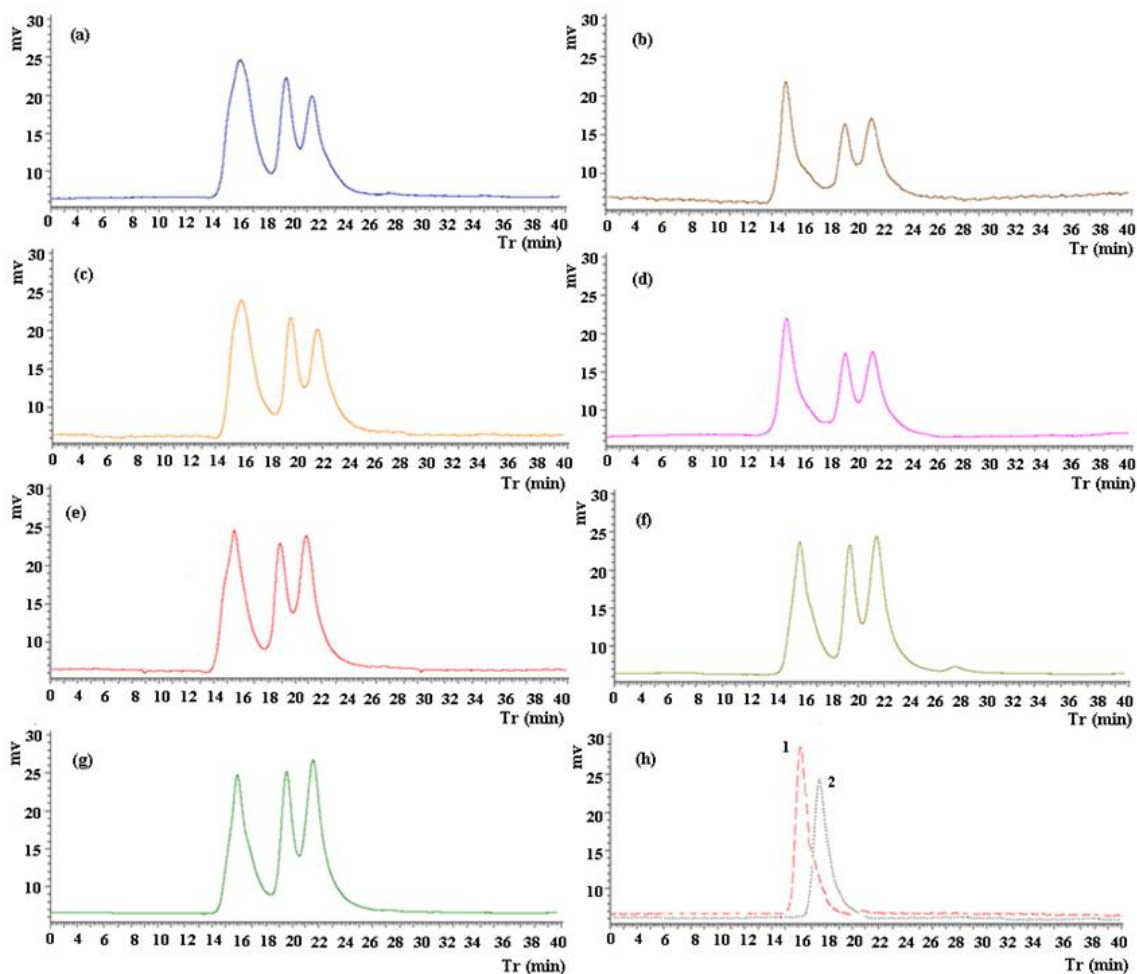


Figura 36. Cromatogramas obtidos por CLAE usando coluna Polypore Ca, para separação dos açúcares das gomas sintetizadas com *X. campestris* cepa 2103 e GRB. (a) Ensaio 1; (b) Ensaio 2; (c) Ensaio 3; (d) Ensaio 4; (e) Ensaio 5; (f) Ensaio 6; (g) Ensaio 7; (h) Glicose¹ e Manose². Amostra foi hidrolizada com TFA 1M/100 °C/10h.

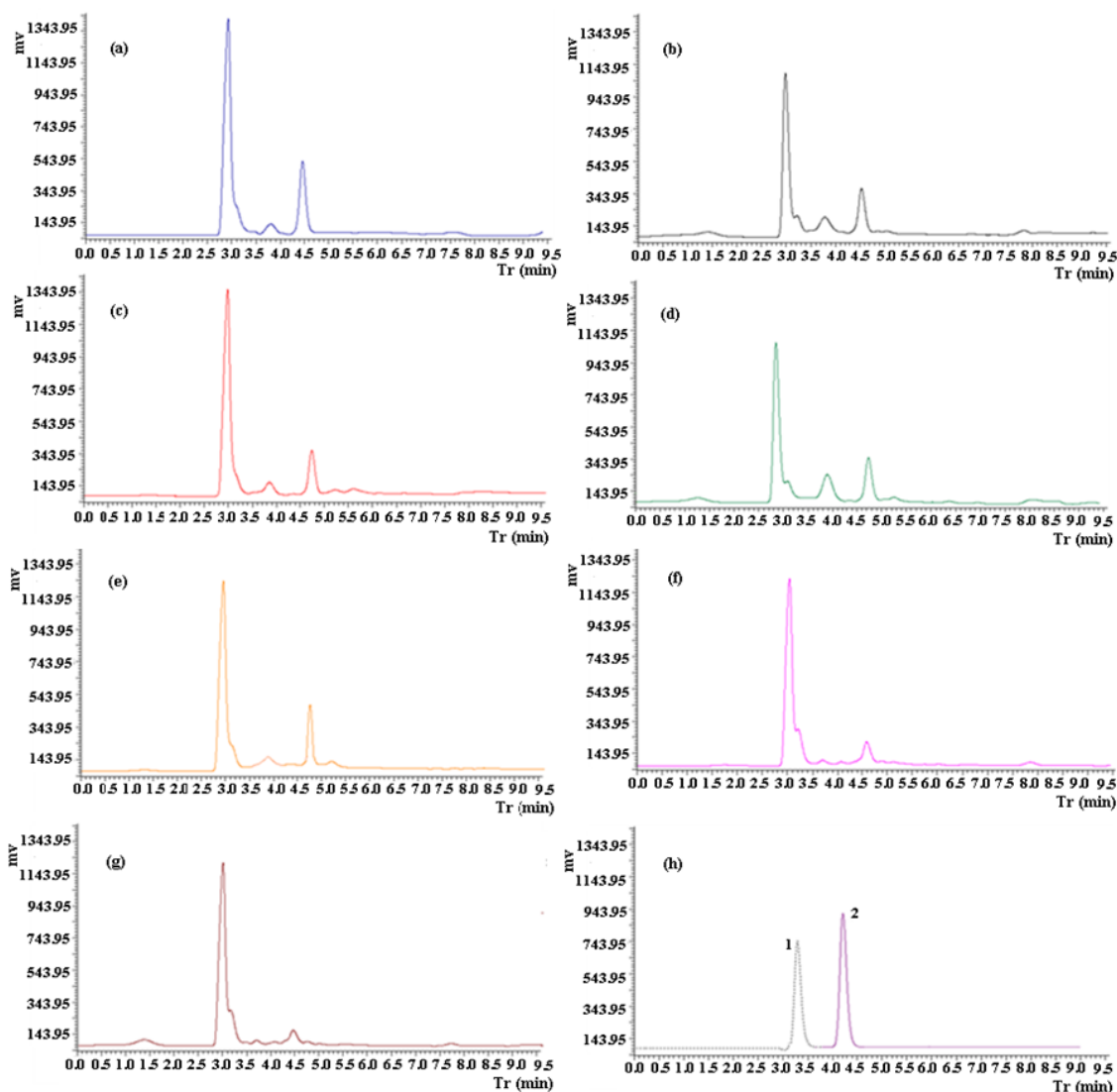


Figura 37. Cromatogramas obtidos por CLAE usando coluna Polypore H, para separação dos ácidos urônicos das gomas sintetizadas com *X. campestris* cepa 2103 e GRB. (a) Ensaio 1; (b) Ensaio 2; (c) Ensaio 3; (d) Ensaio 4; (e) Ensaio 5; (f) Ensaio 6; (g) Ensaio 7; (h) Ácido Glucurônico¹ e Ácido Pirúvico². Amostra foi hidrolizada com TFA 1M/ 100 °C/ 10h.

Glicose e ácido glucurônico foram detectadas por Vendrusculo et al. (2000), nas amostras de goma xantana com 72 e 96 horas de fermentação, porém manose apenas foi detectada nas gomas sintetizadas com 96 horas de fermentação, o que difere deste trabalho, pois manose foi detectada em todas as amostras de goma xantana sintetizadas em 120 horas de fermentação pela GRB.

Na Tabela 21 verifica-se as concentração e frações molares dos açúcares e ácidos urônicos obtidos através de CLAE para as amostras de goma xantana sintetizados a partir da cepa 2103 e da GRB como fonte de carbono.

Tabela 21. Concentração dos açúcares e ácidos urônicos das gomas sintetizadas com a cepa 2103 e GRB.

Ensaio		Glicose	Manose	Ácido Glucurônico	Ácido Pirúvico
E1	%	33,91	28,81	15,29	9,03
	Fração molar	2,2	1,9	1	0,6
E2	%	43,16	52,27	11,40	12,80
	Fração molar	3,8	4,6	1	1,12
E3	%	26,73	20,80	7,42	2,11
	Fração molar	3,6	2,8	1	0,28
E4	%	29,68	34,68	18,39	7,22
	Fração molar	1,6	1,9	1	0,39
E5*	%	32,31	39,87	13,12	19,01
	Fração molar	2,5	3,0	1	1,45
E6*	%	38,21	41,57	10,73	13,84
	Fração molar	3,6	3,9	1	1,29
E7*	%	30,75	33,35	9,51	10,95
	Fração molar	3,2	3,5	1	1,15
PO	%	33,75	38,26	11,12	14,60
	Fração molar	3,1	3,46	1	1,29

* = ponto central; PO (ponto otimizado)

Os resultados indicam que o aumento na aeração confere ao polímero maior concentração de glicose. Esse comportamento foi constatado ao manter a velocidade de agitação a 300 rpm e aumentar a aeração de 0,5 vvm (Ensaio 1) para 1,5 vvm (Ensaio 2), que resulta em um acréscimo de 21,43 % da concentração de glicose do polímero (Tabela 21). Ao manter a agitação em 700 rpm, a mesma alteração na aeração (do Ensaio 3 para Ensaio 4) levou a um acréscimo de 9,93 % no teor de glicose da cadeia. Assim, o aumento da taxa de aeração, sob agitação constante, confere aumento na concentração de glicose, indicando, portanto, que a aeração tem efeito positivo sobre esta concentração.

Com relação ao efeito da agitação, nota-se que ao manter a aeração em 0,5 vvm e alterar a velocidade de agitação de 300 (Ensaio 1) para 700 rpm (Ensaio 3), ocorre diminuição de 21,17 % no teor de glicose, o mesmo comportamento foi observado ao manter a aeração de 1,5 vvm e alterar a agitação de 300 rpm (Ensaio 2) para 700 rpm (Ensaio 4) podendo-se constatar uma redução significativa de 31,23 % no teor de glicose da cadeia polimérica. Portanto, o uso de baixas velocidades de agitação na fermentação de GRB por *Xanthomonas campestris* pv *mangiferaeindicae* 2103 induz a produção de xantana com maiores teores de glicose. Os maiores teores de glicose foram encontrados

para as gomas xantana sintetizadas a 300 rpm e 1,5 vvm (43,16 %) (Ensaio 2), seguida das produções a 1,0 vvm (ponto central), em especial o Ensaio 6 (38,21 %) (Tabela 21).

O aumento na taxa de aeração ou a diminuição na velocidade de agitação proporciona ao polímero maior teor de manose na cadeia polimérica. A análise pode ser confirmada ao observar o aumento significativo de 44,88 % ao manter a agitação em 300 rpm e alterar a aeração de 0,5 vvm (Ensaio 1) para 1,5 vvm (Ensaio 2), assim como a redução de 33,65 % ao manter a aeração em 1,5 vvm com o aumento da agitação (do Ensaio 2 para o Ensaio 4).

O teor de ácido glucurônico também foi influenciado pela aeração e pela velocidade de agitação. Observa-se na Tabela 21 que ao manter a taxa de aeração constante a 0,5 vvm e variar a velocidade de agitação do mínimo nível (300 rpm, Ensaio 1) para o máximo nível (700 rpm, Ensaio 3) ocorre uma redução de 51,47 % no teor de ácido glucurônico, o contrário foi percebido ao manter a taxa de aeração em 1,5 vvm e a mesma variação nas velocidades de agitação, com aumento de 38 % no teor de ácido glucurônico. Estas observações levam a concluir que, isoladamente, alterações nas taxas de aeração e nas velocidades de agitação no processo fermentativo não exercem influência nas concentrações de ácido glucurônico da cadeia polimérica da goma xantana obtida da fermentação de GRB por *Xanthomonas campestris* pv *mangiferaeindicae* cepa 2103.

O uso de baixas rotações no processo fermentativo favorece o aumento da concentração de ácido pirúvico da cadeia polimérica da goma xantana. A estimativa partiu da análise dos resultados dos Ensaios 1 e 3 (Tabela 21), na qual se observa uma redução de 76,63 % ao manter a aeração em 0,5 vvm e variar a agitação do mínimo nível (300 rpm) para o máximo nível (700 rpm). O mesmo efeito é percebido para manutenção constante da aeração em 1,5 vvm, porém com menor redução (56,40%).

As máximas concentrações de ácido pirúvico foram encontradas nas gomas xantana sintetizadas a 500 rpm, sendo a máxima (19,01 %) obtida com 1,0 vvm (Ensaio 5), seguida do Ensaio 6 (13,84 %). Na Tabela 21, ainda se observa que as mínimas concentrações de ácido pirúvico estão associadas às condições extremas de agitação (700 rpm, Ensaios 3 e 4).

Segundo Sandford et al. (1977), o conteúdo de piruvato pode ser usado como um indicador da qualidade reológica. Assim, xantanas com alto conteúdo de piruvato (> 4 %) apresentam viscosidade superior àquelas com conteúdo inferior de piruvato (0,5 a 3 %). Nesse estudo, as gomas que apresentaram as maiores viscosidades aparentes em

solução aquosa também apresentaram altos conteúdos de ácido pirúvico em sua composição (E5 - 19,01 %; E6 - 13,84 %; E7- 10,95 %; E2 - 12,80 %, respectivamente) indicando que o conteúdo de piruvato pôde ser correlacionado com as ótimas propriedades reológicas dos biopolímeros.

A composição monomérica não influencia apenas a viscosidade, mas também as propriedades viscoelásticas. O efeito da presença de piruvato na interação macromolecular aumenta a capacidade gelificante da xantana, quando combinada com outros polímeros. Xantanas com alto grau de piruvatação formam um gel altamente termoresistente, enquanto xantanas despiruvatadas ou naturalmente livres de piruvato reduzem a interação depreciando a formação do gel (LECHNER et al., 1996).

Além da influência do conteúdo de piruvato nas propriedades reológicas da xantana, outros constituintes parecem também exercer alguma influência. Biopolímeros que, aparentemente, continham maior quantidade de manose e ácido glucurônico apresentaram maior grau espessante (ANTUNES et al., 2000). Moreira et al. (2001) relataram que o aumento na concentração de manose mantém ou aumenta a viscosidade das soluções de xantana frente ao aquecimento. O biopolímero produzido no Ensaio 2 apresentou maior concentração de manose após 120 horas de fermentação (52,27 %), indicativo de sua ótima viscosidade aparente (169,1 mPa.s). Os ensaios 5, 6 e 7 também seguiram o mesmo comportamento.

A molécula de xantana é perfeitamente regular quanto à presença de ramificações em uma glicose a cada duas, no entanto, há uma certa irregularidade, pois nem todas as cadeias laterais são acetiladas ou piruvatadas. Frequentemente, não está piruvatada mais que uma cadeia de cada duas, mas essa proporção varia em função da cepa utilizada e das condições operacionais de cultivo (LINDEN e LORIENT, 1996).

O polímero produzido pela bactéria *Xanthomonas phaseoli* foi analisado por Lesley e Hochster (1959), sendo composto de glicose, manose e ácido glucurônico na proporção de 1:1:1. Após este trabalho, Sloneker e Jeanes (1962) estudaram o polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris* cepa NRRL B-1459, e verificaram que este é composto de glicose, manose e ácido glucurônico na proporção 2,8:3,0:2,0. Garcia-Ochoa et al., 2000, também com a cepa NRRL B-1459, encontrou uma proporção molar de 2,8:2,0:2,0 para glicose, manose e ácido glucurônico. Nesse estudo foi encontrado, para o ensaio de maior piruvatação e, conseqüentemente melhor viscosidade aparente, a proporção de 2,5:3,0:1,0:1,45 para a glicose, manose, ácido glucurônico e ácido pirúvico, respectivamente.

1.4.3. Termogravimetria(TGA) / Termogravimetria derivada (DTG)

A termogravimetria é uma técnica de análise térmica na qual a variação da massa da amostra é determinada em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada (CANEVAROLO, 2004). A amostra pode ser aquecida ou resfriada, a uma velocidade selecionada, ou pode ser mantida a uma temperatura fixa, sendo que o modo mais comum de operação na análise de sistemas poliméricos é o programa de aquecimento, a velocidades na faixa de 5 a 10 °C.min⁻¹ (LUCAS et al., 2001)

A derivada primeira da curva TGA, a curva DTG, leva às mesmas informações, porém com um acréscimo na resolução (PINHO, 1999). Enquanto na curva TGA observa-se degraus correspondentes às variações de massa em função do tempo e/ou temperatura, na curva DTG os degraus equivalem a picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa com aquecimento da amostra. Os resultados de perda de massa (Δm), a partir da DTG aparecem de uma forma mais visualmente acessível, uma vez que as inflexões sutis da TGA são enfatizadas e possibilitam a separação de reações sobrepostas e a determinação com maior exatidão das temperaturas correspondentes ao início e quando os processos de decomposição atingem velocidade máxima (CARVALHO FILHO, 2000).

Dada a natureza dinâmica da variação de temperatura da amostra para originar curvas TGA/DTG, fatores instrumentais (razão de aquecimento, atmosfera do forno, tipo de cadinho) relacionados às características da amostra (massa da amostra, tamanho das partículas) podem influenciar a natureza, a precisão e a exatidão dos resultados experimentais (CANEVAROLO, 2004). A Figura 38 ilustra o mecanismo da decomposição térmica de sete amostras de goma de xantana obtidas no planejamento fatorial, juntamente com a goma xantana padrão (Sigma) e a GRB quando submetidas a uma razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, entre a temperatura ambiente e 400 °C. Quase todas as amostras exibiram duplo estágio de decomposição, exceto a GRB.

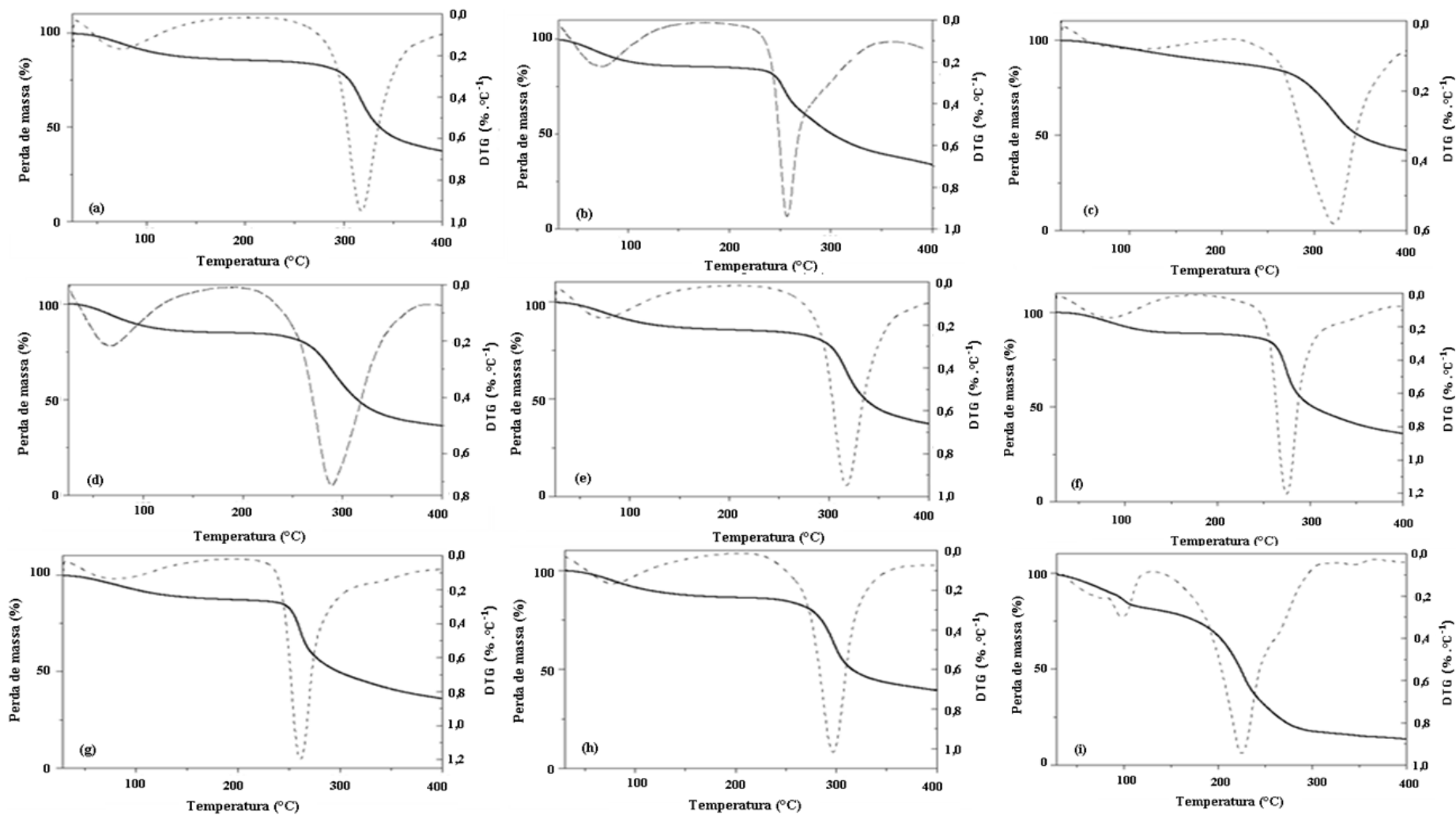


Figura 38. Curvas TGA e sua derivada (DTG) para os sete ensaios realizados no planejamento fatorial (a-g), goma xantana sigma (h) e glicerina bruta (i), respectivamente.

O perfil termogravimétrico obtido a partir da goma xantana produzida no Ensaio 1 apresentou dois eventos de perda de massa. O primeiro evento (4,5 %) é resultado da perda de água superficial e intrínseca, ocorrendo no intervalo entre 27,7 e 168,6 °C, com temperatura de velocidade máxima perda de massa em 72,6 °C. A absorção de água pela goma xantana é devido à presença de grupos polares na sua estrutura, especialmente o grupo -OH. A etapa seguinte, acompanhado por uma perda de massa superior (44,0%), ocorreu entre 192,3 e 394,1°C, sendo atribuído à degradação do polímero. A temperatura onde a degradação é máxima foi observada a 316,4 °C.

Os resultados referentes às gomas xantana obtidas nos demais ensaios do planejamento fatorial apresentaram curvas termogravimétricas semelhantes, onde foram observados dois eventos de perda de massa. O primeiro evento (26,7 – 192,8 °C) é atribuído à desidratação da xantana e corresponde em média a 5,4 % de perda de massa. O segundo estágio de decomposição das gomas xantana está em torno de 182,6 °C e o final em aproximadamente 399,5 °C, com perda de massa média de 49,7 % (Figura 38). Portanto, ao avaliar a curta TGA da goma xantana Sigma, percebe-se que as temperaturas obtidas no primeiro evento (31,8 – 187,7 °C), com perda de massa de 5,4 %, bem como no segundo evento (219,0 – 396,1 °C) e 47,3 % foram ligeiramente diferentes dos valores encontrados para gomas dos sete ensaios do planejamento fatorial, mas que não impede a comparação entre amostras. Obtivemos T_{onset} de 199,2 °C e 219,0 °C para a média das gomas produzidas a partir da GRB nos sete ensaios do planejamento fatorial e a xantana padrão, respectivamente, o que significa que a xantana padrão é mais estável termicamente.

Estas observações levam a concluir que aumentos nas taxas de aeração no processo fermentativo exercem influência negativa na estabilidade térmica das gomas xantana obtida da fermentação de GRB por *Xanthomonas campestris* pv *mangiferaeindicae* cepa 2103, porém maiores velocidades de agitação produzem gomas mais estáveis termicamente.

Para a glicerina residual do biodiesel utilizada como substrato na produção de goma xantana, a curva TGA mostrou três eventos claramente diferenciados no processo de decomposição. A primeira perda de massa da glicerina bruta (evento 1) foi de 13,7 %, iniciando em 28,2 °C e finalizando em 125,0 °C. Essa perda foi consequência da remoção do conteúdo de água, metanol e, provavelmente, algumas outras substâncias também voláteis associadas ao processo de fabricação do biodiesel, tais como resíduos de alguns tipos de catalisadores, sebo ou ácidos graxos. A perda de massa mais importante ocorreu no segundo evento do processo de decomposição da glicerina bruta, sob temperatura de 133,0 a 305,3 °C correspondendo a aproximadamente 66,7 % da massa inicial. Essa extensa perda de massa

pode ser explicada pela decomposição do glicerol. A perda de massa correspondente ao terceiro evento foi de 2,9 % (316,9 – 398,8 °C), provavelmente devido à decomposição parcial de alguns sais hidratados como cloreto, fosfato e sulfato de sódio, principalmente, presentes antes ou formados durante a decomposição da glicerina bruta.

A Tabela 22 apresenta os detalhes do comportamento térmico das amostras de acordo com os termogramas da Figura 38.

Tabela 22. Evento térmico, intervalos de temperatura e porcentagens de perda de massa (Δm) referentes às gomas dos sete ensaios do planejamento fatorial, a goma xantana padrão (Sigma) e a GRB.

Amostra	Evento Térmico	Intervalo de Temperatura (°C)	Δm (%)
Ensaio 1	Saída da água superficial e estrutural	27,7 – 168,6	4,5
	Degradação do polímero	192,3 – 394,1	44,0
Ensaio 2	Saída da água superficial e estrutural	27,3 – 157,6	6,2
	Degradação do polímero	182,6 – 396,1	51,2
Ensaio 3	Saída da água superficial e estrutural	28,5 – 192,8	5,4
	Degradação do polímero	206,5 – 395,1	46,4
Ensaio 4	Saída da água superficial e estrutural	26,7 – 166,7	5,8
	Degradação do polímero	193,2 – 399,5	48,6
Ensaio 5	Saída da água superficial e estrutural	27,4 – 178,9	5,7
	Degradação do polímero	214,5 – 396,8	48,2
Ensaio 6	Saída da água superficial e estrutural	27,1 – 176,0	5,0
	Degradação do polímero	199,6 – 397,4	52,6
Ensaio 7	Saída da água superficial e estrutural	29,3 – 171,8	5,2
	Degradação do polímero	210,7 – 396,6	51,1
GX Sigma	Saída da água superficial e estrutural	31,8 – 187,7	5,4
	Degradação do polímero	219,0 – 396,1	47,3
GRB	Saída da água, metanol e substâncias voláteis	28,2 – 125,0	13,7
	Degradação da glicerina	133,0 – 305,3	66,7
	Decomposição de sais hidratados	316,9 – 398,9	2,9

Dados de TGA de diferentes polissacarídeos, incluindo goma xantana, foram relatados como por Zohuriaan e Shokrolahi (2004). Os autores obtiveram, para o primeiro estágio, uma temperatura máxima de perda de massa de 74,6 °C (8,7 %) para a goma de xantana grau alimentício (Aldrich) com um intervalo de temperatura de 30 – 91,3 °C. O segundo evento, na faixa de 251,5 - 330,3 °C, atingiu a temperatura de perda de massa máxima em 290,8 °C (41,6 %). As análises foram realizadas em TA-60 Shimadzu, atmosfera inerte (N₂), taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹, fluxo de 10 mL.min⁻¹ de 25 a 600 °C.

O estudotermogravimétrico da goma xantana, produzida a partir do caldo de cana como fonte de carbono, realizado por Faria et al. (2011) mostra um evento de decomposição após a perda de massa inicial referente a remoção da umidade da amostra. A temperatura de degradação encontrada pelos autores foi de 280°C com perda de massa de 50

%). A análise foi realizada em TA-60 Shimadzu, com taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹ sob uma atmosfera de azoto a um fluxo de 30 mL.min⁻¹ de 25 até 600 °C.

2. *Nanowhiskers*/Nanocristais de celulose

Primeiramente foram sugeridos três resíduos lignocelulósicos visando à obtenção de *nanowhiskers* de celulose. A palha de milho, o sabugo de milho e a torta de palmiste foram avaliados quanto a composição química e quanto ao rendimento de celulose da fibra. A partir dos resultados preliminares, a palha de milho foi escolhida para dar continuidade ao estudo. A palha de milho (PM), a celulose extraída da palha de milho (CPM) e os *nanowhiskers* de palha de milho (NWC) preparados por hidrólise ácida foram caracterizados por difratometria de raio-x, espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier e termogravimetria. As características morfológicas das nanoestruturas foram estudadas através de microscopia eletrônica de transmissão e a massa molecular média determinada por GPC CLAE-IR.

2.1. Composição química das fibras

As fibras lignocelulósicas são compostas basicamente por celulose, hemicelulose e lignina, além de ceras, extrativos, pectinas e cinzas. A quantidade de cada um destes componentes presentes nas fibras varia de acordo com o tipo de fibra e com o tempo de maturação da planta e do solo onde foi cultivada (WALLENBERGER e WESTON, 2004). Estes constituintes das fibras são responsáveis pelo comportamento térmico e pela resistência mecânica desses materiais (ROSA et al., 2009; ROSA et al., 2010; BENINI, 2011; MACHADO, 2011; SILVA, 2013), e pode resultar em diferenças de rendimento na extração de *nanowhiskers*.

As análises de composição química da palha de milho, do sabugo de milho e da torta de palmiste utilizadas neste estudo como etapa preliminar para a preparação de *nanowhiskers* de celulose estão listadas na Tabela 23. Os materiais estudados são compostos principalmente, por celulose, hemicelulose e lignina, confirmando ser fontes de fibras lignocelulósicas. A torta de palmiste (TP) apresentou um alto teor de lignina em sua composição (16,13 %), comprovado pela coloração escura (marrom) apresentada pelo resíduo (Figura 39). A palha de milho tem uma coloração mais clara e apresenta um teor de lignina menor (6,77 %) e teor de celulose (45,49 %) maior do que o sabugo de milho (19,66 %). Os resultados encontrados nesse estudo estão de acordo com os citados por Tamanini (2004) e Salazar et al. (2005). Os

autores relatam que a palha de milho contem aproximadamente 41,2 % de celulose, cerca de 34,5 % de hemicelulose e 8,7 % de lignina.

Tabela 23. Principais constituintes da palha de milho, do sabugo de milho e da torta de palmiste.

Fibra	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Palha de milho (PM)	45,49	27,59	6,77
Sabugo de milho (SM)	19,66	40,33	6,87
Torta de palmiste (TP)	27,61	27,43	16,13



Figura 39. Ilustração da torta de palmiste (TP), da palha de milho (PM), do sabugo de milho (SM).

A palha de milho, o sabugo de milho e a torta de palmiste foram submetidos a duas etapas sucessivas para extração da polpa de celulose. Numa primeira etapa os materiais foram submetidos a um tratamento com solução alcalina (NaOH 2,0 %), repetindo este tratamento três vezes para PM e SM e quatro para TP. Em seguida, as amostras foram submetidas à etapa de branqueamento utilizando uma mistura de hipoclorito de sódio 1,7 % e solução tampão (CH₃COOH/NaOH) na proporção de 1:1 (m/v) sob agitação constante, com o objetivo de intensificar os efeitos do tratamento alcalino, para remover a lignina residual e aumentar a exposição da celulose para etapa seguinte de hidrólise (SILVA, 2013). Após o branqueamento, as fibras passaram de uma coloração amarelada para uma tonalidade branca, indicando assim, que as etapas de branqueamento foram satisfatórias.

Para cada 20 g de palha de milho (PM) submetida ao processo de lavagem e branqueamento, foi obtido aproximadamente 7,0 g de polpa de celulose, sendo, portanto o rendimento desta extração de aproximadamente 35 %. Nas mesmas condições, o sabugo de milho (SM) apresentou rendimento de 4,6 % e a torta de palmiste de 20 %, resultados inferiores ao da palha de milho, porém esperado devido ao menor percentual de celulose presente nos resíduos (Tabela 23). Em função dos resultados obtidos, a palha de milho foi então escolhida para dar continuidade ao estudo, além disto, a ausência de relatos na literatura sobre a preparação de *nanowhiskers* de celulose a partir palha de milho torna o estudo inédito.

Após a seqüência de tratamentos químicos, os componentes da palha de milho foram novamente quantificados. O teor de celulose da fibra aumentou para 62,1 %, enquanto que os níveis de hemicelulose e lignina foram reduzidos a 13,5 % e 3,2 %, respectivamente. Esta tendência era esperada, pois o tratamento alcalino incha a estrutura da fibra, aumentando assim a sua área de superfície e fazendo com que os componentes poliméricos sejam mais facilmente hidrolisáveis.

2.2. Obtenção dos *nanowhiskers* de palha de milho

Dentre os processos de isolamento de *nanowhiskers* de celulose destacam-se os processos químicos, os quais após a etapa de lavagem das fibras com soluções alcalinas e branqueamento para a obtenção da celulose, os *nanowhiskers* são preparados por hidrólise ácida com a utilização de ácidos fortes (H_2SO_4 e/ou HCl). Este procedimento foi escolhido para a preparação dos *nanowhiskers* a partir da palha de milho (PM).

Os processos de hidrólise se apóiam no fato de que as regiões cristalinas são insolúveis em ácidos nas condições em que estes são empregados. Isso se deve à inacessibilidade que as mesmas apresentam pela elevada organização das moléculas de celulose na sua nanoestrutura. Por outro lado, a desorganização natural das moléculas de celulose nas regiões amorfas favorece a acessibilidade dos ácidos e conseqüentemente a hidrólise das cadeias de celulose presentes nestas regiões. Assim, o isolamento de *nanowhiskers* é facilitado pela cinética de hidrólise mais rápida apresentada pelas regiões amorfas em relação às regiões cristalinas (SAMIR et al., 2005; MACHADO, 2011).

Com a palha de milho foi obtida as suspensões de *nanowhiskers* após o processo de hidrólise (H_2SO_4 a 55 %), numa proporção exata de 9 ml para cada grama (1g) da polpa de celulose, as quais foram submetidas à agitação constante durante 15 - 20 minutos, numa temperatura de 50 °C. Os *nanowhiskers* de celulose de palha de milho (NWC) resultaram numa suspensão aquosa com concentração média de 0,032 g/10mL, com um rendimento de aproximadamente 64 %. Destaca-se na literatura vários estudos encontrados que descrevem a utilização de tempos superiores do que o utilizado neste estudo para a obtenção da solução de *nanowhiskers*, indicando assim que a quantidade de ácido, percentual deste, bem como a temperatura utilizada e agitação vigorosa, contribuiriam de maneira significativa para a otimização do processo de extração, já que a solução de *nanowhiskers* foi obtida após um período curto de hidrólise.

Na literatura não há registro da produção de *nanowhiskers* a partir da palha de milho, no entanto há publicações relatando a produção e caracterização de *nanowhiskers* de muitas outras fibras lignocelulósicas (ANGLÉS e DUFRESNE, 2000; KVIEN et al., 2005; SIQUEIRA et al., 2009; HABIBI et al., 2010; ROSA et al., 2010; MACHADO, 2011; SILVA, 2013). Silva (2013) obteve *nanowhiskers* de celulose a partir da fibra de licuri utilizando ácido sulfúrico a 64 %, durante 12 – 15 minutos a 50 °C, obtendo rendimento de 70 %. Machado (2011) extraiu polpa de celulose de casca de coco em condições similares a anterior, obtendo rendimento de 12,5 %, portanto rendimento inferior aos obtidos neste estudo. Teixeira et al. (2009), avaliaram a utilização de diferentes tipos de hidrólise para a obtenção de *nanowhiskers* de celulose comercial do algodão, com H₂SO₄ a 60% (v/v), ou com HCl 12 M, e uma mistura dos dois ácidos 2:1 (H₂SO₄:HCl), a 45 °C por 75 minutos, sob vigorosa agitação, e observaram que a solução de *nanowhiskers* obtida com a utilização da hidrólise com ácido sulfúrico foi a que resultou numa menor aglomeração dos nanocristais e uma maior estabilidade térmica.

As variações mais encontradas na literatura para produção de *nanowhiskers* de celulose estão relacionadas às condições de hidrólise, conseqüentemente as obtenções de suspensões de *nanowhiskers* de celulose estão relacionadas ao tipo e a concentração de ácido, o tempo de hidrólise, a temperatura utilizada e a relação ácido/celulose. Nos trabalhos que utilizaram celulose obtida por branqueamento de fibras naturais e celulose microcristalina comercial, a concentração mais comum encontrada, com a utilização do ácido sulfúrico (H₂SO₄) como hidrólise, está em torno de 60% (v/v) (ARAKI et al., 1998; BECK et al., 2005; PODSIADLO et al., 2005; HABIBI et al., 2007; HABIBI e DUFRESNE, 2008; JEAN et al., 2008; CORRÊA et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2009). Considerando o tempo de hidrólise, são relatados na literatura tempos que variam de 10 minutos até 13 horas (ARAKI et al., 1998; ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008; MACHADO, 2011; SILVA, 2013). Estas variáveis são importantes não somente porque interferem nas propriedades dos *nanowhiskers* resultantes, mas também porque estão relacionadas ao custo final do produto. Portanto, a obtenção de *nanowhiskers* de celulose está relacionada a diversos fatores, desde origem da celulose, processo de obtenção da polpa de celulose e etapas de pré-tratamento da fibra, até as condições utilizadas durante o processo de hidrólise ácida (SILVA, 2013).

2.3. Difractometria de raios-x (DRX) da fibra, polpa de celulose e *nanowhiskers*

A análise por difração de raios-x de alto ângulo permite a caracterização da microestrutura dos materiais cristalinos. Na Figura 40 estão representados os difratogramas palha de milho não tratada (PM), da polpa de celulose obtida após o processo de branqueamento (CPM) e dos *nanowhiskers* liofilizados (NWC). Dois principais picos de difração podem ser vistos na PM e da CPM. O primeiro ocorre em $2\theta = 16^\circ$ e o segundo em $2\theta = 22^\circ$, os quais correspondem aos planos cristalográficos (110) e (200) do polimorfo tipo I da celulose (FENGEL e WENEGER, 1984; LARSSON et al., 1997; ANGLÉS e DUFRESNE, 2001; ALEMDAR e SAIN, 2008; TEIXEIRA et al., 2010). Esta estrutura cristalina corresponde ao arranjo paralelo de duas cadeias glicosídicas e tem sido referida como o polimorfo da celulose de maior resistência mecânica (PÄÄKÖ et al., 2007). Nos difratogramas da PM e CPM é possível observar ainda um pico de baixa intensidade em torno de $2\theta = 34^\circ$ que corresponde ao plano (040) da celulose I. O difratograma dos NWC exibiu uma reflexão intensa em $2\theta = 20,7^\circ$, dando origem a um típico padrão de celulose I e uma pequena reflexão em $2\theta = 11,4^\circ$ referente á fração amorfa residual. Portanto, a estrutura cristalina original da celulose, de maior resistência mecânica, foi mantida nos *nanowhiskers* após a hidrólise ácida.

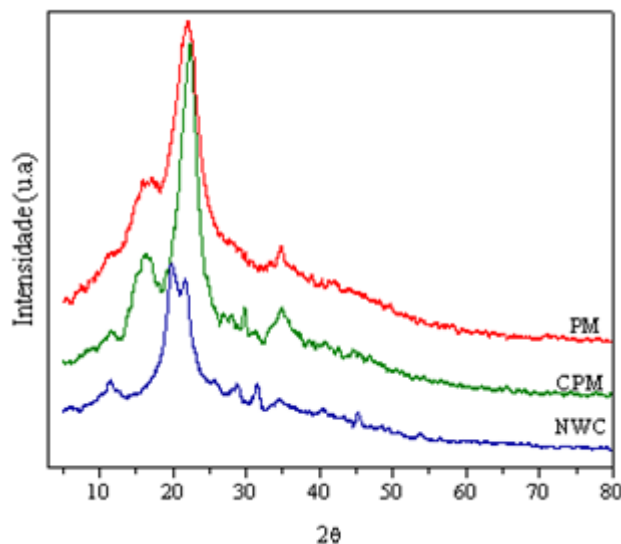


Figura 40. Difratogramas da palha de milho (PM); celulose obtida após o processo de branqueamento (CPM) e *nanowhiskers* liofilizados (NWC).

Os índices de cristalinidade, medidos pela integração das áreas amorfas e cristalinas de cada amostra, são apresentados na Tabela 24. Pode ser constatado que os tratamentos químicos empregados na palha de milho afetaram o grau de cristalinidade da celulose e dos

nanowhiskers de celulose. Comparando a amostra da palha de milho sem nenhum tratamento, com a amostra após o processo de branqueamento, houve um aumento de cerca de 11 % da cristalinidade. Após o processo de hidrólise, onde o ácido foi o responsável por remover a parte amorfa da celulose, a cristalinidade aumentou ainda mais, confirmando que as regiões amorfas foram eliminadas da fibra pela hidrólise ácida. Neste caso, o maior valor de I_c para os NWC indica a eficiência do H_2SO_4 em promover a hidrólise das regiões amorfas da celulose.

Tabela 24. Índice de cristalinidade (%) da palha de milho, polpa de celulose e *nanowhiskers*.

Índice de Cristalinidade – I_c (%)	
Palha de milho	25,33
Polpa de celulose	28,40
<i>Nanowhiskers</i>	55,04

2.4. Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR) da fibra, polpa de celulose e *nanowhiskers*.

A espectroscopia de infravermelho tem sido muito utilizada na pesquisa com materiais celulósicos, pois representa um método simples de se obter informações diretas sobre as mudanças que ocorrem durante os diferentes tratamentos químicos. Neste trabalho a espectroscopia no infravermelho foi utilizada para avaliar a remoção da hemicelulose e lignina após os processos químicos os quais a palha de milho foi submetida. Na Figura 41 são mostrados os espectros no infravermelho da palha de milho não tratada (PM), da polpa de celulose obtida após o processo de branqueamento (CPM) e dos *nanowhiskers* liofilizados (NWC).

A região caracterizada por uma banda larga na faixa entre 3100 e 3700 cm^{-1} , corresponde à celulose, hemicelulose e lignina, e é atribuída a vibração axial dos grupos hidroxilas destas macromoléculas. Observa-se que este sinal sofre modificações em função do tratamento alcalino, atingindo uma frequência de 3351 cm^{-1} para a palha de milho tratada com NaOH 2,0 % e 3364 cm^{-1} para os *nanowhiskers* de celulose obtidos por hidrólise ácida. O pico em 670 cm^{-1} , característico do grupamento COOH, está presente em todos os espectros.

A presença de uma banda em 2928 cm^{-1} no espectro da palha de milho é atribuída aos estiramentos das ligações de C-H alifáticos. Ainda se destaca o pico em 1731 cm^{-1} que é atribuído aos grupos éster acetil e urônicos de hemiceluloses ou a ligação éster do grupo

carboxílico de ácidos ferúlico e p-cumárico da lignina e/ou hemiceluloses (SUN et al., 2005; SAIN e PANTHAPULAKKAL, 2006). Este pico praticamente desaparece nos espectros da CPM e dos NWC, devido à remoção de hemicelulose, relacionada com a purificação e a hidrólise ácida utilizada. Sgriccia et al. (2008) observaram o desaparecimento do sinal em 1730 cm^{-1} após tratamento alcalino, justificado pela remoção de hemicelulose. Os picos em 1634 e 1244 cm^{-1} são atribuídos ao estiramento C=C da vibração do anel aromático da lignina e ao estiramento C-O-C da hemicelulose, lignina e celulose, respectivamente. Também observou-se na fibra em estudo uma banda em 1640 cm^{-1} característico da água adsorvida nas moléculas de celulose (MÓRAN et al., 2008).

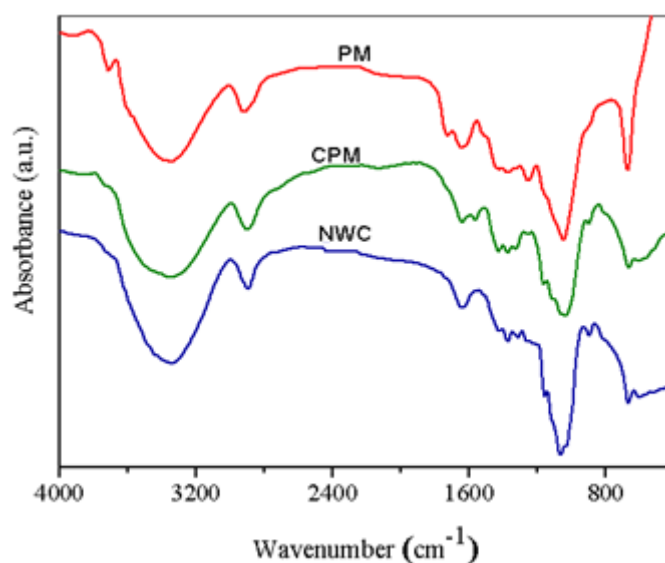


Figura 41. Espectros de FTIR palha de milho (PM), da polpa de celulose (CPM) e dos *nanowhiskers* (NWC).

O pico em 1556 cm^{-1} no espectro da celulose é indicativo da presença de lignina sendo atribuído a vibração do esqueleto aromático C=C (XIAO et al., 2001; SUN et al., 2005). Este pico diminui no espectro dos *nanowhiskers* indicando remoção parcial da lignina. Esta mínima mudança nos espectros indica que o tratamento alcalino não removeu totalmente esta macromolécula, mas promoveu remoção parcial na superfície da fibra. A presença de lignina mesmo após o tratamento alcalino está de acordo com os resultados da análise de difração de raios-x, onde a área amorfa (I_{am}), utilizada no cálculo do índice de cristalinidade, corresponde em grande parte a presença deste composto nas fibras.

O pico pequeno e estreito em 1374 cm^{-1} no espectro da celulose está relacionado com a vibração C-H devido à deformação assimétrica da celulose e lignina como relatado na literatura (LU e HSIEH, 2010). O espectro da CPM também mostra uma banda a 1647 cm^{-1} característico de moléculas de água adsorvida pela celulose (MORÁN et al., 2008).

Com a análise FTIR foi possível perceber que uma alteração na organização cristalina faz com que o perfil espectral das amostras seja alterado através da redução ou aumento da intensidade ou mesmo o desaparecimento e surgimento de picos característicos das regiões cristalinas das amostras.

2.5. Termogravimetria (TGA) / Termogravimetria derivada (DTG) da fibra, polpa de celulose e *nanowhiskers*.

A degradação térmica dos materiais foi estudada através do uso da termogravimetria. As curvas de degradação são mostradas na Figura 42 (a, b).

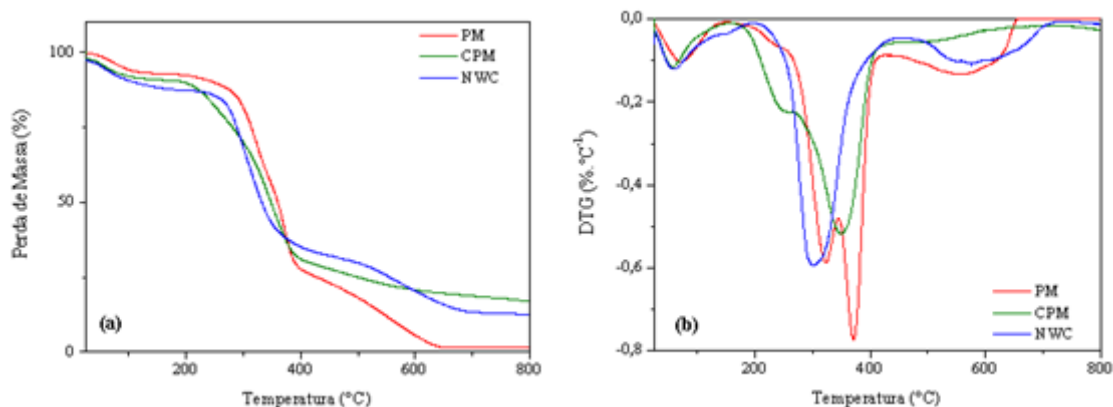


Figura 42. Curvas TGA (a) e DTG (b) da palha de milho, da polpa de celulose e dos *nanowhiskers* obtidos em atmosfera de N₂ com razão de aquecimento de 20 °C/min.

Na análise da curva de decomposição da palha de milho, nota-se quatro eventos de perda de massa. O primeiro evento térmico, entre 25 e 143 °C, está relacionado à perda da umidade da fibra. Apesar de secas previamente, a total eliminação de água é dificultada pelo próprio caráter hidrofílico da fibra. Este resultado corrobora com o obtido no infravermelho, onde uma frequência em 1640 cm⁻¹ foi atribuída à presença de água na fibra. A palha de milho mantém uma estabilidade térmica até 230 °C quando se inicia a decomposição da hemicelulose na faixa de temperatura de 241 – 344 °C. Observou-se também o terceiro evento, em torno de 370 °C, atribuído a perdas de componentes voláteis da celulose com perda de massa de aproximadamente 33 %. O quarto evento, acima de 440 °C e com perda de massa 22%, é atribuído à pirólise da lignina prosseguindo com o aumento de temperatura até ocorrer degradação quase que total em torno de 666 °C. Este trabalho está compatível com o estudo realizado por Santos et al. (2011) que evidenciaram que em temperaturas em torno de 433 °C predomina a decomposição lenta da lignina. Yang et al. (2007) investigando as

características da pirólise dos três principais componentes da biomassa (celulose, hemicelulose e lignina), relataram que a lignina é um macrocomponente mais difícil de decompor. A palha de milho apresentou ao final da análise menor teor de resíduo (5,27 %).

Na celulose obtida após o processo de branqueamento da palha de milho pode-se observar a presença de três eventos de perda de massa. O primeiro evento térmico ocorre entre 25 e 144 °C e está relacionado à perda de umidade. O segundo evento, entre 247 e 262 °C com velocidade de máxima de degradação em 250 °C pode ser relacionado à decomposição da matéria orgânica com geração de material carbonizado, que finalmente é queimado na faixa de 262 a 476 °C, com temperatura máxima em 350 °C. Os dois últimos eventos representam uma perda de massa de 56,5 % em relação à massa inicial. Percebe-se que a CPM apresenta maior estabilidade térmica que a fibra não tratada. Isso se deve ao fato de que o componente que degrada em menor temperatura já foi removido.

No estudo realizado por Raad et al. (2006) detectaram a estabilidade térmica e faixa de temperatura de decomposição da hemicelulose, celulose e lignina em fibras de eucaliptos, coco de babaçu e piaçava. Segundo estes autores, esses componentes se decompõem em diferentes faixas de temperatura: a hemicelulose entre 200 e 300 °C, a celulose entre 240 e 350 °C e a lignina entre 350 e 500 °C.

Quanto os NWC obtidos por hidrólise ácida com H₂SO₄, em aproximadamente 27 °C ocorre um primeiro evento com perda de massa de 9,9 %, devido à evaporação da água adsorvida pelos *nanowhiskers*. Entre 195 e 210 °C, os *nanowhiskers* se mantêm estáveis, havendo uma perda intensa de massa (55,2 %), a partir de 211 °C até 450 °C indicando a substituição dos grupos hidroxila pelos grupos sulfatos ácidos na etapa de hidrólise que diminuem a energia de ativação para a degradação da celulose, tornando a amostra menos resistente à pirólise, ocorrendo reações de desidratação, liberando água e catalisando a sua decomposição. Acima de 462 °C ocorrem às quebras de ligação das moléculas de celulose mais internas, isto é, que não fizeram contato com o ácido sulfúrico (MÓRAN et. al, 2008).

Diante disto é possível concluir o tratamento removeu compostos (polioses) que degradam antes da celulose e que o tratamento com 2,0 % de NaOH teve bons resultados frente a análise térmica. Varma et al.(1986), investigando a degradação química das fibras de coco, também verificaram uma estabilidade térmica adicional após tratamento químico com NaOH. Maheswari et al. (2008) investigando a degradação térmica de fibras de tamarindo, observou um aumento na temperatura de degradação inicial e final das fibras após tratamento alcalino.

2.6. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos *nanowhiskers*

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM) permite visualizar as dimensões, a forma e a disposição dos *nanowhiskers* de palha de milho, confirmando assim, que a suspensão aquosa contém *nanowhiskers*, corroborando com os resultados de difração de raios-x, mostrando também que os *nanowhiskers* apresentaram-se principalmente em agregados com algumas nanopartículas dispersas, coincidindo com o modelo estrutural proposto primeiramente por BATTISTA e SMITH (1962) e os anos seguintes por SAMIR et al. (2005) e ROSA et al. (2010). É possível também determinar a razão comprimento/diâmetro, ou L/D, e discutir os efeitos dos tratamentos e das condições de hidrólise (KAMEL, 2007).

As Figuras 43 (a), (b), (c) e (d) mostram a disposição dos *nanowhiskers* de celulose extraídos por meio de hidrólise ácida de palhas de milho branqueadas. A aparência é de um reticulado tridimensional formado pelos NWCs. Tridimensional devido aos tons mais escuros e claros, que poderiam significar uma proximidade ou afastamento, criando várias camadas sobrepostas umas às outras. Os NWC, caracterizados pelo comprimento das partículas (L), largura (D) e razão de aspecto (L / D) são mostrados na Tabela 25.

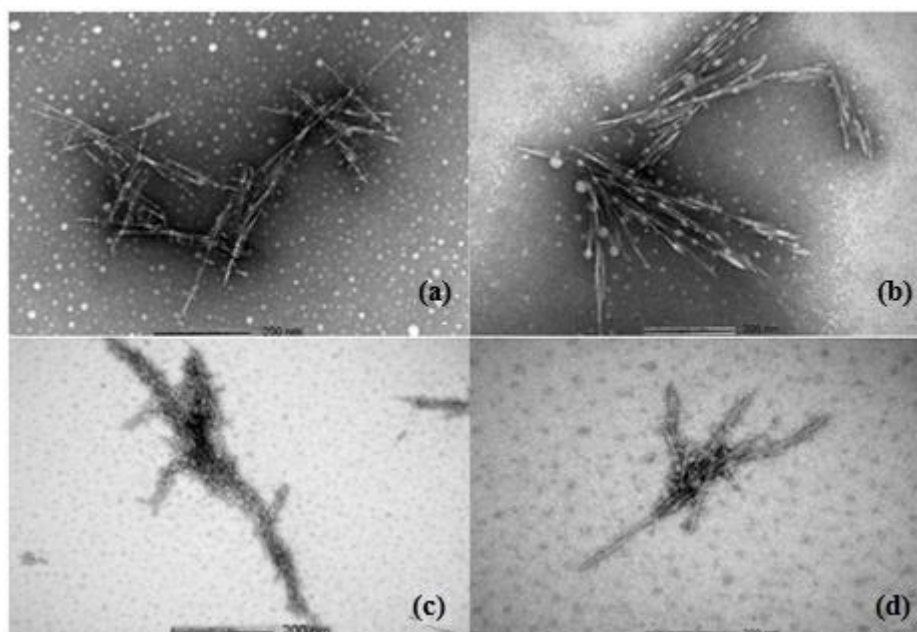


Figura 43. Micrografias obtidas da suspensão de *nanowhiskers* de palha de milho.

Tabela 25. Dimensões dos *nanowhiskers* preparados por hidrólise ácida determinada a partir de imagens de TEM.

	Mínimo	Máximo	Média
Comprimento (L – nm)	168	610	356,3±98
Diâmetro (D – nm)	4,3	10,1	7,0±1,86
Razão (L/D)	22,6	106,3	54,7±24

Tipicamente, os monocristais de celulose extraídos da palha de milho apresentaram comprimentos que variaram de 168 a 610 nm e diâmetros situados entre 4,3 e 10,1 nm, reproduzindo uma razão de aspecto de $54,7 \pm 24$, considerada alta, o que teoricamente proporcionaria capacidade de reforço caso incorporado em matrizes poliméricas.

Estudos envolvendo a morfologia de *nanowhiskers* de celulose obtidos a partir de diversas fontes através de microscopia eletrônica de transmissão demonstram a tendência que essas partículas têm em se agregar e confirmam sua alta razão de aspecto (L/D) (ANGLÉS e DUFRESNE, 2000; SAMIR et al., 2004; KVIEN et al., 2005; RODRIGUEZ et al., 2006; BONDESON et al., 2006; OKSMAN et al., 2006; ELLAZZOUZI-HAFRAOUI et al., 2008; BRAUN et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2009; ROSA et al., 2010; MACHADO, 2011; SILVA, 2013).

O tamanho das fibras (associado diretamente à razão aspecto) é, em especial, ligado ao ganho em propriedades mecânicas quando usadas como agente de reforço em compósitos. Como relatado na literatura, fibras longas proporcionam, em geral, maiores ganhos em propriedades mecânicas, enquanto fibras curtas acrescentam menores ganhos, já que tensões-deformações de cisalhamento na região interfacial fibra-matriz são responsáveis pela transferência de tensões em compósitos (MASOUMY et al., 2004).

2.7. Massa molecular média (MM) dos *nanowhiskers*

A avaliação da massa molecular média (MM) dos *nanowhiskers* foi realizada por GPC CLAE-IR, em comparação com padrões de dextransas de diferentes pesos moleculares (Tabela 18). A Figura 44 mostra o perfil cromatográfico da solução aquosa de NWC. Druzian (2000) cita que o tempo de retenção é o tempo que uma substância leva para ser eluída através da coluna, e que quanto menor o tempo de retenção, maior a massa molecular da amostra. O tempo de retenção determinado para a solução de NWC ($Tr = 4\ 3,07$ min) foi maior que o

encontrado pelo menor padrão de dextrana ($Tr = 32,56$ min), indicando que a massa molecular média dos *nanowhiskers* obtidos com a palha de milho foi menor que 102.000 Da.

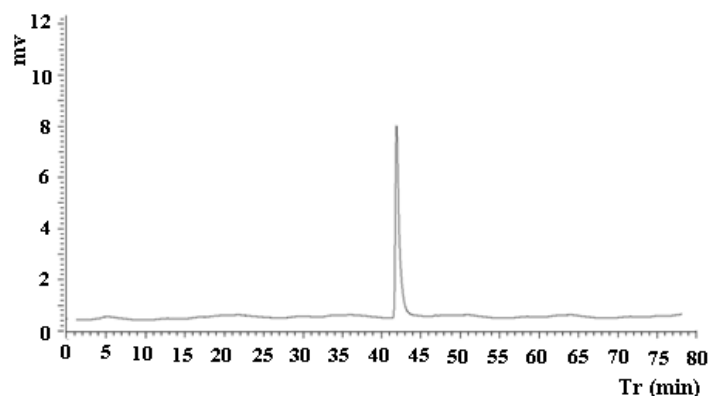


Figura 44. Cromatograma da solução de *nanowhiskers* obtidos com a palha de milho.

3. Amido de mandioca

O amido de mandioca foi caracterizado com o objetivo de conhecer a matriz polimérica a ser utilizada na elaboração de filmes flexíveis (bionanocompósitos). Estas caracterizações envolvem análises de composição, difração de raios-x, microscopia eletrônica de varredura, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial, índice de solubilidade, poder de inchamento e claridade da pasta de amido.

3.1. Composição

O amido é constituído apenas de carboidratos, no entanto o produto industrial apresenta outras substâncias tais como: matéria graxa, proteínas e cinzas. Essas substâncias são partes da própria planta de onde o amido foi extraído e a quantidade delas no produto final depende da composição da planta e do método de extração e purificação; quanto menor o teor destas substâncias, melhor a qualidade do amido. Teores menores refletem processos de extração e purificação mais eficientes (CEREDA, 2001). De modo geral, o amido de mandioca é constituído do polissacarídeo quase puro (99,26 %), contendo aproximadamente 0,34 % de proteína, 0,22 % de gordura e 0,06 % de cinzas (VELIKAVA e DIN'TKLYONG, 1971 apud AMANTE, 1986).

A literatura denomina os componentes, fibras, açúcares totais e proteínas que ficam após a extração de fração não amilácea. Menor fração não amilácea proporciona maiores rendimentos de extração e processos industriais mais simples (FRANCO et al., 2001). No trabalho recente de Maieves et al. (2011), demonstrou que quanto maior o teor de amido na

matéria-prima, menor a quantidade de resíduos sólidos gerados. A Tabela 26 mostra os resultados obtidos para a composição do amido de mandioca.

Tabela 26. Composição do amido de mandioca.

Umidade (%*)	Cinzas (%**)	Nitrogênio (%**)	Proteínas (%**)	Lipídios (%**)	Fibra Bruta (%**)	Amilose (%**)	Amilopectina (%**)
12,33±0,18	0,021±0,0	0,027±0,03	0,15±0,02	0,25±0,03	0,55±0,02	23,5±0,6	64,2±0,6

* Base seca; ** Base úmida
Média ± Desvio Padrão

A importância da umidade do amido reside na padronização do produto, essencial para a indústria. Por um lado assegura a estabilidade microbiológica do alimento conseguida à custa da baixa atividade de água, além de propiciar a normatização do processo de industrialização de diferentes produtos alimentícios que têm o amido como uma das suas matérias-primas (NUNES et al., 2009). Como se pode observar na Tabela 26, o teor de umidade está dentro do padrão aprovado pela RDC n° 263, de 22 de Setembro de 2005 que especifica que a umidade máxima para amido de mandioca seja de 18 % (18 g/100 g) (ANVISA, 2005). A determinação das cinzas é útil para controlar a presença de resíduos de solo no processamento do amido (MARCON, 2009). O teor de cinzas também encontra-se de acordo com a legislação (máximo de 0,25 %)(ANVISA, 2005). Dos constituintes presentes em menores concentrações, o que mais influencia as propriedades funcionais dos amidos são os lipídios. Presentes principalmente nos cereais, os lipídios afetam a gelatinização, modificam o comportamento reológico das pastas e inibem a cristalização das moléculas, reduzindo assim a retrogradação (WANG et al., 1993). O teor de lipídios do amido em estudo foi de 0,25 %. Comparando com os resultados encontrados por Jensen et al. (2009), de 0,24 % e Mali et al. (2005), de 0,28 % o valor foi condizente. O valor encontrado nesse estudo ficou acima do encontrado por Rocha et al. (2008) para a mandioquinha salsa (0,13 %) e abaixo do encontrado por Galdeano et al. (2009) para amido de aveia (1,36 %).

Mesmo que em pequenas quantidades, o amido pode ainda apresentar como constituintes substâncias protéicas. Alguns destes materiais contribuem como componentes superficiais do grânulo e desempenham papel importante em muitas aplicações do amido (GALLIARD e BOWLER, 1987). Como esperado para amido de raízes e tubérculos, o amido de mandioca mostrou baixo teor de proteína (0,15 %). Este valor foi menor que o encontrado por Castro et al. (2005), que obteve 0,67 %. O teor de fibras do amido em estudo (0,55 %) é condizente com o encontrado por Franco e Ciacco (1992) (0,6 %). Segundo Hoover (2001),

amidos de raízes e de tubérculos são caracterizados por conter baixos teores de resíduo mineral fixo, lipídios e proteínas. No total, os teores destes compostos presentes no amido de mandioca em estudo não atingiram 1,0 % do total, indicando a eficiência no processo de extração desta matéria-prima que apresenta alto grau de pureza.

Há relatos na literatura de que a amilose e amilopectina podem variar em função da existência de cadeias laterais. Esta suposição poderia explicar os diferentes resultados de amilose obtidos pelos vários autores. Estas diferenças podem ser também atribuídas ao grau de maturação e a idade das plantas, sendo que as diferentes proporções destes polímeros influenciam na viscosidade e gelatinização do amido (BOBBIO e BOBBIO, 1995). O conteúdo de amilose do amido de mandioca foi de 23,5 % (Tabela 26). Bicudo (2008), encontrou teor de amilose para o amido de mandioca de 17,3 %, Peroni et al. (2006) encontraram valores de 19,8 %; Silva e Cabello (2006), estudando seis diferentes amostras de amido de mandioca, obtiveram resultados de amilose de 17,17 % a 19,67 %. Valores variando de 25,95 a 32,09 % de amilose foram encontrados por Nunes et al. (2009), utilizando a mesma metodologia empregada neste estudo. Já Daiuto et al. (2002), utilizando como padrão a amilose extraída da mandioca, encontraram 23,45 % de amilose. A somatória de todas as substâncias acompanhantes, entretanto, é de 0,99 %, atestando a pureza do amido extraído para uso posterior na elaboração de filmes flexíveis (bionanocompósitos).

3.2. Difractometria de raios-x (DRX)

Os grânulos de amido, por serem parcialmente cristalinos, proporcionam padrões específicos de difração de raios-x. O tipo A é comum para amidos de cereais e o tipo B para amidos de tubérculos e amidos ricos em amilose. Outro difratograma, o tipo C, é conhecido como uma mistura dos diagramas do tipo A e do tipo B e é característico da maior parte dos amidos de legumes, e também de cereais que cresceram em condições específicas de temperatura e hidratação (PARKER e RING, 2001).

Alguns picos de intensidade de refração são característicos do tipo de cristalinidade. Para o padrão A, estes picos aparecem, predominantemente, como um duplete em 2θ igual a 17 e 18° e um único pico ocorrendo em torno de 2θ igual a 23°, além de um aumento na intensidade relativa da banda em 2θ igual a 15°. Amidos do padrão B são reconhecidos pela intensidade do pico correspondente a um duplete em 2θ igual a 5 e 6°, um pico intenso a 17° e um duplete a 22 e 24°. Grande parte dos amidos de raízes e tuberosas possui padrão de difração de raios-x do tipo B. Porém, existem algumas exceções, tais como os amidos de

batata-doce (A, C), de mandioca (A, C_A) e inhame (A) (HOOVER, 2001). O difratograma do amido de mandioca está apresentado na Figura 45.

De um modo geral, os difratogramas de raios-x apresentam perfil semelhante, pelo fato de que os amidos têm estrutura micro-cristalina. De acordo com Biliaderis (1992), Franco e Ciacco (1995) e Lacerda (2006), a região de maior cristalinidade é aquela que possui maior concentração de amilopectina.

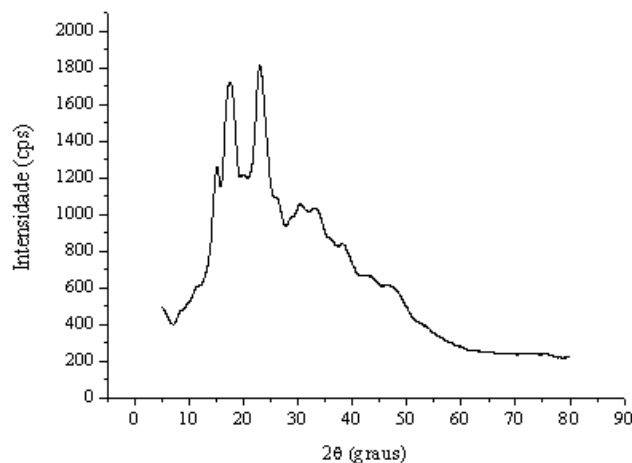


Figura 45. Difratograma de raios-x do amido de mandioca.

Pode-se notar a presença de cinco picos principais em torno dos ângulos de difração de 15, 17, 18, 20 e 23° picos estes característicos dos grânulos de estrutura tipo A. A presença de um pico fraco ao redor do ângulo de difração de 6° é atribuída ao tipo de cristalinidade B (FRANCO et al., 2001). Este pico fraco, junto a um pico mais intenso em 17°, permite a classificação desse amido como C_A (C com proximidade ao A), denominado por Kawabata et al. (1984). Estes resultados estão de acordo com Sarmiento (1997) que observou o mesmo padrão de cristalinidade para amido de mandioca.

O amido em estudo apresentou índice de cristalinidade de 31,86 %. Buléon et al. (1998), encontraram valor de índice de cristalinidade de 24,0 % e Ferrini (2006), de 25,24 % para o amido de mandioca. Já Srichuwong et al. (2005) obteve 31,0 %, valor próximo ao obtido neste trabalho.

3.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 46 mostra as fotomicrografias obtidas através de microscopia eletrônica de varredura do amido de mandioca. A Figura (a) está com aumento de 500x, (b) de 700x, (c) de 1000x e (d) de 2000x.

As variações de tamanho e forma dos grânulos de amido são atribuídas à origem biológica da planta. A morfologia do grânulo de amido depende da bioquímica do cloroplasto ou amiloplasto, assim como da fisiologia da planta (SINGH et al., 2003). No entanto, existem diversos fatores que podem influenciar as propriedades do grânulo de amido e, por conseguinte, as suas propriedades físico-químicas, entre as quais se encontram os fatores ambientais, como temperatura, armazenamento e práticas culturais aplicadas (KAUR et al., 2007).

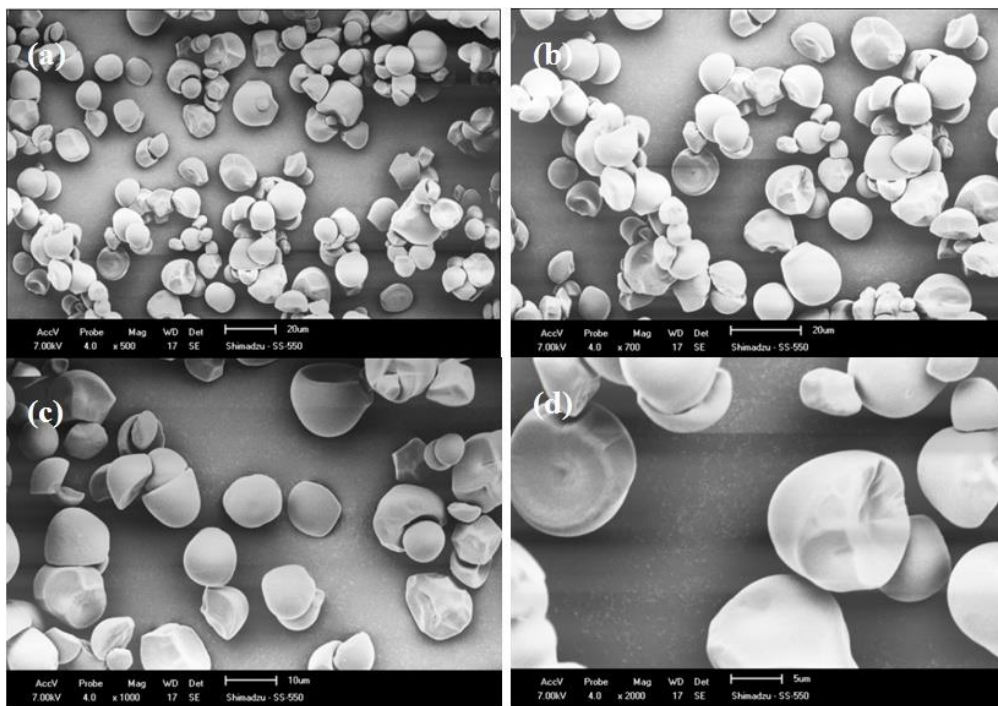


Figura 46. Microscopia eletrônica de varredura de grânulos de amido de mandioca em aumentos de (a) 500x, (b) 700x, (c) 1000x e (d) 2000x.

Pode ser observado na figura acima que a superfície da maior parte dos grânulos de amido apresenta-se lisa sem irregularidades ou porosidade superficial, destacando principalmente os formatos circular e ovalado. Alguns grânulos mostraram depressões na superfície como se fosse resultado da fricção com outros grânulos durante o processo de extração do amido ou mesmo um tipo de corrosão causada pelo ataque enzimático.

A observação microscópica dos grânulos de amido de mandioca mostrou grânulos de forma circular com diferentes tamanhos (4,4 a 27,8 μm), com uma distribuição concentrada na faixa de 14,3 a 19,1 μm de diâmetro. Segundo Rickard et al. (1991), as formas encontradas para o amido de mandioca são redonda, oval, truncada, poligonal e cilíndrica. Quanto ao tamanho, Defloor et al. (1998) citam diâmetros variáveis de 3 a 32 μm .

Leonel (2007), analisando a forma e tamanho de grânulos de amido de diferentes fontes botânicas, observou as formas circulares e côncavo-convexas para mandioca, com diferentes tamanhos, justificados pelo processo de tuberização da raiz a partir de um câmbio central, com predomínio de grânulos com diâmetro entre 15 e 20 μm

Observações similares para amidos de diferentes fontes botânicas foram reportadas no trabalho de Fennema (2000) que cita que o diâmetro médio do grânulo do amido de milho está em 15 μm ; da batata branca em 33 μm ; da batata doce entre 25 e 50 μm ; da mandioca em 20 μm ; do trigo entre 20 e 22 μm e do arroz em 5 μm . A variação no tamanho e forma dos grânulos do amido de mandioca encontrados nesse estudo estão de acordo com os reportados na literatura.

3.4. Análise Térmica

3.4.1. Termogravimetria (TGA) / Termogravimetria derivada (DTG)

A Figura 47 apresenta as curvas TGA/DTG do amido de mandioca. A curva TGA da amostra em estudo ilustra as perdas de massa em duas etapas, a primeira referente à desidratação seguida da reação de decomposição do material, cujas temperaturas e porcentagens de perda de massa estão demonstradas na Tabela 27.

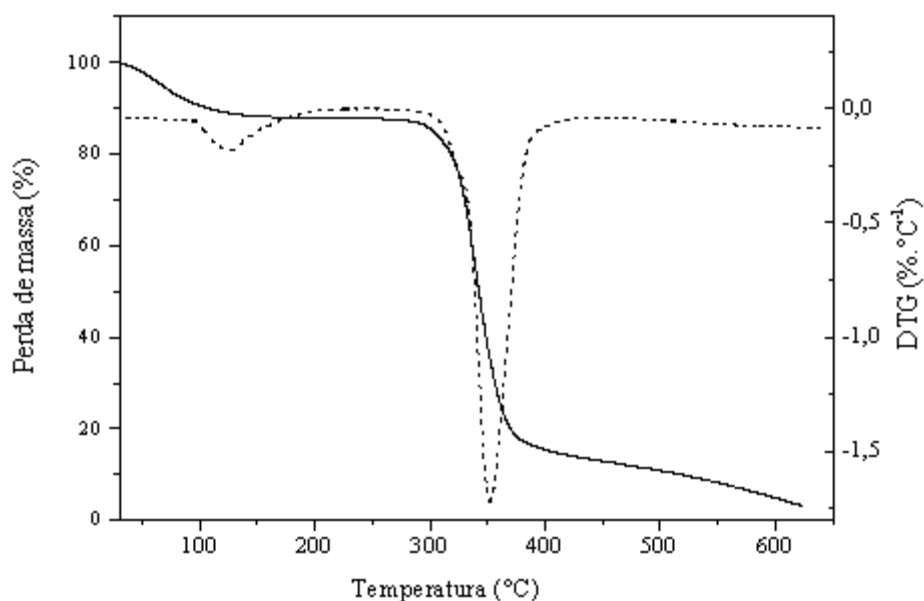


Figura 47. Curva TGA (—) e DTG (---) de amido de mandioca.

Constata-se na Figura 47 e Tabela 27 que o primeiro evento ocorre desde a temperatura ambiente até 168 °C, correspondendo a 12,03 % de perda de massa atribuída à saída de água anteriormente absorvida pelo amido quando exposto ao ambiente. Foi observado que o amido de mandioca degradou-se em apenas uma etapa, com perda de massa de 82,83 %, na faixa de temperatura entre 312 e 433 °C e temperatura de velocidade máxima de degradação em torno de 339 °C. Entretanto, ainda restaram 5,14 % de resíduos da amostra, resultado de materiais que não conseguiram volatilizar a temperatura final de análise, tais como cinzas. De acordo com Liu et al (2009) a temperatura inicial de desidratação do amido não afeta o início da temperatura de decomposição, porque toda água se evapora antes.

Tabela 27. Intervalos de temperaturas de desidratação e de decomposição, temperaturas de pico e perdas de massa obtidas por TGA do amido de mandioca.

Amostra	Desidratação			Decomposição		
	ΔT_1 (°C)	T_{p1} (°C)	Δm_1 (%)	ΔT_2 (°C)	T_{p2} (°C)	Δm_2 (%)
Amido de mandioca	25 - 168	68	12,03	312 - 433	339	82,83

Segundo Aggarwal e Dollimore (1998), o tratamento térmico em amidos normalmente leva a sua despolimerização quando a temperatura aplicada excede 300 °C. De acordo com Raphael (2006), o amido puro se degrada a 317 °C. Zang et al. (2002) reportam que o início das reações térmicas de degradação do amido são ao redor de 300 °C.

Beninca (2008) relata em seu trabalho com amido nativo de mandioca três eventos de perda de massa. O primeiro, atribuído à desidratação do amido, ocorreu entre 30 e 113 °C (12,8 %). Os eventos seguintes de decomposição ocorreram entre 309 e 347 °C (68,4 %) e 347 e 554 °C (19,2 %), respectivamente em análise realizada no equipamento TG 60 (Shimadzu), massa da amostra de 9 mg, atmosfera de ar sintético a uma vazão de 100 mL min⁻¹, razão de aquecimento de 20 °C.min⁻¹, de 30 °C a 600 °C.

Ramírez (2011) verificou que a perda de massa do primeiro estágio, relativo à saída de água do amido de mandioca, foi de 13,73 %, entre 40 e 120 °C. A decomposição da amostra ocorreu em duas etapas, à primeira entre 310 e 350 °C (71,45 %) e a segunda entre 350 e 600 °C (14,0 %). O TGA foi realizado nas seguintes condições: faixa de temperatura em atmosfera inerte (N₂) entre 25 e 550 °C, vazão de 50 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 20 °C.min⁻¹ e balança termogravimétrica Netzsch.

As condições nas quais as análises térmicas são realizadas podem influenciar diretamente nos resultados obtidos, esses fatores pertinentes podem promover modificações nas curvas TGA, DTA e DSC. Podem ser eles: razão de aquecimento, natureza do suporte de

amostras, profundidade do raio do orifício de suporte no qual é colocada a amostra, localização, natureza e dimensões dos termopares diferenciais, equipamentos diferentes, calibração do equipamento, natureza da substância inerte utilizada como referência, compactação da amostra e influência da atmosfera do forno (WENDLANT, 1986; IONASHIRO, 2005).

3.4.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Em uma curva de DSC, picos exotérmicos e endotérmicos caracterizam transições ou reações que tenham ocorrido durante a análise, como transição vítrea, gelatinização, fusão, oxidação e decomposição, entre outras.

A gelatinização ocorre quando o arranjo molecular entra em colapso, onde o grânulo de amido passa por alterações irreversíveis em suas propriedades, o grânulo intumescce, há perda de birrefringência, solubilização do amido e formação de pasta. O início da gelatinização e as condições em que ocorre são determinados pela concentração de amido, método de análise, tipo de grânulo e fonte botânica (APLEVICZ, 2006). A energia requerida para promover tal desordem molecular, entalpia de gelatinização, pode ser observada por DSC a qual, também, permite determinar uma faixa de temperatura onde ocorre a gelatinização (THOMAS e ATWELL, 1999). Em seu estudo, Biliaderis (1992), mencionam que a ocorrência de gelatinização depende da quantidade de água no sistema, influenciando, assim, na curva DSC, quanto mais água no sistema menor é a temperatura do evento e mais definida é a curva.

O curva DSC e as propriedades térmicas do amido de mandioca avaliadas em calorímetro diferencial de varredura (DSC 60) podem ser avaliadas na Tabela 28 e na Figura 48, respectivamente.

Tabela 28. Parâmetros de gelatinização do amido de mandioca.

T_{início} (°C)	55,59
T_{pico} (°C)	63,19
T_{final} (°C)	68,10
ΔT (°C)	12,51
ΔH (Jg⁻¹)	10,16

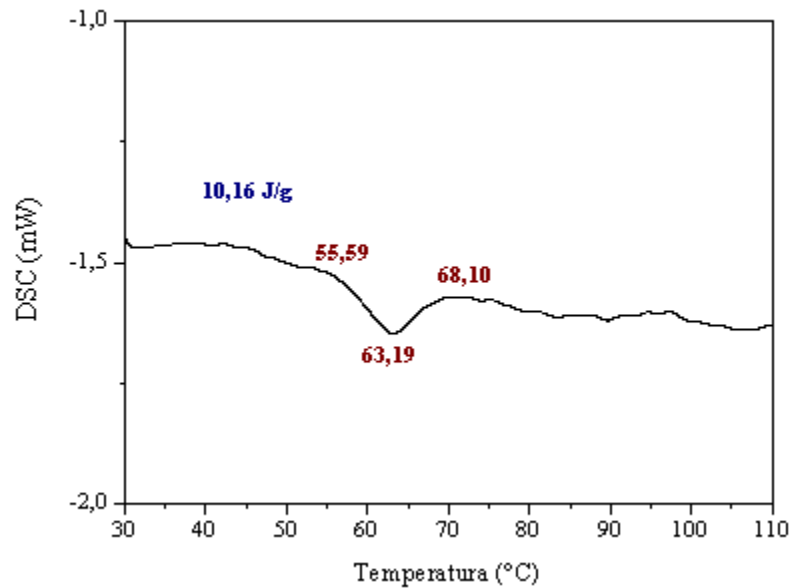


Figura 48. Curva DSC para o amido de mandioca.

Pode-se observar pela Tabela 28 que o amido de mandioca apresenta uma faixa de temperatura de gelatinização (12,51 °C), tal como descrito na literatura (COSTA, 2010).

Lacerda (2006) empregou técnicas termoanalíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amidos de matérias-primas tropicais, para obter a entalpia de gelatinização. Para a análise de DSC foi utilizado um DSC 60 Shimadzu, amido de mandioca nativo e água na razão aproximada de 1:4 (amido:água) com repouso de 2 horas. Com auxílio de micro-pipeta, foram retirados 10 μL da mistura e inserido a um cadinho de alumínio selável. O DSC foi realizado nas seguintes condições: atmosfera de ar sintético a uma vazão de 100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; razão de aquecimento de 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, de 30 $^{\circ}\text{C}$ a 80 $^{\circ}\text{C}$. Para tais condições, a temperatura de pico de gelatinização foi obtida em 63,43 $^{\circ}\text{C}$ e entalpia de 12,89 $\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$.

Freitas et al. (2004) também realizaram trabalhos com mandioca numa razão de aquecimento de 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e com fluxo de nitrogênio a 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e encontraram T_0 de 51,5 $^{\circ}\text{C}$, T_p de 63,5 $^{\circ}\text{C}$ e ΔH de 6,5 $\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$, iniciando a partir de uma suspensão de 5,0 mg de amido e 10,0 mg de água, pesados diretamente no cadinho, onde permaneceram em equilíbrio por 30 minutos. Os estudos de Lacerda (2006) e Freitas et al.(2004) foram realizados em condições diferentes as utilizadas neste trabalho, e os resultados indicam que possivelmente os grânulos de amido sofreram entumescimento diferenciado, uma vez que o preparo de amostra e tempo de repouso foram diferentes.

O tamanho dos grânulos pode influenciar nas temperaturas de gelatinização (T_0 e T_p), onde grânulos menores proporcionam maiores temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e final). As temperaturas de gelatinização e entalpias são alteradas pela forma e a composição

do grânulo (zonas cristalinas e amorfas), distribuição de pequenos e grandes grânulos, e pelas fontes dos amidos que podem conter quantidades diferenciadas de amilose, amilopectina e fósforo (YONEMOTO et al., 2008).

3.5. Índice de Solubilidade (IS) e Poder de Inchamento (PI)

O índice de solubilidade e o poder de inchamento do grânulo variam de acordo com vários fatores, tais como: a origem do amido, o teor de amilose e amilopectina e o processo de isolamento, fornecendo evidências da interação entre as cadeias nos domínios amorfos e cristalinos dos polissacarídeos. Com a entrada de água, grande parte da amilose deixa os grânulos e contribui para o índice de solubilização, determinado após centrifugação do gel de amido, no sobrenadante. (MARCON et al., 2007; NAKORN et al., 2009). O poder de inchamento é uma medida da capacidade de hidratação dos grânulos, porque a sua determinação consiste no peso do grânulo intumescido (inchado) e da água oclusa (ASAOKA et al., 1992 apud MARCON et al., 2007).

Quando os grânulos de amido intactos são colocados em água fria, não são solúveis, mas podem reter pequenas quantidades de água, causando um pequeno inchamento reversível (WHISTLER e DANIEL, 1993). No entanto, quando o amido é aquecido em água, acima da temperatura de gelatinização, a estrutura cristalina é rompida devido ao relaxamento das ligações de hidrogênio e as moléculas de água interagem com os grupos hidroxilas da amilose e da amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho do grânulo devido ao inchamento, com solubilização parcial (HOOVER, 2001).

Os resultados do índice de solubilidade, expressos em porcentagem em peso, e do poder de inchamento, expresso em vezes de ganho de peso em relação à massa de amostra inicial, são mostrados nas Tabelas 29 e 30.

Tabela 29. Efeito da temperatura no índice de solubilidade do amido de mandioca (%).¹

Amostra	25°C	55°C	65°C	75°C	85°C	95°C
Amido de mandioca	0,61 ± 0,13	0,73 ± 0,08	5,20 ± 0,17	7,50 ± 0,21	20,81 ± 0,04	26,69 ± 0,15

¹Média ± desvio padrão

Tabela 30. Efeito da temperatura no poder de inchamento do amido de mandioca (g H₂O/g amido base seca).¹

Amostra	25°C	55°C	65°C	75°C	85°C	95°C
Amido de mandioca	2,89 ± 0,09	3,08 ± 0,12	13,33 ± 0,05	16,79 ± 0,25	24,20 ± 0,16	28,99 ± 0,2

¹Média ± desvio padrão

Analisando as tabelas acima é possível verificar que o índice de solubilidade e o poder de inchamento aumentam com o aumento da temperatura, sendo que após 55 °C, os resultados se tornam mais pronunciados, indicando a ruptura das ligações internas do grânulo. Esse comportamento era esperado, uma vez que a temperatura inicial de gelatinização observada no DSC foi de 55,6 °C. Tanto o IS quanto o PI do amido dependem do arranjo das moléculas de amilose e amilopectina nos grânulos de amido e por isso os dois índices mostram comportamento similar. O aumento da temperatura provoca rompimento de ligações intermoleculares e a abertura das cadeias permite a entrada de moléculas de água (AGUNBIADE e LONG, 1999).

Na temperatura de 95 °C foi encontrado os maiores valores de solubilidade (26,69 %) e inchamento (28,99 g/g). De acordo com Hashim et al. (1992), durante a faixa de temperatura de gelatinização, o grânulo de amido tem um limitado inchamento onde somente uma pequena quantidade de carboidratos é solubilizada, mas a medida que a temperatura aumenta, acima da faixa de temperatura de gelatinização, existe um aumento do poder de inchamento e uma grande quantidade de carboidratos é lixiviada a partir do grânulo de amido.

Peroni (2003) determinou o PI e o IS dos amidos de mandioca, batata-doce, araruta, taro, mandioquinha-salsa, inhame, biri, açafrão e gengibre nas temperaturas de 60, 70, 80, 90 e 95 °C, mas apenas o amido de gengibre foi analisado a temperatura de 95 °C apresentando poder de inchamento de 11,39 (g/g) e solubilidade de 10,59 %. Quanto às outras fontes, estas foram estudadas até temperatura de 90 °C apresentando os seguintes resultados para poder de inchamento e solubilidade, respectivamente, mandioca 78,33 (g/g) e 30,47 %, batata-doce 23,71 (g/g) e 16,53 %, araruta 41,06 (g/g) e 19,47 %, taro 19,03 (g/g) e 5,91 %, mandioquinha-salsa 71 (g/g) e 27,07 %, inhame 21,19 (g/g) e 15,05 %, biri 21,81 (g/g) e 6,0 % e açafrão 27,82 (g/g) e 13,03 %. Ratnayake et al. (2001) encontraram um valor de solubilidade de 27,2 % para amido de lentilha a 95 °C.

Amidos ricos em amilose mostram inchamento e solubilidade restritos, mesmo após um período prolongado de aquecimento (CEREDA et al., 2002). Sandhya Rani e Bhattacharya (1989) mostraram que grânulos de amido com baixa quantidade de amilose são menos rígidos e absorvem mais água quando aquecidos. Cereda et al. (2002) mostraram valores de amilose para amidos de mandioca (20,4 a 25,4 %), batata (17 a 21,8 %), milho (15,6 a 25,8 %), trigo (13 a 18,2 %), batata-doce (18,7 a 21,3 %), mandioquinha-salsa (14,2 a 18,0 %). Comparado a esses valores com o amido em estudo, o valor encontrado (23,5 %) está condizente com o mostrado pelo autor.

3.6. Claridade da Pasta de Amido

A claridade de pasta é um atributo importante para aplicação do amido em alimentos. Dependendo do produto, pode ser preferível a característica de transparência ou de opacidade. Segundo Craiget al. (1989), as pastas podem ser classificadas em duas categorias, dependendo da sua estrutura. A pasta transparente possui pouca associação das cadeias após a formação de pasta, sem estrutura granular, o que favorece a passagem da luz através dela. A pasta opaca apresenta uma estrutura granular mais organizada, com maior associação entre as cadeias, o que dificulta a passagem de luz. Entre essas pode haver variações na claridade de acordo com a associação molecular.

A transparência da pasta medida por absorbância (640 nanômetros) é mostrada na Figura 49. No resultado apresentado, o gel de amido de mandioca apresentou absorbância de 0,43 a 640 nm, após 5 dias de armazenamento a temperatura de 4 °C, onde foi possível observar também o aumento da turbidez dos géis com o tempo de estocagem. Esse aumento da turbidez pode estar relacionado com o rearranjo das moléculas de amilose e amilopectina, o que provoca a dispersão da luz.

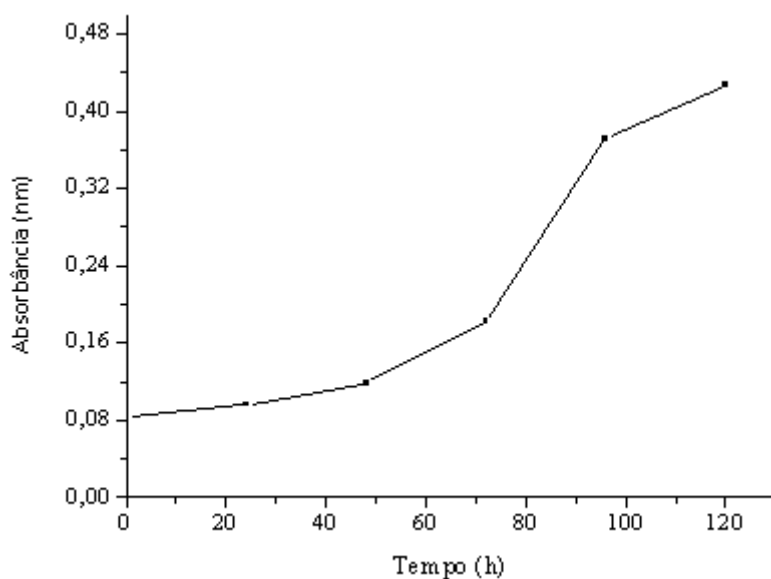


Figura 49. Absorbância a 640 nm para o gel de amido de mandioca armazenado a 4 °C durante 5 dias.

Craig et al. (1989) encontraram a 650 nm valores de absorbância para pastas de amido de batata de 0,36; mandioca de 0,48; trigo de 0,92 e milho de 1,22. Amidos com maior teor de amilose e com alta tendência a retrogradação apresentam géis opacos e mais firmes, pois a maior compactação das moléculas dificulta a passagem de luz (SILVA et al., 2006 e MATSUGUMA, 2006). Nesse trabalho foi encontrado teor de amilose 23,5 % e absorbância

de 0,43 % ao final do tempo de análise indicando coerência com os resultados encontrados na literatura.

Takizawa et al. (2004) em seu trabalho não apresentaram valores numéricos para análise de claridade de pasta. Adotaram uma classificação como transparentes, translúcidas (podendo ser considerada como moderadamente transparente) e opacas. Para seus amidos oxidados a maioria foi considerada como transparente e translúcida, já para os amidos nativos a única amostra considerada como transparente foi a mandioca-salsa.

4. Filmes Flexíveis (bionanocompósitos)

Nesta etapa foi realizado um planejamento estatístico DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) fracionado 2^4 , com dois pontos axiais ($\alpha = \pm 1,41$) para cada variável independente e triplicata do ponto central, totalizando 27 experimentos. A elaboração dos filmes flexíveis (bionanocompósitos) foi realizada segundo a técnica *casting*, ou seja, soluções filmogênicas com diferentes percentagens de amido de mandioca (3,5 a 5,5 %), glicerol (0,6 a 1,6 %), goma xantana (0,0 a 0,06 %) e *nanowhiskers* (0,0 a 0,6 %) foram preparadas e a influência de cada componente sobre as respostas (espessura, atividade de água, umidade, permeabilidade ao vapor d'água, taxa de permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade em água, intumescimento em água, tensão na ruptura, deformação na ruptura, módulo de elasticidade, análise termogravimétrica e cor) foi investigada. Para comparação dos resultados das análises foi utilizado um controle (C - filme de amido de mandioca e glicerol sem a goma xantana e os *nanowhiskers* de celulose), composto de 4,5 % de amido de mandioca e 1,1 % de glicerol. Para a formulação do controle, usou-se como parâmetro os percentuais de amido e de glicerol que mais estiveram presentes nas formulações obtidas pelo planejamento experimental. A análise de variância (ANOVA) foi realizada a 95 % e a 99 % de confiança, entretanto, para melhor compreensão dos resultados, a discussão dos subitens mostrados a seguir foi realizada a 99 % de confiança.

4.1. Propriedades de barreira dos bionanocompósitos

Os bionanocompósitos foram elaborados a partir de valores estabelecidos pelo planejamento experimental, sendo pesadas para todas as formulações 50 gramas de solução filmogênica em placas de Petri, que os deixaram com espessuras variáveis. Os resultados encontrados foram inicialmente tratados pelo teste de Tuckey para identificar se as alterações nos parâmetros avaliados foram significativas ao nível de 99 % de confiança.

A medida de espessura variou entre os diferentes ensaios de 0,111 mm para o E2 (4,00 % de amido de mandioca, 0,85 % de glicerol, 0,015 % de xantana e 0,45 % de *nanowhiskers*) a 0,152 mm para o E15 (5,00 % de amido de mandioca, 1,35 % de glicerol, 0,045 % de xantana e 0,15 % de *nanowhiskers*) havendo dessa forma diferenças significativas entre as amostras avaliadas ($p < 0,01$) quando comparadas com o filme controle (0,153 mm) (Tabela 31).

Segundo Gennadios et al. (1993), o controle da espessura dos filmes é importante para definir a uniformidade desses materiais, para a repetibilidade das medidas das propriedades e validade das comparações entre propriedades dos filmes. A espessura dos filmes de amido é de difícil controle, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting* (SOBRAL, 1999). Da Matta Junior (2009) cita que este parâmetro pode variar com a composição utilizada, quantidade de solução filmogênica adicionada à placa e processo de obtenção dos mesmos, dentre outros fatores.

Vários estudos de filmes de amido elaborados por *casting* e plastificados com açúcar invertido e sacarose, com incorporação de polpa de manga e acerola (SOUZA et al., 2011), extrato e azeite de dendê (GRISI, 2008), cacau e extrato de café (SILVA, 2009), relatam espessuras que variaram de 0,123mm a 0,141mm, 0,125 a 0,160 mm e de 0,113 a 0,143 mm, respectivamente, sem diferenças significativas entre as diferentes formulações ($p > 0,05$). A mesma matriz plastificada com glicerol e com incorporação de extrato de erva-mate e polpa de manga foi moldada na forma de filme por *casting*, resultando em espessuras que variaram entre 0,111 mm a 0,125 mm, sem diferenças significativas entre as formulações ($p > 0,05$) (REIS, 2011). Liu et al. (2005) estudaram a espessura de filmes de amido de ervilha obtidos por extrusão e encontram valores bem mais elevados de espessura (0,327 a 0,422 mm) do que estes obtidos por *casting*.

De acordo com o gráfico de Pareto (Anexo I, Figura 1), a espessura dos filmes foi influenciada significativamente ($p < 0,01$) pelo efeito linear da concentração de amido de mandioca. Fato este já esperado, na qual o percentual de amido presente na formulação é o principal responsável pela espessura dos bionanocompósitos.

A análise de variância (ANOVA), reportada no Anexo II, mostra que um modelo polinomial de segunda ordem foi ajustado para a variável espessura com 99 % de confiança e, portanto considerado preditivo. A predição do modelo foi verificada pelo fato do F calculado ter sido aproximadamente 5,3 vezes maior do que o F tabelado. De acordo com Barros Neto et al. (2010) o valor de F calculado deve ser de 4 a 5 vezes maior que o F tabelado para o modelo ser preditivo.

Tabela 31. Médias (\pm desvio padrão) das análises de caracterização das formulações dos filmes e controle (C). e (espessura - mm); aw (atividade de água); U (Umidade - %), PVA (permeabilidade ao vapor de água - g/Pa.s.m), TPVA (taxa de permeabilidade ao vapor de água - g/dia.m²), S (solubilidade - %) e SW (grau de intumescimento - g água/g sólidos secos).

Ensaio	Amido %	Glicerol %	GX %	NWC %	e \pm dp	aw \pm dp	U \pm dp	PVA \pm dp	TPVA \pm dp	S \pm dp	SW \pm dp
Controle	4,50	1,10	-	-	0,153 \pm 0,06 ^a	0,532 \pm 0,06 ^{c,d,e}	14,68 \pm 0,1 ^{b,c,d,e}	2,16x10 ⁻⁸ \pm 0,3 ^{d,e,f,g,h}	328 \pm 0,1 ^d	19,41 \pm 0,08 ^{e,f,g}	3,78 \pm 0,2 ^e
1	4,00	0,85	0,015	0,15	0,125 \pm 0,05 ^{l,m}	0,561 \pm 0,2 ^b	12,82 \pm 0,4 ^{g,h}	1,51x10 ⁻⁸ \pm 0,5 ^{m,n}	266 \pm 0,1 ^{j,l}	19,33 \pm 0,2 ^{e,f,g}	4,89 \pm 0,2 ^{e,f}
2	4,00	0,85	0,015	0,45	0,111 \pm 0,1 ^q	0,553 \pm 0,09 ^b	12,55 \pm 0,06 ^{g,h}	1,53x10 ⁻⁸ \pm 0,09 ^{m,n}	289 \pm 0,2 ^h	18,45 \pm 0,06 ^{i,l}	5,37 \pm 0,06 ^{b,c,d}
3	4,00	0,85	0,045	0,15	0,113 \pm 0,04 ^{p,q}	0,564 \pm 0,1 ^b	13,70 \pm 0,09 ^{c,d,e,f,g}	1,21x10 ⁻⁸ \pm 0,4 ^o	238 \pm 0,03 ⁿ	16,51 \pm 0,08 ^l	5,80 \pm 0,04 ^{b,c,d}
4	4,00	0,85	0,045	0,45	0,112 \pm 0,2 ^q	0,554 \pm 0,1 ^b	13,41 \pm 0,06 ^{e,f,g}	1,31x10 ⁻⁸ \pm 0,07 ^{n,o}	286 \pm 0,5 ^m	17,78 \pm 0,2 ^{h,i,j}	5,94 \pm 0,1 ^{a,b,c}
5	4,00	1,35	0,015	0,15	0,126 \pm 0,03 ^l	0,506 \pm 0,3 ^{f,g,h}	14,67 \pm 0,04 ^{c,d,e}	1,90x10 ⁻⁸ \pm 0,2 ^{i,j,l}	288 \pm 0,07 ⁱ	19,58 \pm 0,09 ^{d,e,f}	3,04 \pm 0,05 ^{h,i,j}
6	4,00	1,35	0,015	0,45	0,125 \pm 0,05 ^{l,m}	0,459 \pm 0,1 ^m	14,22 \pm 0,3 ^{c,d,e,f}	2,00x10 ⁻⁸ \pm 0,1 ^{h,i,j,l}	298 \pm 0,2 ^g	19,91 \pm 0,06 ^{d,e}	2,79 \pm 0,02 ^j
7	4,00	1,35	0,045	0,15	0,149 \pm 0,08 ^{b,c}	0,526 \pm 0,06 ^{d,e,f}	14,94 \pm 0,04 ^{b,c}	1,59x10 ⁻⁸ \pm 0,1 ^{m,n}	262 \pm 0,5 ^{j,l}	21,55 \pm 0,2 ^c	2,80 \pm 0,07 ^j
8	4,00	1,35	0,045	0,45	0,121 \pm 0,04 ⁿ	0,477 \pm 0,07 ^{j,l,m}	14,06 \pm 0,1 ^a	1,68x10 ⁻⁸ \pm 0,06 ^{l,m}	275 \pm 0,5 ^{h,i}	21,08 \pm 0,01 ^c	2,73 \pm 0,05 ^j
9	5,00	0,85	0,015	0,15	0,133 \pm 0,02 ^{h,i,j}	0,519 \pm 0,07 ^{e,f,g}	13,52 \pm 0,1 ^{d,e,f,g}	1,63x10 ⁻⁸ \pm 0,2 ^{l,m}	247 \pm 0,4 ^{l,m}	19,59 \pm 0,1 ^{e,f,g}	5,38 \pm 0,3 ^{d,e}
10	5,00	0,85	0,015	0,45	0,132 \pm 0,05 ^{i,j}	0,481 \pm 0,2 ^{i,j,l}	13,01 \pm 0,03 ^{f,g,h}	2,34x10 ⁻⁸ \pm 0,3 ^{d,e}	291 \pm 0,05 ^{h,i}	20,11 \pm 0,06 ^d	5,85 \pm 0,3 ^{c,d}
11	5,00	0,85	0,045	0,15	0,146 \pm 0,08 ^{c,d}	0,551 \pm 0,02 ^{b,c}	12,94 \pm 0,2 ^{f,g,h}	1,94x10 ⁻⁸ \pm 0,07 ^{g,h,i,j}	306 \pm 0,01 ^f	18,97 \pm 0,3 ^{i,l}	6,05 \pm 0,6 ^a
12	5,00	0,85	0,045	0,45	0,138 \pm 0,03 ^{e,f,g}	0,489 \pm 0,02 ^{h,i,j}	10,95 \pm 0,02 ^{i,j}	2,21x10 ⁻⁸ \pm 0,09 ^{e,f,g,h,i}	326 \pm 0,1 ^f	18,32 \pm 0,1 ^{e,f,g,h}	6,10 \pm 0,2 ^{a,b}
13	5,00	1,35	0,015	0,15	0,144 \pm 0,02 ^d	0,500 \pm 0,05 ^{g,h,i}	13,40 \pm 0,2 ^{e,f,g}	2,27x10 ⁻⁸ \pm 0,1 ^{d,e,f,g}	307 \pm 0,3 ^{e,f}	20,11 \pm 0,06 ^d	3,54 \pm 0,05 ^e
14	5,00	1,35	0,015	0,45	0,137 \pm 0,1 ^{e,f,g}	0,409 \pm 0,1 ⁿ	10,30 \pm 0,2 ^j	2,58x10 ⁻⁸ \pm 0,1 ^{b,c}	325 \pm 0,5 ^e	22,77 \pm 0,05 ^b	3,05 \pm 0,07 ^{h,i,j}
15	5,00	1,35	0,045	0,15	0,152 \pm 0,07 ^{a,b}	0,462 \pm 0,01 ^{l,m}	13,03 \pm 0,1 ^{f,g,h}	2,15x10 ⁻⁸ \pm 0,05 ^{e,f,g,h}	333 \pm 0,4 ^e	21,84 \pm 0,2 ^c	2,84 \pm 0,04 ^{i,j}
16	5,00	1,35	0,045	0,45	0,150 \pm 0,04 ^{a,b}	0,408 \pm 0,02 ⁿ	10,02 \pm 0,04 ^j	2,78x10 ⁻⁸ \pm 0,3 ^{a,b}	339 \pm 0,4 ^d	22,67 \pm 0,03 ^{b,c}	2,76 \pm 0,05 ^{i,j}
17	3,50	1,10	0,030	0,30	0,116 \pm 0,09 ^{o,p}	0,403 \pm 0,06 ⁿ	12,34 \pm 0,08 ^{g,h}	2,26x10 ⁻⁸ \pm 0,09 ^{d,e,f,g}	369 \pm 0,08 ^b	17,31 \pm 0,06 ^{i,l}	2,99 \pm 0,1 ^{h,i}
18	5,50	1,10	0,030	0,30	0,145 \pm 0,1 ^d	0,404 \pm 0,02 ⁿ	9,99 \pm 0,06 ^j	2,34x10 ⁻⁸ \pm 0,1 ^{c,d,e,f}	311 \pm 0,1 ^{e,f}	24,46 \pm 0,07 ^b	6,42 \pm 0,05 ^{a,b}
19	4,50	0,60	0,030	0,30	0,130 \pm 0,07 ^j	0,399 \pm 0,01 ⁿ	13,47 \pm 0,02 ^{d,e,f,g}	1,53x10 ⁻⁸ \pm 0,1 ^{m,n}	275 \pm 0,05 ^j	14,32 \pm 0,01 ^{l,m}	2,68 \pm 0,08 ^{i,j}
20	4,50	1,60	0,030	0,30	0,144 \pm 0,05 ^d	0,368 \pm 0,09 ^o	12,60 \pm 0,3 ^{g,h}	2,98x10 ⁻⁸ \pm 0,5 ^a	363 \pm 0,3 ^d	26,44 \pm 0,09 ^a	2,52 \pm 0,07 ^j
21	4,50	1,10	0,000	0,30	0,137 \pm 0,2 ^{e,f,g}	0,548 \pm 0,3 ^{b,c}	14,78 \pm 0,2 ^{b,c,d}	2,67x10 ⁻⁸ \pm 0,09 ^a	374 \pm 0,2 ^b	18,89 \pm 0,02 ^{g,h,i}	3,42 \pm 0,05 ^{g,h}
22	4,50	1,10	0,060	0,30	0,117 \pm 0,07 ^o	0,462 \pm 0,1 ^{l,m}	12,03 \pm 0,04 ^{h,i}	1,99x10 ⁻⁸ \pm 0,06 ^{g,h,i}	341 \pm 0,2 ^a	17,33 \pm 0,1 ^{j,l}	5,22 \pm 0,3 ^{c,d}
23	4,50	1,10	0,030	0,00	0,136 \pm 0,06 ^{f,g,h}	0,553 \pm 0,1 ^b	14,99 \pm 0,01 ^{a,b}	2,01x10 ⁻⁸ \pm 0,08 ^{e,f,g,h,i}	350 \pm 0,07 ^c	19,43 \pm 0,08 ^{f,g,h,i}	2,82 \pm 0,1 ^{i,j}
24	4,50	1,10	0,030	0,60	0,122 \pm 0,04 ^{m,n}	0,539 \pm 0,08 ^a	9,85 \pm 0,07 ^j	2,10x10 ⁻⁸ \pm 0,3 ^{f,g,h,i}	353 \pm 0,1 ^d	20,48 \pm 0,2 ^d	4,77 \pm 0,06 ^f
25*	4,50	1,10	0,030	0,30	0,135 \pm 0,09 ^{g,h,i}	0,557 \pm 0,3 ^b	14,23 \pm 0,04 ^a	2,64x10 ⁻⁸ \pm 0,2 ^{b,c}	340 \pm 0,03 ^a	19,43 \pm 0,04 ^{d,e,f,g}	3,51 \pm 0,09 ^{g,h}
26*	4,50	1,10	0,030	0,30	0,139 \pm 0,2 ^{e,f}	0,550 \pm 0,08 ^{b,c}	14,22 \pm 0,02 ^a	2,66x10 ⁻⁸ \pm 0,09 ^{b,c,d}	344 \pm 0,2 ^a	19,40 \pm 0,1 ^{d,e,f,g}	3,85 \pm 0,04 ^g
27*	4,50	1,10	0,030	0,30	0,140 \pm 0,02 ^e	0,554 \pm 0,1 ^{b,c,d}	14,26 \pm 0,01 ^a	2,60x10 ⁻⁸ \pm 0,3 ^{b,c,d}	342 \pm 0,5 ^a	19,42 \pm 0,09 ^{d,e,f,g}	3,64 \pm 0,1 ^{g,h}
Intervalo	3,50-5,50	0,60-1,60	0,00-0,06	0,0-0,6	0,111-0,153	0,403-0,564	9,85-14,99	1,21x10 ⁻⁸ -2,98 x10 ⁻⁸	247-374	14,32-26,44	2,52-6,42
R M	-	-	-	-	27,4%	24,2 %	32,9%	43,9%	24,7%	-	33,3%
A M	-	-	-	-	0,0%	5,6 %	2,0%	27,5%	12,3%	64,4%	41,1%

* Pontos Centrais. Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas (p>0,01) pelo Teste de Tuckey a 99 % de confiança.

R M – Redução máxima das respostas em relação ao filme controle. A M - Aumento máximo das respostas em relação ao filme controle.

O tratamento dos dados experimentais para os diferentes ensaios resultaram em equações polinomiais de segunda ordem para cada superfície de resposta gerada para a espessura (e) dos bionanocompósitos, em função das variáveis independentes, amido de mandioca (% , X_1), glicerol (% , X_2), goma xantana (% , X_3) e *nanowhiskers* (% , X_4) (Anexo III). No Anexo IV são apresentados os gráficos de superfície de resposta gerados, a 99 % de confiança, entre as interações Amido x Glicerol, Amido x Goma xantana, Amido x *Nanowhiskers*, Glicerol x Goma xantana, Glicerol x *Nanowhiskers*, Goma xantana x *Nanowhiskers* para os 27 ensaios do planejamento experimental. O valor do coeficiente de determinação (R^2) do modelo foi 92,1 %, indicando que o modelo apresenta bom ajuste, e que apenas 7,9 % do total de variações não podem ser explicados pelo modelo proposto.

Observa-se nas superfícies de resposta obtidas a partir dos modelos codificados para a variável dependente espessura (Anexo IV) que quanto mais elevado o teor de amido maiores são os valores de espessura, entretanto a adição de glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* nas concentrações testadas não exerceu influência sobre este parâmetro. O efeito do teor de amido na espessura de filmes foi demonstrado por outros autores. Wang et al. (2007), estudando o efeito do aumento da concentração de amido de batata, obtiveram filmes com espessura de 0,044 mm para 2,0 % e de 0,069 mm para 3,0 % de amido. Estes filmes eram adicionados de glicerol (1:2 p/p amido/ glicerol).

A atividade de água (a_w) é um dos parâmetros mais importantes na conservação de alimentos, tanto no aspecto biológico como nas transformações físicas. Dessa forma, podem ser previstas reações de oxidação lipídica, escurecimento não enzimático, atividade enzimática, desenvolvimento de microrganismos, assim como o comportamento de misturas de alimentos com diferentes valores de atividade de água e sistemas de embalagens (NETO, 1976). O prazo de validade de produtos perecíveis é, geralmente, maiores para sistemas com valores baixos de a_w (MATHLOUTHI, 2001). Termodinamicamente, a_w é definida como a razão entre a tendência de escape (fugacidade, f) da água em um sistema (por exemplo, um produto alimentar ou uma embalagem/filme) e a fugacidade da água pura (f_0), $a_w = f/f_0$ (SILVA, 2013).

Neste contexto, o percentual de água livre presente nos filmes biodegradáveis é um parâmetro importante na utilização deste biomaterial como embalagem. Os valores de a_w variaram de 0,403 a 0,564 entre os 27 ensaios, sendo aproximadamente 70 % deles menores do que o controle (0,532) (Tabela 31).

A Figura 50 seleciona os gráficos de Pareto para as variáveis independentes cujos resultados exercem maior influência no comportamento dos bionanocompósitos (atividade de

água e permeabilidade ao vapor d'água). Analisando o Pareto gerado para a atividade de água (Figura 50a), constata-se que esta variável é influenciada significativamente ($p < 0,01$) pelo amido, glicerol e *nanowhiskers*, sendo o glicerol a variável que exerceu de forma quadrática maior influência nesta propriedade. As variáveis significativas apresentaram efeitos negativos, indicando que o aumento em suas concentrações acarreta uma redução na atividade de água dos bionanocompósitos (Anexo VI). A obtenção de filmes com baixos valores de a_w é muito importante, pois esta variável apresenta influência direta no tempo de armazenamento dos filmes de amido e na sua funcionalidade em geral.

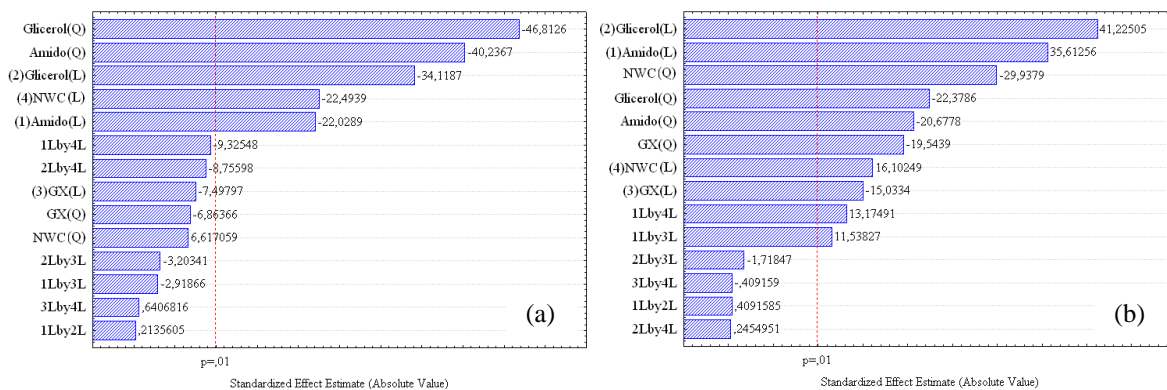


Figura 50. Gráficos de Pareto para as respostas atividade de água (a) e permeabilidade ao vapor d'água (b) a 99 % de confiança.

Pode ser observado na ANOVA (Anexo II) uma variação explicada pela regressão (R^2) de 97,95 %, indicando que o modelo apresenta bom ajuste, e que apenas 2,05 % do total de variações não podem ser explicados pelo modelo proposto, e um F calculado altamente significativo (14,55), que valida o modelo de regressão gerado. Na Figura 51 constam as superfícies de resposta geradas para as variáveis que apresentam efeitos significativos ($p < 0,01$) sobre as respostas (atividade de água e permeabilidade ao vapor d'água) através do gráfico de Pareto (Figura 50), enquanto na Tabela 33 constam as equações dos modelos geradas por essas superfícies.

A interpretação obtida através da Figura 51 confirma a influência do glicerol sobre esta variável, sendo que os maiores valores de a_w são encontrados com baixas concentrações de glicerol na solução filmogênica, comportamento este já relatado por outros autores, que estudaram este plastificante em diferentes combinações e com outros tipos de amido (LOURDIN et al., 1997; GAUDIN et al., 1999; 2000; MALI et al., 2005; CHANG et al., 2006).

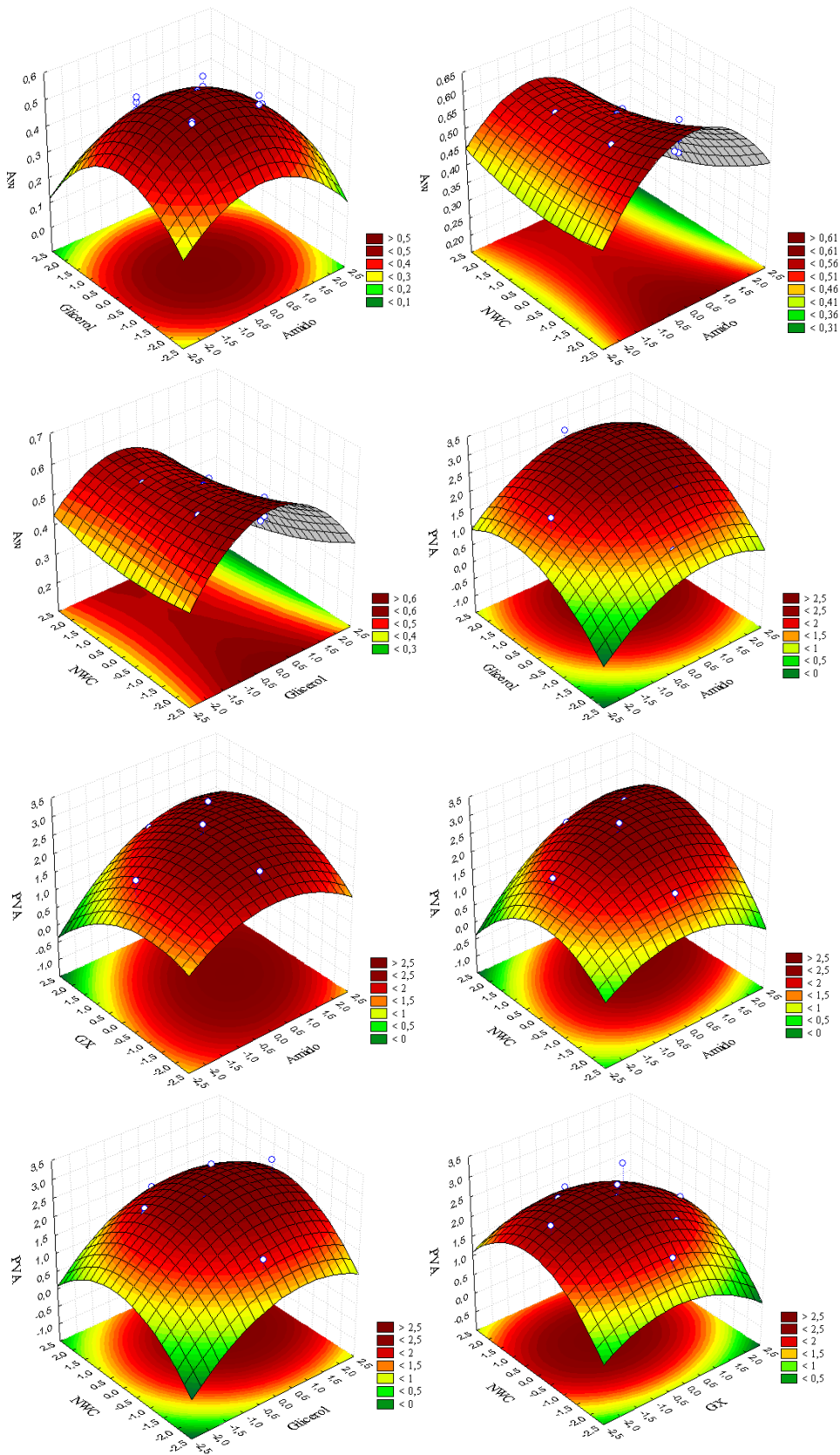


Figura 51. Superfícies de resposta geradas a 99 % de confiança para as interações das variáveis independentes significativas sobre as variáveis respostas (atividade de água e permeabilidade ao vapor d'água) para os 27 ensaios do planejamento experimental.

Tabela 32. Equações do modelo e coeficientes de determinação (R^2) para a atividade de água (aw) e permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos bionanocompósitos a 99 % de confiança, X_1 = Amido de mandioca, X_2 = Glicerol e X_3 = Goma xantana e X_4 = *Nanowhiskers*.

Parâmetros	Equação	R^2
aw: $X_1 \times X_2$	$0,5536 - 0,0157X_1 - 0,0305X_1^2 - 0,0244Y_1 - 0,0355Y_1^2 + 0,0018X_1Y_1$	0,97
aw: $X_1 \times X_4$	$0,5536 - 0,0157X_1 - 0,0305X_1^2 - 0,0161Y_1 + 0,0050Y_1^2 - 0,0081X_1Y_1$	0,97
aw: $X_2 \times X_4$	$0,5536 - 0,0244X_1 - 0,0355X_1^2 - 0,0161Y_1 + 0,0050Y_1^2 - 0,0076X_1Y_1$	0,97
PVA: $X_1 \times X_2$	$2,6333 + 0,2220X_1 - 0,1367X_1^2 + 0,2570Y_1 - 0,1480Y_1^2 + 0,0031X_1Y_1$	0,96
PVA: $X_1 \times X_3$	$2,6333 + 0,2220X_1 - 0,1367X_1^2 - 0,0937Y_1 - 0,1292Y_1^2 + 0,0881X_1Y_1$	0,96
PVA: $X_1 \times X_4$	$2,6333 + 0,2220X_1 - 0,1367X_1^2 + 0,1004Y_1 - 0,1980Y_1^2 + 0,1006X_1Y_1$	0,96
PVA: $X_2 \times X_4$	$2,6333 + 0,2570X_1 - 0,1480X_1^2 + 0,1004Y_1 - 0,1980Y_1^2 + 0,0018X_1Y_1$	0,96
PVA: $X_3 \times X_4$	$2,6333 - 0,0937X_1 - 0,1292X_1^2 + 0,1004Y_1 - 0,1980Y_1^2 - 0,0031X_1Y_1$	0,96

Os filmes contendo *nanowhiskers* de palha de milho indicam que a presença dos nanocristais na matriz de amido diminuiu a disponibilidade de água nos filmes, com valores abaixo de 0,564, o que garante a inibição de qualquer proliferação microbiana, sendo um parâmetro importante para a estocagem dos filmes e para a utilização dos mesmos como embalagens de alimentos, entre outras aplicações. Este efeito pode ser atribuído ao elevado número dos grupos hidroxilas presentes na superfície dos *nanowhiskers*. Estes grupos hidroxilas podem interagir com as moléculas de água não ligadas presentes no interior da matriz de amido através de ligações de hidrogênio (interação de curto alcance), diminuindo a aw, ou seja, a água livre dos bionanocompósitos. A máxima redução de aw (24,2 %) em relação ao controle foi obtida com o ensaio E17 (0,403) contendo 3,5 % de amido de mandioca, 1,1 % de glicerol, 0,03 % de xantana e 0,3 % de *nanowhiskers*.

SILVA et al. (2011) formularam e caracterizaram filmes de amido plastificados com glicerol e açúcar invertido contendo *nanowhiskers* de eucalipto e encontraram valores de aw que variaram de 0,461 a 0,629 com redução máxima de 26,8 % em relação ao filme controle (0,630). Os autores ainda constataram que as formulações contendo maiores percentuais de *nanowhiskers* possuíam menores aw. VEIGA-SANTOS (2004) relata uma faixa maior para a aw de filmes de amido de mandioca (0,53 a 0,89) e observou que a utilização de sacarose, açúcar invertido e fosfato de sódio, resultaram em aumento da aw quando comparadas as formulações entre si e com o controle.

Os valores de umidade variaram de 9,85 % e 14,99 %, sendo que aproximadamente 89 % das formulações apresentaram teor de umidade menor do que o controle (14,68 %) (Tabela 31), com diferença significativa entre os ensaios pelo teste de Tuckey ($p < 0,01$), demonstrando que o modelo pode ser utilizado para representar de forma significativa ($R^2 = 97,70\%$) e preditiva ($F_{calc} > F_{tab}$) o efeito das variáveis independentes (% de amido, % de glicerol, % de

goma xantana e % de *nanowhiskers*), para esta resposta (Anexo II). O gráfico de Pareto a 99 % de confiança, por sua vez, mostra que os *nanowhiskers* de palha de milho exercem de forma linear maior influência sobre este parâmetro (Anexo I, Figura 1). Os efeitos negativos das variáveis independentes indicam que um aumento em suas concentrações acarreta reduções no teor de umidade dos bionanocompósitos (Anexo VI).

As variações de umidade podem ser observadas nas superfícies de resposta geradas a 99 % de confiança para as diferentes concentrações de amido, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* (Anexos IV). Os valores médios dos 27 ensaios diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,01$), sendo que os filmes obtidos com maiores concentrações de *nanowhiskers* apresentaram menores teores de umidade, entretanto esta variável associada ao glicerol na faixa entre 0 e 0,5 % resultaram em filmes com maiores teores de umidade. Altos valores desta variável foram encontrados no ponto central do planejamento, no qual se obteve filmes com média de 14,23 % de umidade.

A umidade dos filmes de amido de mandioca, plastificados com açúcar invertido e sacarose e incorporados de polpas de manga e acerola aumentou de $15,03 \pm 0,34$, para o controle até $19,76 \pm 0,92$, para a formulação 1 com os menores teores dos aditivos (SOUZA, 2010). Uma explicação possível é o efeito de plastificação adicional dos açúcares presentes nas polpas de frutas, sobre a estrutura da rede formada (MITCHELL, 1998), principalmente relacionadas com a criação de regiões altamente móveis que permitem uma absorção de água ainda mais pronunciada (CHERYAN et al., 1995).

O coeficiente de permeabilidade ao vapor de água (PVA) de um filme é um valor constante para a permeação do vapor de água a uma dada temperatura. Diferentes autores (SOBRAL, 2000; SAKANAKA, 2002) tem demonstrado que diversos fatores influenciam a permeabilidade de filmes, como materiais hidrofílicos e plastificantes na composição, dependem da estrutura química e morfologia da matriz, como também das interações da água do meio e o material testado, da natureza do permeante e da temperatura, das características estruturais do material como espessura, comportamento da umidade, teor do plastificante, entre outros, provocando tensões internas que podem influenciar a permeação (PARK e CHINNAM, 1995; CUQ et al., 1996; SOBRAL, 1999).

Neste trabalho a permeabilidade ao vapor de água (PVA) variou de $1,21 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m para o E3 (4,0 % de amido, 0,85 % de glicerol, 0,045 % de xantana e 0,15 % de *nanowhiskers*) a $2,98 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m para o filme do E20 (4,5 % de amido, 1,60 % de glicerol, 0,030 % de xantana e 0,30 % de *nanowhiskers*) (Tabela 31). O gráfico de Pareto para as variáveis independentes mostra efeito significativo ($p < 0,01$) das funções linear e quadrática

do amido, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* e das interações amido x *nanowhiskers* e amido x goma xantana sobre a variável dependente PVA (Figura 50b). Podem ser observados na Tabela 32 e no Anexo II, uma variação explicada pela regressão (R^2) de 96,77 % e um F calculado altamente significativo (13,30), que valida o modelo de regressão, cujas superfícies de resposta a 99 % de confiança são apresentadas na Figura 51.

Os valores de permeabilidade (PVA) dos filmes foram influenciados linearmente pela concentração de glicerol na solução filmogênica. Constata-se que à medida que aumenta a concentração de glicerol ocorre um aumento da PVA nos filmes. O ensaio E20 que contém o maior percentual de plastificante (1,6 %) apresentou a maior permeabilidade entre as amostras, ($2,98 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m), havendo assim um aumento de aproximadamente 28 % neste parâmetro quando se compara ao filme controle ($2,16 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m). Estes gráficos também mostram que a concentração de amido de mandioca influencia de forma linear permeabilidade ao vapor de água, e à medida que se aumenta a concentração deste nos bionanocompósitos esta variável aumenta. Esse aumento pode ser explicado, uma vez que o aumento da concentração de amido de mandioca provoca um aumento na espessura dos filmes, o que influencia a PVA dos mesmos. A máxima redução da PVA (43,9 %) em relação ao controle ($2,16 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m) foi obtido com o ensaio E3 contendo 4,0 % de amido, 0,85 % de glicerol, 0,045 % de xantana e 0,15 % de *nanowhiskers*.

Sobral et al,(1999) constatou para filmes com gelatina que o aumento da espessura dos filmes provoca um aumento da PVA, da tensão na ruptura e na cor dos mesmos. A influência do aumento do PVA em relação ao aumento da espessura também foi verificado por Fakhouri (2009) em filmes de amido e gelatina e ácido graxo e por Bertan et al. (2005) em filmes de gelatina e ácido láurico.

A tabela de efeitos, reportada no Anexo VI, mostra que aumento das concentrações de xantana na solução filmogênica acarreta decréscimos nos valores de PVA. A adição de *nanowhiskers* de palha de milho também exerce influência na PVA dos filmes de amido (Anexos I e VI). Portanto, as quatro variáveis independentes exerceram efeito significativo ($p < 0,01$) sobre a resposta permeabilidade ao vapor de água (PVA). Enquanto que o glicerol (L) e o amido (L) aumentou a PVA, a adição de goma xantana e *nanowhiskers* diminuiu a este parâmetro. A utilização de filmes com baixa permeabilidade ao vapor d'água reduz o risco de deterioração do produto embalado decorrente do aumento de umidade do ambiente. Dessa forma, é possível constatar a influência desejável da adição de goma xantana e de *nanowhiskers* nos bionanocompósitos.

Resultados semelhantes ao deste estudo foram encontrados por LU et al. (2005), WANG et al. (2006) e CAO et al. (2008), para bionanocompósitos com matrizes de amido, proteína e amido, respectivamente, contendo *nanowhiskers* de línter de algodão (LU et al., 2005; WANG et al., 2006) e de cânhamo (CAO et al., 2008).

Filmes de amido de arroz a 5,0 % plastificados com glicerol (20, 25, 30 e 35 % p/p), sorbitol (30, 35, 40 e 45 % p/p) e polietileno glicol (3, 6 e 9 % p/p) estudados por Laohakunjit e Noomhorm (2004) apresentaram permeabilidade ao vapor de água com menor variação ($1,59 \times 10^{-8}$ a $1,74 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m) do que as obtidas no presente estudo ($1,21 \times 10^{-8}$ a $2,98 \times 10^{-8}$ g/Pa.s.m). Esses autores atribuem os altos valores de PVA à elevada afinidade do glicerol pela água, que promove a difusão desta última molécula. O glicerol é uma molécula relativamente pequena e altamente hidrofílica que pode se alojar entre as moléculas de amido estabelecendo pontes de hidrogênio com os grupamentos hidroxila da amilose e da amilopectina no amido.

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) variou de 247 g/dia.m² para o E9, composto de 5,0 % de amido, 0,85 % de glicerol, 0,015 % de goma xantana e 0,15 % de *nanowhiskers* até 374 g/dia.m² para o E3, com 4,5 % de amido, 1,10 % de glicerol, 0,000 % de goma e 0,30 % de *nanowhiskers*. O valor no ponto médio foi de 342 g/dia.m², havendo dessa forma diferenças significativas entre as amostras avaliadas ($p < 0,01$) quando comparadas com o filme controle (328 g/dia.m²) (Tabela 31).

A análise de variância (Anexo III) inviabiliza a geração do modelo para a variável dependente taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) dentro da faixa estudada, uma vez que a variação explicada pela regressão (R^2) de 44,23 % é baixa e o valor do F_{calc} (0,79) é inferior ao F_{tabelado} (2,53). Sendo assim, não há necessidade da construção das superfícies de resposta para elas.

A análise de solubilidade dos filmes preparados por *casting* fornece uma indicação do comportamento que estes podem ter quando imersos em água. A solubilidade é uma propriedade importante dos filmes no que se refere ao seu emprego, pois algumas aplicações requerem insolubilidade para manter a integridade do produto, como nos casos de utilização como proteção de alimentos onde a atividade de água é alta (GONTARD et al., 1994). A manutenção da integridade do filme ao estar em contato com água é de grande importância nas possíveis aplicações dos bionanocompósitos como material de embalagem. A solubilidade 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 necessária a utilização de material insolúvel ou pouco solúvel em água (FAKHOURI, 2002; GOMES, 2008). Depois de ficarem imersos em água por 24 horas sob agitação

constante todos os filmes apresentaram-se inteiros e aparentemente íntegros quanto à forma, assim como flexíveis e dobráveis no manuseio. No aspecto visual, entretanto, os filmes apresentaram-se opacos (esbranquiçados).

De acordo com os resultados obtidos através desta análise (Tabela 31), observa-se que os filmes com maiores solubilidades, calculada em relação ao peso inicial da amostra, foram os obtidos pelo ensaio E20, com 4,5 % de amido de mandioca, 1,6 % de glicerol, 0,03 % de goma xantana e 0,3 % de *nanowhiskers* (26,44 %); e pelo E17, com 3,5 % de amido, 1,1 % de glicerol, 0,03 % de goma xantana e 0,3 % de *nanowhiskers* (24,46 %). Esses filmes com maiores valores de solubilidade têm em comum a presença de goma xantana e de *nanowhiskers* em concentrações intermediárias. O filme de menor solubilidade (14,32 %) foi o E19, com 4,5 % de amido, 0,6 % de glicerol, 0,03 % de goma xantana e 0,3 % de *nanowhiskers*, sendo o valor do filme controle (C) de 19,41 %, havendo dessa forma diferenças significativas entre as amostras avaliadas ($p < 0,01$). Portanto, foi possível observar a grande variação dos valores de solubilidade encontrados nos 27 ensaios do planejamento experimental.

O grau de intumescimento (SW) está diretamente relacionado com a solubilidade em água, sendo descrito como o aumento no volume do polímero quando este está imerso em um determinado solvente (MEI et al., 1995). Este procedimento é largamente estudado para determinar o melhor polímero a ser empregado como material de revestimento de alimentos e/ou medicamentos, tornando-se um parâmetro importante para o conhecimento das características gerais de um material, principalmente com relação à resistência deste material a água (ROSINA et al., 2004). O processo de intumescimento segue três passos principais: 1) difusão das moléculas do solvente para a rede polimérica; 2) Relaxação das cadeias dos polímeros devido ao processo de hidratação; 3) Expansão da rede polimérica e o intumescimento da matriz (SADAHIRA, 2007).

Os resultados de SW da Tabela 31 mostram que após 6 h de imersão em água (25 °C), os filmes de amido de mandioca / glicerol / goma xantana / *nanowhiskers* não perderam sua integridade. O teste de Tuckey, realizado sobre o conjunto de valores obtidos, apresentou resultados significativos ($p < 0,01$), variando de acordo com a concentração de amido, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* adicionado ao material com intervalos de 2,52 a 6,42 g água/g sólidos secos e redução máxima em relação ao filme controle de 33,3 %.

Para a análise estatística das respostas, foram construídos os gráficos de Pareto, mostrados no Anexo I, Figura 1, que possibilitaram verificar a influência dos efeitos significativos das variáveis independentes (amido de mandioca (X_1), glicerol (X_2), goma

xantana (X_3) e *nanowhiskers* (X_4)) sobre as variáveis respostas (solubilidade e intumescimento em água). A variável independente glicerol exerceu, de forma linear, maior influência sobre estes parâmetros, porém para o intumescimento em água ele apresenta-se com valor negativo, ou seja, o menor intumescimento em água é atingido com as maiores concentrações de glicerol, dessa maneira a adição de plastificante na solução filmogênica ocasiona efeito positivo nessa propriedade.

Os resultados dos parâmetros solubilidade e intumescimento foram submetidos à análise de variância (ANOVA), reportada no Anexo II. As variações nos índices solubilidade e intumescimento podem ser observadas nas superfícies de respostas geradas a 99 % de confiança (Anexos III e IV) para as diferentes concentrações de amido (X_1), glicerol (X_2), goma xantana (X_3) e *nanowhiskers* (X_4).

Na análise da variância para solubilidade (Anexo II) pode ser verificado o ajuste com o modelo (F calculado $>$ F tabelado). O comportamento deste parâmetro mostrou ser dependente da concentração de glicerol, o que já era esperado, uma vez que o maior valor de solubilidade encontrado foi no ensaio E20 (26,44 %), cuja formulação possui a maior percentagem de plastificante; e o menor valor no ensaio E19 (14,32 %), com a menor percentagem. A influência das concentrações de amido de mandioca e de *nanowhiskers* na solubilidade de bionanocompósitos também foi verificada. A tabela de efeitos, reportada no anexo VI, mostra que aumento das concentrações dessas variáveis na solução filmogênica acarretou acréscimos nos valores de solubilidade. A adição de goma xantana também exerceu influência na solubilidade dos filmes em água (Anexos I e VI). Através dos ensaios 21 (0,0 % de xantana) e 22 (0,06 % de xantana) constata-se uma pequena queda nos valores de solubilidade com o incremento deste parâmetro (18,89 % para 17,33 %), ou seja, os filmes tornaram-se menos hidrofílicos; essa redução pode ser atribuída à formação de pontes de hidrogênio entre os dois polímeros nestas concentrações das variáveis independentes.

Yamashita et al.(2005) produziu filmes flexíveis a base de amido de mandioca, contendo propionato de cálcio e permanganato de potássio, para aplicação como embalagem ativa de frutas e hortaliças minimamente processadas. Os valores de solubilidade obtidos variaram de 78 a 86 %, resultado este expresso em porcentagem de massa solubilizada em relação à massa inicial. Wang et al. (2007) estudando filmes de amido de batata adicionados de glicerol de 1:2 (p/p glicerol/ amido), encontraram valores de solubilidade de 31,7 % ao utilizar 2,0 % de amido na solução filmogênica e 31,8 % ao utilizar 3,0 % de amido. Estes valores de solubilidade para filmes de amido de batata (~31 % após 24 h de imersão em água)

evidenciam uma maior resistência dos filmes do amido de mandioca obtidos no presente estudo, cujo valor máximo foi de 26,44 % (após 24 h de imersão).

A solubilidade (após 30 min. de imersão em água) de filmes de frações de amido de trigo com padrões A e B de cristalinidade em água foi estudada por Montaño-Leyva et al. (2008). A solubilidade variou de 0,2 a 1,2 % quando os filmes eram adicionados de 25 % de glicerol, e de 7 a 14 % quando adicionados de 40 % de glicerol. O tipo de grânulo também influenciou na solubilidade dos filmes plastificados com 40 % de glicerol. A solubilidade dos grânulos de amido sem fracionamento (inteiros) foi de 14,1 %, e daqueles filmes da fração de grânulos maiores foi de 7,5 %. Para os filmes de amido de mandioca do presente trabalho, comparando-se o E19 (14,32 %) e E20 (26,44 %), que apresentam mesma concentração de amido, de goma e de *nanowhiskers*, entretanto com o aumento da concentração de glicerol de 0,6 para 1,6 %, respectivamente resultou em aumento de 45,83 % na solubilidade.

Esta influência do glicerol sobre a solubilidade dos filmes é bastante relatada na literatura. Laohakunjit e Noomhorm (2004), para filmes de amido de arroz, constataram que o aumento na concentração de glicerol implicou em aumento da solubilidade dos filmes. Comparando os filmes de amido de arroz com os de mandioca do presente estudo, constatou-se que as interações da rede formada nos filmes de amido de mandioca foram mais resistentes à água. No filme elaborado com amido de mandioca e 0,6 % de glicerol, a solubilidade, após 24 h de imersão, foi de 14,32 % e na concentração de 1,6 %, este filme apresentou solubilidade de 26,44 %, valores de solubilidade inferiores ao encontrado pelos autores com 1,5 % de glicerol (30,5 %). Este aumento de solubilidade pode ser atribuído à incorporação ao filme de um componente solúvel como o glicerol. É possível concluir também que a rede formada pelo amido de mandioca teve uma maior força de interação com as moléculas de glicerol, assim como mais elevada interação inter-molecular amido-amido que a estrutura do amido de arroz.

A adição de plastificante, em particular o glicerol, tem uma grande influência sobre a solubilidade de filmes de amido, devido ao seu caráter hidrofílico. O glicerol interage fortemente com água da rede do filme através de pontes de hidrogênio. O glicerol interage também com a rede do filme aumentando o espaço livre entre as cadeias, aumentando assim a entrada da água no filme e, conseqüentemente, a solubilidade (LAOHAKUNJIT e NOOMHORM, 2004; MEHYAR e HAN, 2004; GARCIA et al., 2006; ZHANG e HAN, 2006; MONTAÑO-LEYVA et al., 2013).

O intumescimento em água, assim como a solubilidade, aumentou com o aumento do conteúdo de amido de mandioca nos filmes, sendo que o maior valor foi alcançado no ensaio

E18, 6,42 g água/g sólidos secos e o menor, 2,52 g água/g sólidos secos correspondendo ao ensaio E20 (Tabela 31). Portanto, o ensaio com maior quantidade de amido de mandioca apresentou maior afinidade com a água e, desta forma, favoreceu a solubilidade e o intumescimento em água deste filme, devido às ligações de hidrogênio existentes entre estes dois compostos na matriz amido/solvente.

Percebeu-se que, de uma maneira geral, houve uma diminuição na absorção de água com o aumento da concentração de glicerol (Anexos I e VI). É válido destacar que a 99 % de confiança, a adição de goma xantana e *nanowhiskers* nas concentrações estudadas não influenciou na capacidade de intumescimento dos filmes de amido.

A Figura 52 apresenta o incremento provocado pela absorção de água dos filmes de amido com glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* para os dois ensaios com maior grau de intumescimento (SW), bem como para os dois menores, e do filme controle (Tabela 31).

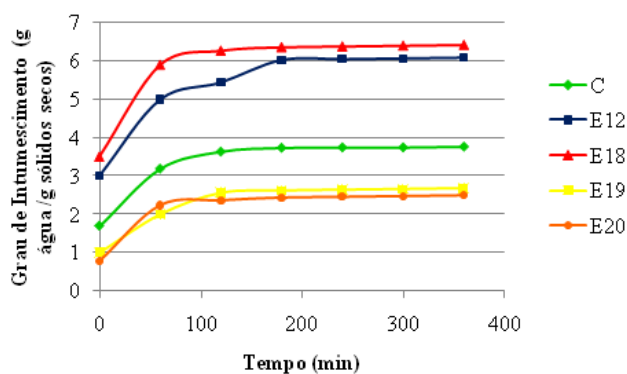


Figura 52. Grau de intumescimento do filme controle (C) e dos filmes elaborados nos ensaios com maiores e menores absorção de água ao longo do tempo.

É possível observar que o ensaio E18 foi o que mais absorveu água na primeira hora de imersão (6,42 g água/g sólidos secos) seguido do ensaio E12 (6,10 g água/g sólidos secos). Isso ocorre devido ao fato dos materiais com maior grau de reticulação, que possuem menos grupos hidrofílicos expostos, impedem uma maior difusão de água através da rede do polímero. Como resultado observa-se a redução do grau de intumescimento dos filmes controle (C) e dos obtidos nos ensaios E19 e E20 em comparação com o observado nos filmes dos ensaios E12 e E18 (Figura 52).

A partir dos resultados obtidos é possível constatar que apesar dos teores de goma xantana e *nanowhiskers* incorporados nos bionanocompósitos exercerem efeito significativo ($p < 0,01$) sobre a maioria das respostas avaliadas, as variáveis independentes que exerceram influência mais acentuada foram os teores de glicerol e de amido. O teor de umidade foi a única variável dependente que sofreu maior influência da concentração de *nanowhiskers*,

porém o sinal negativo para a raiz λ_1 (-203,765) indica que um aumento na concentração de NWC acarreta uma redução na umidade, efeito desejável para os bionanocompósitos.

4.2. Propriedades mecânicas e térmicas dos bionanocompósitos

O teste mais usado para medir a força mecânica de filmes flexíveis é o teste de tração, onde podem ser derivadas três propriedades: tensão máxima na ruptura, deformação na ruptura e módulo de elasticidade (VICENTINI, 2003). Os ensaios de propriedades mecânicas neste trabalho foram realizados após acondicionamento das amostras por um período de 10 dias a cerca de 25 °C e 75 % de UR. A Tabela 33 apresenta os valores médios e os desvios-padrão dos parâmetros tensão, deformação, módulo de elasticidade e temperatura de degradação dos bionanocompósitos como resposta das variáveis independentes usadas no planejamento experimental. Os resultados encontrados foram inicialmente tratados pelo teste de Tuckey para identificar se as alterações nos parâmetros avaliados foram significativas ao nível de 99 % de significância.

Os valores obtidos para a tensão máxima na ruptura (σ) dos bionanocompósitos podem ser avaliados na Tabela 33. O teste de Tukey, no nível de significância 99 %, indica que os ensaios E1, E2, E3, E4, E12, E15, E16, E21, E23, E24 não diferiram significativamente do controle. A tensão máxima dos filmes variou de 1,52 MPa para o E20, contendo 4,5 % de amido, 1,60 % de glicerol, 0,030 % de xantana e 0,30 % de *nanowhiskers* até 6,32 MPa para o E27 (4,5 % de amido, 1,10 % de glicerol, 0,030 % de xantana e 0,30 % de *nanowhiskers*). Comparando com filmes de amido de ervilha elaborados por *casting*, Liu et al. (2005) relatam intervalo menor de tensão na ruptura (acondicionamento a 23 °C e 50 % UR), de 2,65 a 4,32 MPa.

Para a análise estatística das respostas, foram construídos os gráficos de Pareto, mostrados no Anexo I, Figura 2, que possibilitaram verificar a influência dos efeitos significativos das variáveis independentes sobre as variáveis respostas (tensão máxima na ruptura, deformação na ruptura e módulo de elasticidade). A linha vertical vermelha indica o valor mínimo para que isso ocorra, e o efeito é tão mais significativo quanto mais à direita dessa linha ele estiver. Considerando importantes para a caracterização mecânica dos filmes de amido, foram selecionadas as Figuras 53 e 54, a fim de estudar com maior riqueza de detalhes as variáveis independentes tensão máxima e deformação na ruptura.

Tabela 33. Médias (\pm desvio padrão) das análises de propriedades mecânicas das diferentes formulações e controle. σ (tensão máxima- MPa); ϵ (Deformação - %); E (Módulo de elasticidade - MPa).

Ensaio	Amido %	Glicerol %	GX %	NWC %	$\sigma \pm dp$	$\epsilon \pm dp$	E $\pm dp$	1° Evento		2° Evento		3° Evento	
								Tonset1 (°C)	Δm_1 (%)	Tonset2 (°C)	Δm_2 (%)	Tonset3 (°C)	Δm_3 (%)
Controle	4,50	1,10	-	-	5,49 \pm 0,4 ^{a,b,c,d}	24,78 \pm 4,7 ^{f,i}	113,50 \pm 4,1	26,24 ^e	13,16 ^{a,b}	-	-	294,59 ^{a,b,c}	63,98 ^{e,f,g,h}
1	4,00	0,85	0,015	0,15	5,56 \pm 0,1 ^{a,b,c,d}	16,71 \pm 2,3 ^{a,b,c}	29,80 \pm 1,6	28,63 ^{a,b,c,d,e}	11,62 ^{a,b,c,d,e,f,g,h}	-	-	252,11 ^c	69,95 ^{b,c}
2	4,00	0,85	0,015	0,45	5,16 \pm 0,2 ^{a,b,c,d,e}	17,89 \pm 3,2 ^{a,b,c}	33,29 \pm 2,0 ^c	27,29 ^{c,d,e}	14,43 ^a	-	-	292,90 ^{a,b}	62,91 ^{f,g,h}
3	4,00	0,85	0,045	0,15	4,31 \pm 0,7 ^{a,b,c,d,e,f,g}	15,52 \pm 2,4 ^{a,b}	19,24 \pm 3,6 ^{a,b}	28,75 ^{a,b,c,d,e}	9,03 ^{f,g,h,i}	133,55 ^e	6,97 ⁱ	253,39 ^d	67,05 ^a
4	4,00	0,85	0,045	0,45	3,99 \pm 0,6 ^{a,b,c,d,e,f,g}	19,70 \pm 3,5 ^{a,b,c,f}	19,70 \pm 3,5 ^{a,b}	27,93 ^{c,d,e}	12,30 ^{a,b,c,d,e}	-	-	298,66 ^a	63,28 ^{f,g,h}
5	4,00	1,35	0,015	0,15	3,13 \pm 0,4 ^{c,d,e,f,g}	29,80 \pm 1,6 ^d	17,89 \pm 4,1 ^{a,b}	30,27 ^{a,b,c,d}	12,76 ^{a,b,c}	137,05 ^e	4,97 ^{i,j}	266,26 ^{b,c}	62,58 ^b
6	4,00	1,35	0,015	0,45	3,32 \pm 0,5 ^{b,c,d,e,f,g}	33,29 \pm 1,5 ^e	19,31 \pm 1,3 ^{a,b}	27,66 ^{c,d,e}	10,41 ^{b,c,d,e,f,g,h}	141,61 ^e	4,89 ^{i,j}	299,08 ^{a,b,c}	57,57 ^c
7	4,00	1,35	0,045	0,15	2,75 \pm 0,5 ^{d,e,f,g}	21,66 \pm 3,2 ^{c,f,i}	10,25 \pm 4,1 ^d	31,19 ^{a,b}	14,18 ^a	-	-	304,98 ^{a,b}	61,06 ^h
8	4,00	1,35	0,045	0,45	2,29 \pm 0,3 ^{e,f,g}	38,56 \pm 0,7 ^g	15,52 \pm 3,1 ^b	31,31 ^{a,b}	9,38 ^{d,e,f,g,h,i}	140,75 ^e	5,19 ^{i,j}	313,84 ^a	57,88 ^c
9	5,00	0,85	0,015	0,15	3,56 \pm 0,1 ^{b,c,d,e,f,g}	24,45 \pm 3,1 ^{f,i}	54,25 \pm 2,0 ^e	28,82 ^{a,b}	9,57 ^{d,e,f,g,h,i}	131,39 ^e	6,37 ^{i,j}	292,11 ^{a,b,c}	53,51 ^d
10	5,00	0,85	0,015	0,45	4,95 \pm 0,3 ^{b,c,d,e,f}	44,47 \pm 2,4 ^h	152,20 \pm 3,3	27,84 ^a	8,99 ^{f,g,h,i}	-	-	259,76 ^d	77,30 ^a
11	5,00	0,85	0,045	0,15	2,26 \pm 0,4 ^{e,f,g}	25,45 \pm 1,7 ⁱ	65,09 \pm 1,9	31,61 ^{a,b}	9,48 ^{d,e,f,g,h,i}	-	-	305,60 ^{a,b}	67,82 ^{c,d}
12	5,00	0,85	0,045	0,45	4,73 \pm 0,3 ^{a,b,c,d,e,f,g}	37,88 \pm 2,4 ^g	138,80 \pm 4,7	31,18 ^{a,b,c,d,e}	9,60 ^{d,e,f,g,h,i}	-	-	272,28 ^{c,d}	78,87 ^a
13	5,00	1,35	0,015	0,15	2,93 \pm 0,3 ^{d,e,f,g}	36,78 \pm 3,5 ^g	23,20 \pm 4,7 ^f	27,11 ^{b,c,d,e}	9,66 ^{c,d,e,f,g,h,i}	-	-	298,29 ^a	64,25 ^{e,f,g,h}
14	5,00	1,35	0,015	0,45	2,16 \pm 0,1 ^{e,f,g}	47,51 \pm 4,2 ^h	34,09 \pm 2,6 ^c	28,28 ^{a,b,c}	9,00 ^{f,g,h,i}	-	-	296,11 ^{a,b,c}	65,41 ^{d,e,f}
15	5,00	1,35	0,045	0,15	3,91 \pm 0,5 ^{a,b,c,d,e,f,g}	44,16 \pm 3,5 ^h	54,15 \pm 2,7 ^e	30,35 ^{c,d,e}	9,16 ^{e,f,g,h,i}	144,16 ^e	3,58 ^j	319,59 ^a	61,03 ^b
16	5,00	1,35	0,045	0,45	3,78 \pm 0,3 ^{a,b,c,d,e,f,g}	46,98 \pm 3,0 ^h	60,93 \pm 1,3	31,23 ^{d,e}	10,56 ^{b,c,d,e,f,g,h}	-	-	313,73 ^a	62,35 ^{f,g,h}
17	3,50	1,10	0,030	0,30	3,08 \pm 0,1 ^{c,d,e,f,g}	36,56 \pm 2,1 ^g	23,82 \pm 1,8 ^f	27,22 ^{a,b}	8,62 ^{g,h,i}	150,13 ^e	4,68 ^{i,j}	319,95 ^a	55,65 ^{c,d}
18	5,50	1,10	0,030	0,30	2,99 \pm 0,2 ^{d,e,f,g}	41,14 \pm 2,7 ^g	87,12 \pm 3,2	30,15 ^{c,d,e}	8,51 ^{h,i}	-	-	308,26 ^{a,b}	64,56 ^{e,f,g}
19	4,50	0,60	0,030	0,30	2,54 \pm 0,4 ^{d,e,f,g}	28,31 \pm 2,4 ^d	625,90 \pm 7,0	29,26 ^{a,b,c,d,e}	9,25 ^{d,e,f,g,h,i}	-	-	251,95 ^c	71,77 ^b
20	4,50	1,60	0,030	0,30	1,52 \pm 0,3 ^g	54,41 \pm 3,9	21,40 \pm 4,7 ^{a,f}	30,27 ^{a,b,c,d}	6,78 ⁱ	140,71 ^e	7,02 ⁱ	321,32 ^a	56,35 ^c
21	4,50	1,10	0,000	0,30	5,08 \pm 0,7 ^{a,b,c,d,e}	30,48 \pm 2,5 ^{d,e}	91,66 \pm 2,5	27,60 ^{c,d,e}	11,66 ^{a,b,c,d,e,f,g}	-	-	301,77 ^{a,b,c}	63,12 ^{f,g,h}
22	4,50	1,10	0,060	0,30	1,87 \pm 0,2 ^{f,g}	22,20 \pm 2,4 ^{c,f,i}	7,32 \pm 2,9 ^d	27,97 ^{c,d,e}	9,03 ^{f,g,h,i}	-	-	313,53 ^a	65,40 ^{d,e,f}
23	4,50	1,10	0,030	0,00	4,97 \pm 0,7 ^{a,b,c,d,e,f}	20,78 \pm 3,3 ^{b,c,f}	69,01 \pm 2,2	27,91 ^{c,d,e}	12,40 ^{a,b,c,d}	-	-	299,88 ^{a,b,c}	64,86 ^{d,e,f,g}
24	4,50	1,10	0,030	0,60	4,42 \pm 0,1 ^{a,b,c,d,e,f,g}	39,96 \pm 4,1 ^g	96,94 \pm 5,1	26,83 ^e	10,02 ^{b,c,d,e,f,g,h,i}	-	-	281,27 ^{b,c,d}	66,72 ^{d,e}
25*	4,50	1,10	0,030	0,30	6,30 \pm 0,1 ^{a,b}	23,31 \pm 2,5 ^{f,i}	117,60 \pm 4,6 ^g	28,47 ^{a,b,c,d,e}	12,38 ^{a,b,c,d}	-	-	303,28 ^{a,b,c}	62,70 ^{f,g,h}
26*	4,50	1,10	0,030	0,30	6,28 \pm 0,3 ^{a,b}	23,24 \pm 3,3 ^{f,i}	117,70 \pm 3,7 ^g	28,36 ^{b,c,d,e}	12,06 ^{a,b,c,d,e,f}	-	-	302,92 ^{a,b,c}	62,09 ^{g,h}
27*	4,50	1,10	0,030	0,30	6,32 \pm 0,5 ^{a,b}	23,28 \pm 2,3 ^{f,i}	117,69 \pm 2,5 ^g	28,11 ^{b,c,d,e}	12,08 ^{a,b,c,d}	-	-	302,56 ^{a,b,c}	62,20 ^{g,h}
Intervalo	3,50-5,50	0,60-1,60	0,00-0,06	0,0-0,6	1,52-6,32	15,52-54,41	7,32-625,90	27,11-31,31	6,78-12,76	131,39-150,13	3,58-7,02	251,95-321,32	53,51-67,05
R M	-	-	-	-	72,3%	37,3%	93,5%	-	48,4%	-	-	14,5%	16,3%
A M	-	-	-	-	13,1%	54,4%	81,8%	16,1%	-	-	-	8,3%	4,6%

* Pontos Centrais. Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas ($p > 0,01$) pelo Teste de Tuckey a 99 % de confiança.

R M – Redução máxima das respostas em relação ao filme controle. A M - Aumento máximo das respostas em relação ao filme controle.

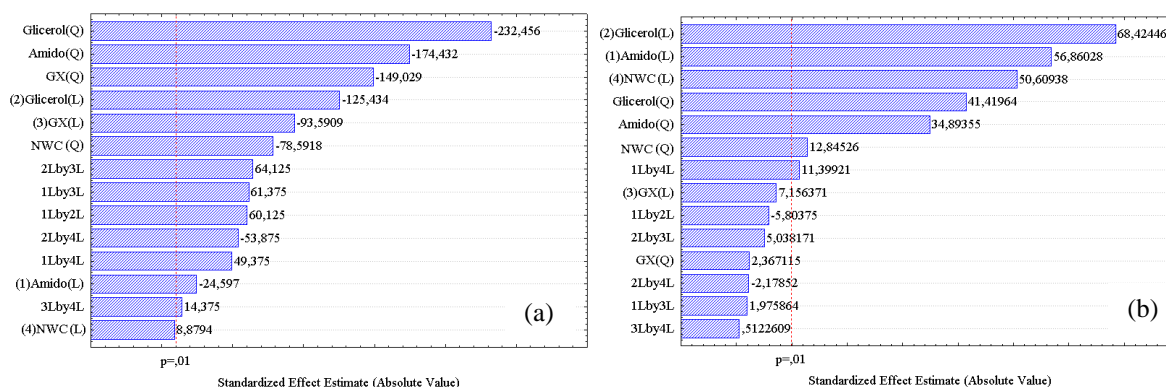


Figura 53. Gráficos de Pareto para as respostas tensão máxima na ruptura (a) e deformação na ruptura (b) a 99 % de confiança.

O gráfico de Pareto (Figura 53a) mostra que o termo quadrático da variável independente glicerol é o que mais influenciou a variável dependente tensão máxima na ruptura. O efeito negativo indica que o aumento na quantidade de plastificante promove a redução na tensão dos filmes flexíveis. Portanto, além do glicerol, as variáveis independentes amido, goma xantana e *nanowhiskers* influenciam de forma linear e quadrática esta variável e dependendo das concentrações das variáveis independentes chega a aumentar esta resposta em 13,1 % em relação ao filme controle.

A análise de variância (ANOVA), reportada nos Anexos II e III, mostra que modelos polinomiais de segunda ordem foram ajustados para a variável dependente tensão na ruptura e, portanto, considerado preditivo. As predições dos modelos foram verificadas pelo fato do F calculado ter sido até 6,5 vezes maior do que o F tabelado. Além disso, o valor do coeficiente de determinação (R^2) foi de 96 %, indicando que os modelos apresentam bom ajuste, e que aproximadamente 4 % do total de variações não podem ser explicados pelos modelos propostos.

Analisando-se os resultados de tensão máxima na ruptura (Tabela 33, Anexo VI), é possível observar que o ensaio com a maior concentração de glicerol (E20), apresentou o menor resultado de tensão (1,52 MPa) dentre os demais ensaios do planejamento experimental, ou seja o aumento na concentração de glicerol resulta na redução nas propriedades de tensão (LAOHAKUNJIT e NOOMHORM, 2004). Outros trabalhos na literatura relatam que o acréscimo de plastificante diminui as interações diretas do polímero formador do filme, reduzindo assim a compactação da rede que forma o bionanocompósito (MALI e GROSSMANN, 2003; MALI et al., 2005 ZHANG e HAN, 2006b).

Mali et al. (2005) para filmes de amido de inhame com acréscimo de glicerol nas relações amido:glicerol de 3,3:1,3; 4,0:1,3 e 3,3:2,0, condicionados a 20 °C e 64 % de UR, encontraram, respectivamente, 6,38, 4,70 e 2,84 MPa. O glicerol reduz a proximidade e as

interações diretas entre as cadeias do amido e facilita a mobilidade das mesmas. Os valores encontrados por esses autores foram semelhantes aos obtidos para os filmes de amido de mandioca no presente trabalho, nos ensaios E 27, E12 e E13, respectivamente.

Leyva et al. (2008) avaliaram a tensão na ruptura de filmes de amido de trigo com padrões A e B de cristalinidade adicionados de glicerol (condicionados a 57 % de UR por 72 h a temperatura ambiente). Nos filmes com amido padrão A, estes pesquisadores encontraram valores de tensão na ruptura de 42,26 MPa (25% de glicerol) e de 11,79 MPa (40 % de glicerol). Para os filmes com padrão de cristalinidade B, encontraram valores de 44,36 MPa (25 % glicerol) e 16,28 MPa (40 % glicerol).

O efeito em reduzir interações intermoleculares e a da coesão entre as cadeias do amido pelo plastificante é chamado efeito de obstrução (blocking) e é o mecanismo principal da plastificação. Geralmente, os plastificantes exercem o efeito de obstrução interferindo nas interações intermoleculares diretas e aumentando a mobilidade da rede de amido (TURHAN e SAHBAZ, 2004; MALI et al., 2005).

Westling-Rindlav et al. (1998) encontraram valor de tensão na ruptura de 20 MPa para filmes de amilose a 5,0 % com 2,0 % (p/p) de glicerol, condicionados por 2 dias a 90 % de UR e 23 °C e avaliados a 50 % de UR. Mehyar e Han (2004) para filmes de amido de arroz feitos com 3,0 % de amido e com glicerol (1:2 (p/p) glicerol: amido) e armazenados por 3 dias em duas umidades relativas distintas (51 e 90 %). O filme armazenado a 51 % UR apresentou tensão máxima de 3,3 MPa. Para 90 % de UR o valor foi de 1,9 MPa. O filme contendo apenas amido (sem glicerol) nesta última UR apresentou 12,1 MPa. O valores são parecidos com alguns encontrados no presente trabalho, como nos ensaios E6 (3,32 MPa) e E22 (1,87 MPa), embora realizados a 75 % UR.

Na Figura 54 constam as superfícies de resposta geradas para as variáveis que apresentam efeitos significativos ($p < 0,01$) sobre as respostas (tensão e deformação na ruptura) através do gráfico de Pareto (Figura 53). O tratamento dos dados experimentais para os diferentes ensaios resultaram em equações polinomiais de segunda ordem para cada superfície de resposta gerada para a tensão (σ) e deformação na ruptura (ϵ) dos bionanocompósitos, em função das variáveis independentes, amido de mandioca (% , X_1), glicerol (% , X_2), goma xantana (% , X_3) e *nanowhiskers* (% , X_4) (Tabela 34).

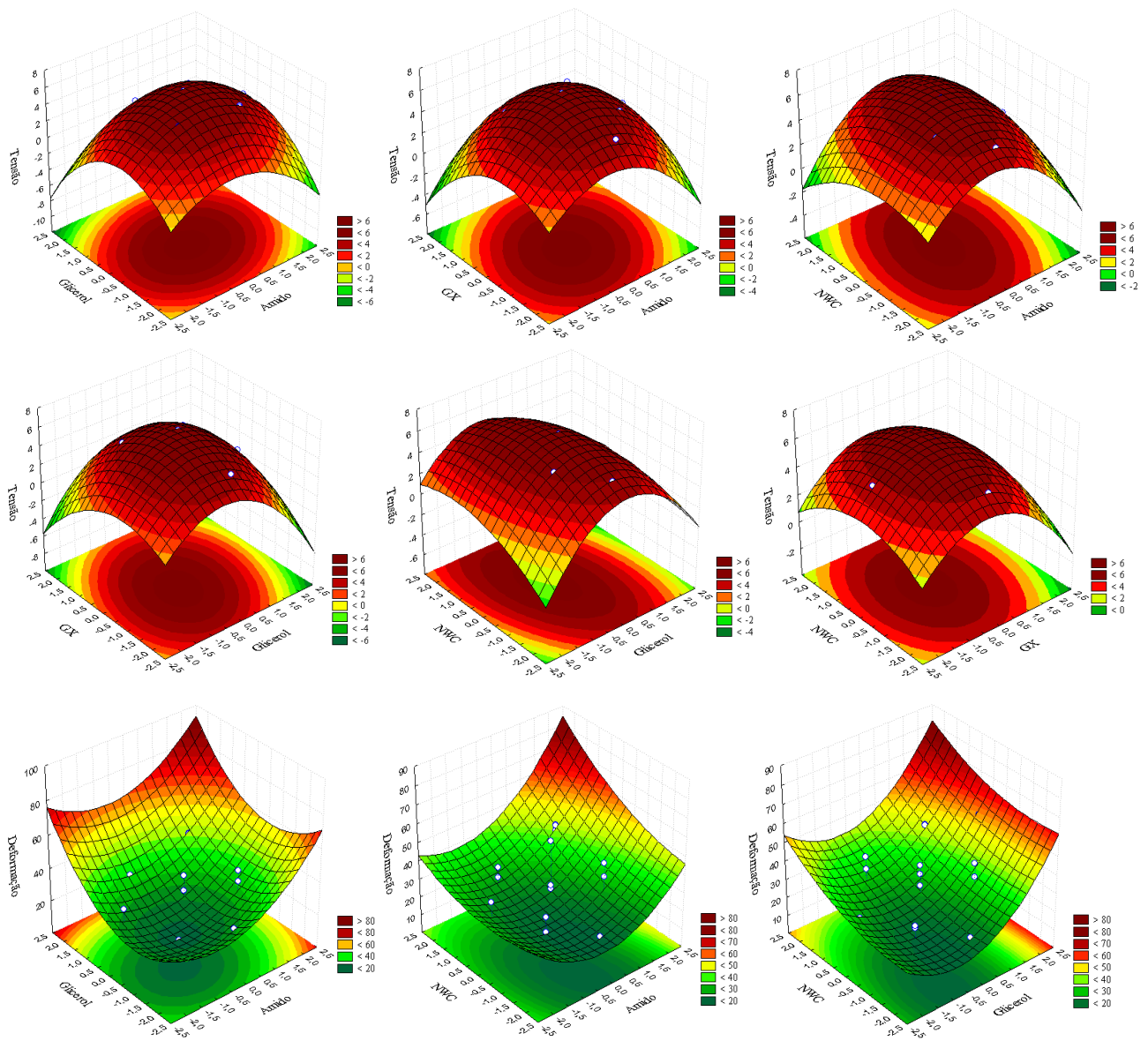


Figura 54. Superfícies de resposta geradas a 99 % de confiança para as interações das variáveis independentes significativas sobre as variáveis respostas (atividade de água e permeabilidade ao vapor d'água) para os 27 ensaios do planejamento experimental.

A interpretação obtida através da Figura 54 mostra que a incorporação de amido, goma xantana e *nanowhiskers* provocou redução na tensão máxima das formulações. Machado (2011) formulou e caracterizou mecanicamente filmes biodegradáveis de amido, glicerol e *nanowhiskers* de fibras de coco como material de reforço. A tensão máxima aumentou de 0,91 MPa para 14,09 MPa quando o teor de *nanowhiskers* passou de 0,18 % para 0,30 %. Nesse estudo a tensão na ruptura reduziu de 4,47 MPa para 4,42 MPa com o aumento da concentração de *nanowhiskers* de 0,0 % para 0,6 %. Desta forma não foi possível formar uma rede de percolação com as concentrações de NWC estudadas, fato este justificado pela microscopia eletrônica de transmissão (Figura 43) que mostra os nanocristais agregados com

algumas nanopartículas dispersas, e apesar da razão de aspecto de $54,7 \pm 24$ ser considerada alta, o que teoricamente proporcionaria capacidade de reforço quando incorporado em filmes de amido, o estado de agregação interferiu na capacidade de reforço desses nanocristais.

Tabela 34. Equações do modelo e coeficientes de determinação (R^2) para a tensão (σ) e deformação na ruptura (ϵ) dos bionanocompósitos a 99 % de confiança, X_1 = Amido de mandioca, X_2 = Glicerol e X_3 = Goma xantana e X_4 = *Nanowhiskers*.

Parâmetros	Equação	R^2
$\sigma: X_1 X_2$	$6,3000 - 0,1004X_1 - 0,7553X_1^2 - 0,5120Y_1 - 1,0065Y_1^2 + 0,3006X_1Y_1$	0,96
$\sigma: X_1 X_3$	$6,3000 - 0,1004X_1 - 0,7553X_1^2 - 0,3820Y_1 - 0,6453Y_1^2 + 0,3068X_1Y_1$	0,96
$\sigma: X_1 X_4$	$6,3000 - 0,1004X_1 - 0,7553X_1^2 + 0,0362Y_1 - 0,3403Y_1^2 + 0,2468X_1Y_1$	0,96
$\sigma: X_2 X_3$	$6,3000 - 0,5120X_1 - 1,0065X_1^2 - 0,3820Y_1 - 0,6453Y_1^2 + 0,3206X_1Y_1$	0,96
$\sigma: X_2 X_4$	$6,3000 - 0,5120X_1 - 1,0065X_1^2 + 0,036Y_1 - 0,3403Y_1^2 - 0,2693X_1Y_1$	0,96
$\sigma: X_3 X_4$	$6,3000 - 0,3820X_1 - 0,6453X_1^2 + 0,036Y_1 - 0,3403Y_1^2 + 0,0718X_1Y_1$	0,96
$\epsilon: X_1 X_2$	$23,4766 + 5,1545X_1 + 3,3551X_1^2 + 6,2029Y_1 + 3,9826Y_1^2 - 0,6443X_1Y_1$	0,95
$\epsilon: X_1 X_4$	$23,4766 + 5,1545X_1 + 3,3551X_1^2 + 4,5879Y_1 + 1,2351Y_1^2 + 1,2656X_1Y_1$	0,95
$\epsilon: X_2 X_4$	$23,4766 + 6,2029X_1 + 3,9826X_1^2 + 4,5879Y_1 + 1,2351Y_1^2 - 0,2418X_1Y_1$	0,95

Por outro lado, para as propriedades de barreira dos filmes (Anexo VI) constata-se que os filmes de amido combinado com glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* apresentaram efeitos negativos para a atividade de água e umidade, indicando que o aumento na concentração das variáveis independentes ocasiona redução desejável desses parâmetros nos filmes. Entretanto, não houve correlação direta entre a tensão, a permeabilidade ao vapor d'água e a taxa de permeabilidade ao vapor d'água.

O teste de Tukey, no nível de significância 99 %, para deformação na ruptura indica que apenas os ensaios E10, E21, E25, E26 e E27 não diferiram significativamente do controle ($p > 0,01$) (Tabela 33). Os resultados mostraram que a deformação dos filmes variou de 15,52 % para o E3 (4,0 % de amido, 0,85 % de glicerol, 0,045 % de xantana e 0,15 % de *nanowhiskers*) até 54,41 % para o E20 (4,5 % de amido, 1,60 % de glicerol, 0,030 % de xantana e 0,30 % de *nanowhiskers*).

Tendo em vista os resultados obtidos no planejamento experimental (Figura 53b e Anexo VI), fica evidente que a deformação na ruptura é influenciada positivamente pelas concentrações de amido, glicerol e *nanowhiskers* nas concentrações das variáveis independentes. Segundo Leyva et al.(2008), o aumento da concentração de glicerol torna o material mais dúctil, ou seja, com menor tensão na ruptura e maior deformação. Além disso, foi verificado que a goma xantana nas concentrações utilizadas (0,00 – 0,06 %) não influencia diretamente essa variável.

Geralmente, quando a estrutura do filme torna-se menos rígida, as propriedades relacionadas à resistência/tensão são reduzidas e a deformação aumenta. Uma deformação maior indica que o filme é mais flexível. Quando este ganho em alongamento está associado à resistência, tem-se um material com maior capacidade de suportar esforços de tração e compressão. No caso de filmes, isto pode ser associado à melhoria de performance em máquinas de acondicionamento e durante manuseio e transporte (LEYVA et al., 2008).

Laohakunjit e Noomhorm (2004) relatam o efeito do plastificante em filmes de amido de arroz, foi observado que os filmes plastificados apresentaram maior deformação na ruptura que os não plastificados, e o aumento de 20 para 30 % de glicerol no filme causou elevado aumento de deformação. Para estes autores um pequeno aumento no teor de glicerol nas soluções filmogênicas resulta em uma grande queda de tensão dos filmes e aumenta significativamente a deformação.

Mali et al. (2005) encontraram valores de 10,3 %, 34,5 % e 47,0 % para deformação na ruptura de filmes de amido de inhame com 3,3:1,3; 3,3:2,0; 4,0:1,3 de amido/glicerol (p/p) condicionados a 20 °C e 64 % UR. Os valores encontrados no presente trabalho (E17 e E14) foram semelhantes aos dois últimos resultados obtidos por esses autores. Liu et al. (2005) para filmes de amido de ervilha por extrusão condicionados a 23 °C e 50 % UR e avaliados a 50 % de UR e 23 °C, relataram valores de deformação na ruptura variando de 16,10 a 26,3 %. Este valor mínimo foi próximo ao encontrado para o filme do ensaio E1 (16,71 %), composto por 4,0 % de amido, 0,85 % de glicerol, 0,015 % de goma e 0,15 % de *nanowhiskers*, avaliado nas mesmas condições.

Ao avaliar géis de sistemas mistos amido de batata-xantana, Mandala et al. (2002) observaram que a deformação na ruptura, assim como a deformabilidade dos géis, se mostrou menor que a dos sistemas de amido puro. Isso é devido à estrutura rígida da xantana que limita a mobilidade de suas cadeias. Durante os primeiros dias de armazenamento, a deformação dos géis de amido puro foi aproximadamente o dobro daquela dos géis contendo 0,1 %, e 3 vezes maior do que aqueles géis contendo 0,3 % de xantana. Com o decorrer do armazenamento as diferenças entre as amostras foram reduzidas e as elasticidades dos sistemas com 0,1 e 0,3 % de xantana se correlacionaram com a mesma curva polinomial não diferindo significativamente.

Para avaliar o efeito dos *nanowhiskers* na deformação na ruptura apresentadas pelos filmes, sem levar em consideração as outras variáveis independentes (amido de mandioca, glicerol e goma xantana) comparou-se os resultados encontrados para os ensaios E23 (0,0 % de NWC), E24 (0,6 % de NWC) e E25 (0,3 % de NWC), as quais possuem diferentes

percentuais de *nanowhiskers* e percentuais fixos de amido de mandioca (4,5 %), glicerol (1,5 %) e goma xantana (0,030 %), com o controle (4,5 % de amido de mandioca e 1,1 % de glicerol). É possível observar que o ensaio E24, que possui o maior percentual de NWC incorporado (0,6 %), apresenta o maior valor de deformação (39,96 %) e aumento de 62 % em relação ao controle. O ensaio E23 apresentou deformação inferior ao E24 e E25, e isso está relacionado ausência de *nanowhiskers* na solução filmogênica. Para avaliar o efeito da goma xantana sobre esta variável dependente comparou-se os resultados encontrados para os ensaios E21 (0,0 % de GX), E22 (0,06 % de GX) e E25 (0,03 % de GX). É possível observar que o ensaio E22, que possui o maior percentual de xantana incorporado (0,06 %), apresenta menor deformação na ruptura (22,20 %), seguido pelo ensaio E25, que apresenta 23,24 %. O ensaio E21 apresentou deformação superior ao E22 e E25, e isso está relacionado ausência de goma xantana na solução filmogênica. Comparando estes ensaios com o controle, observa-se uma redução da deformação na ruptura de 19 % para no E21.

O módulo de Young (elasticidade) é considerado um indicador da rigidez do filme. Quanto maior o módulo, mais rígido o material (OLIVEIRA et al., 1996). Nota-se na Tabela33, que os resultados referentes às amostras condicionadas a 23 °C e 50 % UR, os valores de módulo de elasticidade variaram de 10,25 a 625,90 MPa; sendo 77,8 % deles menores que o controle (113,50 MPa).

O comportamento deste parâmetro (Anexo I, Figura 2) mostrou ser dependente da concentração de glicerol o que era esperado, uma vez que o maior valor de módulo encontrado foi no ensaio 19 (625,90 %), cuja formulação possui a menor percentagem de plastificante (0,60 %). Rocha (2009) cita que os plastificantes são substâncias incorporadas durante o processamento de filmes flexíveis visando aumentar sua capacidade de alongamento com redução da viscosidade do material fundido e do módulo de elasticidade. A influência da concentração de amido de mandioca no módulo de elasticidade dos bionanocompósitos também foi verificada. Nas concentrações estudadas, o aumento/redução dessa variável na solução filmogênica não influencia diretamente a resistência dos bionanocompósitos (Tabela 33).

O tratamento dos dados experimentais para os diferentes ensaios resultaram em equações polinomiais de segunda ordem para cada superfície de resposta gerada para o módulo de elasticidade (E) dos bionanocompósitos, em função das variáveis independentes, amido de mandioca (% , X_1), glicerol (% , X_2), goma xantana (% , X_3) e *nanowhiskers* (% , X_4) (Anexo III). No Anexo IV são apresentados os gráficos de superfície de resposta gerados, a 99 % de confiança, entre as interações Amido x Glicerol, Amido x Goma xantana, Amido x

Nanowhiskers, Glicerol x Goma xantana, Glicerol x *Nanowhiskers*, Goma xantana x *Nanowhiskers* para os 27 ensaios do planejamento experimental. O valor do coeficiente de determinação (R^2) do modelo foi 92 % e o F calculado aproximadamente 4,5 vezes maior do que o F tabelado indicando a predição do modelo.

Mali et al. (2005) observaram que, dentre os filmes de amido, os de mandioca apresentavam menor resistência e maior flexibilidade comparados aos filmes obtidos de amidos de outras fontes, como milho e inhame. Observaram também um decréscimo do módulo de elasticidade em filmes plastificados com glicerol, quando comparados aos não plastificados. Arvanitoyannis et al. (1996) estudaram propriedades físicas de filmes comestíveis de misturas de caseinato de sódio com amidos de diferentes origens (milho e trigo) plastificados com água, glicerol ou açúcares. Os resultados apontaram que um aumento no conteúdo de água/glicerol provocou uma diminuição considerável no módulo de elasticidade dos filmes, similar ao comportamento do presente trabalho.

A adição de goma xantana influenciou negativamente a rigidez dos filmes, em geral os ensaios apresentaram uma tendência de diminuição da rigidez com a adição de xantana. Os filmes contendo 0,030 % de goma (pontos centrais) apresentaram valores de módulo de elasticidade bastante semelhantes ao filme controle, contendo somente amido e glicerol. Observa-se também que a ausência de goma xantana na solução filmogênica proporcionou acréscimo de 92 % na resistência do material quando comparado do filme com maior concentração de goma (0,060 %). Este fato pode ser justificado pelo grande número de hidroxilas livres, capazes de se ligar às moléculas de água do ambiente.

Silva (2013) estudando filmes de amido de mandioca adicionados de sacarose, açúcar invertido e *nanowhiskers* de fibras de licuri, observou que as propriedades mecânicas dos filmes foram consideravelmente reforçadas com a incorporação de 0,1-5 % de nanopartículas, atingindo até 92 % de aumento na tensão máxima e 400 % no módulo de elasticidade, quando comparadas ao filme controle (filme sem *nanowhiskers*). Lu et al. (2006) investigaram as propriedades mecânicas de bionanocompósitos de amido de milho e *nanowhiskers* obtidos a partir da fibras de rami, usando glicerol como plastificante. Os resultados indicaram aumento de até 250 % na tensão máxima e 860 % no módulo de elasticidade quando comparado ao filme de amido puro. Tal fato foi justificado pelas fortes interações existentes entre as partículas de amilopectina presentes na matriz e os *nanowhiskers* de celulose.

A análise termogravimétrica é uma análise fundamental na caracterização de filmes biodegradáveis. Com a caracterização por termogravimetria foi possível determinar as temperaturas de degradação, as perdas de massa, o efeito da adição de cada variável na

solução filmogênica e a estabilidade térmica dos bionanocompósitos. As temperaturas iniciais de degradação (Tonset) e as perdas de massa (Δm) das diferentes formulações de bionanocompósitos e do filme controle estão apresentadas na Tabela 33. O processo de decomposição térmica, aconteceu em apenas um estágio para os ensaios E1, E2, E4, E7, E10, E11, E12, E13, E14, E16, E18, E19, E20, E21, E22, E23, E24, E25, E26 e E27 e em dois estágios distintos para os ensaios E3, E5, E6, E8, E9, E15, E17 e E20. Neste estudo foi considerado o pequeno evento térmico que ocorre a aproximadamente 30 °C (Tonset) em todas as formulações, visto que este evento é devido à perda de água dos bionanocompósitos. Para evitar a formação deste evento, os filmes podem ser secos em estufa antes da análise.

As variações nas temperaturas de degradação térmica foram significativas entre as médias da maioria dos ensaios, e entre os ensaios e o controle, com valores limites de 251,95 °C (E19) a 321,32 °C (E20). O gráfico de Pareto, mostrado no Anexo I, indica que o glicerol exerce de forma linear maior influência positiva sobre este parâmetro.

A composição dos filmes ocasiona as diferenças no seu comportamento de degradação térmica. Este parâmetro mostrou ser dependente da concentração de glicerol uma vez que o maior valor encontrado de temperatura inicial de degradação do bionanocompósito foi no E20 (321,32 °C), cuja formulação possui a maior percentagem de plastificante e o menor valor, no E19 (251,95 °C), com a menor percentagem (Tabela 33).

É possível observar por meio da Tabela 33 e do Anexo I (Figura 2) que a incorporação de goma xantana contribuiu para o aumento da estabilidade térmica dos bionanocompósitos. O E22 (máximo teor de xantana adicionado) iniciou a degradação a 313,53 °C e alcançou a degradação total a 511,24 °C, enquanto que o E21 (sem adição de xantana) iniciou a degradação a 301,77 °C e alcançou a degradação total a 434,56 °C, indicando que a adição de xantana na solução filmogênica promoveu um retardo no processo de degradação térmica dos filmes.

Outra observação a ser feita a respeito do TGA dos filmes, é que em geral a adição de *nanowhiskers* na matriz polimérica amido de mandioca diminuiu a estabilidade térmica dos bionanocompósitos constatado através dos ensaios E24 (máximo teor de NWC), que iniciou a degradação a 281,27 °C, e do E23 (sem adição de NWC) que iniciou a degradação a 299,88 °C. Acredita-se que seja devido à diminuição da condutividade térmica entre os componentes da formulação (PAUL e BUCKNALL, 2000).

A fim de examinar o comportamento de decomposição térmica dos filmes de amido de mandioca obtidos no planejamento experimental foram plotadas as curvas TGA para os seis ensaios com maior temperatura inicial de degradação (Tonset) juntamente com o filme

controle. As curvas DTG dos eventos selecionados foram plotadas para aperfeiçoar a resolução e permitir revelar, com maior nitidez, as perdas de massa desses materiais quando aquecidos a temperatura e atmosfera controlada. A estabilidade térmica dos filmes controle, E8, E15, E16, E17, E20 e E22, quando submetidos a uma razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ entre 25 e $650\text{ }^{\circ}\text{C}$, são apresentados na Figura 55.

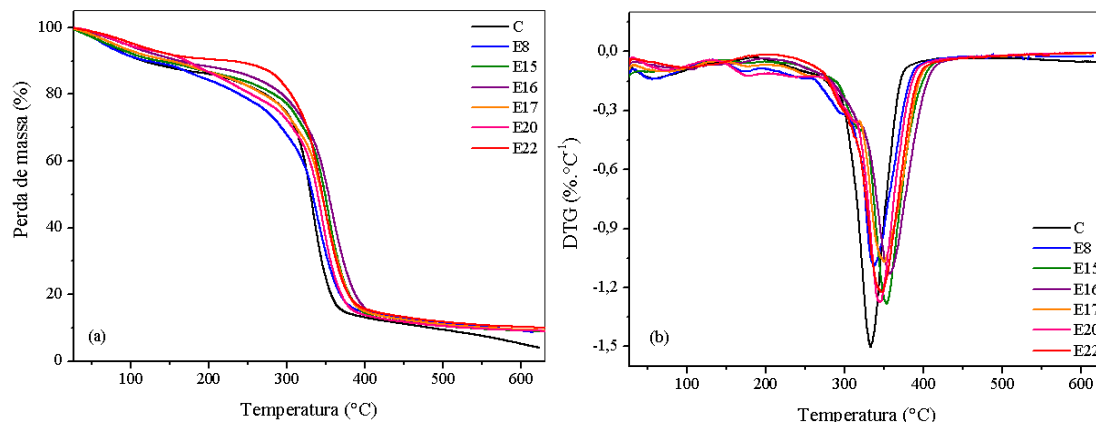


Figura 55. Curva de TGA (a) e DTG (b) do filme controle e dos ensaios de melhor estabilidade térmica formulados com diferentes teores de amido de mandioca, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers*.

BONA (2007) avaliou blendas de polietileno de baixa densidade contendo amido de mandioca e observou que a adição do amido na matriz polimérica não provocou alterações significativas nas curvas de degradação térmica das blendas, indicando que os componentes da mistura não interferiram no mecanismo de degradação térmica dos componentes puros. SILVA et al. (2011) avaliaram por TGA filmes de amido de mandioca contendo *nanowhiskers* de celulose de eucalipto e relatam que a presença de elevadas concentrações desses nanocristais (3,0 a 5,0 %) promove a ocorrência de mais um evento térmico, quando comparado aos filmes contendo menores percentuais dos nanocristais (0,1 a 2,0 %). Desta maneira, os valores da temperatura inicial de degradação térmica (Tonset) são importantes, pois eles indicam o limite máximo da temperatura de processo ou manufatura térmica dos materiais.

4.3. Propriedades óticas dos bionanocompósitos

A cor da embalagem é um parâmetro importante para a aparência e aceitação do produto. A Tabela 35 apresenta os valores médios e os desvios-padrão dos parâmetros de cor L^* (Luminosidade), a^* (croma a), b^* (croma b) e ΔE (diferença de cor) dos

bionanocompósitos obtidos no planejamento experimental de acordo com a quantidade de amido de mandioca, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* utilizados.

Tabela 35. Parâmetros de cor L*, a*, b*, ΔE do controle e dos filmes a base de amido de mandioca elaborados pelo método *casting* incorporados de glicerol, goma xantana e *nanowhiskers*.

Ensaio	% Amido	% Glicerol	% GX	% NWC	L*	a*	b*	ΔE
Controle	4,50	1,10	-	-	83,48±0,4 ^{d,e,f}	-0,20±0,09 ^l	2,05±0,03 ^a	83,51±0,02 ^{ij,lm}
1	4,00	0,85	0,015	0,15	80,83±0,4 ^f	-0,24±0,1 ^b	1,98±0,1 ^a	80,85±0,3 ^{m,n}
2	4,00	0,85	0,015	0,45	83,84±0,5 ^{d,e,f}	-0,26±0,01 ^b	1,96±0,1 ^a	83,86±0,0,8 ^{ij,lm}
3	4,00	0,85	0,045	0,15	83,06±0,3 ^{d,e,f}	-0,20±0,1 ^b	2,07±0,1 ^a	83,09±0,3 ^{ij,lm,n}
4	4,00	0,85	0,045	0,45	81,15±0,3 ^f	-0,26±0,07 ^b	2,05 ±0,1 ^a	81,17±0,1 ^{lm,n}
5	4,00	1,35	0,015	0,15	82,71±0,4 ^{e,f}	-0,28±0,06 ^b	1,97±0,1 ^a	85,96±0,4 ^{hi}
6	4,00	1,35	0,015	0,45	84,73±0,2 ^{d,e,f}	-0,29±0,09 ^b	1,97±0,04 ^a	84,76±0,09 ^{hi,j}
7	4,00	1,35	0,045	0,15	83,99±0,5 ^{d,e,f}	-0,33±0,1 ^b	2,15±0,06 ^a	84,02±0,1 ^{ij,l}
8	4,00	1,35	0,045	0,45	87,69±0,2 ^{b,c,d,e,f}	-0,29±0,04 ^b	2,12±0,09 ^a	87,72±0,5 ^{g,h}
9	5,00	0,85	0,015	0,15	85,94±0,5 ^{c,d,e,f}	-0,25±0,1 ^b	2,01±0,05 ^a	82,73±0,05 ^{ij,lm,n}
10	5,00	0,85	0,015	0,45	91,02±0,2 ^{a,b,c,d,e,f}	-0,37±0,01 ^b	2,20±0,1 ^a	91,04±0,1 ^f
11	5,00	0,85	0,045	0,15	90,34±0,3 ^{a,b,c,d,e,f}	-0,38±0,02 ^b	2,28±0,1 ^a	90,37±0,2 ^{f,g}
12	5,00	0,85	0,045	0,45	85,92±0,7 ^{c,d,e,f}	-0,32±0,09 ^b	2,25±0,1 ^a	85,95±0,01 ^{hi}
13	5,00	1,35	0,015	0,15	86,00±0,1 ^{c,d,e,f}	-0,33±0,1 ^b	2,04±0,2 ^a	86,03±0,07 ^{hi}
14	5,00	1,35	0,015	0,45	99,87±0,1 ^{a,b,c}	-0,91±0,04 ^a	2,30±0,1 ^a	99,90±0,08 ^{b,c,d}
15	5,00	1,35	0,045	0,15	97,46±0,1 ^{a,b,c,d,e}	-0,90±0,07 ^a	2,46±0,1 ^a	97,50±0,3 ^{d,e}
16	5,00	1,35	0,045	0,45	101,54±0,4 ^{a,b}	-0,94±0,04 ^a	2,39±0,2 ^a	101,57±0,06 ^{a,b}
17	3,50	1,10	0,030	0,30	80,73±0,6 ^f	-0,91±0,1 ^a	2,26±0,1 ^a	80,77±0,2 ^{m,n}
18	5,50	1,10	0,030	0,30	101,50±0,3 ^{a,b}	-0,96±0,6 ^a	2,30±0,2 ^a	101,53±0,4 ^{a,b}
19	4,50	0,60	0,030	0,30	96,71±0,6 ^{a,b,c,d,e}	-0,86±0,1 ^a	1,91±0,05 ^a	96,73±0,4 ^e
20	4,50	1,60	0,030	0,30	103,70±0,2 ^a	-1,00±0,09 ^a	2,34±0,1 ^a	103,73±0,1 ^a
21	4,50	1,10	0,000	0,30	84,41±0,2 ^{d,e,f}	-0,30±0,1 ^b	2,04±0,3 ^a	84,44±0,09 ^{ij}
22	4,50	1,10	0,060	0,30	97,86±0,5 ^{a,b,c,d}	-0,95±0,1 ^a	2,36±0,1 ^a	84,90±0,04 ^{c,d,e}
23	4,50	1,10	0,030	0,00	84,30±0,8 ^{d,e,f}	-0,34±0,1 ^b	2,25±0,4 ^a	84,33±0,1 ^{ij}
24	4,50	1,10	0,030	0,60	100,75±0,4 ^{a,b,c}	-1,07±0,08 ^a	2,17±0,05 ^a	100,78±0,01 ^{a,b,c}
25*	4,50	1,10	0,030	0,30	81,12±0,2 ^f	-0,29±0,01 ^b	2,10±0,09 ^a	81,05±0,3 ⁿ
26*	4,50	1,10	0,030	0,30	81,10±0,4 ^f	-0,29±0,1 ^b	2,09±0,2 ^a	81,12±0,2 ⁿ
27*	4,50	1,10	0,030	0,30	81,05±0,4 ^f	-0,27±0,07 ^b	2,13±0,2 ^a	81,08±0,09 ⁿ
Intervalo	3,50-5,50	0,60-1,10	0,00-0,06	0,0-0,6	80,73-103,70	-0,20 - -1,07	1,91-2,46	80,77-101,53
R M	-	-	-	-	-	0,0%	6,8%	3,2%
A M	-	-	-	-	19,5	81,3%	16,6%	17,7 %

*Pontos Centrais. Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas ($p>0,01$) pelo Teste de Tuckey a 99 % de confiança. R M – Redução máxima das respostas em relação ao filme controle. A M - Aumento máximo das respostas em relação ao filme controle.

Pelos dados obtidos na Tabela 35 é possível observar que o parâmetro L^* , que caracteriza a luminosidade das amostras, para a maioria dos ensaios aumentou diferindo estatisticamente do controle (83,48). A maior luminosidade foi alcançada pelo E16 contendo 5,0 % de amido, 1,35 % de glicerol, 0,045 % de goma xantana e 0,45 % de *nanowhiskers*. A análise de variância, ANOVA, reportada nos Anexos II, mostra a variação explicada pela regressão (R^2) de 81,80 %, entretanto F calculado é apenas 1,77 vezes maior que o F tabelado, não validando o modelo de regressão. De acordo com o gráfico de Pareto mostrado no Anexo I, Figura 3, o efeito do termo linear do amido de mandioca é positivo e o que mais influe na luminosidade do filme. O aumento da concentração de amido na solução filmogênica aumenta significativamente o parâmetro L^* ($p < 0,01$), isto é, a luminosidade dos bionanocompósitos está mais próxima do branco, com o aumento da concentração de amido de mandioca, como esperado. Comportamento similar foi verificado com o aumento da concentração de glicerol nos filmes, sendo o menor valor de L^* apresentado pelo filme elaborado com a menor concentração de amido (3,5 %) e concentração intermediária de glicerol (1,10 %), e o maior valor de L^* foi obtido no filme contendo 4,5 % de amido e 1,6 % de glicerol. A goma xantana e *nanowhiskers* exercem efeito significativo ($p < 0,01$) e positivo sobre esta variável dependente. Os efeitos positivos indicam que o aumento nas concentrações destes parâmetros na solução filmogênica promove um aumento na luminosidade dos bionanocompósitos (Anexo VI).

Os modelos de regressão para a coordenada de cromaticidade a^* (croma a^*) também foram gerados, pois a variação explicada foi de 53,81 % e o F calculado inferior ao F tabelado (Anexo II).

Segundo o gráfico de Pareto (Anexo I, Figura 3), o termo linear do amido de mandioca produz um efeito positivo significativo na determinação do croma a^* ou seja, concentrações maiores de amido aumenta os valores para o croma a^* e conseqüentemente aumenta também a tendência da cor dos filmes para o verde.

Através da Tabela 35 e dos Anexos I e VI é possível observar que o croma a^* das amostras apresentou valores que variaram de -0,20 (E3, com 4,0 % de amido, 0,85 % de glicerol, 0,045 % de goma xantana e 0,15 % de *nanowhiskers*) a -1,07 (E24, com 4,5 % de amido, 1,10 % de glicerol, 0,030 % de goma xantana e 0,60 % de *nanowhiskers*) e, assim como para a luminosidade (L^*), em geral o aumento das concentrações de amido, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* aumentou os valores desse parâmetro. Os valores baixos, próximos de zero, indicam a presença de uma

região que é pálida, opaca e se situa na região central no eixo das abscissas (região acromática).

A análise de variância (Anexo II) para a coordenada de cromaticidade b^* inviabiliza o modelo de regressão mostrando uma variação explicada pela regressão (R^2) de 78,90 % e um F calculado apenas 1,47 vezes maior que o F tabelado. Já do gráfico de Pareto (Anexo I, Figura 3) pode-se extrair que o termo linear da goma xantana produz efeito positivo significativo para a determinação do croma b^* . Os termos lineares do amido e do glicerol também produzem efeitos positivos neste parâmetro.

O croma b^* das amostras apresentou valores que variaram de 1,91 (E19, com 4,5 % de amido, 0,6 % de glicerol, 0,030 % de goma xantana e 0,30 % de *nanowhiskers*) a 2,46 (E15, com 5,0 % de amido, 1,35 % de glicerol, 0,045 % de goma xantana e 0,15 % de *nanowhiskers*), sendo que as amostras apresentaram maiores valores com aumento das concentrações de goma xantana, amido e de glicerol. A concentração de *nanowhiskers* de palha de milho nos filmes não interferiu nessa resposta (Anexos I e VI). No entanto, diversos autores afirmam que existem uma relação de interação entre as coordenadas de cromaticidade a^* e b^* , significando que as alterações de um ou outro parâmetro estão diretamente relacionadas à cor do produto objeto de estudo (WYSZECKI e STILES, 2000; CHOUBERT e BACCAUNAUD, 2006). Esse componente de cor varia do azul (-) ao amarelo (+) e as amostras, de uma forma geral, apresentaram uma tendência em relação à coloração amarelada.

A diferença de cor (ΔE) não pode ser explicada por um modelo preditivo, a análise de variância (Anexo II) não valida o modelo apresentando variação explicada pela regressão de 86,25 % e o F calculado apenas 2,47 vezes maior que o F tabelado.

Os termos lineares e quadráticos do amido de mandioca, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* produzem efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,01$) na determinação da diferença de cor dos filmes, como mostra o gráfico de Pareto (Anexo I, Figura 3), resultado esperado uma vez que as variáveis independentes utilizadas possuem capacidade de imprimir cor aos bionanocompósitos.

Todos os ensaios apresentaram diferença significativa entre si para o parâmetro de diferença de cor (Tabela 33). E16 apresentou maior diferença de cor (101,57) em relação ao controle (83,51) seguida pela E24 (100,78), a menor diferença de cor foi apresentada pela E17 (80,77) demonstrando a alta influência das variáveis na determinação da cor dos filmes.

Filmes elaborados com amido de mandioca e goma xantana acetilada e desacetilada, acrescidos de óleo de soja, sacarose, propileno-glicol e fosfato de sódio monossódico foram estudados por Santos et al. (2005). Somente a concentração do amido de mandioca afetou a diferença total de cor nestes filmes. Todas as amostras apresentaram altos valores de luminosidade e baixos valores de croma a^* (verde) e b^* (amarelo), indicando que, independente dos aditivos utilizados, os materiais eram, quase que totalmente sem cor, com um alto brilho. Neste estudo, os filmes elaborados com goma xantana e *nanowhiskers* de palha de milho apresentaram comportamento similar.

Filmes elaborados com misturas de amido de arroz e quitosana em diferentes proporções foram avaliados por Bourtoom e Chinnan (2008). A principal diferença nos parâmetros de cor foi relacionado ao acréscimo de quitosana, resultando em filmes de cores mais suaves a julgar pelos valores de L^* , a^* e ΔE . Os valores de b^* aumentaram no sentido docroma amarelo em função da variação da taxa amido/quitosana ter passado de 2:1 para 0,5:1.

Referências

- ACHAYUTHAKAN, P.; SUPHANTHARIKA, M. Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers*, v.71, p. 9 - 17, 2008.
- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D.A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. *Thermochimica Acta*, v. 319, p. 17, 1998.
- AGUNBIADE, S. O.; LONGE, O. G. The physico-functional characteristics of starches from cowpea (*Vigna unguiculata*), pigeon pea (*Cajanus cajan*) and yam (*Dioscorea eschscholzii*). *Food Chemistry*, v. 65, p. 469, 1999.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – Wheat straw and soy hulls. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 1664-1671, 2008.
- AMANTE, E. R. Caracterização de Amidos de Variedades de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) e de Batata-doce (*Ipomoea batatas*). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 1986.
- ANGLÉS, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. Structural analysis. *Macromolecules*, v. 33, p. 8344-8353, 2000.
- ANGLÉS, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. Mechanical behavior. *Macromolecules*, v. 34, p. 2921-2931, 2001.
- ANGLÉS, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. Structural analysis. *Macromolecules*, v. 33, p. 8344-8353, 2000.
- ANTUNES, A. E. C.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Síntese de biopolímero xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 6, p. 123, 2000.
- APLEVICZ, K. S. Caracterização de produtos panificados a base de féculas de mandioca nativas e modificadas. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2006.
- ARAKI, J.; WADA, M.; KUGA, S.; OKANO, T. Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 142, p. 75-82, 1998.
- ARVANITTOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. *Carbohydrate Polymers*, v.31, p.179-192,1996.

ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V.; RICKARD, J. E. Effects of cultivar and growth season on the gelatinisation properties of cassava (*Manihot esculenta*) starch. *Journal of Science of Food and Agricultural*, v. 59, p. 53-58, 1992.

ASSIS, D. J. Influência da aeração e agitação nas propriedades de gomas xantana produzidas por *Xanthomonas campestris mangiferaeindicae* 2103 com glicerina residual do biodiesel: otimização e cinética do bioprocesso. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2013.

AVÉROUS, L.; FRINGANT, C.; MORO, L. Plasticized starch-cellulose interactions in polysaccharides composites. *Polymers*, v. 42, p. 6565-6572, 2000.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. *Como fazer experimentos pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. Campinas: Editora UNICAMP, 2002.

BATTISTA, O. A.; SMITH, P. A. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch sorbitol films. *Industrial and Engineering Chemistry*, v. 54, p. 20-29, 1962.

BECK, C. S.; ROMAN, M.; GRAY, D. G. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 1048-1054, 2005.

BENINCA C. Emprego de técnicas termoanalíticas na análise de amidos nativos e quimicamente modificados de diferentes fontes botânicas. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2008.

BENINI, K. C. C. Desenvolvimento e caracterização de compósitos poliméricos reforçados com fibras lignocelulósicas: HIPS/fibra da casca do coco verde e bagaço de cana de açúcar. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Guaratinguetá, Guaratinguetá - SP, 2011.

BICUDO, S. C. W. Caracterização de amidos nativos de diferentes fontes botânicas através de técnicas termoanalíticas e teor de amilose. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2008.

BILIADERIS, C. G. Structures and phase transitions of starch in food systems. *Food Technology*, v. 46, p. 98, 1992.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à Química dos Alimentos*. 2^{ed}. São Paulo: Varela, 1995.

BONA, J. C. Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos),

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2007.

BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. *Cellulose*, v. 13, p. 171–180, 2006.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M.S. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *Food Science and Technology*, v. 41, p. 1633-1641, 2008.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. *Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function*. University of Wisconsin Technical Report, n. 9, 1973.

BRANDÃO, L. V. Goma xantana obtida por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel: Produção, caracterização e aplicação para fluido de perfuração de poços de petróleo. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2012.

BRAUN, B.; DORGAN, J. R.; CHANDLER, J. P. Cellulosic *nanowhiskers*. Theory and application of light scattering from polydisperse spheroids in the rayleigh-gans-debye regime. *Biomacromolecules*, v. 9, n. 4, p. 1525-1263, 2008.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALLS, S. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Biomacromolecules*, v. 23. p. 85, 1998.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. *Planejamento de Experimentos usando o Statistica*. Rio de Janeiro: E-papers, 2003.

CANEVAROLO JR., S. V. *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. São Paulo: Artliber, 2004.

CAO, X.; CHEN, Y.; CHANG, P. R.; STUMBORG, M.; HUNEAULT, M. A. Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 109, p. 3804-3810, 2008.

CARVALHO FILHO, M. A. da S. Preparação e estudo termoanalítico dos cinamatos de terras raras, exceto (Escândio), no estado sólido. Tese (Doutorado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual Paulista, São Paulo - SP, 2000.

CASAS, J. A.; SANTOS, V. E.; GARCÍA-OCHOA, F. Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. *Enzyme and Microbiology Technology*, v. 26, p. 282, 2000.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; MELO, H. C.; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A.; LIMA JÚNIOR, E. C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a diferentes foto períodos. *Horticultura Brasileira*, v. 23, p. 846, 2005.

CEREDA, M. P. *Propriedades gerais do amido*. São Paulo: Fundação Cargill (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-Americanas), v. 1, 2001.

CEREDA, M. P.; FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B., LEONEL, M.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. *Propriedades gerais do amido*. São Paulo: Fundação Cargill (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-Americanas), v. 2, 2002.

CHALLEN, I. A. Xanthan gum: a multifunctional stabiliser for food products. In: NISHINARI, K.; DOI, E. *Food hydrocolloids: structures, properties, and functions*. New York: Plenum Press, p.135-140, 1993.

CHANG, Y. P.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties on tapioca starch films. *Food Hydrocolloids*, v. 20, p.1-8, 2006.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F. *Non-newtonian flow in the process industries fundamentals and engineering applications*. Grã- Bretanha: Butterworth Heinemann, 1999.

CHOUBERT, G.; BACCAUNAUD, M. Colour changes of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed astaxanthin or canthaxanthin during storage under controlled or modified atmosphere. *Food Science and Technology*, v. 39, p. 1203-1213, 2006.

CORRÊA, A. C.; TEIXEIRA, E. M.; MARCONCINI, J. M.; PESSAN, L. A.; MATTOSO, H. C. Nanofibras de celulose a partir de fibras de curauá. In: *10º Congresso Brasileiro de Polímeros*, Foz do Iguaçu, PR, 2009.

COSTA, L. A. S. Biossíntese de goma xantana a partir da casca de camarão: parâmetros de fermentação e caracterização do biopolímero. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BA, 2010.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Stability of myofibrillar protein-based biopackagings during storage. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*, v. 29, n. 4, p. 344-348, 1996.

CRAIG, S. A. S.; MANINGAT, C. C; SEIB, P. A; HOSENEY, R. C. Starch paste clarity. *Cereal Chemistry*, v. 66, p. 173, 1989.

DA MATTA JR., M. D. Caracterização de biofilmes obtidos a partir de amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 2009.

DAIUTO, E. R.; CEREDA, M. P.; CARVALHO, L. J. C. B. Características e propriedades do amido extraído de camadas do tecido da raiz de mandioca. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 5, p. 217, 2002.

DE VUYST, L.; VAN LOO, J.; VANDAMME, E.J. Two-step fermentation process for improved xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. *Journal Chemical Biotechnology*, v. 39, p. 263-273, 1987.

DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. A. Physico-chemical properties of cassava starch. *Starch/Stärke*, v. 50, p. 58, 1998.

DRUZIAN J. I. Estudo da estrutura de exopolissacarídeo produzidos por espécies de *Rhizobium* e uma de *Bradyrhizobium* isolados de solo de cultivar de feijão de corda (*Vigna unguiculata* L.). Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2000.

ELAZZOUZI-HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J. L. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. *Biomacromolecules*, v. 9, p. 57-65, 2008.

FAKHOURI, F. M. Coberturas comestíveis aplicadas na preservação de goiabas in natura (*Psidium guajava*). Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2002.

FARIA, S.; PETKOWICZ, C. L. O.; MORAIS, S. A. L.; TERRONES, M. G. H.; RESENDE, M. M.; FRANÇA, F. P.; CARDOSO, V. L. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 469, 2011.

FENGEL, D.; WENEGER, G., *Wood – Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, Walter de Gruyter, Berlin, New York 1984.

FENNEMA, O. *Química de los Alimentos*. 2^{ed}. Espanha: Acribia, 2000.

FERRINI, L. M. K. Efeito da modificação ácido-metanólica nas características estruturais e físico-químicas de amidos de milho e mandioca. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, São Paulo - SP, 2006.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO C. F. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules. Effect of size of the granules. *Starch/Stärke*, v. 44, p. 422, 1992.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Efeito do tratamento térmico com baixa umidade sobre as propriedades físico-químicas de amostras comerciais de amidos de milho e mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 15, p. 112, 1995.

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, 2001.

- FREITAS, R. A.; PAULA, R. C.; FEITOSA, J. P. A.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI, M. R. Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 55, p. 3, 2004.
- GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E.; MALLI, S.; BELLO-PEREZ, L. A.; GARCIA, M. A. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. *Materials Science Engineering*, v. 29, p. 492, 2009.
- GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: Galliard, T. *Starch: properties and potential*. Chichester: Wiley, 1987.
- GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Journal of Food Science*, v. 65, n. 6, p. 941-947, 2000.
- GARCIA, M. A.; PINOTTI, A.; ZARITZKY, N. E. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. *Starch/Stärke*, v. 58, p. 453-463, 2006.
- GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, v. 18, p. 549, 2000.
- GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; FORSSELL, P. M.; COLONNA, P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. *Carbohydrate Polymers*, v. 43, p. 33-37, 2000.
- GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; LE BOTLAN, D.; ILARI, J. L. Colonna P. Plasticisation and mobility in starch-sorbitol films. *Journal of Cereal Science*, v. 29, p. 273-284, 1999.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Property modification of edible wheat, gluten-based films. *Transactions of American Society of Agriculture Engineers*, v. 36, p. 465-470, 1993.
- GOMES, A. M. M. Preparação, caracterização e avaliação da biodegradabilidade de blendas de amido/quitosana/pva. Tese (Doutorado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2008.
- GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite film of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 29 p. 39-50, 1994.
- GRISI, C. Utilização de derivados do dendê (*elais guineensis jaquim*) em embalagens ativas à base de fécula de mandioca com função antioxidante. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2008.
- HABIBI, Y.; DUFRESNE, A. Highly Filled Bionanocomposites from functionalized polysaccharide nanocrystals. *Biomacromolecules*, v. 9, p. 1974-1980, 2008.

HABIBI, Y.; FOULON, L.; AGUIÉ-BÉGHIN, V.; MOLINARI, M.; DOUILLARD, R. Langmuir–Blodgett films of cellulose nanocrystals: Preparation and characterization. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 316, p. 388-397, 2007.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self assembly and applications. *Chemical Reviews*, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.

HASHIM, D. B.; MOORTHY, S. N.; MITCHELL, J. R.; HILL, S. E.; LINFOOT, K. J.; BLANSHARD, J. M. V. The effect of low levels of antioxidants on the swelling and solubility of cassava starch. *Starch/Stärke*, v. 44, p. 471, 1992.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, v. 45, p. 253, 2001.

IONASHIRO, M. *Fundamentos de termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. 1^{ed}. São Paulo: Giz, 2005.

JEAN, B.; DUBREUIL, F.; HEUX, L.; COUSIN, F. Structural details of cellulose nanocrystals/polyelectrolytes multilayers probed by neutron reflectivity and AFM. *Langmuir*, v. 24, p. 3452-3458, 2008.

JENSEN, S.; GROSSMANN, M. V. E; MALI, S. Microestrutura e estabilidade de filmes de amido de mandioca adicionados de emulsificantes com diferentes equilíbrios hidrofílico/ lipofílico. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, p. 97, 2009.

KAMEL, S. Nanotechnology and its applications in lignocellulosic composites: A Mini Review. *Express Polymer Letters*, v.1, n.9, p. 546–575, 2007.

KAUR, M.; SANDHU, K. S.; SINGH, N. Comparative study of the functional, thermal and pasting properties of flours from different field pea (*Pisum sativum* L.) and pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) cultivars. *Food Chemistry*, v. 104, p. 259, 2007.

KAWABATA, A.; SAWAYAMA, S.; NAGASHIMA, N.; ROSARIO, R. R.; DEL NAKAMURA, M. Some physico-chemical properties of starches from cassava, arrow root and sago. *Journal of the Japanese Society of Starch Science*, v. 31, p. 224, 1984.

KVIEN, I.; SUGIYAMA, J.; VOTRUBEC, M.; OKSMAN, K. Characterization of starch based nanocomposites. *Journal of Materials Science*, v. 42, p. 8163-8171, 2007.

KVIEN, I.; TANEM, B. S.; OKSMAN, K. Characterization of cellulose *whiskers* and their nano composites by atomic force end electron microscopy. *Biomacromolecules*. v. 6, p. 3160-3165, 2005.

LACERDA, L. G. Uso de técnicas termoanalíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amidos de matérias-primas tropicais. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa -PR, 2006.

- LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of plasticizer on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch/Stärke*, v. 56, p. 348-356, 2004.
- LARSSON, P.; WICKHOLM, K.; IVERSEN, T.; A CP/MAS 13C NMR investigation of molecular ordering in cellulose, *Carbohydrate Research*, v. 302, p. 19-25, 1997.
- LECHNER, M. D.; GEHRKE, K.; NORDMEIER, E. *Makromolekulare chemie*. 2^{ed}. Berlin: Birkhäuser, 1996.
- LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p. 579, 2007.
- LESLEY, S. M.; HOCHSTER, R. M. The extracellular polysaccharide of *Xanthomonas phaseoli*. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, p. 513, 1959.
- LEYVA, M.B.; CHÁVEZ, P.T.; WONG, B.R.; JATOMEA, M.P.; BOJÓRQUEZ, F.B. Physical and mechanical properties of durum wheat (*Triticum durum*) starch films prepared with a- and b- type granules. *Starch/Stärke*, v. 60, n. 8, p. 559-567, 2008.
- LINDEN, G.; LORIENT, D. *Bioquímica agroindustrial – revalorización alimentaria de la producción agrícola*. Espanha: Acríbia, 1996.
- LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHENA, L.; LI, L. Thermal processing of starch based polymers. *Process in Polymer Science*, v. 34, p. 1348, 2009.
- LIU, L.; KERRY, J.F.; KERRY, J.P. Section of optimum extrusion technology parameters in the manufacture of edible/biodegradable packaging films derived from food-based polymers. *Journal of Food Agriculture Environment*, v. 3, p. 51-58, 2005.
- LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer: The Chemistry, Physics and Technology of High Polymer*, v.38, n.21, p. 5401-5406, 1997.
- LU, Y.; WENG, L.; CAO, X. Morphological, thermal and mechanical properties of ramie crystallites-reinforced plasticized starch biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, v. 63, p.198-204, 2006.
- LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. *Caracterização de polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica*. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2001.
- MACHADO, B. A. S. Desenvolvimento e caracterização de filmes flexíveis de amido de mandioca com nanocelulose de coco. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2011.
- MACHADO, J. C. V. *Reologia e Escoamento de Fluidos – Ênfase na Indústria do Petróleo*. Rio de Janeiro: Interciência, 2002.

MAHESWARI, C. U.; REDDY, K. O.; RAJULU, A. V. Tensile properties and thermal degradation parameters of tamarind fruit fibers. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, v.27, p. 1827-1832, 2008.

MAIEVES, H. A.; OLIVEIRA, D. C.; FRESCURA, J. R.; AMANTE, E. R. Selection of cultivars for minimization of waste and of water consumption in cassava starch production, v. 33, p. 224-228, 2011.

MALI, S; GROSSMAN, M.V.E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 24, p.7055-7011, 2003.

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, p. 283, 2005.

MALI, S; GROSSMAN, M. V. E; GARCIA, M. A.; MERTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch film. *Food Hydrocolloids*, v. 19, p. 157–164, 2005.

MARCON, M. J. A. Proposta para o mecanismo de expansão do polvilho azedo com base nas características físico químicas. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis–SC, 2009.

MARCON, M. J. A; AVANCINI, S. R. P; AMANTE, E. R. Propriedades químicas e tecnológicas do amido de mandioca e do polvilho azedo. Florianópolis: Editora UFSC, 2007.

MASOUMY, E.; KACIR, L.; KARDOS, J. L. Effect of fiber-aspect ratio and orientation on the stress-strain behavior of aligned, short-fiber-reinforced, ductile epoxy. *Polymer Composites*, v. 4, n.1, p. 64-72, 2004.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and stability of foodstuffs. *Food Control*. v. 12, p. 409-417, 2001.

MATSUGUMA, L. S. Caracterização do amido de mandioca salsa (*Arracacia Xanthorrhiza*) nativo e modificado por oxidação. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa -PR, 2006.

MEDEIROS, A. S; MOREIRA, A. S; VENDRUSCOLO, C. T; CONCEIÇÃO, J. J; VENDRUSCOLO, J. L. Influência do método de recuperação e purificação de xantana produzida por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepa 06. In: *Anais do XVII Congresso de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 3, 2000.

MEHYAR, G.F; HAN, J.H. Physical and mechanical properties of high-amylose rice and pea starch films as affected by relative humidity and plasticizer. *Journal of Food Science*, v. 69, p. 449-454, 2004.

- MEHYAR, G.F; HAN, J.H. Physical and mechanical properties of high-amilose rice and pea starch films as affected by relative humidity and plasticizer. *Journal of Food Science*, v. 69, p. 449-454, 2004.
- MEI, L.H.I.; LEITE, R.C.; FELISBERTI, M.I., Hidrogéis de poli (álcool vinílico): caracterização do grau de intumescimento e de reticulação para aplicação em liberacao controlada de drogas. In:*III Congresso Brasileiro de Polimeros*, p. 269-272, 1995.
- MILAS, M.; RINAUDO, M. Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. *Carbohydrate Research*, v. 76, p. 189, 1979.
- MONTAÑO-LEYVA, B. Biocomposites from wheat proteins and fibers: Structure/mechanical properties relationships. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 43, p. 545-555, 2013. doi:10.1016/j.indcrop.2012.07.065.
- MORÁN J. I; ALVAREZ V. A; CYRAS V. P; VÁZQUEZ A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, v. 15, p. 149-159, 2008.
- MOREIRA, A. S. Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS, 2002.
- MOREIRA, A. S; VENDRUSCOLO, J. L. S; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. *Food Hydrocolloids*, v. 15, p. 469, 2001.
- MORRIS, E. R. Rheology of hydrocolloids. In: Phillips, G. O.; Wedlock, D. J.; Williams, P.A. *Gums and stabilisers for the food industry*. Oxford: Pergamon Press, 1984.
- NAKORN, K. N.; TONGDANG, T.; SIRIVONGPAISAL, P. Crystallinity and rheological properties of pregelatinized rice starches differing in amylose content. *Starch/Stärke*, v. 61, p. 101, 2009.
- NAVARRO, A. S.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Viscoelastic properties of frozen starch-triglycerides systems. *Journal of Food Engineering*, v. 34, p. 411, 1997.
- NETO, R. A. T.; DENIZO, N.; QUAST, D. G. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v. 7, p. 191-206, 1976.
- NUNES, M.H.B.; MOORE, M.M.; RYAN, L.A.M.; ARENDT, E.K. Impact of emulsifiers on the quality and rheological properties of gluten-free breads and batters. *European Food Research and Technology*, v.228, n.4, p.633–642,2009.
- OKSMAN, K.; MATHEW, A. P.; BONDESON, D.; KVIEN, I. Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites. *Composites Science Technology*, v. 66, n. 15, p. 2776–2784, 2006.

OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULIS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. *Ensaios para avaliação de embalagens plásticas e flexíveis*. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 216p, 1996.

PÄÄKÖ, M.; ANKERFORS, M.; KOSONEN, H.; NYKANEN, A.; AHOLA, S.; OSTERBERG, M.; RUOKOLAINEN, J.; LAINE, J.; LARSSON, P. T.; IKKALA, O.; LINDSTROM, T.; Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels, *Biomacromolecules*, v.8, p. 1934-1941, 2007.

PACE, G. W. Polímeros Microbianos. In: Bullock, J.; Kristiansen, B. *Biotecnologia Básica*. Zaragoza: Editoria Acribia, 1991.

PADILHA, F. F. Produção de biopolímeros por microrganismos modificados geneticamente. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2003.

PAPAGIANNI, M.; PSOMAS, S. K.; BATSILAS, L.; PARAS, S. V.; KYRIAKIDIS, D. A.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures. *Process Biochemistry*, v. 37, p. 73, 2001.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *Journal of Food Engineering*, v. 25, n. 4, p. 497-507, 1995.

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

PAUL, D.R.; BUCKNALL, C.B. *Polymer blends*. Volume 1: formulation. New York: John Wiley & Sons, inc, 2000.

PERONI, F. H. G. Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, São Paulo - SP. 2003.

PERONI, F., ROCHA, T., FRANCO, C. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. *Food Science Technology*, v. 12, p. 505, 2006.

PETERS, H.; HERBST, H.; HESSELINK, P.; LÜNSDORF, H.; SCHUMPE, A.; DECKWER, W. The influence of agitation rate on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 34, p. 1393, 1989.

PINHO, J. de J. R. G. Desenvolvimento de comprimidos de cloridrato de metformina de liberação convencional e modificada: influência dos excipientes sobre o perfil de dissolução e avaliação termoanalítica. Tese (Doutorado em Farmácia), Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 1999.

PODSIADLO, P.; CHOI, S. Y.; SHIM, B.; LEE, J.; CUDDIHY, M.; KOTOV, N. A. Molecularly engineered nanocomposites: layer-by-layer assembly of cellulose nanocrystals. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 2914-2918, 2005.

RAAD, T. J.; PINHEIRO, P. C. C.; YOSHIDA, M. I. Equação geral de mecanismos cinéticos da carbonização do *Eucalyptus* spp. *Cerne*, v. 12, n. 2, p. 93-106, 2006.

RAMÍNEZ, M. G. L. Desenvolvimento de biocompósitos de amido termoplástico reforçados por fibra de coco verde. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2011.

RAPHAEL, E. Eletrólitos sólidos poliméricos a base de amidos de mandioca: nativo, acetilado e oxidado – acetilado. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade de São Paulo - USP, 2006.

RATNAYAKE, W. S.; HOOVER, R.; SHAHIDI, F.; PERERA, C.; JANE, J. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, v. 74, p. 189, 2001.

RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physicochemical properties of cassava starch. *Tropical Science*, v. 31, p. 189, 1991.

ROCHA, G. O. Obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2009.

ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M., FRANCO, C. M. L. Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 620, 2008.

RODRIGUEZ, N. L. G.; THIELEMANS, W.; DUFRESNE, A. Sisal Cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose*, v. 13, p. 261-270, 2006.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; IMAN, S. H.; NASCIMENTO, D. M.; MONTEIRO, A. K.; MALMONGE, J. A.; MATTOSO, L. H. C. Nanocelulose de fibras de coco imaturo para aplicação em nanocompósitos. In: *V Workshop de Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio*, São Carlos, 2009.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKIB, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose *nanowhiskers* from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, v. 1, p. 83-92, 2010.

ROSINA C. R.; BARONI S.; CAVALCANTI O. A. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade de filmes isolados de polimetacrilato contendo polissacarídeo da raiz de Lótus (*Nelumbo nucifera*). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 40, n. 3, 2004.

ROTTAVA, I. Seleção de linhagens de *Xanthomonas* sp para produção de goma xantana. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, *Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões*, Pelotas – RS, 2005.

SADAHIRA, C. M. Síntese, caracterização e avaliação do perfil de liberação in vitro de hidrogéis do álcool polivinílico pH sensitivos processados por métodos físico-químicos. In: SAIN, M.; PANTHAPULAKKAL, S. *Bioprocess preparation of wheat straw fibers and their characterization. Industrial Crops and Products*, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2006.

SADAHIRA, C. M. Síntese, caracterização e avaliação do perfil de liberação in vitro de hidrogéis do álcool polivinílico pH sensitivos processados por métodos físico-químicos. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas), Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 2007.

SAKANAKA L. S. Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada. 2002. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2002.

SALAZAR, R. F. S.; SILVA, G. L. P.; SILVA, M. L. C. P. Estudo da composição da palha de milho para posterior utilização como suporte na preparação de compósitos. In: *VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica*. Unicamp, 2005. Disponível em: <<http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/top15.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2012.

SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 612, 2005.

SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; SANCHEZ, J. Y.; KISSI, N. E.; DUFRESNE, A. Preparation of cellulose whiskers reinforced nanocomposites from an organic medium suspension. *Macromolecules*, v. 37, p. 1386-1393, 2004.

SANDFORD, P. A.; PITTSLEY, J. E.; KNUTSON, C. A.; WATSON, P. R.; CADMUS, M. C.; JEANES, A. Variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459: characterization of xanthan products of differing pyruvic acid content. In: Sandford, P. A.; Laskin, A. *Extracellular microbial polysaccharides*. Washington: American Chemical Society, 1977.

SANDHYA RANI, M. R.; BHATTACHARAYA, K. R. Rheology of rice-flour pastes: effect of variety, concentration, and temperature and time of cooking. *Journal of Texture Studies*, v. 20, p. 127, 1989.

SANTOS, C. R.; BRETAS, R. E.; BRANCIFORTI, M. C.; CANOVA, T. Preparação e caracterização de nanofibras de nanocompósitos de poliamida 6,6 e argila montmorilonita. *Polímeros*, v. 21, n. 5, p. 398-408, 2011.

SANTOS, V. P.; SUZUKI, M. P.; CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Microstructure and color of starch–gum films: Effect of gum deacetylation and additives. Part 2. *Food Hydrocolloids*, v. 19, p. 1064-1073, 2005.

SGRICCIA N; HAWLEY M. C; MISRA M. Characterization of natural fiber surfaces and natural fiber composites. *Composites: Part A*, v.39, p. 1632-1637, 2008.

SHAH, A. K.; ASHTAPUTRE, A. A. Evaluation oh rheological properties of the exopolysaccharide of *Sphingomonas paucimobilis* GS-1 for application in oil exploration. *Journal of Industrial Mcrobiology and Biotechnology*, v. 23, p. 442, 1999.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.

SILVA, F. I.; CABELLO, C. Caracterização das estruturas moleculares de amido de mandioca uilizando metodologia de permeação em gel. *Energia na Agricultura*, v. 21, p. 50, 2006.

SILVA, J. B. A. Preparação e caracterização de filmes flexíveis de amido e de pbat/amido termoplástico reforçados com *nanowhiskers* por *casting* e extrusão. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2013.

SILVA, J.B.A.; SANTOS, A. V.; VARGAS, F. P.; DRUZIAN, J. I. Preparação e caracterização de filmes de fécula de mandioca e *nanowhiskers* de celulose. In: *11º Congresso Brasileiro de Polímeros*, Campos do Jordão, SP, Brasil, 2011.

SILVA, J. R.; ASSUMPÇÃO, R.; VEGRO, C. L. R. A inserção da fécula de mandioca no mercado de amido. *Informações Econômicas*, v. 30, p. 31, 2006.

SILVA, L. T. Desenvolvimento e avaliação de embalagens biodegradáveis com ação antioxidante contendo café e cacau. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BA, 2009.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, v. 81, p. 219, 2003.

SIQUEIRA, G.; ABDILLAH, H.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from *Syngonanthus nitens*. *Cellulose*, v. 17, p. 289-298, 2009.

SLONEKER, J. H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459. *Canadian Journal of Chemistry*, v. 40, p. 2066, 1962.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de gelatina em função da espessura. *Ciência e Engenharia*, v. ; n. 1; p. 60-67, 1999.

SOBRAL, P. J. A. Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes. Tese de Livre Docência. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de São Paulo, 2000.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; SILVA, J. R.; LOPEZ, J. A.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J. I. Mango and Acerola Pulps as Antioxidant Additives in Cassava Starch Bio-based Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n. 1, 2011.

SRICHUWONG, S.; SUNARTI, T. C.; MISHIMA, T.; ISONO, N.; HISAMATSU, M. Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydrate Polymers*, v.60, p.529, 2005.

SUN, J.X.; XU, F.; SUN, X.F.; XIAO, B.; SUN, R.C. Physico-chemical and thermal characterization of cellulose from barley straw. *Polymer Degradation and Stability*, v. 88, p. 521-531, 2005.

SUTHERLAND, I. W. Microbial biopolymers from agricultural products: production and potencial. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 38, p. 249, 1996.

SUTHERLAND, I. W. Xanthan. In: Swings, J. G.; Civerolo, E. L. *Xanthomonas*. London: Chapman & Hall, 1993.

SVAGAN, A. J.; HEDENQVIST, M. S.; BERGLUND, L. Reduced water vapour sorption in cellulose nanocomposites with starch matrix. *Composites science and technology*, v.69, p. 500-506, 2009.

TAKIZAWA, F. F.; SILVA, G. O.; KONKEL, F. E.; DEMIATE, I. M. Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 47, p. 921, 2004.

TAMANINI, C.; HAULY, M. C. O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 25, n. 4, p. 315-330, 2004. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_25_4_19_6.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2012.

TEIXEIRA, E. M.; CORRÊA, A. C.; MANZOLI, A.; LEITE, F. L.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C. Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers. *Cellulose*, v. 17, p. 595-606, 2010.

TEIXEIRA, E. M.; CORRÊA, A. C.; PALLADIN, P.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C. Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições ácidas. In: *10º Congresso Brasileiro de Polímeros*, Foz do Iguaçu, PR, 2009.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. *Starches*. St. Paul: Eagan Press, 1999.

TURHAN, K.N.; SAHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. *Journal of Food Engineering*, v. 61, p. 459-466, 2004.

VARMA D. S.; VARMA M.; VARMA I. K. Thermal Behaviour of Coir Fibres. *Thermochimica Acta*, v. 108, p. 199-210, 1986.

VEIGA-SANTOS, P. Elaboração, aditivação e caracterização de biofilmes à base de fécula de mandioca. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2004.

VELIKAVA, E. I.; DIN'TKLYONG, N. Physicochemical properties of manioc starch. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii. Pishchevaya Tekhnologiya*, v. 3, p. 57 - 59, 1971.

VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; SOUZA, A. S.; ZAMBIASI, R.; SCAMPARINI, A. R. P. Heteropolysaccharide produced by *Xanthomonas campestris* pv *pruni* C24. In: NISHINARI, K. *Hydrocolloids*. Amsterdam: Elsevier, v. 1, p. 187-191, 2000.

VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. Tese (Doutorado em Ciências Agrônomicas), Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu – SP, 2003.

WALLENBERGER, F. T.; WESTON, N. Natural fibers, plastics and composites. *Kluwer Academic Publishers*, v. 14, p. 249-274, 2004.

WANG, J.; ZHENGYU, J.; XIAOPING, Y. Preparation of resistant starch from starchguargum extrudates and their properties. *Food Chemistry*, v. 101, p. 20-25, 2007.

WANG, Y. J. WHITE, P.; POLLAK, L. Physicochemical properties of starches from mutant genotypes of the Oh43 inbred line. *Cereal Chemistry*, v. 7, p. 199, 1993.

WENDLANT, W. W. *Thermal analysis*. New York: John Wiley & Sons, 1986.

WESTLING-RINDLAV, Å.; STADING, M.; HERMANSSON, A. M. GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, v. 36, n. 2-3, p. 217-224, 1998.

WHISTLER, R. L.; DANIEL, J. R. *Carbohidratos*. In: Fennema O.R. Química de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1993.

WYSZECKI, G.; STILES, W.S. Color science: concepts and methods quantitative data and formulae. 2 ed. New York: J. Wiley & Sons, Inc., p. 951, 2000.

XIAO, B.; SUN, X. F.; SUN, R. C. Chemical, structural and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses and cellulose from maize stems, rye straw and rice straw. *Polymer Degradation and Stability*, v. 74, n. 2, p. 307-319, 2001.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A.; VEIGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Filmes biodegradáveis para aplicação em frutas e hortaliças

minimamenteprocessadas, 2005. Disponível em <http://www.ital.sp.gov.br/bj/bjft/2005/art_335a343.pdf>acesso dia 15 de janeiro de 2013.

YANG H; YAN R; CHEN H; LEE D. H; ZHENG C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, v.86, p. 1781-1788, 2007.

YONEMOTO, P. G.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; FRANCO, C. L. M. Efeito de tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas de amido de trigo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p.761, 2008.

ZHANG, M.; LI, X. H.; GONG, Y. D.; ZHAO, N. M.; ZHANG, X. F. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomaterials*, v. 23, p. 2641, 2002.

ZHANG, Y.; HAN, J.H. Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, v. 71, n. 2, p. 109-118, 2006a.

ZHANG, Y.; HAN, J. H. Plasticization of pea starch films with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, v. 71, n. 6, p. 253-261, 2006b.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir dos sete ensaios do planejamento experimental indicaram que a aeração (0,5 – 1,5 vvm) e a agitação (300 – 700 rpm) influenciaram a produção e a viscosidade da goma xantana obtida a partir da glicerina residual do biodiesel em biorreator de 4,5 L e *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* cepa 2103. A otimização apontou 1,0 vvm e 500 rpm como combinação para maximizar a produção de xantana em até 5,98 g.L⁻¹ e a viscosidade aparente em até 243,5 mPa.s. A massa molecular do polímero foi influenciada significativamente ($p < 0,05$) pela taxa de oxigênio dissolvido, e maiores massas foram obtidas em baixas aerações, enquanto o aumento da velocidade de agitação também contribuiu para o aumento desse parâmetro. O aumento da aeração e da velocidade de agitação resultou no aumento do teor de glicose e manose do polímero, entretanto a primeira variável independente contribuiu para redução do teor de pítuvato da cadeia. Portanto, o polímero obtido apresenta boas propriedades para diversas aplicações entre elas para o desenvolvimento de bionanocompósitos.

A palha de milho mostrou ser boa fonte de celulose (45,5 %) tornando-se matéria-prima viável para obtenção de *nanowhiskers* através do processo de hidrólise ácida (H₂SO₄ 55 %, 50 °C, 15-20 minutos), com rendimento de 64 % de nanopartículas com grau de cristalinidade de 55,04 % e razão L/D de 54,7±24, o que pode proporcionar melhoria nas propriedades de barreira e mecânica para o desenvolvimento de bionanocompósitos.

O procedimento empregado na preparação de bionanocompósitos a partir do amido de mandioca, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers* foi eficiente, uma vez que a elaboração dos filmes por *casting* resultou em filmes flexíveis com variação de propriedades, podendo ser utilizado em uma grande gama de aplicações.

As propriedades de barreira dos filmes foram afetadas pela composição da solução filmogênica, ou seja, pelas variáveis independentes. Constatou-se que a atividade de água, a umidade e a permeabilidade ao vapor d'água foram influenciadas

significativamente ($p < 0,01$) pelas concentrações de amido, glicerol e *nanowhiskers*. As maiores concentrações dessas variáveis resultaram na diminuição simultânea da atividade de água em até 24 % e da umidade em até 33 % em relação ao filme controle (sem goma xantana e *nanowhiskers*). Os *nanowhiskers* influenciaram positivamente a permeabilidade ao vapor de água, indicando que o aumento na concentração dessa variável acarreta uma redução desejável dessa propriedade em até 44 %. As maiores concentrações de goma xantana também resultam em filmes com menores umidades e permeabilidade ao vapor de água, com reduções de 33 % e de 44 %, respectivamente. Neste contexto, a presença destes compostos em determinadas concentrações diminui a disponibilidade de água dos bionanocompósitos, possibilitando dessa forma o aumento da estabilidade microbiana durante a estocagem dos filmes, assim como dos produtos que serão embalados.

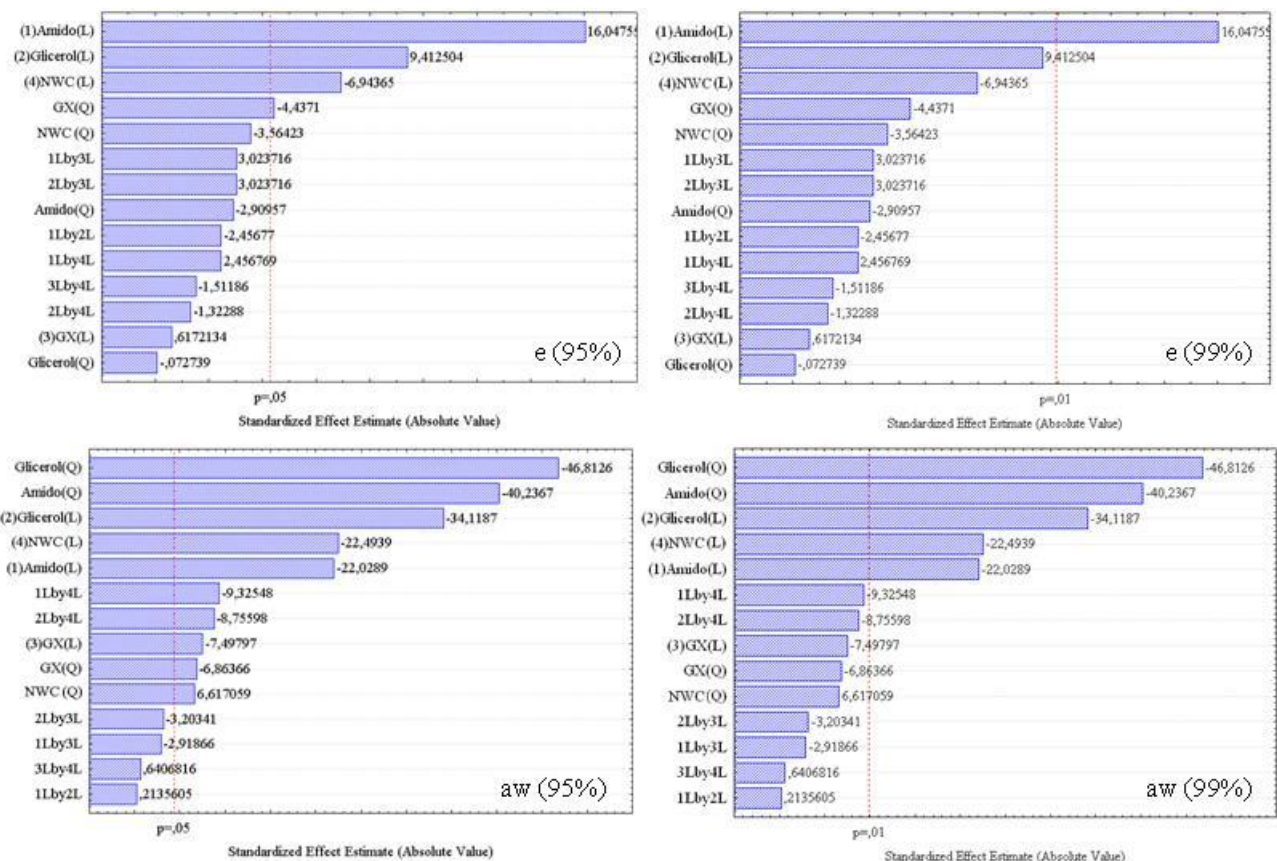
A tensão máxima na ruptura nos filmes diminuiu em até 72 % em relação ao controle nos filmes contendo as maiores concentração de glicerol, amido, goma xantana e *nanowhiskers*, nesta ordem decrescente, com conseqüente aumento nos valores de deformação na ruptura (54,4 %). Dessa forma, quando a estrutura do filme torna-se menos rígida, as propriedades relacionadas à tensão são reduzidas e a deformação aumentada. Os *nanowhiskers* influenciaram positivamente a deformação na ruptura dos bionanocompósitos, indicando que o aumento na concentração dessa variável acarreta um aumento desejável nessa propriedade.

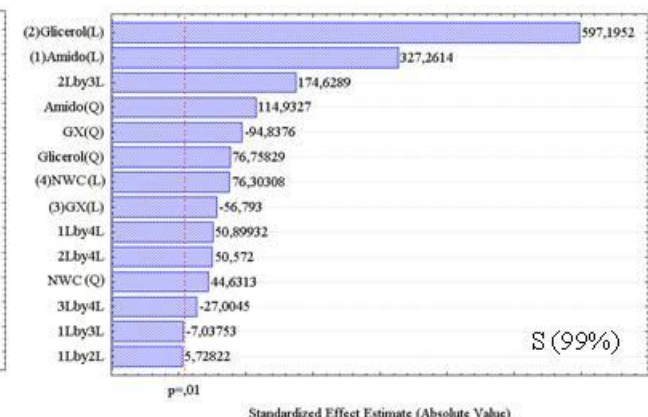
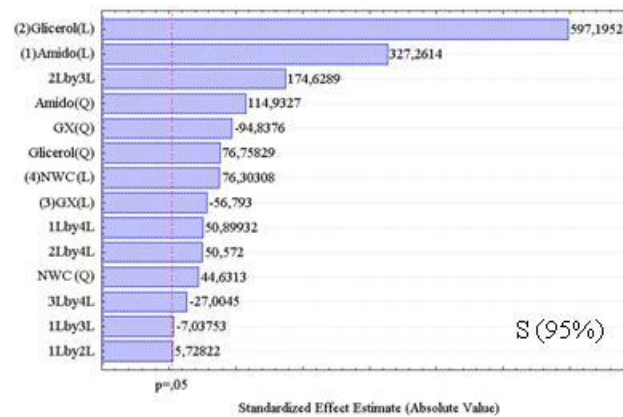
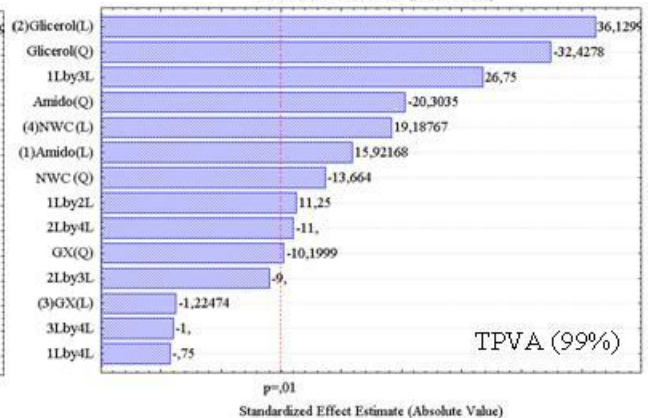
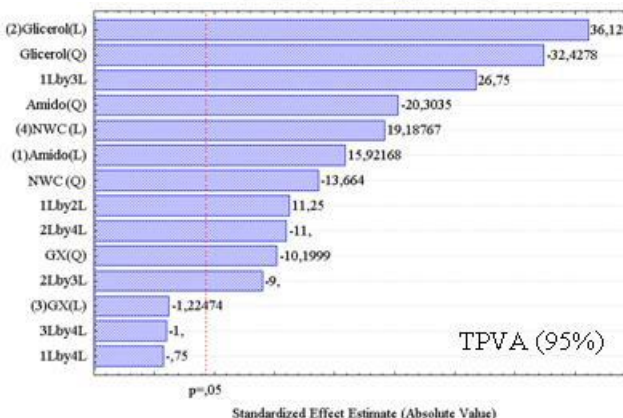
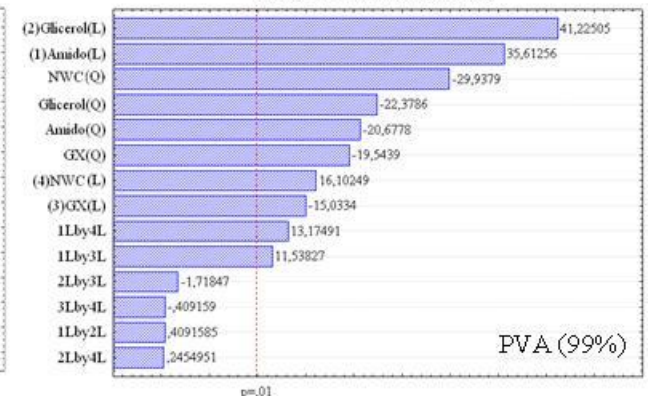
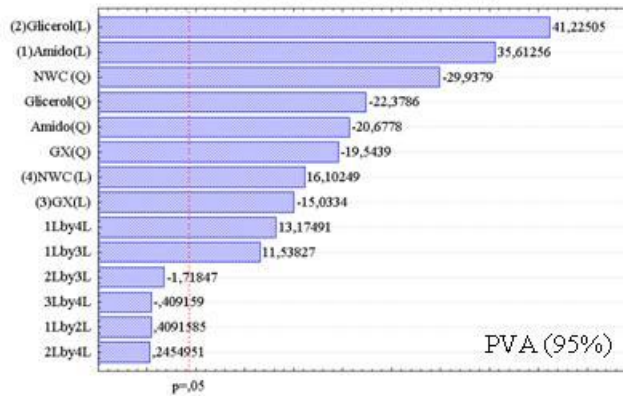
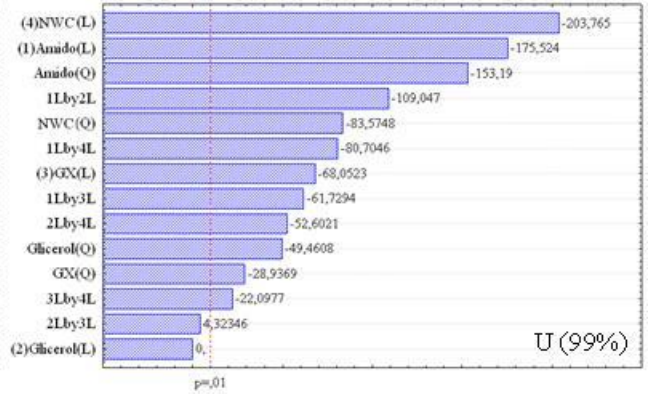
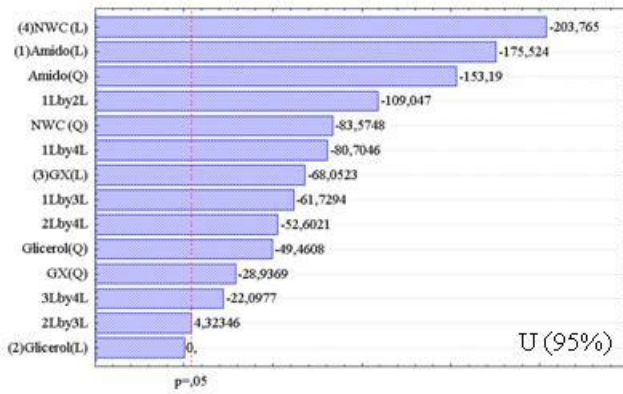
A incorporação de goma xantana e *nanowhiskers* produziu efeitos significativos na luminosidade com aumento máximo de 19,5 % em relação ao filme controle. A coloração do amido prevalece sob a coloração das demais variáveis independentes, contribuindo para o aumento da diferença de cor máxima de 17,7 % entre os ensaios e o controle.

Portanto, é possível obter bionanocompósitos (filmes) de amido de mandioca, glicerol, goma xantana (produzida a partir da glicerina residual do biodiesel) e *nanowhiskers* (obtidos a partir da palha de milho), utilizando o processo de *casting*, como uma alternativa viável para a redução de lixos plásticos sintéticos no meio ambiente, em substituição aos materiais existentes. Porém, algumas características precisam ser melhoradas para serem utilizados em escala industrial.

Anexo I

Os Gráficos de Pareto, mostrados nas Figuras abaixo, possibilitaram verificar a influência dos efeitos significativos das variáveis independentes (amido, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers*) sobre as variáveis respostas (espessura (E), atividade de água (aw), umidade (U), permeabilidade ao vapor d'água (PVA), taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA), solubilidade (S), intumescimento (SW), tensão na ruptura (σ), deformação na ruptura (ϵ), módulo de elasticidade (E), decomposição térmica (Tonset), luminosidade (L^*), croma a^* (a^*), croma b^* (a^*) e diferença de cor (ΔE)) a 95 % e 99 % de confiança. O efeito é tão mais significativo quanto mais à direita linha vertical vermelha ele estiver.





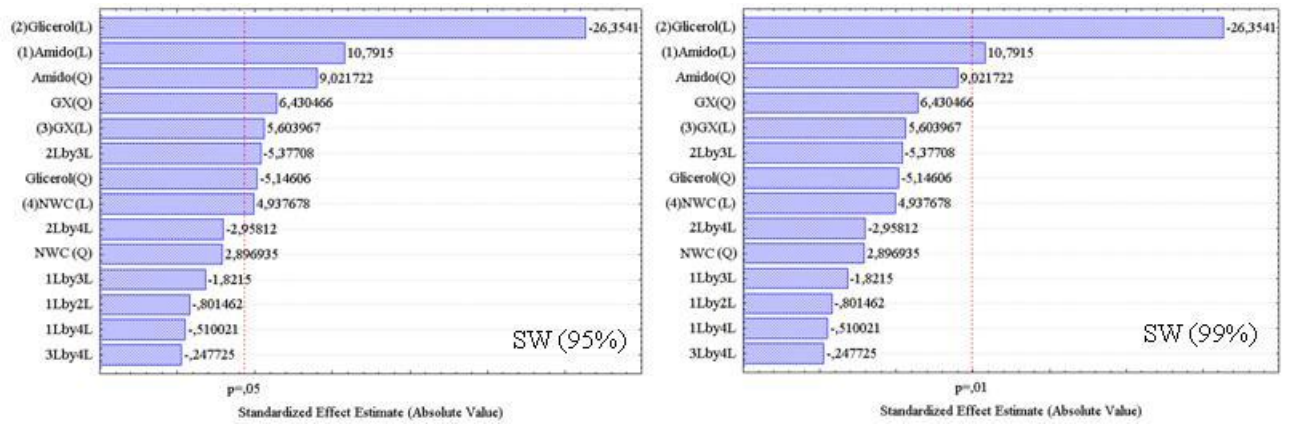


Figura 1. Gráficos de Pareto para as respostas espessura a 95 % e a 99 % de confiança; atividade de água a 95 % e a 99 % de confiança; umidade a 95 % e a 99 % de confiança; permeabilidade ao vapor d'água a 95 % e a 99 % de confiança; taxa de permeabilidade ao vapor d'água a 95 % e a 99 % de confiança; solubilidade a 95 % e a 99 % de confiança; intumescimento a 95 % e a 99 % de confiança.

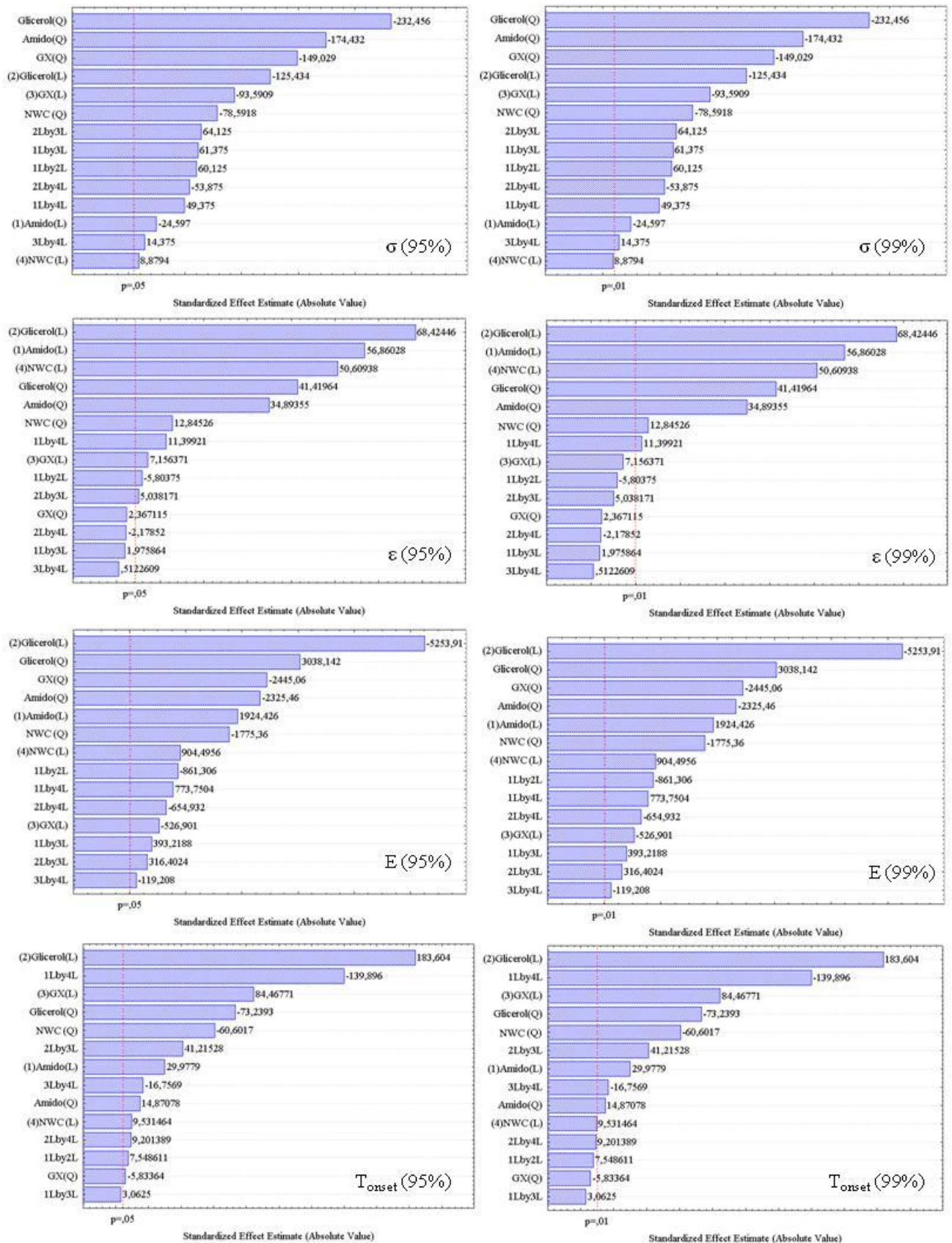


Figura 2. Gráficos de Pareto para as respostas tensão na ruptura a 95 % e a 99 % de confiança; deformação na ruptura a 95 % e a 99 % de confiança; módulo de elasticidade a 95 % e a 99 % de confiança e decomposição térmica a 95 % e a 99 % de confiança.

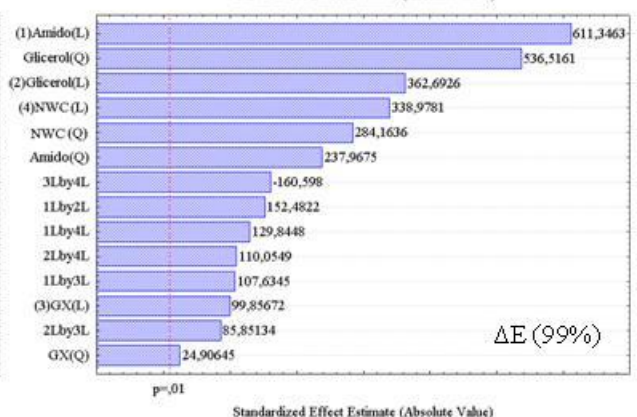
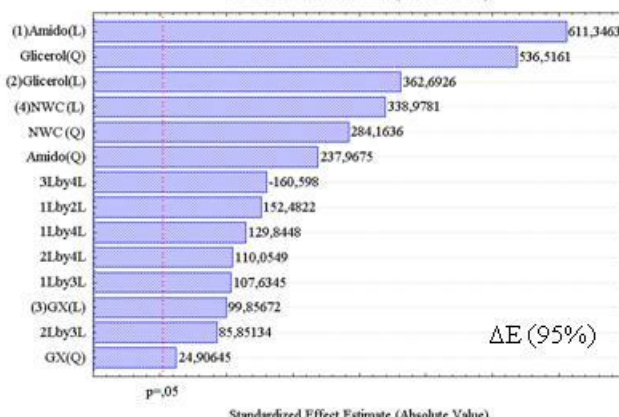
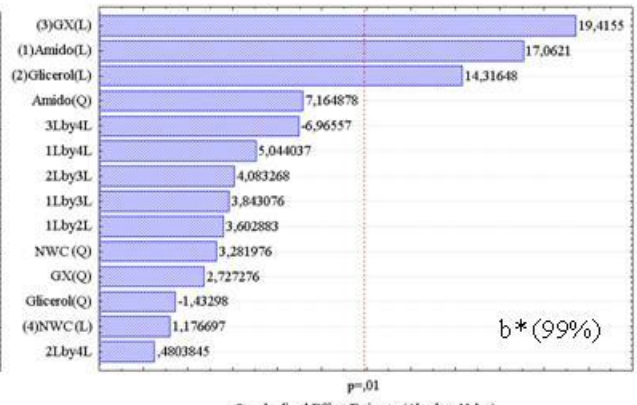
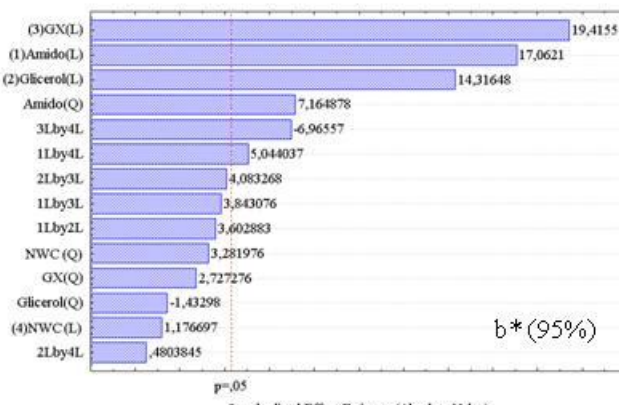
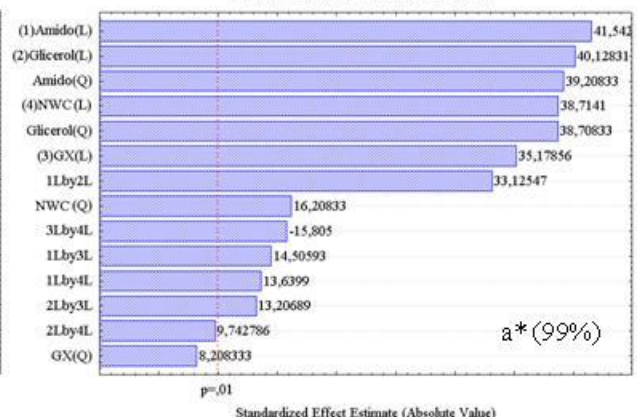
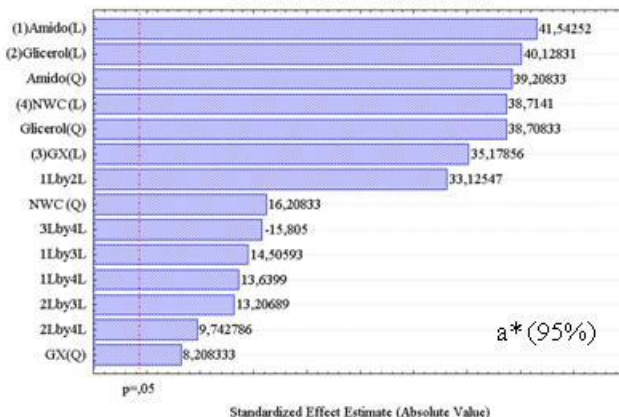
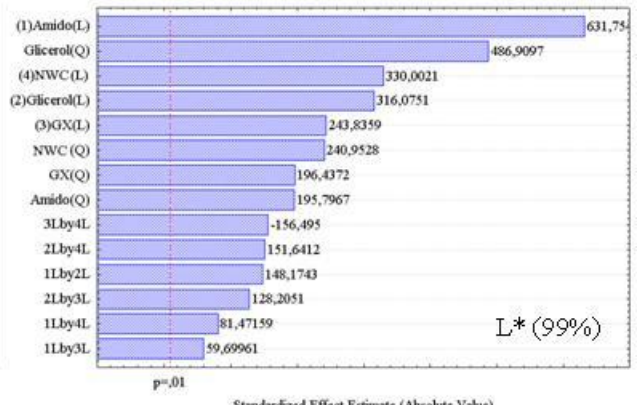
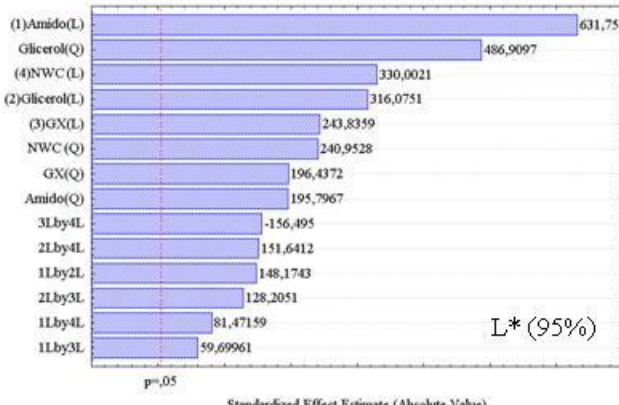


Figura 3. Gráficos de Pareto para as respostas luminosidade a 95 % e a 99 % de confiança; croma a* a 95 % e a 99 % de confiança; croma b* a 95 % e a 99 % de confiança; diferença de cor a 95 % e a 99 % de confiança.

ANEXO II

Análises estatísticas dos resultados obtidos para os 27 ensaios do planejamento experimental. Para validar as equações do modelo, foi verificada a análise de variância (ANOVA) presente na Tabela 1. O F_{calc} mostra um ajuste do modelo, desde que $F_{calc} > F_{tab}$ indicando que o modelo é preditivo. O gráfico de Pareto e o erro puro também foram utilizados para validar o modelo ($p < 0,05$).

Tabela 1. Análise de variância (ANOVA) para o modelo quadrático das análises de espessura (e), atividade de água (aw), umidade (U), permeabilidade ao vapor d'água (PVA), taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA), solubilidade (S), intumescimento (SW), tensão na ruptura (σ), deformação na ruptura (ϵ), módulo de elasticidade (E), decomposição térmica (Tonset), luminosidade (L*), croma a*, croma b* e diferença de cor (ΔE).

	Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Espessura	Regressão	2,94204	10	0,24517	
	Resíduo	0,22104	2	0,01842	13,30
	Total (SS)	22,10032	12		
Atividade de água	Regressão	10,42080	10	0,86840	
	Resíduo	0,70680	2	0,05890	14,74
	Total (SS)	43,03929	12		
Umidade	Regressão	127,56216	10	10,63018	
	Resíduo	7,26240	2	0,60520	17,56
	Total (SS)	163,30465	12		
Permeabilidade ao vapor de água	Regressão	11,93532	10	0,99461	
	Resíduo	0,90723	2	0,07560	13,15
	Total (SS)	45,99578	12		
Taxa de Permeabilidade ao vapor de água	Regressão	93,32407	10	7,77700	
	Resíduo	22,14166	2	1,84513	4,21
	Total (SS)	374,30740	12		
Solubilidade	Regressão	188,18671	10	15,68222	
	Resíduo	15,83420	2	1,31951	11,88
	Total (SS)	256,02090	12		
	Regressão	116,42289	10	9,70190	10,78

Intumescimento	Resíduo	10,79242	2	0,89936	
	Total (SS)	147,77532	12		
	Regressão	66,53609	10	5,54467	
Tensão	Resíduo	4,02257	2	0,33521	16,54
	Total (SS)	91,11866	12		
	Regressão	2620,60711	10	218,38393	
Deformação	Resíduo	162,97347	2	13,58112	16,07
	Total (SS)	3050,70058	12		
	Regressão	223391,62593	10	18615,96883	
Módulo de elasticidade	Resíduo	19397,23301	2	1616,43608	11,51
	Total (SS)	359188,85894	12		
	Regressão	9535,93024	10	794,66085	
Tonset	Resíduo	672,38215	2	56,03184	14,18
	Total (SS)	11852,31240	12		
	Regressão	1310,26252	10	109,18854	
L*	Resíduo	291,42734	2	24,28561	4,49
	Total (SS)	1601,68986	12		
	Regressão	1,40211	10	0,11684	
a*	Resíduo	1,20328	2	0,10027	1,16
	Total (SS)	2,60538	12		
	Regressão	0,46192	10	0,01029	
b*	Resíduo	0,12351	2	0,03849	3,74
	Total (SS)	0,58542	12		
	Regressão	1322,61001	10	110,21750	
ΔE	Resíduo	210,82538	2	17,56878	6,27
	Total (SS)	1533,4354	12		

$F_{tab}(12:14; 0,95) = 2,53$
 $F_{calc} > F_{tab}$, teve efeito significativo

ANEXO III

Tabela 1. Equações do modelo e coeficientes de determinação (R^2) para a espessura (e), atividade de água (aw), umidade (U), permeabilidade ao vapor d'água (PVA), taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA), solubilidade (SW) e grau de intumescimento (SW) dos bionanocompósitos a 99 % de confiança, X_1 = Amido de mandioca, X_2 = Glicerol e X_3 = Goma xantana e X_4 = *Nanowhiskers*.

P*	Equação	R ²	P*	Equação	R ²
e: $X_1 \times X_2$	$0,1380 + 0,0086X_1 - 0,0016X_1^2 + 0,0050Y_1 - 0,0004Y_1^2 - 0,0016X_1Y_1$	0,92	PVA: $X_1 \times X_2$	$2,6333 + 0,2220X_1 - 0,1367X_1^2 + 0,2570Y_1 - 0,1480Y_1^2 + 0,0031X_1Y_1$	0,96
e: $X_1 \times X_3$	$0,1380 + 0,0086X_1 - 0,0016X_1^2 + 0,00033Y_1 - 0,0025Y_1^2 - 0,0020X_1Y_1$	0,92	PVA: $X_1 \times X_3$	$2,6333 + 0,2220X_1 - 0,1367X_1^2 - 0,0937Y_1 - 0,1292Y_1^2 + 0,0881X_1Y_1$	0,96
e: $X_1 \times X_4$	$0,1380 + 0,0086X_1 - 0,0016X_1^2 - 0,00375Y_1 - 0,0020Y_1^2 + 0,0016X_1Y_1$	0,92	PVA: $X_1 \times X_4$	$2,6333 + 0,2220X_1 - 0,1367X_1^2 + 0,1004Y_1 - 0,1980Y_1^2 + 0,1006X_1Y_1$	0,96
e: $X_2 \times X_3$	$0,1380 + 0,0050X_1 - 0,0004X_1^2 + 0,0003Y_1 - 0,0025Y_1^2 + 0,002X_1Y_1$	0,92	PVA: $X_2 \times X_3$	$2,6333 + 0,2570X_1 - 0,1480X_1^2 - 0,0937Y_1 - 0,1292Y_1^2 - 0,0131X_1Y_1$	0,96
e: $X_2 \times X_4$	$0,1380 + 0,0050X_1 - 0,0004X_1^2 - 0,0037Y_1 - 0,0020Y_1^2 - 0,0008X_1Y_1$	0,92	PVA: $X_2 \times X_4$	$2,6333 + 0,2570X_1 - 0,1480X_1^2 + 0,1004Y_1 - 0,1980Y_1^2 + 0,0018X_1Y_1$	0,96
e: $X_3 \times X_4$	$0,1380 + 0,0003X_1 - 0,0025X_1^2 - 0,0037Y_1 - 0,0020Y_1^2 - 0,001X_1Y_1$	0,92	PVA: $X_3 \times X_4$	$2,6333 - 0,0937X_1 - 0,1292X_1^2 + 0,1004Y_1 - 0,1980Y_1^2 - 0,0031X_1Y_1$	0,96
aw: $X_1 \times X_2$	$0,5536 - 0,0157X_1 - 0,0305X_1^2 - 0,0244Y_1 - 0,0355Y_1^2 + 0,0018X_1Y_1$	0,97	S: $X_1 \times X_2$	$19,4166 + 1,0204X_1 + 0,3801X_1^2 + 1,8620Y_1 + 0,2538Y_1^2 + 0,0218X_1Y_1$	0,92
aw: $X_1 \times X_3$	$0,5536 - 0,0157X_1 - 0,0305X_1^2 - 0,0053Y_1 - 0,0052Y_1^2 - 0,0025X_1Y_1$	0,97	S: $X_1 \times X_3$	$19,4166 + 1,0204X_1 + 0,3801X_1^2 - 0,1770Y_1 - 0,3136Y_1^2 - 0,0268X_1Y_1$	0,92
aw: $X_1 \times X_4$	$0,5536 - 0,0157X_1 - 0,0305X_1^2 - 0,0161Y_1 + 0,0050Y_1^2 - 0,0081X_1Y_1$	0,97	S: $X_1 \times X_4$	$19,4166 + 1,0204X_1 + 0,3801X_1^2 + 0,2379Y_1 + 0,1476Y_1^2 + 0,1943X_1Y_1$	0,92
aw: $X_2 \times X_3$	$0,5536 - 0,0244X_1 - 0,0355X_1^2 - 0,0053Y_1 - 0,0052Y_1^2 - 0,0028X_1Y_1$	0,97	S: $X_2 \times X_3$	$19,4166 + 1,8620X_1 + 0,2538X_1^2 - 0,1770Y_1 - 0,3136Y_1^2 + 0,6668X_1Y_1$	0,92
aw: $X_2 \times X_4$	$0,5536 - 0,0244X_1 - 0,0355X_1^2 - 0,0161Y_1 + 0,0050Y_1^2 - 0,0076X_1Y_1$	0,97	S: $X_2 \times X_4$	$19,4166 + 1,8620X_1 + 0,2538X_1^2 + 0,2379Y_1 + 0,1476Y_1^2 + 0,1931X_1Y_1$	0,92
aw: $X_3 \times X_4$	$0,5536 - 0,0053X_1 - 0,0052X_1^2 - 0,0161Y_1 + 0,0050Y_1^2 + 0,0005X_1Y_1$	0,97	S: $X_3 \times X_4$	$19,4166 - 0,1770X_1 - 0,3136X_1^2 + 0,2379Y_1 + 0,1476Y_1^2 - 0,1031X_1Y_1$	0,92
U: $X_1 \times X_2$	$14,2366 - 0,7458X_1 - 0,6904X_1^2 - 0,2229Y_1^2 - 0,5675X_1Y_1$	0,97	SW: $X_1 \times X_2$	$3,6666 + 0,3779X_1 + 0,3351X_1^2 - 0,9229Y_1 - 0,1911Y_1^2 - 0,034X_1Y_1$	0,97
U: $X_1 \times X_3$	$14,2366 - 0,7458X_1 - 0,6904X_1^2 - 0,2891Y_1 - 0,1304Y_1^2 - 0,3212X_1Y_1$	0,97	SW: $X_1 \times X_3$	$3,6666 + 0,3779X_1 + 0,3351X_1^2 + 0,1962Y_1 + 0,2388Y_1^2 - 0,0781X_1Y_1$	0,97
U: $X_1 \times X_4$	$14,2366 - 0,7458X_1 - 0,6904X_1^2 - 0,8658Y_1 - 0,3766Y_1^2 - 0,4200X_1Y_1$	0,97	SW: $X_1 \times X_4$	$3,6666 + 0,3779X_1 + 0,3351X_1^2 + 0,1729Y_1 + 0,1076Y_1^2 - 0,0218X_1Y_1$	0,97
U: $X_2 \times X_3$	$14,2366 - 0,2229X_1^2 - 0,2891Y_1 - 0,1304Y_1^2 + 0,0225X_1Y_1$	0,97	SW: $X_2 \times X_3$	$3,6666 - 0,9229X_1 - 0,1911X_1^2 + 0,1962Y_1 + 0,2388Y_1^2 - 0,2306X_1Y_1$	0,97
U: $X_2 \times X_4$	$14,2366 - 0,2229X_1^2 - 0,8658Y_1 - 0,3766Y_1^2 - 0,2737X_1Y_1$	0,97	SW: $X_2 \times X_4$	$3,6666 - 0,9229X_1 - 0,1911X_1^2 + 0,1729Y_1 + 0,1076Y_1^2 - 0,1268X_1Y_1$	0,97
U: $X_3 \times X_4$	$14,2366 - 0,2891X_1 - 0,1304X_1^2 - 0,8658Y_1 - 0,3766Y_1^2 - 0,1150X_1Y_1$	0,97	SW: $X_3 \times X_4$	$3,6666 + 0,1962X_1 + 0,2388X_1^2 + 0,1729Y_1 + 0,1076Y_1^2 - 0,0106X_1Y_1$	0,97

P* - Parâmetros

Tabela 2. Equações do modelo e coeficientes de determinação (R^2) para a tensão máxima na ruptura (σ), deformação na ruptura (ε), módulo de elasticidade (E) e temperatura de degradação (Tonset) dos bionanocompósitos, X_1 = Amido de mandioca, X_2 = Glicerol e X_3 = Goma xantana e X_4 = *Nanowhiskers*.

P*	Equação	R ²	P*	Equação	R ²
$\sigma:X_1X_2$	$6,3000 - 0,1004X_1 - 0,7553X_1^2 - 0,5120Y_1 - 1,0065Y_1^2 + 0,3006X_1Y_1$	0,96	$E:X_1X_2$	$117,6333 + 22,6795X_1 - 29,0682X_1^2 - 61,9179Y_1 + 37,9767Y_1^2 - 12,4318X_1Y_1$	0,92
$\sigma:X_1X_3$	$6,3000 - 0,1004X_1 - 0,7553X_1^2 - 0,3820Y_1 - 0,6453Y_1^2 + 0,3068X_1Y_1$	0,96	$E:X_1X_3$	$117,6333 + 22,6795X_1 - 29,0682X_1^2 - 6,2095Y_1 - 30,5632Y_1^2 + 5,6756X_1Y_1$	0,92
$\sigma:X_1X_4$	$6,3000 - 0,1004X_1 - 0,7553X_1^2 + 0,0362Y_1 - 0,3403Y_1^2 + 0,2468X_1Y_1$	0,96	$E:X_1X_4$	$117,6333 + 22,6795X_1 - 29,0682X_1^2 + 10,6595Y_1 - 22,1919Y_1^2 + 11,1681X_1Y_1$	0,92
$\sigma:X_2X_3$	$6,3000 - 0,5120X_1 - 1,0065X_1^2 - 0,3820Y_1 - 0,6453Y_1^2 + 0,3206X_1Y_1$	0,96	$E:X_2X_3$	$117,6333 - 61,9179X_1 + 37,9767X_1^2 - 6,2095Y_1 - 30,5632Y_1^2 + 4,5668X_1Y_1$	0,92
$\sigma:X_2X_4$	$6,3000 - 0,5120X_1 - 1,0065X_1^2 + 0,036Y_1 - 0,3403Y_1^2 - 0,2693X_1Y_1$	0,96	$E:X_2X_4$	$117,6333 - 61,9179X_1 + 37,9767X_1^2 + 10,6595Y_1 - 22,1919Y_1^2 - 9,4531X_1Y_1$	0,92
$\sigma:X_3X_4$	$6,3000 - 0,3820X_1 - 0,6453X_1^2 + 0,036Y_1 - 0,3403Y_1^2 + 0,0718X_1Y_1$	0,96	$E:X_3X_4$	$117,6333 - 6,2095X_1 - 30,5632X_1^2 + 10,6595Y_1 - 22,1919Y_1^2 - 1,7206X_1Y_1$	0,92
$\varepsilon:X_1X_2$	$23,4766 + 5,1545X_1 + 3,3551X_1^2 + 6,2029Y_1 + 3,9826Y_1^2 - 0,6443X_1Y_1$	0,95	Tonset: X_1X_2	$302,9200 + 2,2029X_1 + 1,1590X_1^2 + 13,4920Y_1 - 5,7084Y_1^2 + 0,6793X_1Y_1$	0,90
$\varepsilon:X_1X_3$	$23,4766 + 5,1545X_1 + 3,3551X_1^2 + 0,6487Y_1 + 0,2276Y_1^2 + 0,2193X_1Y_1$	0,95	Tonset: X_1X_3	$302,9200 + 2,2029X_1 + 1,1590X_1^2 + 6,2070Y_1 - 0,4546Y_1^2 + 0,2756X_1Y_1$	0,90
$\varepsilon:X_1X_4$	$23,4766 + 5,1545X_1 + 3,3551X_1^2 + 4,5879Y_1 + 1,2351Y_1^2 + 1,2656X_1Y_1$	0,95	Tonset: X_1X_4	$302,9200 + 2,2029X_1 + 1,1590X_1^2 + 0,7004Y_1 - 4,7234Y_1^2 - 12,5906X_1Y_1$	0,90
$\varepsilon:X_2X_3$	$23,4766 + 6,2029X_1 + 3,9826X_1^2 + 0,6487Y_1 + 0,2276Y_1^2 + 0,5593X_1Y_1$	0,95	Tonset: X_2X_3	$302,9200 + 13,4920X_1 - 5,7084X_1^2 + 6,2070Y_1 - 0,4546Y_1^2 + 3,7093X_1Y_1$	0,90
$\varepsilon:X_2X_4$	$23,4766 + 6,2029X_1 + 3,9826X_1^2 + 4,5879Y_1 + 1,2351Y_1^2 - 0,2418X_1Y_1$	0,95	Tonset: X_2X_4	$302,9200 + 13,4920X_1 - 5,7084X_1^2 + 0,7004Y_1 - 4,7234Y_1^2 + 0,8281X_1Y_1$	0,90
$\varepsilon:X_3X_4$	$23,4766 + 0,6487X_1 + 0,2276X_1^2 + 4,5879Y_1 + 1,2351Y_1^2 + 0,0568X_1Y_1$	0,95	Tonset: X_3X_4	$302,9200 + 6,2070X_1 - 0,4546X_1^2 + 0,7004Y_1 - 4,7234Y_1^2 - 1,5081X_1Y_1$	0,90

P* - Parâmetros

ANEXO IV

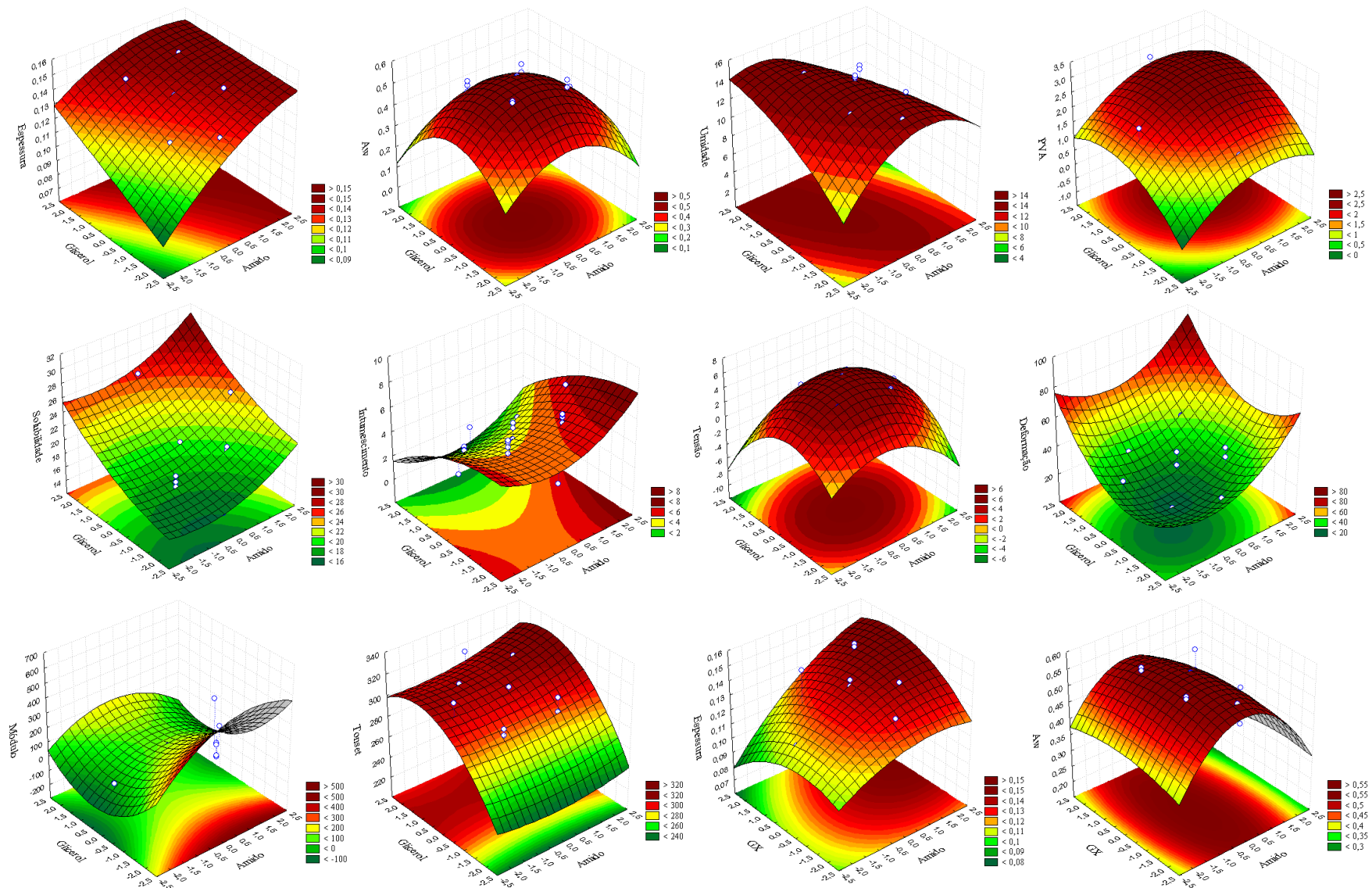
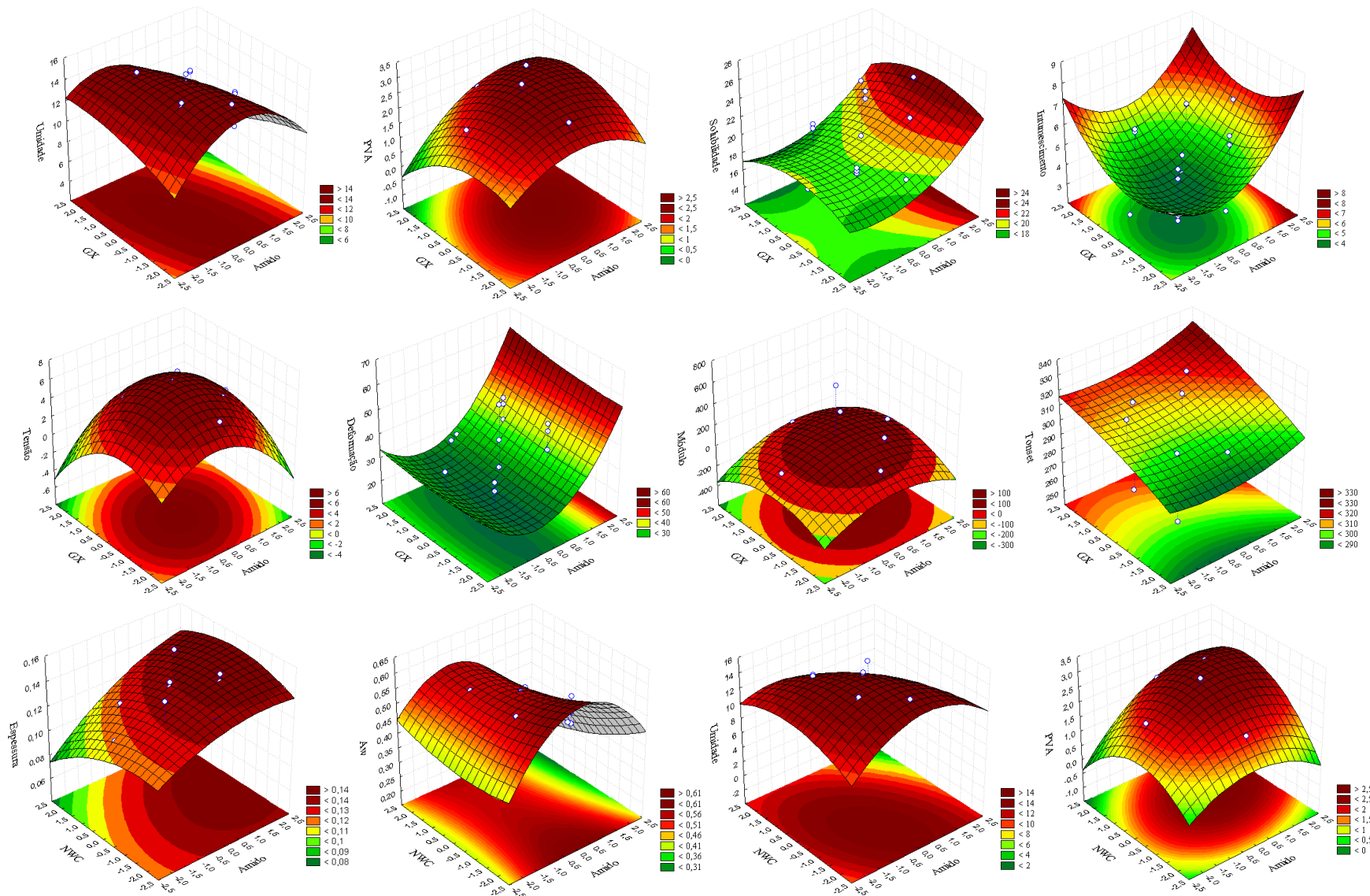
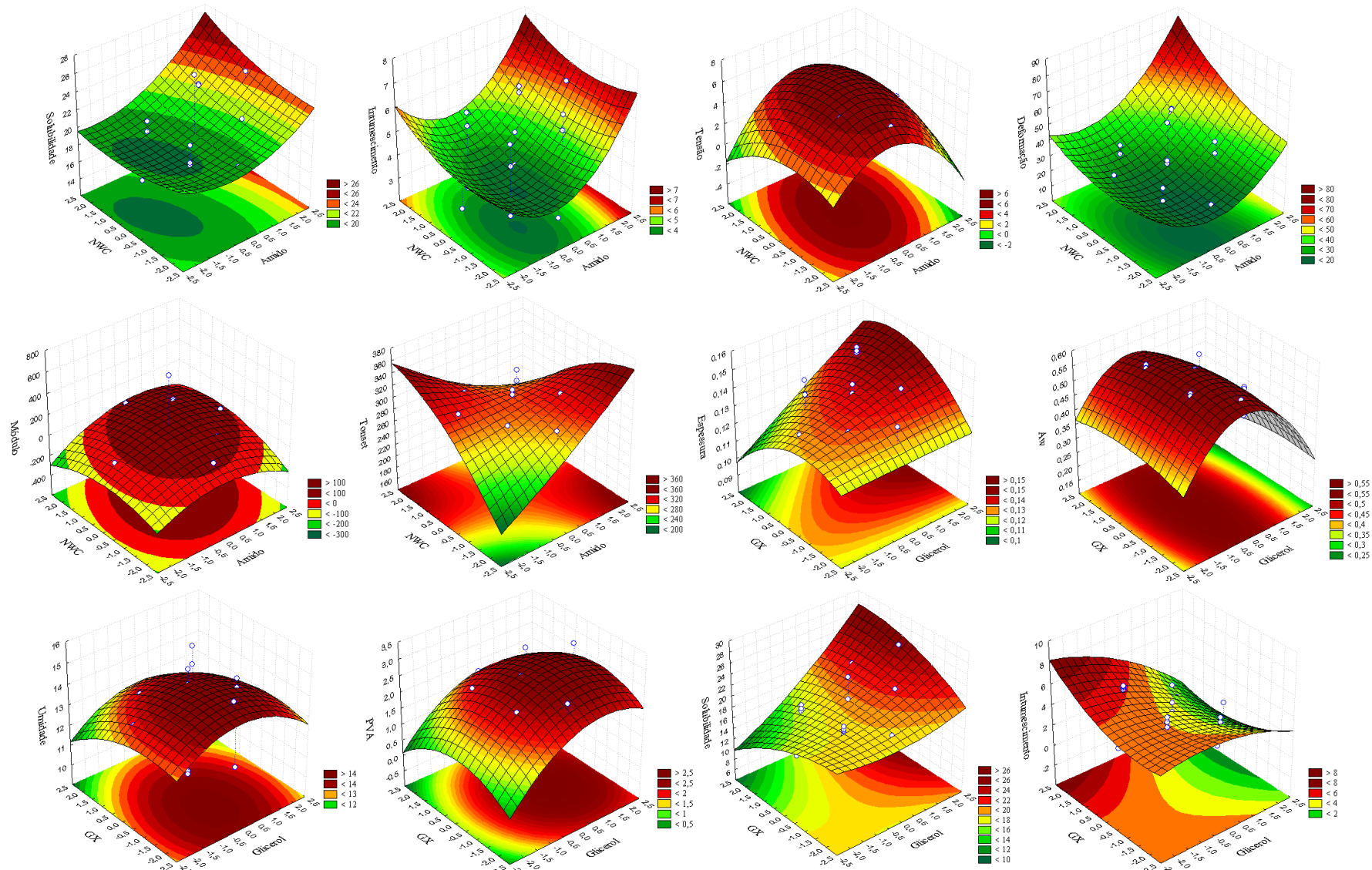


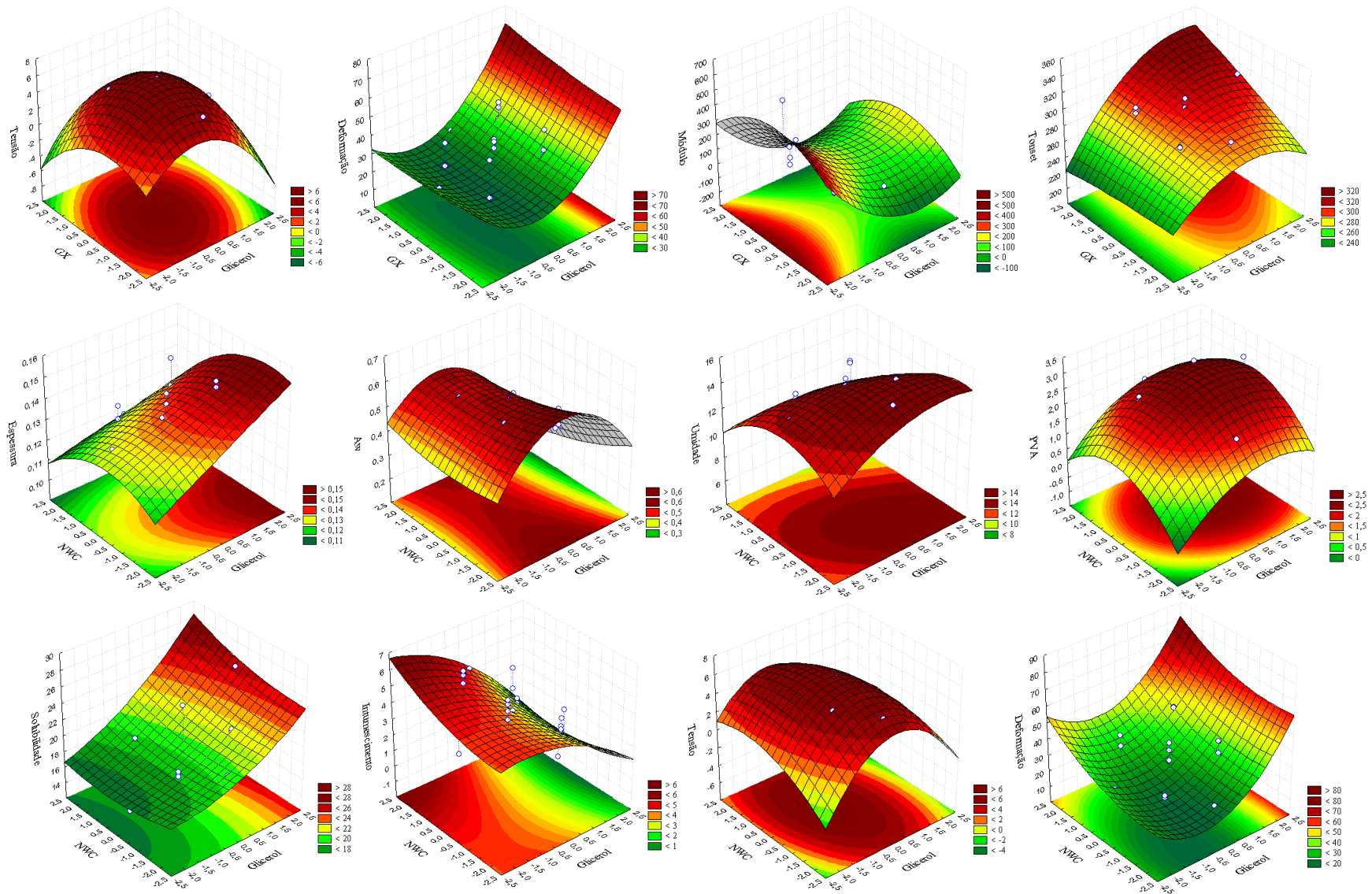
Figura 1. Superfícies de resposta geradas a 99 % de confiança para as interações das variáveis independentes (amido, glicerol, goma xantana e nanowhiskers) sobre as variáveis respostas (espessura, atividade de água, umidade, permeabilidade ao vapor d'água, taxa de permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, grau de intumescimento, tensão na ruptura, deformação na ruptura, módulo de elasticidade e temperatura de degradação) para os 27 ensaios do planejamento experimental.



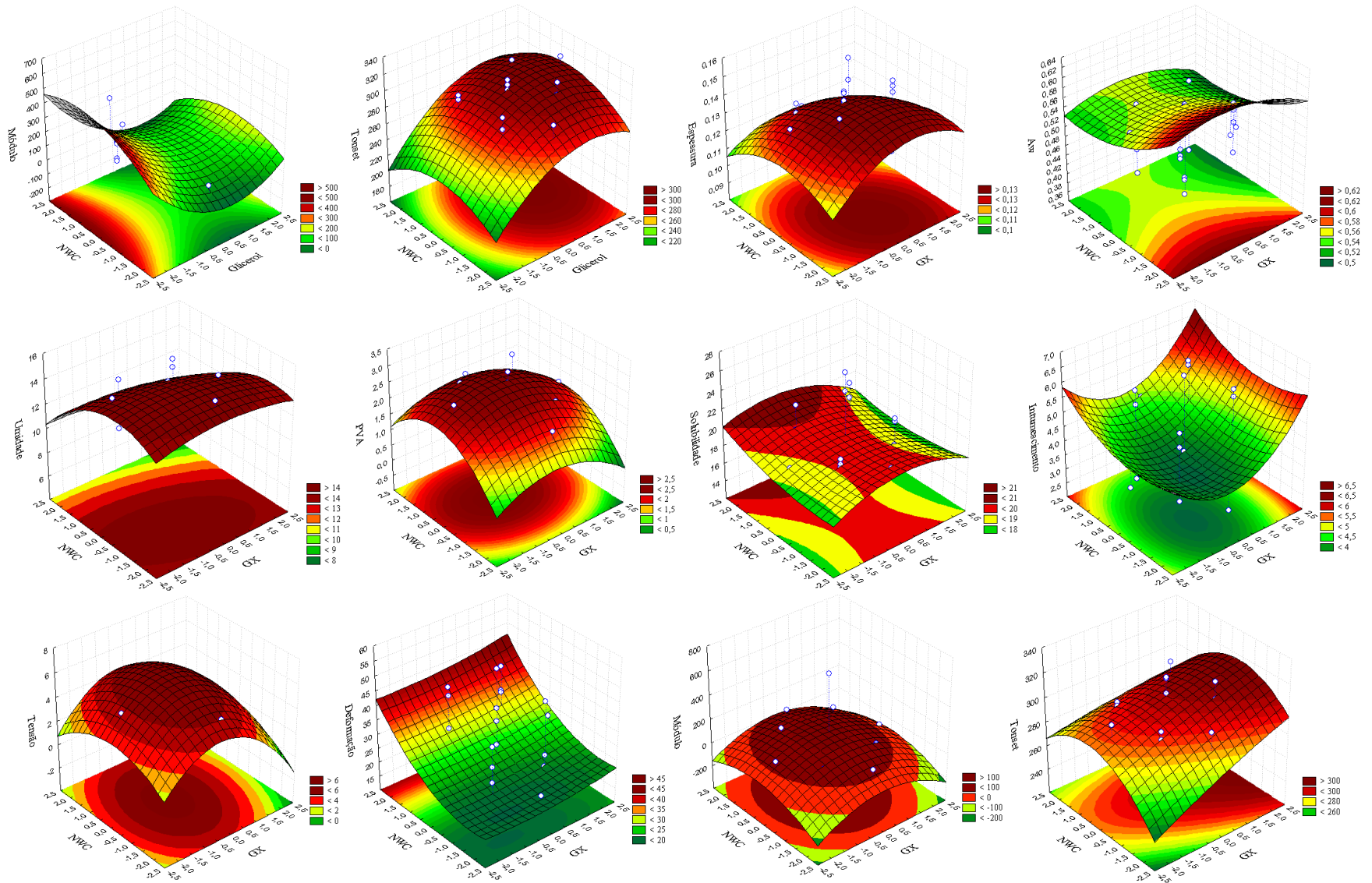
Continuação Figura 1



Continuação Figura 1



Continuação Figura 1



Continuação Figura 1

ANEXO V

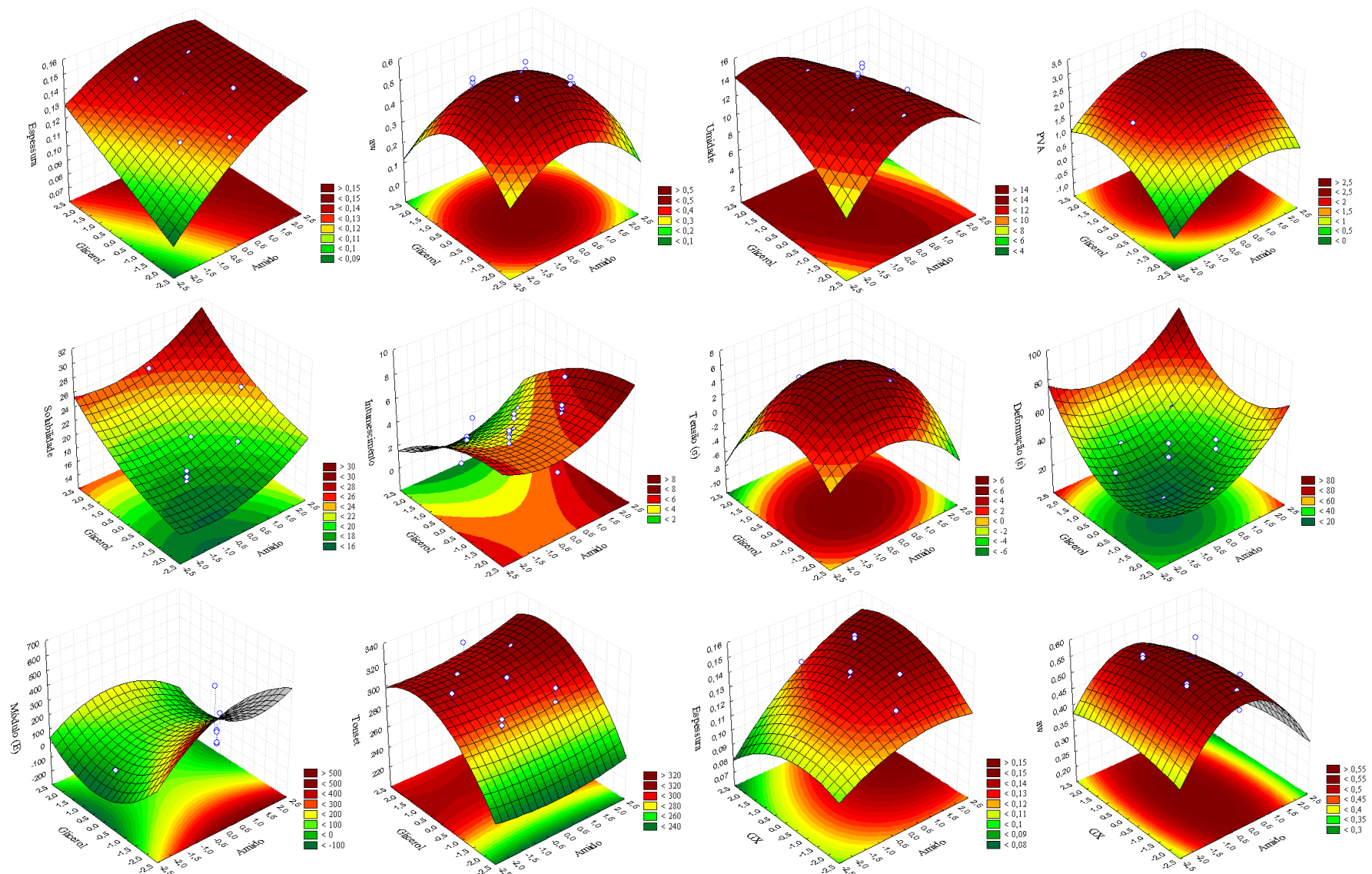
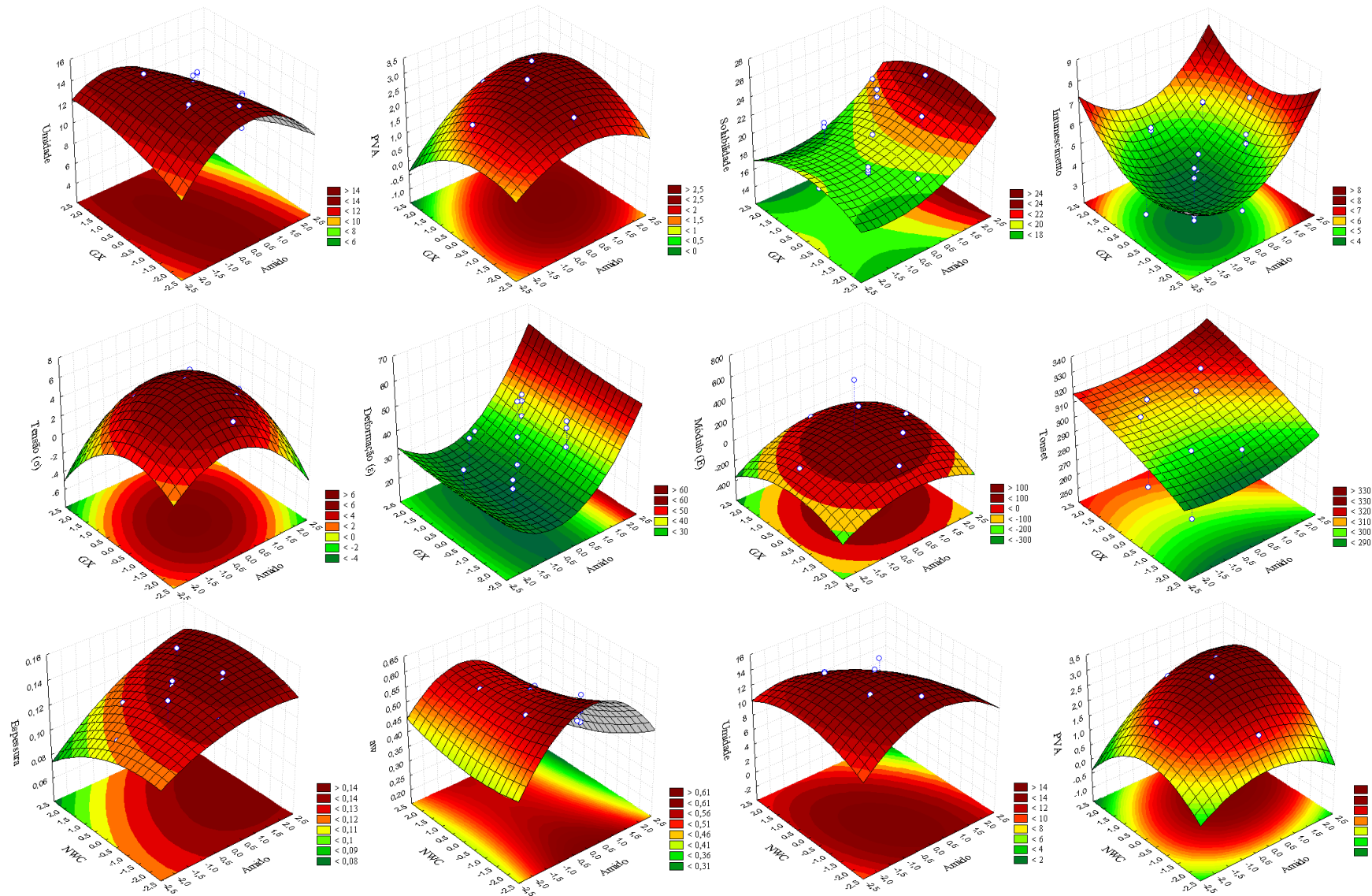
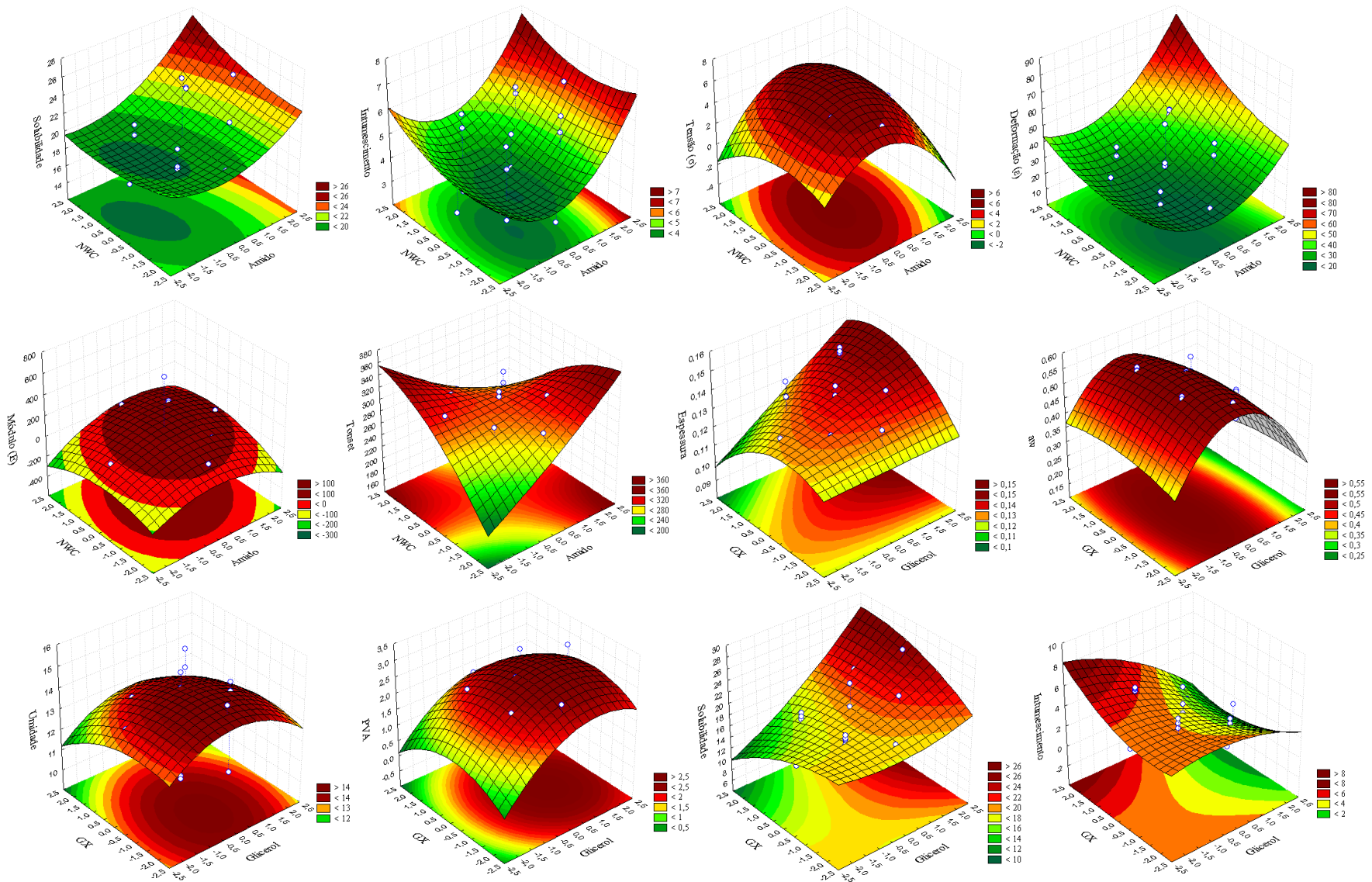


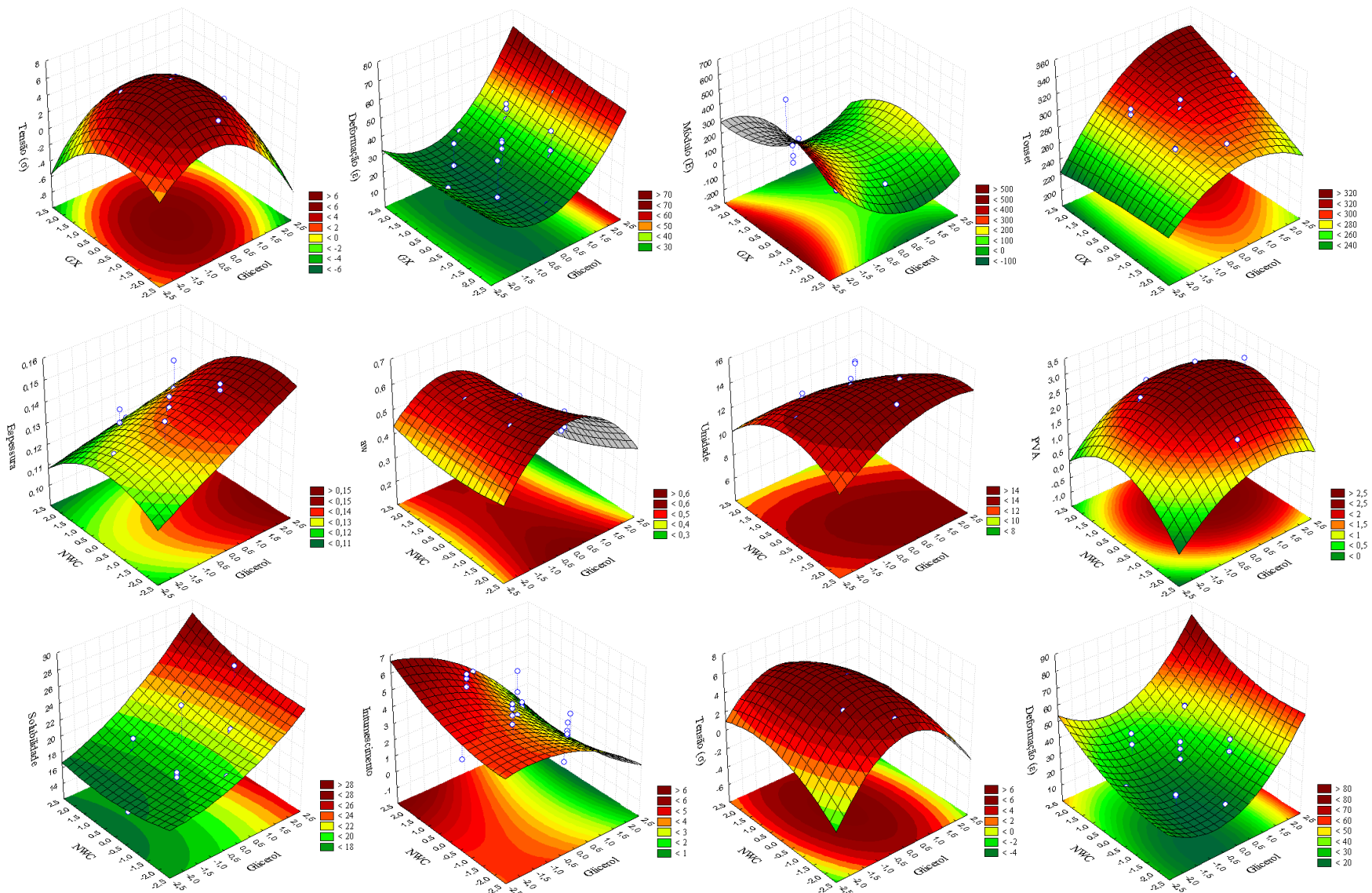
Figura 1. Superfícies de resposta geradas a 95 % de confiança para as interações das variáveis independentes (amido, glicerol, goma xantana e *nanowhiskers*) sobre as variáveis respostas (espessura, atividade de água, umidade, permeabilidade ao vapor d'água, taxa de permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, grau de intumescimento, tensão na ruptura, deformação na ruptura, módulo de elasticidade e temperatura de degradação) para os 27 ensaios do planejamento experimental.



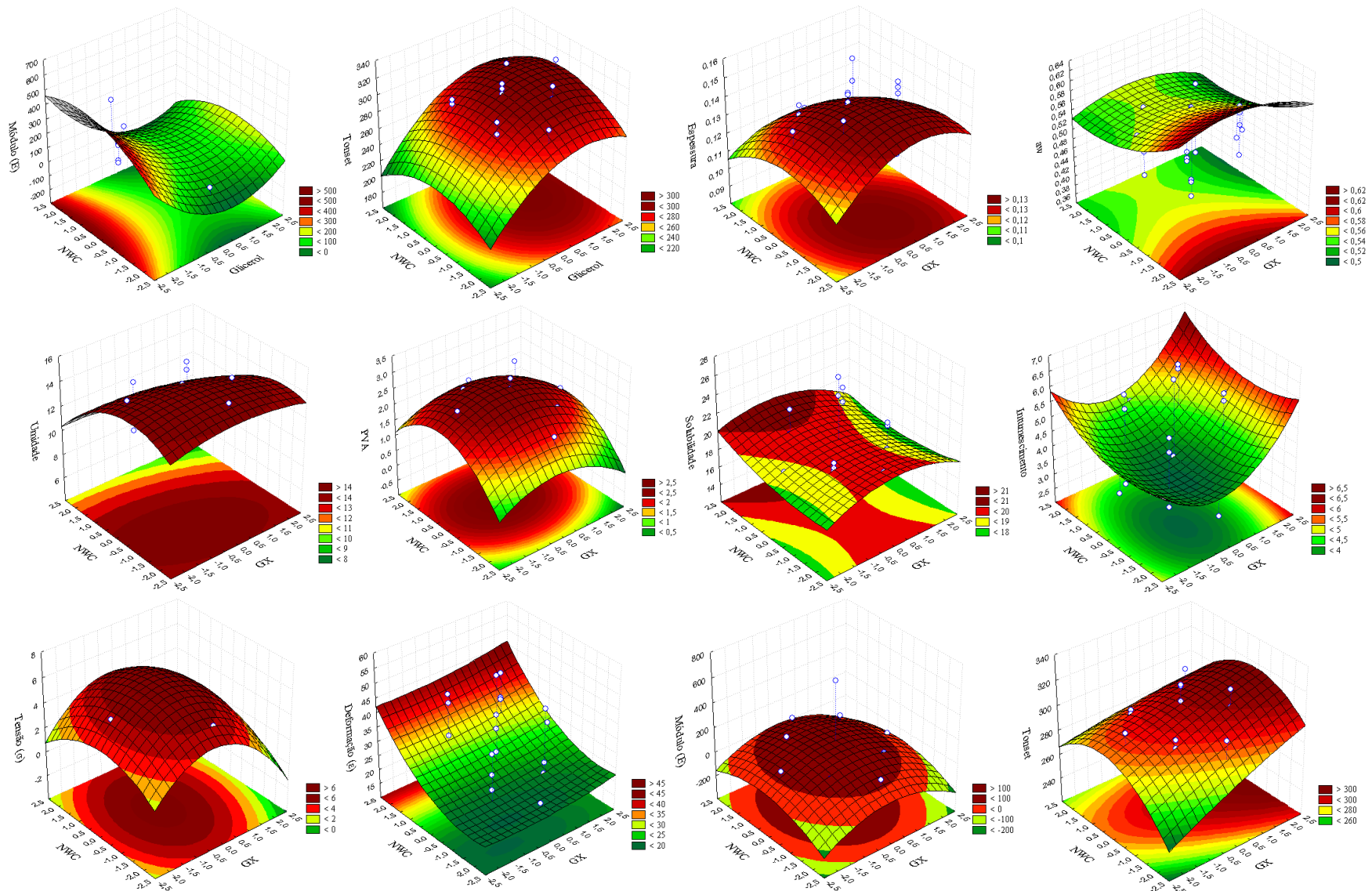
Continuação da Figura 1



Continuação da Figura 1



Continuação da Figura 1



Continuação Figura 1

ANEXO VI

Tabela 1. Tabela de efeitos das análises de espessura (e), atividade de água (aw), umidade (U), permeabilidade ao vapor d'água (PVA), taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA), solubilidade (S), intumescimento (SW), tensão na ruptura (σ), deformação na ruptura (ϵ), módulo de elasticidade (E), temperatura de degradação (Tonset), luminosidade (L*), croma a*, croma b* e diferença de cor (ΔE).

Variável	Respostas														
	e	aw	U	PVA	TPVA	S	SW	σ	ϵ	E	Tonset	L*	a*	b*	ΔE
(1)Amido (L)	0,02	-0,03	-1,49	0,44	13,00	2,04	0,75	-0,20	10,31	45,36	4,41	9,30	0,20	0,15	8,77
Amido (Q)	---	-0,06	-1,38	-0,27	-17,58	0,76	---	-1,51	6,71	-58,14	2,32	3,06	0,20	---	3,62
(2)Glicerol (L)	---	-0,05	---	0,51	29,50	3,72	-1,84	-1,02	12,41	-123,84	26,98	4,65	0,19	0,12	5,20
Glicerol (Q)	---	-0,07	-0,45	-0,30	-28,08	0,51	---	-2,01	7,97	75,95	-11,42	7,60	0,19	---	8,16
(3)GX (L)	---	---	-0,58	-0,19	---	-0,35	---	-0,76	---	-12,42	12,41	3,59	0,17	0,17	1,43
GX (Q)	---	---	-0,26	-0,26	-8,83	-0,63	---	-1,29	---	-61,13	---	3,07	---	---	0,38
(4)NWC (L)	---	-0,03	-1,73	0,20	15,67	0,48	---	---	9,18	21,32	---	4,86	0,18	---	4,86
NWC (Q)	---	---	-0,75	-0,40	-11,83	0,30	---	-0,68	2,47	-44,38	-9,45	3,76	0,08	---	4,32
1L by 2L	---	---	-1,14	---	11,25	---	---	0,60	---	-24,86	---	2,67	0,19	---	2,68
1L by 3L	---	---	-0,64	0,18	26,75	---	---	0,61	---	11,35	---	1,08	0,08	---	1,89
1L by 4L	---	---	-0,84	0,20	---	0,39	---	0,49	2,53	22,34	-25,18	1,47	0,08	---	2,28
2L by 3L	---	---	---	---	---	1,33	---	0,64	---	9,13	7,42	2,31	0,08	---	1,51
2L by 4L	---	---	-0,55	---	-11,00	0,39	---	-0,54	---	-18,91	---	2,73	---	---	1,93
3L by 4L	---	---	-0,23	---	---	-0,21	---	0,14	---	-3,44	-3,02	-2,82	-0,09	---	-2,82