



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

JUSCIVALDO PASSOS DOS SANTOS

EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE
INHAMBU (DIOSCOREA TRIFIDA L.) PARA PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS
REFORÇADOS COM NANOAMIDO E NANOCRISTAIS DE CELULOSE
CONTENDO HIBISCO E PIMENTA ROSA COMO ADITIVOS NATURAIS

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nádia Mamede José
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Rigoli

Salvador

2024

JUSCIVALDO PASSOS DOS SANTOS

EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE
INHAMBU (DIOSCOREA TRIFIDA L.) PARA PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS
REFORÇADOS COM NANOAMIDO E NANOCRISTAIS DE CELULOSE
CONTENDO HIBISCO E PIMENTA ROSA COMO ADITIVOS NATURAIS

Tese submetida ao Programa
de Pós-Graduação em
Engenharia Química da
Universidade Federal da Bahia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em
Engenharia Química - Área:
Materiais e Polímeros.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nádia Mamede José

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Rigoli

Salvador

2024

S237 Santos, Juscivaldo Passos dos.

Extração, caracterização e modificação do amido de inhambu (dioscorea trifida L.) para produção de filmes ativos reforçados com nanoamido e nanocristais de celulose contendo hibisco e pimenta rosa como aditivos naturais / Juscivaldo Passos dos Santos. – Salvador, 2024.

134f.: il. color.

Orientadora: Profa. Dra. Nadia Mamede Jose.

Coorientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Rigoli.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, 2024.

1. Amido. 2. Inhambu. 3. Nanocelulose. 4. Hibisco. 5. Pimenta rosa. José, Nadia Mamede. II. Rigoli, Isabel Cristina. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDD: 547.78




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




A Comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese “**EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE INHAMBU (DIOSCOREA TRIFIDA L.) PARA PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS REFORÇADOS COM NANOAMIDO E NANOCRISTAIS DE CELULOSE CONTENDO HIBISCO E PIMENTA ROSA COMO ADITIVOS NATURAIS.**” como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Química.

Salvador, 6 de março de 2024.


Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **NADIA MAMEDE JOSE**
Data: 07/03/2024 07:21:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. NADIA MAMEDE JOSE, UFBA
Presidente (Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 **ISABEL CRISTINA RIGOLI**
Data: 06/03/2024 15:43:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ISABEL CRISTINA RIGOLI, UFBA
Examinadora Externa ao Programa (Coorientadora)

Documento assinado digitalmente
 **CLEIDIENE SOUZA DE MIRANDA FIUZA**
Data: 06/03/2024 19:43:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. CLEIDIENE SOUZA DE MIRANDA FIUZA, IF BAIANO
Examinadora Externa à Instituição



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



Documento assinado digitalmente



SAMUEL LUPORINI

Data: 06/03/2024 21:26:29-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. SAMUEL LUPORINI, UFBA
Examinador Externo ao Programa

Documento assinado digitalmente



DENILSON DE JESUS ASSIS

Data: 06/03/2024 17:10:07-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. DENILSON DE JESUS ASSIS, UNIFACS
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente



ROSANGELA REGIA LIMA VIDAL

Data: 06/03/2024 18:42:51-0300


Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ROSANGELA REGIA LIMA VIDAL, UFBA
Examinadora Interna




Ata da sessão pública do Colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA (PPEQ), realizada em 06/03/2024 para procedimento de defesa da Tese de DOUTORADO EM ENGENHARIA QUÍMICA no. 70, área de concentração Processos e Sistemas Químicos, do(a) candidato(a) JUSCIVALDO PASSOS DOS SANTOS, de matrícula 216218573, intitulada EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE INHAMBU (DIOSCOREA TRIFIDA L.) PARA PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS REFORÇADOS COM NANOAMIDO E NANOCRISTAIS DE CELULOSE CONTENDO HIBISCO E PIMENTA ROSA COMO ADITIVOS NATURAIS. Às 09:00 do citado dia, Escola Politécnica-Sala de aula do PPEQ, foi aberta a sessão pelo(a) presidente da banca examinadora Profª. Dra. NADIA MAMEDE JOSE (Orientadora), que apresentou os outros membros da banca:, Profª. Dra. ISABEL CRISTINA RIGOLI (Coorientadora), Profª. Dra. CLEIDIENE SOUZA DE MIRANDA FIUZA, Prof. Dr. SAMUEL LUPORINI, Prof. DENILSON DE JESUS ASSIS e Profª. Dra. ROSANGELA REGIA LIMA VIDAL. Em seguida foram esclarecidos os procedimentos pelo(a) presidente que passou a palavra ao(à) examinado(a) para apresentação do trabalho de Doutorado. Ao final da apresentação, passou-se à arguição por parte da banca, a qual, em seguida, reuniu-se para a elaboração do parecer. No seu retorno, foi lido o parecer final a respeito do trabalho apresentado pelo candidato, tendo a banca examinadora aprovado o trabalho apresentado, sendo esta aprovação um requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor. Em seguida, nada mais havendo a tratar, foi encerrada a sessão pelo(a) presidente da banca, tendo sido, logo a seguir, lavrada a presente ata, abaixo assinada por todos os membros da banca.

Documento assinado digitalmente

 **NADIA MAMEDE JOSE**
Data: 07/03/2024 11:27:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Profa. Dra. NADIA MAMEDE JOSE, UFBA
Presidente (Orientadora)

Documento assinado digitalmente

 **ISABEL CRISTINA RIGOLI**
Data: 06/03/2024 15:43:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Profa. Dra. ISABEL CRISTINA RIGOLI, UFBA
Examinadora Externa ao Programa (Coorientadora)

Documento assinado digitalmente

 **CLEIDIENE SOUZA DE MIRANDA FIUZA**
Data: 06/03/2024 19:43:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. CLEIDIENE SOUZA DE MIRANDA FIUZA, IF BAIANO
Examinadora Externa à Instituição

Documento assinado digitalmente

 **SAMUEL LUPORINI**
Data: 06/03/2024 21:26:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>



Universidade Federal da Bahia

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA (PPEQ)

Prof. Dr. SAMUEL LUPORINI, UFBA
Examinador Externo ao Programa

Documento assinado digitalmente



DENILSON DE JESUS ASSIS
Data: 06/03/2024 17:07:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. DENILSON DE JESUS ASSIS, UNIFACS
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente



ROSANGELA REGIA LIMA VIDAL
Data: 06/03/2024 18:42:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ROSANGELA REGIA LIMA VIDAL, UFBA
Examinadora Interna

Documento assinado digitalmente



JUSCIVALDO PASSOS DOS SANTOS
Data: 06/03/2024 16:52:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

JUSCIVALDO PASSOS DOS SANTOS
Doutorando

Dedico esse trabalho à memória dos meus entes queridos, que em vida sempre me incentivaram. Meus familiares e amigos, às minhas orientadoras Nadia e Isabel, à minha esposa Daniella e às minhas filhas Júlia e Bruna

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e por me ajudar a superar todos os obstáculos encontrados ao longo do caminho. Agradeço ao pai eterno pelas pessoas maravilhosas que colocou em minha vida, as quais sou eternamente grato.

Aos meus pais, agradeço pela educação, conselhos, pelo amor, carinho, dedicação e apoio incondicional na minha formação.

A minha amada esposa Daniella, que sempre esteve ao meu lado sendo meu porto seguro e meu ponto de equilíbrio, as minhas filhas Júlia e Bruna pelo amor e carinho que deixaram essa caminhada mais suave e aos meus irmãos e irmã pelo apoio, colaboração e torcida.

Aos colegas e amigos do GECIM pela amizade, apoio, parceria e colaboração todo esse tempo e da mesma forma aos colegas de trabalho do IF Baiano e CERJA.

Ao amigo irmão Luis Alexandre, que me abrigou em sua residência, proporcionando um ambiente familiar de muita amizade e aconchego nos dias fora de casa.

Ao colega Valdinei e Erlan pela ajuda especializada em alguns experimentos, me tiraram do sufoco.

A FAPESB, pelo apoio financeiro.

Às professoras Nadia Mamede José e Isabel Cristina Rigoli pela orientação, dedicação, paciência, incentivos, conselhos e credibilidade todos esses anos, sem vocês não seria possível.

A todos vocês, muitíssimo obrigado!

RESUMO

O uso de materiais biodegradáveis tem sido o foco na produção industrial de embalagens. Para tal, a utilização de polímeros naturais renováveis tem sido a alternativa mais estudada. Logo, a busca por novas fontes de amido, que é um polímero natural abundante, que reúne as características necessárias para produção de filmes biodegradáveis, e as vezes comestíveis, é um dos temas mais estudados na área. O Inhambu, nome popular dado à espécie *Dioscorea trifida* L., no Baixo Sul baiano, um tubérculo rico e matéria amilácea, foi utilizado para extração de amido que posteriormente foi modificado, caracterizado e utilizado na produção de filmes e nanopartículas. Os amidos nativo e modificado apresentaram características físico-químicas adequadas para aplicações como matéria prima pra a produção de biopolímeros e nanocargas, respectivamente. As modificações por acetilação resultaram na alteração da cristalinidade, percebida pelo perfil de DRX, e nas características físico-químicas comparadas com o amido nativo. A produção de nanoamidos nativo e acetilado rendeu partículas nanométricas com potencial aplicação como reforço em filmes de amido. Os filmes preparados com o amido de inhambu, reforçados com nanoamido e nanocristais de celulose, apresentaram boas características de barreira, como permeabilidade ao vapor de água e bom desempenho mecânico, comparados ao filme padrão. Os filmes contendo extrato de hibisco apresentaram bom desempenho nos testes de potenciais antioxidante e antibacteriano, podendo ser usados como dispositivos em embalagens. Os materiais produzidos nesse trabalho tiveram suas propriedades avaliadas utilizando várias técnicas de caracterização, viabilizando um estudo detalhado para embasar futuras aplicações.

Palavras chave: amido, Inhambu, nanoamido, nanocelulose, hibisco, pimenta rosa, antioxidante, antimicrobiano.

ABSTRACT

The use of biodegradable materials has been a focus in the industrial production of packaging. To achieve this, the use of renewable natural polymers has been the most studied alternative. Therefore, the search for new sources of starch is one of the most studied topics in the area, as it is an abundant natural polymer, with characteristics necessary for the production of biodegradable films and because it is sometimes an edible product. Inhambu, the popular name given to the species *Dioscorea Trifida* L. in the Bahia Southern Lowlands, is a tuber rich in starch. It was used to extract starch, which was later modified, characterized and used in the production of films and nanoparticles. Native and modified starches presented physicochemical characteristics suitable for applications as raw materials in the production of biopolymers. Modifications by acetylation resulted in changes in crystallinity, evidenced in the XRD profile, and in physicochemical characteristics when compared to native starch. The production of native and acetylated nanostarches yielded nanometric particles with potential application as reinforcement in starch films. The films prepared with inhambu starch, reinforced with nanostarch and cellulose nanocrystals, showed good barrier characteristics, such as water vapor permeability and good mechanical performance when compared to the standard film. The films containing natural additives (hibiscus extract and pink pepper oil) performed well in antioxidant and antibacterial potential tests and can be used as packaging devices. The materials produced in this work had their properties evaluated using various characterization techniques, enabling a detailed study to support future applications.

Keywords: starch, Inhambu, nano starch, nanocellulose, hibiscus, pink pepper, antioxidant, antimicrobial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da amilose (Fonte: Nelson & Cox, 2002)	7
Figura 2 - A) Estrutura da amilose [polímero linear composto por D-glicoses unidas em α -(1-4)]. B) Estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -(1-4) e α -(1-6)].(Fonte: LAJOLO & MENEZES, 2006)	8
Figura 3–(a) Estrutura da amilopectina (Fonte: LAJOLO & MENEZES, 2006). (b) Representação esquemática do modelo estrutural da amilopectina (Fonte: PEREIRA, 2008).	9
Figura 4 - Classificação das cadeias de amilopectina em tipo A, B e C (Fonte: PARKER & RING, 2001)	11
Figura 5 - Etapas de gelatinização do amido (ZHOU at al., 2002)	12
Figura 6–Representação esquemática da reação de acetilação do amido (Fonte: XU, 2004)	15
Figura 7 - Imagem da planta e do tubérculo do Inhambu (<i>Dioscorea trifida</i> L.) (Fonte: Autor)	16
Figura 8 - Imagem da flor do hibisco (<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.) (Fonte: Autor)	18
Figura 9 - Imagem da planta e do fruto da pimenta rosa. (Fonte: Autor).....	20
Figura 10 - Estrutura química das antocianinas (Fonte: LOPEZ, 2000)	21
Figura 11 - Estruturas químicas das antocianinas e algumas fontes naturais das mesmas (Fonte: BOBBIO, 1995).....	22
Figura 12 - Equilíbrio das antocianinas em solução (Fonte: IACOBUCCI, 1983)	23
Figura 13 - Tipos de nanoestruturas (Fonte: SANFELICE, 2022)	32
Figura 14 - Estrutura da celulose (Fonte: MOON, 2011).....	40
Figura 15 - Síntese do Acetato de Amido (LEPENIOTIS, 1997)	44
Figura 16 - Esquema para a obtenção do acetato de amido.....	45
Figura 17 - Curva de calibração da amilose	51
Figura 18 - Ilustração da célula de permeação utilizada para a determinação da permeabilidade ao vapor de água	54
Figura 19 - Suspensões de amidos após o processo de acetilação nas temperaturas de 50, 60 e 70°C.	58

Figura 20 - Amidos acetilados após filtração e secagem.	58
Figura 21 - Solubilidade das amostras AN, AA40, AA50 e AA60.	61
Figura 22 - Poder de inchamento dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.	61
Figura 23 - Curva de absorção da amilose	63
Figura 24 - Difratoograma de raios X dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.	64
Figura 25 - Microscopia dos grânulos de amido nativo de Inhambu (<i>Dioscorea trifida L.</i>)	65
Figura 26 - Microscopia dos grânulos dos amidos AA50 e AA60.	66
Figura 27 - Curva TG dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60	67
Figura 28 - Curva DTG dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.	68
Figura 29 - Curva DSC dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.	69
Figura 30 - Espectro infravermelho dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.	70
Figura 31 - Microscopia eletrônica de transmissão dos amidos AN (a) e AA60 (b).	72
Figura 32 - Microscopia eletrônica de transmissão dos nanocristais de celulose NCC (a) e NCS (b).	73
Figura 33 - Potencial zeta e distribuição de tamanho de partículas das nanopartículas de amidos AN e AA60.	74
Figura 34 - Potencial zeta e distribuição de tamanho de partículas de nanocristais de celulose NCC e NCS.	75
Figura 35 - Filmes FP, CAN3, CAA3, CCAN2,5 e CCAA2,5.	76
Figura 36 - Filmes FP, FH10, FH20 e FH30.	76
Figura 37 - Curvas TG dos filmes FP e FH30.	78
Figura 38 - Curvas DTG dos filmes FP, FH30.	78
Figura 39 - Curvas DSC para os filmes FP, CAN3, CAA3, CCAN2,5 e CCAA2,5.	79
Figura 40 - Permeabilidade ao vapor de água dos filmes FP, FH10, FH20, FH30, CAN3, CAA3, CCAA2,5 e CCAN2,5.	80
Figura 41 - Curva de DPPH e absorbância	84
Figura 42 - Concentração inibitória para DPPH remanescente 50%.	85
Figura 43 - Atividade antibacteriana por difusão em disco para filmes contendo óleo de pimenta rosa em diferentes percentuais.	86
Figura 44 - Atividade antibacteriana por difusão em disco para filmes FH10, FH20 e FH30.	87

Figura 45 - Atividade antibacteriana por difusão em disco para filmes contendo extrato de hibisco (5%).....	88
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Amostras de filmes contendo aditivos naturais	48
Tabela 2 - Amostras de filmes compósitos.....	48
Tabela 3 – Dados de graus de substituição (GS) e percentual de acetilação. .	59
Tabela 4 - Teor de umidade das amostras AN, AA40, AA50 e AA60.....	59
Tabela 5 - Teor de amilose e amilopectina	62
Tabela 6 - Dados de espessura e de ensaio mecânico dos filmes de amido padrão (FP), dos reforçados com nanoamido (CAA3, CAN3), nanocristais (CCAA2,5, CCAN2,5) de celulose e contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30).	82
Tabela 7 - Valores de DPPH remanescentes e captura de radicais DPPH.....	85
Tabela 8 - Medidas dos diâmetros dos discos e dos halos de inibição para FH10, FH20 e FH30.....	87

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AN	Amido nativo
AA40	Amido acetilado a 40 °C
AA50	Amido acetilado a 50 °C
AA60	Amido acetilado a 60 °C
AACC	<i>Approved methods of the American Association of Cereal Chemistry</i>
CAA3	Filme contendo 3% nanopartícula de amido acetilado
CAN3	Filme contendo 3% nanopartícula de amido nativo
CCAA2,5	Filme contendo 2,5% nanopartícula de amido acetilado e 0,5% de nanocristais de celulose
CCAN2,5	Filme contendo 2,5% nanopartícula de amido nativo e 0,5% de nanocristais de celulose
DPPH	
DRX	Difração de Raios-X
DSG	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTG	
FH5	Filme contendo 5% de extrato de hibisco
FH10	Filme contendo 10% de extrato de hibisco
FH20	Filme contendo 20% de extrato de hibisco
FH30	Filme contendo 30% de extrato de hibisco
FP	Filme padrão
FR10	Filme contendo 10% de óleo de pimenta rosa
FR20	Filme contendo 20% de óleo de pimenta rosa
FR30	Filme contendo 30% de óleo de pimenta rosa
FTIR	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
GS	Grau de Substituição
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mm	Milímetros
mV	Milivolt
N	Nilton

NCC	Nanocristais de celulose
NCS	Nanocristais de celulose sonicado
pH	Potencial hidrogeniônico
Pk	Tamanho médio das partículas
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
TG	Termogravimetria
TPVA	Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água
ζ	Potencial Zeta

SUMÁRIO

1. TRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. Objetivo geral.....	4
2.2. Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. AMIDO	5
3.1.1. Estrutura molecular da amilose.....	6
3.1.2. Estrutura molecular da amilopectina.....	9
3.1.3. Gelatinização do Amido.....	12
3.1.4. Retrogradação do amido	13
3.1.5. Amidos modificados por acetilação.....	14
3.2. Inhambú	16
3.3. Hibisco	18
3.4. Pimenta rosa	19
3.5. Antocianinas.....	20
3.6. Filmes e embalagens	25
3.6.1. Embalagens biodegradáveis	25
3.6.2. Formulação dos filmes de amido	27
3.6.3. Embalagens ativas	28
3.7. NANOTECNOLOGIA	30
3.7.1. Nanocompósitos.....	32
3.7.2. Filmes contendo nanopartículas.....	33
3.7.2.1. Nanoamido	34
3.7.2.2. Nanocelulose.....	40
4. METODOLOGIA	43
4.1. Extração do amido	43
4.2. Modificação do amido por acetilação	44
4.3. Grau de substituição – GS	45
4.4. Preparo das nanopartículas	46
4.4.1. Preparo do nanoamido	46
4.4.2. Preparo dos nanocristais de celulose	46

4.5.	Extração do extrato de hibisco	47
4.6.	Óleo da pimenta rosa	47
4.7.	Preparo do filme	47
4.8.	Caracterização do amido	49
4.8.1.	Teor de umidade.....	49
4.8.2.	Poder de Inchamento e Solubilidade	49
4.8.3.	Análise termogravimétrica	50
4.8.4.	Teor de amilose e amilopectina	50
4.8.5.	Microscopia eletrônica de varredura – MEV	51
4.8.6.	Microscopia eletrônica de transmissão – MET	51
4.8.7.	Difração de Raios X – DRX	52
4.8.8.	Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR.....	52
4.9.	Caracterização dos filmes	52
4.9.1.	Espessura.....	52
4.9.2.	Análise termogravimétrica	52
4.9.3.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	52
4.9.4.	Ensaio mecânico	53
4.9.5.	Solubilidade em água	53
4.9.6.	Permeabilidade ao vapor de água	54
4.9.7.	Intumescimento	55
4.9.8.	Atividade antioxidante.....	55
4.9.9.	Atividade antimicrobiana.....	56
5.1.6.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	64
5.1.7.	Propriedades térmicas.....	66
5.1.7.1.	Análise Termogravimétrica(TG)	66
5.3.	Filmes de Amido	76
5.3.1.	Solubilidade em água	77
5.3.2.	Propriedades Térmicas.....	77
5.3.3.	Permeabilidade ao vapor de água	80
6	COCLUSÕES.....	90
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

1. TRODUÇÃO

Os materiais convencionais, como os polímeros sintéticos, na maioria derivado do petróleo, não sofrem ataque imediato de micro-organismos. Essa característica confere a esses materiais uma longa vida útil e, conseqüentemente, provocam sérios problemas ambientais visto que, após o seu descarte, demoram em média 100 anos para se decomporem totalmente, aumentando assim a cada dia, a quantidade de lixo plástico descartado no meio ambiente (RAGHAVAN 1995; CHIELLINI et al. 1998). Diante disso os pesquisadores têm se dedicado em estudos para o desenvolvimentos de matérias biodegradáveis e sustentáveis. Com o desenvolvimento de estudos na área de materiais, os polímeros biodegradáveis, tais como os amidos de diferentes fontes, são considerados uma alternativa para a substituição dos polímeros convencionais para a obtenção de embalagens (YONEZAWA et al. 2017).

Dentre os polissacarídeos utilizados para produção de filmes e revestimentos comestíveis, o amido é o biopolímero natural mais empregado. O uso do amido pode ser uma interessante alternativa para filmes e revestimentos comestíveis devido ao seu fácil processamento, baixo custo, abundância, biodegradabilidade, comestibilidade e fácil manipulação (AZEVEDO et al. 2018; FRIEDRICHSEN et al. 2022).

Nos últimos anos vem crescendo o interesse por novas fontes de amido naturais que possam ser utilizados na indústria, tanto de alimentos quanto de biomateriais. As necessidades das indústrias que utilizam amido estão cada vez mais complexas, fazendo com que o setor produtivo esteja em busca de novas tecnologias, bem como de amidos naturais com características físico-químicas diferenciadas. Esses amidos poderiam substituir amidos quimicamente modificados ou abrir novos mercados. As fontes de amido devem ser adaptáveis a determinada região e ter bom rendimento agrícola (OLIVEIRA et al. 2023).

Sendo um carboidrato de reserva de várias plantas, o amido pode ser encontrado nos cloroplastos das folhas e nos amiloplastos dos órgãos de reserva. Ocorre sob forma de grânulos, apresentando forma e dimensão que variam com sua origem. O amido, de modo geral, é utilizado em muitos países como fonte de matéria-prima para fabricação de bioplástico e o seu consumo aumenta com o

grau de desenvolvimento inclusive, neste caso, seria mais uma fonte de matéria-prima para fabricação de bioplástico (OLIVEIRA et al. 2023).

O amido é um polissacarídeo formado de amilose e amilopectina, a relação destes dois componentes varia de acordo com o tipo de amido, mas normalmente os amidos contêm entre 18 a 30% de amilose (LEHNINGER 1995; DENARDINI et al. 2009). Quando aquecido, os grânulos intumescem gradativamente aumentando a quantidade de água absorvida. A viscosidade e a transparência do sistema aumentam até um máximo, formando uma solução viscosa de amido. A natureza, teor de amilopectina, concentração de amido, o pH, proteínas, sais, gorduras e açúcares presentes na solução influenciam na dureza do gel formado (SILVA et al. 2020). Em especial, o de amilose no amido é uma propriedade muito importante quando se deseja preparar filmes. Quanto maior o teor de amilose melhor será a qualidade do filme formado (SILVA et al. 2020). Em estudos feitos por SILVA (2022), foi observado que os filmes e revestimentos à base de amido apresentam diferentes propriedades e estas diferenças são atribuídas a quantidade de amilose. O milho (*Zea mays*) e a mandioca (*Manihotutilissima*) são as principais fontes de amido na indústria alimentícia brasileira. Utilizado como fonte alternativa o inhame (*Dioscorea sp*), produz um amido com características desejáveis como, estabilidade às altas temperaturas e valores baixos de pH (ALVES et al. 1999; ANDRADE et al. 2021). De acordo com Moraes (2009), em relação a origem dos polímeros biodegradáveis, estes, podem ser classificados em renováveis e não renováveis sendo os não renováveis os que são os provenientes do petróleo como o poli (ε-caprolactona) (PCL), já os renováveis são os que derivam de biomassa, como por exemplo o amido, a celulose, a quitosana, o colágeno, entre outros.

O filme é uma película fina formada separadamente do alimento e posteriormente aplicada sobre o mesmo (GENNADIOS 1990). Age como uma barreira, protegendo o alimento dos elementos externos, como umidade, óleo, vapor orgânico e desta forma estende sua vida de prateleira (CASTRO-BADER et al. 2023). As embalagens são utilizadas para reduzir absorção de umidade, da atmosfera circundante, pelo alimento, o que torna a impermeabilidade ao vapor de água uma característica importante das mesmas (NASCIMENTO et al. 2019). A eficiência das embalagens comestíveis depende de sua composição. Os filmes a base de amido possuem propriedades hidrofílicas, e essa

característica motivou o desenvolvimento de pesquisas para melhorar a estabilidade dos filmes à umidade (JIANG et al. 2020). Uma das alternativas tem sido adicionar sorbitol ou glicerol, agentes plastificantes, na preparação de filmes a base de amido de milho e de batata, com diferentes conteúdos de amilose, melhorando suas características de impermeabilidade ao vapor de água (GARCÍA et al 1999; JIANG et al. 2020).

Para a confecção de embalagens biodegradáveis, os insumos que mais são utilizados são os materiais de origem agrícola, uma vez que estes têm preço mais acessível, podem ser encontrados durante todo o ano e advém de fontes sustentáveis de natureza renovável (CARR, 2007).

Além da produção de embalagens à base de biopolímeros, outra área de estudo de elevada importância no setor de embalagens corresponde às embalagens inteligentes. Este tipo de embalagem vem ganhando importância devido à crescente busca por alimentos minimamente processados e/ou alimentos “prontos para comer” (ready-to-eat), que apresentem segurança e qualidade facilmente detectáveis.

O presente trabalho propõe desenvolver e caracterizar polímeros biodegradáveis a partir do amido de Inhambu, nativo e modificado por acetilação. A fim de obter um material oriundos de uma nova fonte de amido para produção de biofilmes com propriedades promissoras para atuação no setor de embalagens. Foram desenvolvidos também bionanocompositos reforçados a partir de nanoamido e nanocristais de celulose com propriedades mecânicas e de barreira satisfatórias. Além disto, estes biofilmes de amido foram funcionalizados com extrato de hibisco e óleo de pimenta, com objetivo de obter embalagens ativas e inteligentes. Portanto, o trabalho teve como finalidade desenvolver materiais a partir de matérias-primas obtidas a partir de fontes renováveis, de baixo custo, com propriedades satisfatórias para atuarem como filmes flexíveis resistentes no setor de embalagens ativas e biodegradáveis.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver e avaliar as propriedades térmicas, mecânicas, estruturais, morfológicas de barreira de polímeros biodegradáveis obtidos a partir de amido de Inhambu reforçados com nanocargas, além de produzir biofilmes contendo extrato de hibisco e óleo de pimenta rosa com possíveis atuação no setor de embalagens de alimentos.

2.2. Objetivos específicos

Extrair e caracterizar o amido de Inhambu através de técnicas adequada para determinar suas características físico-químicas;

Modificar o amido obtido por acetilação e avaliar a extensão da modificação através do cálculo de grau de substituição e percentual de acetilação;

Obter e caracterizar nanopartículas dos amidos de Inhambu nativo e modificado;

Conhecer as características dos filmes reforçados com nanopartículas dos amidos, nativo e modificados, de Inhambu e nanocristais de celulose de algodão bem como avaliar as propriedades físico-químicas e mecânicas dos filmes reforçados;

Produzir extrato hidroetanólico de hibisco para adicionar nos filmes, afim de obter materiais ativos;

Avaliar os efeitos antioxidante e antibacteriano dos filmes contendo diferentes teores aditivos naturais, extrato de hibisco e óleo de pimenta rosa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. AMIDO

O amido pode ser encontrado em uma variedade de vegetais como um carboidrato de reserva, sendo abundante em grãos de cereais, leguminosas, tubérculos e frutas imaturas ou verdes. Além disso é uma fonte importante de carboidratos na dieta do homem e, corresponde, em média, entre 80% e 90% dos polissacarídeos consumidos na sua alimentação (LAJOLO & MENEZES, 2006; WHO/FAO, 1998). Na indústria, atua nas características dos produtos processados, pois, contribui com as propriedades de textura em alimentos, tendo aplicações industriais como espessante, estabilizador de coloides, agente gelificante e de volume, adesivo, na retenção de água, dentre outros (SINGH et al., 2003).

No que diz respeito à estrutura, o amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, originando uma cadeia linear, enquanto a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, formando uma estrutura ramificada. O teor dessas substâncias nos amidos difere em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e de acordo com o grau de maturação da planta, se tratando de uma mesma espécie (ELIASSON, 2004; TESTER et al., 2004).

Pesquisas recentes sobre a avaliação da relação existente entre a estrutura molecular do amido e seu comportamento em algumas propriedades físico-químicas sugerem que diversas características estruturais, como teor de amilose, distribuição de comprimento das cadeias de amilopectina e grau de cristalinidade no grânulo.

Os amidos naturais e os modificados têm várias aplicações em produtos alimentares como agentes adesivos, ligantes e formadores de filmes, além de atuarem como gelificantes, espessantes, retentores de umidade e retardadores da retrogradação de alguns alimentos (ZOBEL; STEFHEN, 1995; FREITAS et al., 2003).

As propriedades de gelatinização do amido estão relacionadas a vários fatores, incluindo proporção de amilose e amilopectina, grau de cristalinidade, tamanho e estrutura do grânulo de amido (LINDEBOOM; CHANG; TYLER, 2004). A amilopectina contribui para o inchamento do grânulo, enquanto a amilose e os lipídios o inibem (TESTER; MORRISON, 1990).

A organização cristalina dos grânulos de amido se divide em regiões cristalinas e amorfas, sendo a transição entre elas gradual. As cadeias laterais da amilopectina formam a região cristalina e a região amorfa é formada pelos pontos de ramificações e pela cadeia da amilose (PARKER; RING, 2001). Desse modo, a cristalinidade dos grânulos, normalmente determinada por difractometria de Raio-X, é descrita principalmente em função das duplas hélices formadas pelas ramificações da amilopectina (HOOVER, 2001). A estrutura do grânulo é mantida pela região cristalina que controla o seu comportamento na água, tornando-o relativamente resistente ao ataque enzimático e químico (FRANCO et al., 2001). Esta estrutura cristalina depende do tipo e grau de associação intermolecular existente entre os componentes do amido (SINGH et al., 2003). A interação entre os componentes das regiões cristalinas e amorfas é influenciada pela razão entre amilose e amilopectina, e pelas características desses polímeros em termos de massa, distribuição molecular, grau e tamanho das ramificações (HOOVER, 2001).

3.1.1. Estrutura molecular da amilose

Amilose é um polímero formado por unidades de α -D-glicopiranosose ligadas em α -(1,4) e com poucas ligações α -(1,6) formando uma cadeia linear (Figura 1). Conforme CURÁ et al., 1995; Ball (1996), OATES, 1997; OATES, 1997; BULEÓN et al., 1998. Ela ainda possui número médio de grau de polimerização (DP) de 500-5000 unidades de resíduos de glicose (OATES, 1997), com comprimentos médios de cadeia (CL) de 250-670 e limite de β -amilose entre 73% e 95%, o qual está relacionado às proporções lineares e ramificadas da molécula, à quantidade e à localização das ramificações, bem como ao comprimento da cadeia (ELIASSON, 1996; BULEÓN et al., 1998; VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004). Além disso, a massa molar é da ordem de 250.000 Daltons (1500 unidades de glicose), variando entre as plantas de uma mesma espécie,

dependendo do grau de maturação. Amilose de cereais, no geral, tem moléculas menores do que de outras origens (ex. tubérculos e leguminosas).

O nível de amilose nos grânulos de amido varia de acordo com a fonte vegetal de origem, mas, geralmente, encontra-se nos intervalos de 20-30% em amidos normais de cereais. O amido de milho contém entre 25-28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17%. Algumas variedades de milho, cevada e arroz, referidas pelo termo ceroso (“waxy”) são constituídas totalmente por amilopectina, enquanto outros amidos possuem teores de amilose acima de 50% e são denominados de “high-amilose” (LINEBACK, 1984).

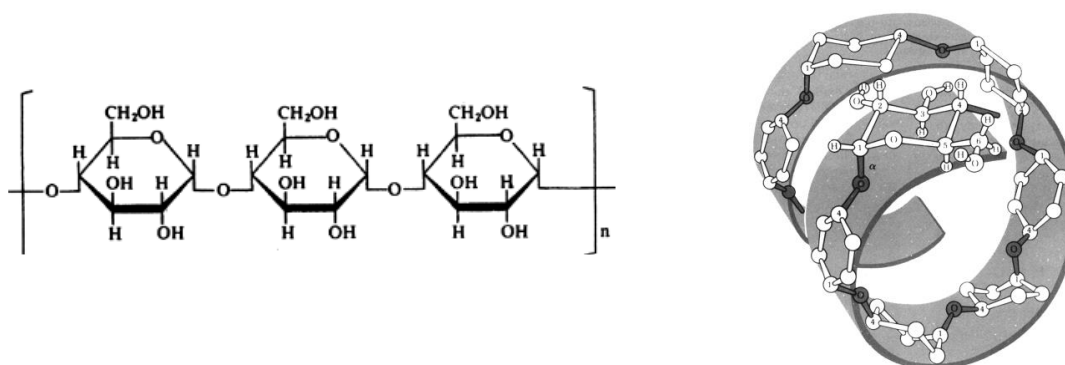


Figura 1 - Estrutura da amilose (Fonte: Nelson & Cox, 2002)

Níveis entre 15% e 25% de amilose são típicos na maioria dos grãos, contudo, alguns cereais denominados cerosos “waxy”, como milho, arroz e cevada, são virtualmente livres de amilose, enquanto mutantes com altos níveis de amilose também são conhecidos. Os mutantes amilose extender(*ae*) do milho apresentam conteúdos de amilose que variam de 50% a 85%. Já mutantes *ae* do arroz apresentam conteúdos de amilose que variam de 35% a 40% (VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004).

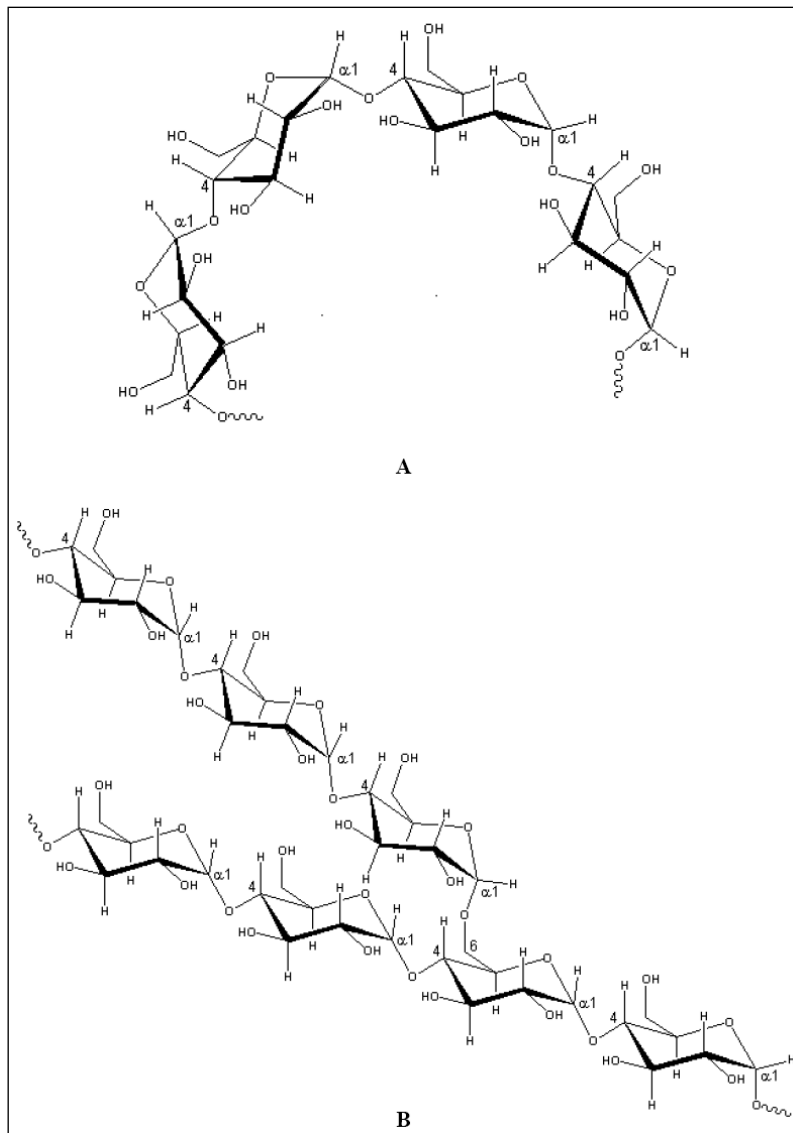


Figura 2 - A) Estrutura da amilose [polímero linear composto por D-glicoses unidas em α -(1-4)]. B) Estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -(1-4) e α -(1-6)].(Fonte: LAJOLO & MENEZES, 2006)

Nos amidos, a amilose pode aparecer combinada com lipídios sob a forma de complexos amilose-lipídios (“LAM – lipid-amylose complexes”) ou sem essa combinação, amilose livre (“FAM – freeamylose”). Os LAM, embora detectados no amido nativo, possivelmente sejam formados em maior extensão durante o tratamento hidrotérmico ou a gelatinização (ELIASSON, 1996; ELIASSON, 2004; TESTER et al., 2004; VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004).

Muitas propriedades da amilose podem ser explicadas pela sua habilidade em formar diferentes estruturas moleculares. A maioria das metodologias preconizadas para determinação desse tipo de amido baseia-se no fato de que, em soluções aquosas neutras, a estrutura normal de espiral possui a capacidade de interagir com iodo, produzindo complexo de inclusão helicoidal com aproximadamente seis moléculas de amilose por giro, no qual o iodo se encontra na cavidade central da hélice. Além disso, mudanças moleculares tornam possível a formação de complexos com moléculas de lipídios nas regiões superficiais do grânulo, o que inibe a degradação do amido por enzimas como fosforilase, α -amilase e β -amilase. Outros complexos de inclusão helicoidal que podem ser formados com a amilose incluem alguns álcoois e ácidos orgânicos (ELIASSON, 1996; ELIASSON, 2004).

3.1.2. Estrutura molecular da amilopectina

A amilopectina é o componente ramificado do amido, formada por cadeias de resíduos de α -D-glicopiranosose (entre 17 e 25 unidades) unidos em α -(1,4), sendo fortemente ramificada, com 4% a 6% das ligações em α -(1,6), (Figura 3). O massa molar da amilopectina varia entre 50 e 500 x 10⁶ Daltons (VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004; LAJOLO & MENEZES, 2006).

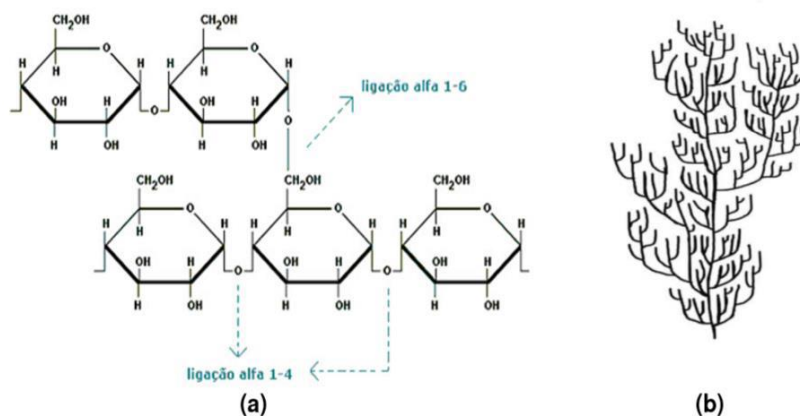


Figura 3—(a) Estrutura da amilopectina (Fonte: LAJOLO & MENEZES, 2006). (b) Representação esquemática do modelo estrutural da amilopectina (Fonte: PEREIRA, 2008).

Segundo VANDEPUTTE & DELCOUR (2004), a amilopectina apresenta um DP de 4700 a 12800 unidades de resíduos de glicose, valores de CL de 17 a 24 e limite de β -amilase de 55% a 60%. As cadeias individuais podem variar entre 10

e 100 unidades de glicose. Segundo BULEÓN et al. (1998) e LAJOLO & MENEZES (2006), a amilopectina é digestivamente degradada pela ação da β -amilase nas uniões α -(1-4), produzindo dextrinas β -limite (cadeias residuais que contém os pontos de ramificação) e, posteriormente, por ação das enzimas pululanase e isoamilase que atuam nas ligações α -(1-6), produzindo maltose.

As cadeias de amilopectina estão organizadas de maneiras diferentes, sugerindo uma classificação de cadeias A, B e C (Figura 4). O tipo A é composto por uma cadeia não-redutora de glicoses unidas por ligações α -(1,4) sem ramificações, sendo unida a uma cadeia tipo B por meio de ligações α -(1,6). As cadeias do tipo B são compostas por glicoses ligadas em α -(1,4) e α -(1,6), contendo uma ou várias cadeias tipo A e podem conter cadeias tipo B unidas por meio de um grupo hidroxila primário. A cadeia C é única em uma molécula de amilopectina, sendo composta por ligações α -(1,4) e α -(1,6), com grupamento terminal redutor (ELIASSON, 1996; ELIASSON, 2004; VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004; LAJOLO & MENEZES, 2006).

Cada cadeia pode ser especificamente classificada de acordo com seu comprimento (CL) e, conseqüentemente, sua disposição dentro dos grânulos (HIZUKURI, 1985; HIZUKURI, 1986). Segundo TESTER et al. (2004) e VANDEPUTTE & DELCOUR (2004), a amilopectina tem uma distribuição polimodal com cadeias A (CL 12-16) e B, isto é, cadeias B1 (CL 20-24), B2 (CL 42-48), B3 (CL 69-75) e B4 (CL 104-140). As cadeias A e B1 formam cachos simples, são mais externas e organizadas em duplas hélices, enquanto B2, B3 e B4 se estendem em dois, três e mais de quatro cachos. As cadeias C são muito semelhantes entre as fontes botânicas com variações de tamanhos entre 10 e 130 unidades de glicose, a maioria tendo por volta de 40 unidades.

A amilopectina é, estrutural e funcionalmente, a mais importante das duas frações, pois sozinha é suficiente para formar o grânulo, como ocorre em mutantes que são desprovidos de amilose. Quanto à amilose, sua localização exata dentro do grânulo ainda é uma tarefa difícil. Acredita-se que ela esteja localizada entre as cadeias da amilopectina e aleatoriamente entremeada entre as regiões amorfas e cristalinas. As moléculas de amilose maiores estão

concentradas no centro do grânulo e, provavelmente, participam das duplas hélices com a amilopectina, enquanto as moléculas menores presentes na periferia podem ser lixiviadas para fora do grânulo. Apesar de seu limitado papel na formação de cristais, a amilose pode influenciar a organização das duplas hélices, interferindo na densidade de empacotamento das cadeias de amilopectina (OATES, 1997; TESTER et al., 2004). Além disso, estudos recentes (BAKER et al., 2001; KUAKPETOON & WANG, 2007) sugerem que parte da amilose pode cristalizar-se juntamente com a amilopectina, formando lamelas cristalinas. Porém, a organização exata desses componentes dentro do grânulo ainda não está totalmente esclarecida.

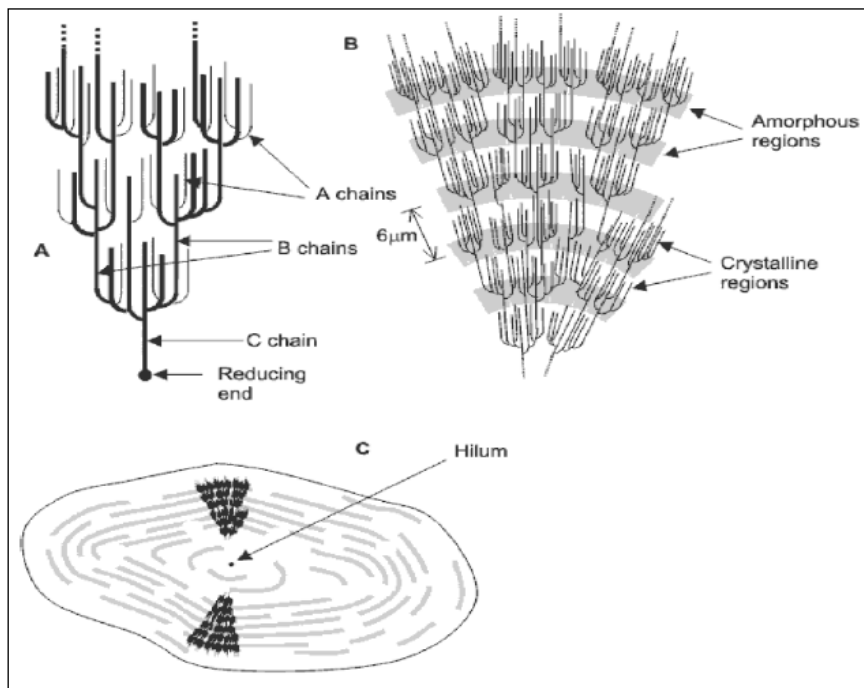


Figura 4 - Classificação das cadeias de amilopectina em tipo A, B e C (Fonte: PARKER & RING, 2001)

3.1.3. Gelatinização do Amido

A gelatinização é descrita como a associação de cadeias poliméricas mediante ligações cruzadas para originar uma rede tridimensional contínua que apreende e imobiliza o líquido no seu interior formando uma estrutura rígida e resistente. Ela ocorre quando as suspensões de amido são aquecidas em excesso de água (maior que 60%) (LEWIS, 1993). Como pode ser vista na Figura 5, a gelatinização se inicia quando a amilose é liberada para a fase aquosa devido ao rompimento do grânulo, provocado pela sua expansão devido à hidratação que acontece quando as moléculas de água possuem energia cinética suficiente para superar as pontes de hidrogênio entre as moléculas de amilose e amilopectina (ZHOU et al., 2002).

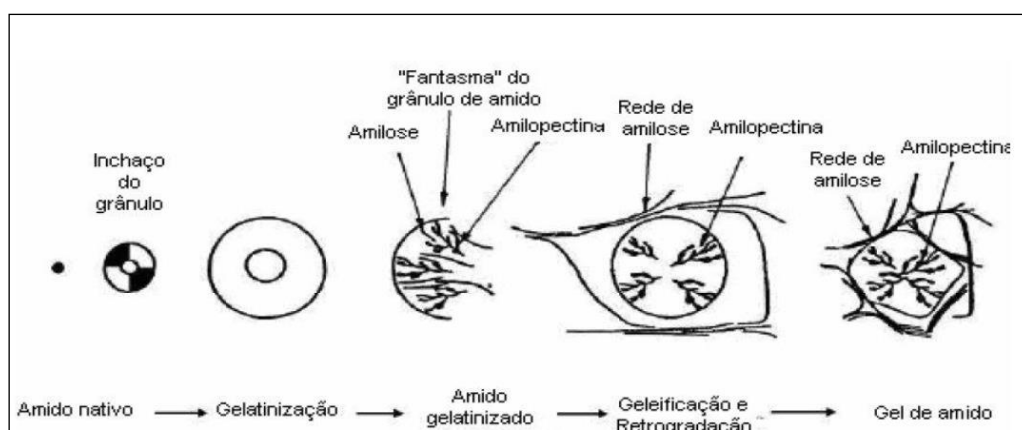


Figura 5 - Etapas de gelatinização do amido (ZHOU et al., 2002)

Esse processo tem início, na temperatura em que, a membrana que envolve o grânulo de amido se torna permeável absorvendo a água e inchando lentamente até atingir um volume três vezes maior que o inicial. Acredita-se que a expansão inicial ocorra na região amorfa onde os polímeros são mais suscetíveis à dissolução, visto que nessa região possui menos pontes de hidrogênio (THOMAS e ATWELL, 1999). No início da gelatinização a solução se torna menos fluida, com o aumento da temperatura o líquido apresenta uma característica viscosa, até que começa a se solidificar e atinge então o máximo grau de gelatinização. Ocorre assim o aumento da viscosidade da solução, que resulta da absorção de água pelos grânulos de amido. Com o aquecimento

contínuo, o grânulo se deforma e a amilose é liberada na solução. A lixiviação da amilose e a contínua absorção de água pelos grânulos de amido são responsáveis pelo aumento da viscosidade. A temperatura em que esse processo ocorre varia de acordo com a fonte botânica (CEREDA et al., 2001). Devido a sua linearidade, após a gelatinização, as moléculas de amilose, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para formar ligação de hidrogênio entre as hidroxilas de polímeros adjacentes, provocando assim a diminuição de volume e reduzindo a afinidade do polímero pela água, o que permite ao amido gelatinizado formar filmes estáveis e flexíveis, a esse fenômeno dá-se o nome de retrogradação (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

3.1.4. Retrogradação do amido

Durante o armazenamento as moléculas gelatinizadas do amido começam a se reassociar formando cristais e favorecendo uma estrutura mais ordenada. Com o resfriamento da pasta, as ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila das moléculas de amilose adjacentes ficam mais fortes visto que as cadeias do amido perdem energia, formando assim uma estrutura mais ordenada e proporcionando firmeza ao gel e aumento da opacidade do mesmo. Este processo de cristalização das cadeias de amido recebe o nome de retrogradação (FRANCO et al., 2001).

A retrogradação é o processo de transição irreversível do estado altamente solubilizado do amido para o estado insolúvel. Este processo pode ser influenciado por fatores como a concentração de amido, a fonte do amido, pH, relação amilose/amilopectina, presença de solutos e ciclos de aquecimento e resfriamento. A retrogradação é diminuída com o aumento do pH, visto que, ácidos fortes em pequenas concentrações concorrem para o rompimento das ligações α -1-6 das ramificações, facilitando a ocorrência da retrogradação. Este fenômeno é reduzido com o aumento do pH e inexistente em soluções alcalinas (FRANCO et al., 2001).

O tempo e a temperatura também são fatores de grande importância para que ocorra uma completa solubilização dos grânulos de amido. Ao ser mantida, por um período suficientemente longo de tempo, a temperatura permite que as partículas maiores também sejam solubilizadas. Após a solubilização as

moléculas se reorganizam de dois modos diferentes, ligando-se às moléculas de água ou construindo redes envolvendo zonas de junção (SANOFI, 1988).

Segundo ISHIGURO et al. (2000) a retrogradação está relacionada com a distribuição do tamanho da cadeia de amilopectina e com o teor de amilose, ou seja, ela ocorre preferencialmente na amilose e nas cadeias mais longas de amilopectina. A retrogradação da amilose ocorre em três estágios: o primeiro deles é iniciado com o estiramento da hélice por quebra das pontes intramoleculares, no segundo estágio acontece perda das pontes de água e por fim ocorre reorientação das moléculas com formação de pontes de hidrogênio entre moléculas adjacentes. Neste processo ocorre expulsão da água para fora do gel, esse fenômeno recebe o nome de sinerese (FRANCO et al., 2001).

3.1.5. Amidos modificados por acetilação

Os amidos passam por modificações químicas para alterar suas propriedades físico-químicas de interesse nas aplicações industriais. As reações promovem alterações nas estruturas moleculares desses polissacarídeos (BATISTA et al., 2010).

Dentre as várias modificações químicas existentes, a acetilação é muito utilizada em amidos para aplicação na indústria de alimentos, tendo como principal objetivo reduzir a temperatura de gelatinização, aumentar a claridade de pasta e tornar o gel mais resistente a retrogradação. Assim, a introdução de grupos acetil reduz a interação entre moléculas de amido, aumentando o poder de intumescimento e solubilidade do grânulo e diminuindo a tendência a retrogradação do gel. (LAWAL et al., 2004; BRASILEIRO, 2006). Assim a acetilação é realizada a fim de melhorar as propriedades físicas, químicas e tecnológicas do amido (XU et al., 2004).

O grau de substituição (GS) é um parâmetro utilizado para classificar os amidos acetilados. Os de baixa GS (0,01-0,2) podem atuar como agentes de texturização, ligantes, de adesão, espessantes, estabilizantes. Amidos acetilados com um grau baixo de substituição podem ser obtidos pela esterificação do amido nativo com anidrido acético em um meio aquoso, na presença de um catalisador alcalino, como hidróxido de sódio (WANG e WANG, 2002).

Na reação de acetilação do amido, parte dos grupos hidroxilas são convertidos em grupos acetil, conforme o esquema da Figura 6. A introdução de acetil reduz a repulsão entre as moléculas de amido e assim, aumenta o poder de inchamento e a solubilidade do grânulo de amido, diminui a retrogradação, promove maior claridade da pasta e estabilidade ao congelamento e descongelamento (WANI et al., 2012).

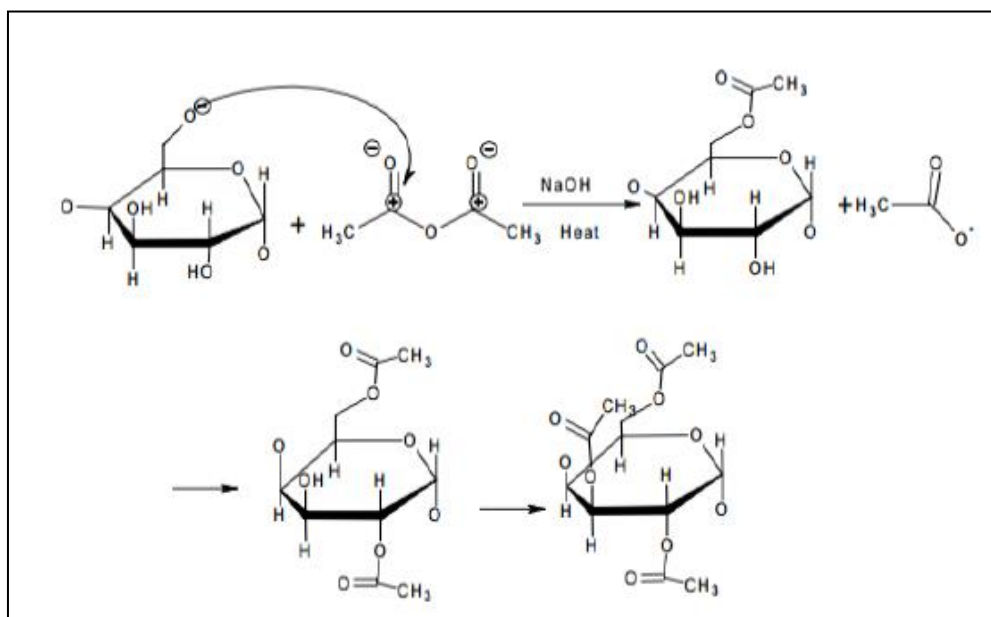


Figura 6–Representação esquemática da reação de acetilação do amido (Fonte: XU, 2004)

Amidos acetilados são amplamente utilizados em uma variedade de alimentos, incluindo produtos de forno, recheios de tortas, molhos, sopas, alimentos congelados, alimentos infantis e lanches (COLUSSI et al., 2014). Para esses mesmos autores, as mudanças provocadas pelos grupos acetil depende da fonte botânica, do GS, da razão entre amilose e amilopectina e da estrutura molecular do amido. Além desses pontos, Huang et.al. (2007) citam outras variáveis importantes como: tipo e concentração do reagente, pH e tempo da reação e presença de catalisador.

Os amidos modificados por acetilação são bastante utilizados na confecção e acabamento de tecidos e na cobertura de papel, tudo isso se deve à propriedade desses materiais formar filmes. Na indústria alimentícia, os acetilados são largamente empregados na produção de sorvetes, sobremesas, macarrões

instantâneos, balas, sopas, molhos, etc. (HORIMOTO, 2006; HENRIQUE et al., 2008). É importante frisar que o amido modificado por substituição química possui propriedades químicas e funcionais dependentes de fatores como a fonte do amido, condições da reação (concentração de reagentes, tempo de reação, pH e a presença de catalisador), tipo de substituinte e extensão da substituição. (ARAÚJO, 2008).

3.2. Inhambú

O inhambú ou cará doce (*Dioscoreatrifida L.*) é uma planta herbácea, trepadeira, perene, dióica e alógama, apresentando alta diversidade genética intraespecífica Figura 7 (NASCIMENTO et al. 2013). Há evidências que o centro de origem se encontre na Amazônia, mostrando autotetraploidia na forma cultivada, sendo tri ou diplóide na forma silvestre (BOUSALEM et al. 2010).



Figura 7 - Imagem da planta e do tuberculo do Inhambu (*Dioscoreatrifida L.*) (Fonte: Autor)

A família Dioscoreaceae é constituída de nove gêneros e 600 a 900 espécies, sendo 25 espécies de *Dioscorea L.* descritas como comestíveis, 15 espécies com uso medicinal e 5 como ornamentais (PEDRALLI et al., 2002). A espécie *Dioscoreatrifida*, conhecida popularmente como Inhambu ou Cará-doce, possui seu centro de origem no Norte da América do Sul, sendo cultivada em várias regiões do nordeste brasileiro. A planta produz um grupo de pequenas túberas com 15-20 cm de comprimento, pesando 80-150 g, com massa feculenta branca, amarela, rosa ou púrpura (SANTOS 1996).

A dioscorea é o maior e mais importante gênero da família Dioscoreaceae, com 644 espécies aproximadamente (GOVAERTS et al., 2007). Entre estes, apenas 10 são considerados importantes na alimentação humana (LEBOT, 2009), e no Brasil apenas *D. alata* L., *D. cayenensis* Lam, *D. rotundata* Poir, *D. bulbifera* L. e *D. trifida* L. cultivadas e consumidas (VEASEY et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2014).

Domesticado por povos pré-colombianos e de distribuição neotropical, Dioscoreatrifida foi provavelmente a primeira espécie de inhame cultivada por povos indígenas e imigrantes da Europa e da África na Amazônia (LEBOT, 2009; BOUSALEM et al., 2010). Embora ainda haja controvérsias em relação à origem e domesticação dessa espécie e sua história evolutiva esteja pouco documentada, estudos mostram que, dentre as espécies de inhame economicamente importantes no Brasil, *D. trifida* originou-se na América do Sul, especificamente em áreas localizadas na fronteira entre o Brasil, Suriname, Guiana e Guiana Francesa (PEDRALLI, 1992).

Apesar dos problemas relacionados à produção agrícola e à falta de diversificação do consumo, esta cultura é uma importante fonte de alimento, pois seus tubérculos possuem alta qualidade nutricional e propriedades adstringentes, antimicrobianas, diuréticas e energizantes, permitindo seu uso no combate à desnutrição e a diversas doenças. tratamento como diabetes, redução do colesterol e convalescença (RAMOS et al., 2010).

Embora os tubérculos sejam de alta qualidade nutritiva e sejam muito apreciados na culinária de várias comunidades brasileiras, pouco se observou no cultivo de *D. trifida* em uma base comercial, com a cultura sendo subutilizada e a maior parte do cultivo realizado por agricultores tradicionais para sua própria subsistência (CARMO, 2002). No entanto, em alguns estados brasileiros, como Amazonas e Santa Catarina, a comercialização dessa espécie parece ocorrer de forma intensiva (VEASEY et al., 2010).

Nas últimas décadas, os agricultores tradicionais sofreram fortes pressões socioeconômicas que levaram a uma diminuição das atividades agrícolas, com agricultores abandonando os campos e, assim, levando a uma perda de diversidade genética de espécies de inhame e outras culturas, como mandioca e batata-doce (SIQUEIRA et al., 2009; SIQUEIRA et al., 2011).

3.3. Hibisco

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. (família *Malvaceae*) (Figura 8), popularmente denominado como mimo-de-vênus ou hibisco-da-china, na região amazônica do Brasil, considerada planta exótica, é conhecido como pampola, amor-de-homens, aurora ou pampulha. É um arbusto híbrido envolvendo várias espécies e pode atingir 3 m de altura que se cultiva a pleno sol, e sua propagação se dá por estacas enraizadas. As flores grandes do hibisco, simples ou dobradas, duram um ou dois dias. As pétalas, que têm um leve gosto cítrico, são usadas em saladas, infusão, geleias, licores, etc. São encontradas em livros que tratam de plantas medicinais e de culinária (LORENZI et al. 2008; FELIPPE et al. 2004).



Figura 8 - Imagem da flor do hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) (Fonte: Autor)

As plantas o gênero *Hibiscus* pertencente à família *Malvaceae* se destaca na área ornamental com sua diversidade de flores coloridas, mas nos últimos anos vem ganhando espaço na área alimentícia com suas flores comestíveis e corantes naturais. A maioria das flores desta espécie tem como constituintes as vitaminas A e E, quercetina e antocianinas (BOVINI et al. 2001, LEAL et al. 2008, PUCKHABER et al. 2002).

Em um levantamento de espécies vegetais com ação antibacteriana promissora estavam as plantas *Hibiscus esculentus* L., *Hibiscus trionum* L. e *Hibiscus syriacus*, nas quais os extratos aquosos destas demonstraram atividade antibacteriana em ensaios de diluição em caldo contra o microorganismo *Mycobacterium tuberculosis* (GAUTAM et al. 2007). Outros gêneros desta espécie como a *Hibiscus sabdariffa* e *Hibiscus tiliacua* já demonstraram ação

antibacteriana frente aos micro-organismos *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* e *Escherichia coli* (SIQUEIRA et al. 2006; WONG et al. 2010). A *Hibiscus rosa-sinensis* inibiu o crescimento de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e foi resistente para *E. coli*, como também o óleo de *Hibiscus cannabinus* foi eficiente para diversas bactérias (SEYYEDNEJAD et al. 2010; MAGANHA et al. 2010)

Extratos alcoólicos de diferentes espécies de hibiscos possuem atividade antibacteriana significativas, apresentando eficácia bactericida, de inativação bacteriana e bacteriostática, portanto de inibição do crescimento bacteriano e, sua relação com os compostos fotoquímicos presentes nas plantas pode influenciar nesta ação (SILVA et al. 2014).

Sugere-se, contudo, a utilização dos extratos dos hibiscos em questão, como condimentos ou conservantes alimentares, oportunizando alimentos naturais, sensorialmente agradáveis, com vistas a segurança alimentar sustentável. Além da possibilidade destas plantas servirem para sistemas alimentares, prevenindo a contaminação bacteriana e/ou de sua utilização terapêutica (SILVA et al. 2014). Andrade, Nair, Seyyadnejad e Ruban juntamente com seus colaboradores comprovaram o poder antibacteriano do *Hibiscus rosa-sinensis* com diversos micro-organismos.

3.4. Pimenta rosa

A aroeira é uma árvore nativa da América do Sul, típica da mata atlântica, também conhecida pelos nomes de pimenta do Brasil, aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha, aroeirinha, pimenta brasileira e aroeira, a pimenta rosa é uma espécie que possui uma coloração avermelhada e sabor um pouco adocicado e bem comum no Sul e Sudeste do Brasil (Figura 9). A pequena fruta que se parece uma semente também é conhecida como pimenta rosa, mas na realidade não é uma pimenta e botanicamente pertence à família Anacardiaceae. Já a pimenta rosa verdadeira é o grão maduro da pimenta-do-reino que faz parte da família de pimentas Piperaceae, com o sabor típico picante. As aroeiras não são picantes como as pimentas, mas têm um sabor bem marcante e perfumado; são especiarias ótimas pra dar um toque colorido e aromático em pratos como uma massa ao molho branco com camarões. Também são utilizadas na culinária francesa e conhecidas como poivre rose (KINUPP et al. 2007)



Figura 9 - Imagem da planta e do fruto da pimenta rosa. (Fonte: Autor).

Ela é composta por diversos nutrientes importantes para o funcionamento apropriado do organismo humano como: vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina E, cálcio, ferro e fibras. Outros benefícios da pimenta rosa é que ela é dotada de substâncias com ação antioxidante como o betacaroteno e o licopeno. Isso é importante para o combate aos radicais livres que causam doenças graves como o câncer e são responsáveis pelo envelhecimento precoce (Revista versar).

3.5. Antocianinas

As antocianinas são os principais cromóforos que pertencem ao grupo dos flavonóides e conferem cor vermelha, violeta ou azul as flores. São derivados hidroxilados ou metoxilados do fenil-2-benzopirílio (Figura 10). Como exemplos de compostos químicos pertencentes a este grupo pode-se citar cianidina, pelargonidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina (WU & PRIOR, 2005). A estrutura química básica das antocianinas é baseada em uma estrutura policíclica de quinze carbonos, mostrada na Figura 10 (LÓPEZ et al., 2000):

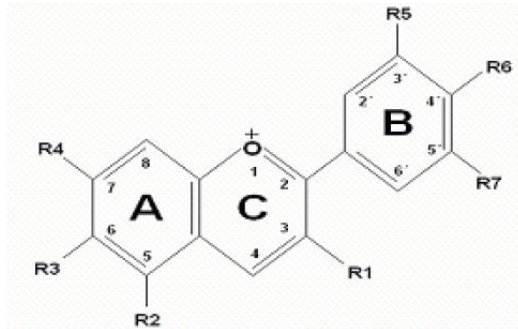


Figura 10 - Estrutura química das antocianinas (Fonte: LOPEZ, 2000)

NARAYAN et al (1999), descrevem que as antocianinas são um potente antioxidante comparado com antioxidantes clássicos como butilato hidroxil anisol, butilato hidroxil tolueno e alfa tocoferol (vitamina E). Este agente natural, quando adicionado a alimentos, além de conferir a coloração aos alimentos propicia a prevenção contra auto-oxidação e peroxidação de lipídeos em sistemas biológicos.

A estrutura e a cor das antocianinas são afetadas pelo ambiente, principalmente pelo pH do meio. Em pH ácido ocorre a perda da cor devido a formação de chalconas, que são incolores. Desta forma, dependendo do pH do meio os pigmentos são divididos em cromóforos e incolores. Assim, a cor e intensidade dos vegetais decorrente da presença de antocianinas não depende somente de um cromóforo e sim de várias características intrínsecas e extrínsecas da molécula (BROUILLARD, 1988). Na

Figura 11, são mostradas as estruturas químicas das antocianinas e algumas fontes naturais das mesmas. Nas plantas que fazem parte da alimentação, as antocianinas se encontram difundidas, no mínimo em 27 famílias, 73 gêneros e numa grande variedade de espécies (BRIDLE & TIMBERLAKE, 1997).

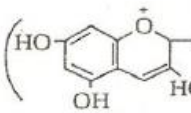
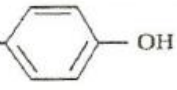
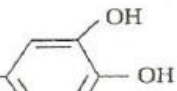
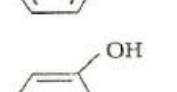
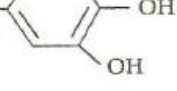
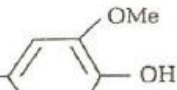
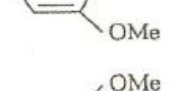
Estrutura do cátion flavilium	Estrutura do anel B	Nome	Glicosídeo encontrado em
		Pelargonidina	Morango, amora vermelha, bananeira
		Cianidina	Jabuticaba, figo, cereja, uva, cacau, ameixa, jambolão, amora
		Delfinidina	Berinjela, romã e maracujá
		Malvidina	Uva, feijão
		Peonidina	Uva, cereja
		Petunidina	Frutas diversas, petúncias

Figura 11 - Estruturas químicas das antocianinas e algumas fontes naturais das mesmas (Fonte: BOBBIO, 1995)

Em solução aquosa, as antocianinas se encontram comumente na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas em equilíbrio: cátion *flavilium* (vermelho), base anidra quinoidal (azul), pseudo-basecarbitol (incolor), e chalcona (incolor ou levemente amarela). A pH abaixo de 2, as antocianinas apresentam-se basicamente na forma catiônica; com o aumento do pH, ocorre uma rápida desprotonação para formar a base quinoidal. Em meio aquoso a hidratação do cátion *flavilium* leva ao equilíbrio entre a forma carbitol e chalcona. À temperatura ambiente, e em meio levemente acidificado, o equilíbrio entre as formas carbitol e chalcona é muito lento e leva horas para ser atingido. O aumento da temperatura desloca o equilíbrio na direção da formação da base

chalcona (HEREDIA et al., 1998). As quatro formas de equilíbrio das antocianinas em solução são mostradas na Figura 12.

A sensibilidade ao pH é o principal fator limitante no processamento e utilização das antocianinas, afetando a cor e a estabilidade química. Em soluções ácidas, a antocianina é vermelha, mas com o aumento do pH a intensidade de cor diminui. Em solução alcalina, a cor azul é obtida, porém é instável (MAZZA & BROUILLARD, 1987). Esta instabilidade foi observada por JACKMAN et al. (1987) quando do tratamento com calor ou devido ao armazenamento em que a antocianina manifestou mudança da pigmentação do azul para o amarelo. A relação entre a estabilidade das antocianinas com o pH é relatada em estudos com pigmentos extraídos do capim gordura (*Melinis minutiflora*) (STRINGHETA, 1991), da batata doce roxa (CASCON et al., 1984) e do repolho roxo (*Brassicaoleracea*) (XAVIER, 2004).

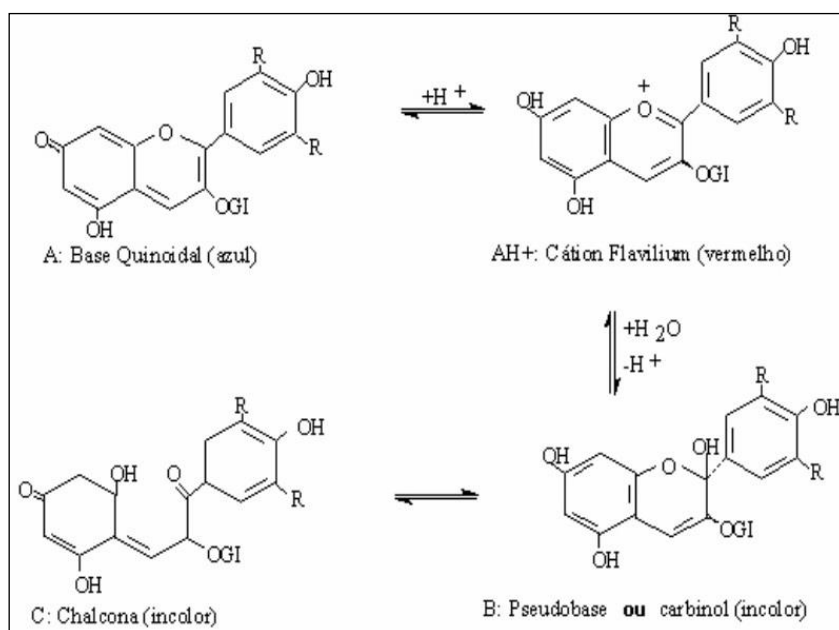


Figura 12 - Equilíbrio das antocianinas em solução (Fonte: IACOBUCCI, 1983)

A copigmentação intermolecular entre antocianinas, juntamente com outros compostos, produz um aumento na intensidade da cor e um deslocamento no comprimento máximo de absorção (efeito batocrômico). Vários compostos atuam como copigmento de antocianinas, tais como: aminoácidos, ácidos

orgânicos, flavonóides, alcaloides (MAZZA & BROUILLARD, 1987). A presença de flavonoides não antociânicos podem proteger as antocianinas contra a degradação. Um exemplo é relatado por STRINGHETA (1991), no qual o aumento da quantidade de ácido tânico propiciou um acréscimo proporcional na estabilidade das antocianinas presentes, com uma redução significativa nos seus níveis de degradação.

Os resultados obtidos por STRINGHETA (1991) indicam que o efeito destruidor da luz se faz sentir nas antocianinas presentes no capim gordura, com considerável intensidade, mas também este efeito está estreitamente ligado ao efeito do pH. DIRBY et. al. (2001) e CARLSEN & STAPELFELDT (1997) determinaram a quantidade aparente de foto-branqueamento de antocianinas oriundas do repolho roxo e do fruto do sabugueiro, respectivamente. Foi observada a baixa sensibilidade à fotodegradação para valores de pH 3,0 a 3,8. A temperatura é outro fator importante na estabilidade das antocianinas porque à medida que se submete a solução de antocianinas a uma temperatura superior a ambiente (25°C), a sua degradação é maior, mesmo quando complexadas com ácido tânico, e esta degradação é ainda mais acentuada quando se aumenta o pH do meio (STRINGHETA, 1991). Estudos relatam que vinhos com pigmentos acilados tiveram sua coloração sem sofrer alteração por seis dias, a 50°C (VAN BUREN et al., 1968). Outro estudo utilizou solução tampão *Mcllvaine* em diferentes extratos de antocianinas em pH 3,0 e observou uma excelente estabilidade desses compostos no tratamento térmico de produtos coloridos, com pequena perda de coloração (DIRBY et al., 2001).

A presença de oxigênio no meio, foi outro fator observado em estudo da degradação do pigmento do suco de framboesa (DARAVINGAS & CAIN 1968). A degradação das antocianinas em presença de oxigênio molecular ocorre por oxidação direta ou indireta dos constituintes do meio que reagem com esses compostos. Precipitados e formação de turbidez em sucos de frutas podem estar ligados a oxidação da base carbinol das antocianinas (JACKMAN & SMITH, 1992). O uso do nitrogênio em substituição ao oxigênio promove o aumento da estabilidade das antocianinas.

3.6. Filmes e embalagens

A embalagem para alimento, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, é o invólucro, recipiente ou qualquer forma de acondicionamento, removível ou não, destinada a cobrir, empacotar, envasar, proteger ou manter, especificamente ou não, matérias-primas, produtos semielaborados ou produtos acabados. Além disso prolongar a vida de prateleira dos alimentos e ainda oferecer proteção mecânica, evitar contaminações, facilitar o transporte e o armazenamento.

Atualmente, a maioria das embalagens utilizadas é produzida a partir de polímeros sintéticos provenientes de fontes não renováveis de energia, como o petróleo (SIRACUSA et al., 2208). Entre esses polímeros, os mais utilizados são; polipropileno, poliestireno, policloreto de vinila (PVC), tereftalato de etileno (PET), poliésteres, poliamidas e filmes poliolefinicos. A resistência química e mecanicamente, a leveza, a barreira ao oxigênio e a compostos aromáticos e a possibilidade de ser termossoldados ou impressos, além de apresentarem baixo custo, são as vantagens desses tipos de polímeros comparados a outros (THARANATHAN, 2003; ARORA et al., 2009). Em contrapartida, apresentam baixa permeabilidade ao vapor d'água e são considerados não biodegradáveis, de forma que permanecem praticamente intactos ao longo dos anos e geram sérios problemas ecológicos e ambientais (DO SUL et al., 2014).

3.6.1. Embalagens biodegradáveis

O acúmulo das embalagens sintéticas, não biodegradáveis, no meio ambiente, tem incentivado os pesquisadores no sentido de incrementar e/ou desenvolver polímeros biodegradáveis com características que permitam a sua utilização em embalagens alimentícias (MALI et al., 2010). Por parte das indústrias, o incentivo está relacionado a elaboração de embalagens que tenham apelo ambiental e promovam uma maior vida de prateleira do produto com garantia de segurança alimentar, sendo que os consumidores também estão interessados nessa aquisição (MARTINS et al., 2012).

A substituição dos materiais sintéticos convencionais está associada ao conceito de biodegradabilidade que apresenta atributos como “*eco-friendlye userfriendly*”, principalmente quando suas matérias-primas derivam de resíduos agrícolas ou industriais, de forma a incentivar a reutilização de materiais e a sustentabilidade

ambiental. Outra vantagem das embalagens biodegradáveis é que, após seu uso, sua degradabilidade permite com que sejam transformadas em fertilizantes/adubos, de forma a otimizar a produção agrícola de modo sustentável (THARANATHAN, 2003).

A biodegradação é um processo natural e complexo no qual compostos orgânicos, pelo intermédio de mecanismos bioquímicos, são convertidos em compostos mineralizados simples e, então, redistribuídos no meio ambiente, através do ciclo elementar, tal como o do carbono, nitrogênio e enxofre (SALAME, 1986). Em síntese, a biodegradação de um polímero é o processo intrínseco pelo qual microorganismos e suas enzimas consomem este polímero como fonte de nutrientes, em condições normais de umidade, temperatura e pressão; os polímeros adaptados à biodegradação completa são os naturais, aqueles hidrolisáveis a CO_2 e H_2O , ou a CH_4 e os polímeros sintéticos que possuam estruturas próximas aos naturais (LIMA, 2004; BARDI, 2007; ROSA, 2007).

Inicialmente, as pesquisas se voltaram para a introdução de amido em matrizes poliméricas sintéticas, na proporção de 5 a 20%, levando à obtenção de plásticos considerados biofragmentáveis, mas não totalmente biodegradáveis (GRIFFIN, 1977; GUILBERT, 1995). A partir da década de 1990, aumentou o interesse no desenvolvimento de materiais termoplásticos compostos essencialmente por amido com adição de plastificantes, como os poliálcoois, para melhorar as propriedades mecânicas. (SOUZA et al., 2000; MALI et al., 2003; MALI et al., 2006; GODBILLOT et al., 2006; ALVES et al., 2007; SHIMAZU et al., 2007).

A escolha do material a ser utilizado na formulação dos filmes e revestimentos é muito importante, pois deste dependerão as interações entre os componentes do material, que poderão interferir nas propriedades de barreira, mecânicas e sensoriais dos filmes (BALDWIN et al., 1994).

Várias pesquisas têm sido publicadas sobre caracterização das propriedades funcionais de filmes de amido, principalmente porque o amido é uma matéria-prima abundante e disponível em todo o mundo, apresenta muitas possibilidades de modificação química, física ou genética e origina filmes e revestimentos resistentes. (MALI et al., 2005; TAJLA et al., 2007; MÜLLER et al., 2008).

3.6.2. Formulação dos filmes de amido

A microestrutura e as propriedades dos filmes de amido dependem do tipo de material utilizado para a sua produção (CUQ et al., 1995). Quando produzidos em escala laboratorial, se formam depois de solubilização do amido em um solvente, com formação de uma solução filmogênica (DONHOWE et al., 1994) que, em seguida, é aplicada sobre um suporte e é seca para evaporação do solvente, técnica esta chamada de “*casting*”. Nesta técnica, após a gelatinização térmica dos grânulos em excesso de água, amilose e amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes. De acordo com Bader e Goritz (1994), a estrutura cristalina dos filmes de amido, e conseqüentemente, as propriedades mecânicas e de barreira, são fortemente influenciadas pelas condições de secagem destes.

No método “*casting*”, a viscosidade da solução filmogênica, influencia diretamente a espessura do filme formado. Soluções muito viscosas (fluido de Bingham) a solução deve ser espalhada de forma adequada sobre o suporte permitindo o conhecimento da espessura do filme depois de seco. Em 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. O teor de plastificante é outra variável muito discutida na elaboração de filme de amido, pois, reflete diretamente nas suas propriedades funcionais. O glicerol é o plastificante que promove efeitos mais acentuados nessas propriedades (CUQ et al., 1995; McHUGH et al., 1994; MALI et al., 2005).

Os plastificantes devem ser compatíveis com o biopolímero e, os mais estudados em combinação com os filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, materiais que interagem com as cadeias de amido, aumentando a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a flexibilidade dos seus filmes. Outro efeito é o aumento da hidrofiliidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes plastificados, já que a maioria dos plastificantes empregados em filmes de amido tem caráter hidrofílico (MALI et al, 2004). Os plastificantes são geralmente adicionados na proporção de 10 a 60 g/100 g matéria seca, dependendo

do grau de rigidez do material e dependendo da concentração utilizada podem causar efeito antiplastificante. (GONTARD et al., 1993).

As propriedades físicas dos filmes de amido, assim como de embalagens sintéticas convencionais, podem mudar significativamente com alterações de temperatura e umidade relativa durante a realização dos ensaios de caracterização. Para que se possa comparar diferentes materiais e resultados de ensaios de diferentes laboratórios, é necessário padronizar as condições de temperatura e umidade relativa aos quais as amostras são submetidas durante as análises. De acordo com Oliveira et al. (1996), existem algumas normas nacionais e internacionais que fixam padrões de condicionamento para embalagens plásticas flexíveis, dentre as quais a norma E171-94 da ASTM (*American Society for Testing and Materials*), a norma 554-76 da ISO (*International Organization for Standardization*) e a NBR 7452 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

3.6.3. Embalagens ativas

Embalagem ativa são aquelas que além de funcionar como uma barreira a influências externas utilizam componentes ativos que interagem com o produto e, em alguns casos revelam as mudanças do ambiente. Para que um sistema seja considerado de embalagem ativa devem acumular funções adicionais, entre as quais podem ser destacadas: (a) absorção de compostos que favorecem a deterioração, (b) liberação de compostos que aumentam a vida-de-prateleira, e (c) monitoramento da vida-de-prateleira (AZEREDO et al. 2000; GOMEZ et al., 2014).

Os aditivos incorporados nos alimentos através das embalagens ativas oferecem algumas vantagens em comparação com a adição direta das substâncias (BOLUMAR et al., 2011). A saber:

- a utilização de uma menor quantidade de substâncias ativas;
- a migração a partir da película para a matriz alimentar principalmente na superfície do alimento que é onde existe uma maior degradação;
- a eliminação dos passos adicionais num processo de produção, destinado a introduzir o aditivo ao nível do processamento industrial, tais como mistura, por imersão, ou a pulverização.

-a adição indireta do aditivo, quando adicionados diretamente ao alimento há uma limitação uma vez que os compostos ativos são consumidos na reação, sendo que assim a proteção pode cessar e o alimento degradar-se mais rapidamente. Acrescenta-se ainda, as vantagens citadas acima, o fato de que durante o processo de comercialização as embalagens ativas apresentam um papel ativo na preservação e qualidade dos alimentos fazendo algo mais do que simplesmente fornecer uma barreira a fatores prejudiciais externos, como o sistema tradicional de embalagem desempenha (GOMEZ et al., 2014). Desta forma, influenciam sobre a prorrogação da vida útil do alimento, na retenção da qualidade do produto e segurança da saúde humana.

3.6.3.1. Embalagens antioxidantes

As embalagens ativas antioxidantes, têm se mostrado promissoras para a preservação de alimentos, nas quais há uma interação entre o aditivo da embalagem e o produto, promovendo o contato com o agente antioxidante, impedindo as reações de oxidação (LÓPEZ DICASTILLO et al., 2016). Neste tipo de embalagem a liberação de compostos ativos antioxidantes para o alimento acontece de forma controlada, de modo que uma concentração predeterminada do composto ativo é mantida no alimento durante o armazenamento e distribuição, quando comparada com a adição direta, compensando a contínua utilização de antioxidantes durante a armazenagem (LICCIARDELLO et al., 2015). Para a produção de sistemas de embalagem antioxidantes existem basicamente duas metodologias. Dispositivos independentes, como um saquinho, uma almofada ou uma etiqueta que contém o agente separado do produto alimentar que são adicionados a uma embalagem convencional e materiais de embalagens antioxidantes, que são utilizados para a fabricação da embalagem, onde o agente ativo é incorporado na embalagem exercendo a sua ação através da absorção de compostos indesejáveis ou por liberação de compostos antioxidantes para o produto (GOMEZ et al., 2014). Várias pesquisas têm utilizado produtos naturais como aditivo antioxidante. Lopez Dicastillo et al. (2012) usaram extrato de chá verde, Bolumar (2011) extrato de alecrim, erva mate por Machado et al. (2012), Polpas de frutas tropicais por Dantas et al. (2015), urucum por Santana et al. (2013) entre outros. Outro tipo de embalagem

ativa de muita importância para a segurança alimentar, são as embalagens inteligentes.

As embalagens inteligentes constituem um sistema que monitora as condições do alimento, fornecendo informações sobre sua qualidade durante o transporte, armazenamento ou comercialização (KRUIJF et al., 2002).

O futuro dessa tecnologia, que já conta com inúmeras patentes, é promissor, dependendo somente de estudos que comprovem sua eficácia e viabilidade econômica (SARANTÓPOULOS et al., 2009). Sachês e filmes plásticos absorvedores de etileno, sachês absorvedores de umidade, filmes que eliminam o excesso de umidade e controlam os níveis de oxigênio (O₂), dióxido de carbono (CO₂) e etileno, filmes com permeabilidade sensível à temperatura e embalagens antimicrobianas com emissores de dióxido de cloro e dióxido de enxofre são exemplos de componentes de embalagens ativas, ao passo que os indicadores de tempo e temperatura, bem como os de amadurecimento e frescor são ótimos exemplos de componentes inteligentes (SARANTÓPOULOS et al., 2009).

3.7. NANOTECNOLOGIA

Nanotecnologia é uma nova área da ciência dos materiais dedicada ao estudo e desenvolvimento de partículas e interfaces com dimensões nanométricas, da ordem de um a cem nanômetros. O prefixo “nano” está relacionado a uma escala de medida em que um nanômetro representa um bilionésimo do metro ou um milionésimo do milímetro. Partículas nanométricas, ou nanopartículas, apresentam propriedades funcionais únicas não encontradas na escala macro (CHAU et al., 2007). A particularidade das propriedades das nanopartículas acontece devido a transição de tamanhos entre as escalas nano e micro que está associada à mudança de uma estrutura atômica ou molecular, para uma estrutura mais complexa. Quando essa mudança ocorre as propriedades inerentes a essas estruturas menores não podem ser extrapoladas, pois a interação e a organização dos átomos e moléculas conferem propriedades diferentes aos materiais de maior escala (CAO, 2004). O aproveitamento dessas propriedades em aplicações tecnológicas forma a base da nanotecnologia, focada em caracterização, fabricação, manipulação e aplicação de estruturas biológicas e não biológicas na escala nanométrica (SAHOO et al., 2007).

Na literatura, existem muitas definições de nanotecnologia, isso acontece devido a uma variedade de áreas do conhecimento que convergem seus estudos para esse tema requerendo um conhecimento multidisciplinar e interdisciplinar muito extenso. Uma definição mais geral afirma que nanotecnologia é tudo aquilo que compreende o desenvolvimento, fabricação e aplicação de nanomateriais e nanoestruturas. Estes são assim denominados quando ao menos uma de suas dimensões encontra-se na escala nanométrica, o que inclui nanopartículas, nanotubos, nanofibras, filmes finos, entre outros.

As áreas de aplicações da nanotecnologia são as mais diversas e dentre elas é possível citar (CADIOLI et al., 2006):

a) Nanoeletrônica: são utilizados materiais metálicos e cerâmicos, os quais são os principais constituintes dos componentes eletrônicos para a confecção de nanofios semicondutores e nanotubos de carbono para a fabricação de dispositivos e circuitos. Uma vez que esses materiais consigam acumular e transmitir uma maior quantidade de informações em componentes cada vez menores, é possível aumentar a capacidade de armazenamento de dados e a velocidade de processamento de computadores e outros dispositivos eletrônicos.

b) Nanobiotecnologia: vem a ser uma área extensa de aplicação da nanotecnologia que auxilia na criação de novos medicamentos, e a sua atuação nos organismos vivos. Podem ser citadas nanopartículas que atuam na liberação de fármacos nos organismos, chegando a áreas que as partículas maiores não alcançariam, como por exemplo, nas regiões intracelulares. Além dessa aplicação a nanobiotecnologia tem um papel importante na fabricação de próteses, arcabouços e no desenvolvimento de novos instrumentos utilizados na área médica.

c) Nanomateriais: o desenvolvimento de materiais na escala nanométrica busca criar novos componentes que sejam mais leves, baratos, resistentes, e que possam gerar uma redução energética durante a sua aplicação e também reduzir o consumo de matéria-prima na fabricação dessas estruturas. Dentre os exemplos existentes podem ser citados os sensores, nanorobôs, os constituintes nanométricos de células fotoelétricas, dentre outros.

3.7.1. Nanocompósitos

Nanocompósitos são materiais cujas cargas encontram-se na escala nanométrica e são incorporadas à matriz em pequenas porções, não ultrapassando 10% em massa. Assim como nos compósitos, a geometria das nanocargas terá uma grande influência nas propriedades do material. Com relação à geometria, existem quatro tipos de nanoestruturas (Figura 13): as isodimensionais, que têm 3 dimensões nanométricas (nanoesferas); as alongadas, caso dos nanocristais de celulose (NCC), que têm 2 dimensões nanométricas (nanotubos e nanofibras); e as nanocamadas, que têm apenas a espessura na escala nanométrica (nanoplacas), a exemplo os nanocristais de amido (NCA). Quando essas nanoestruturas estão uniformemente dispersas na matriz polimérica, forma-se uma grande área interfacial entre as fases (matriz e reforço), que muda a mobilidade e melhora as propriedades físicas da matriz.

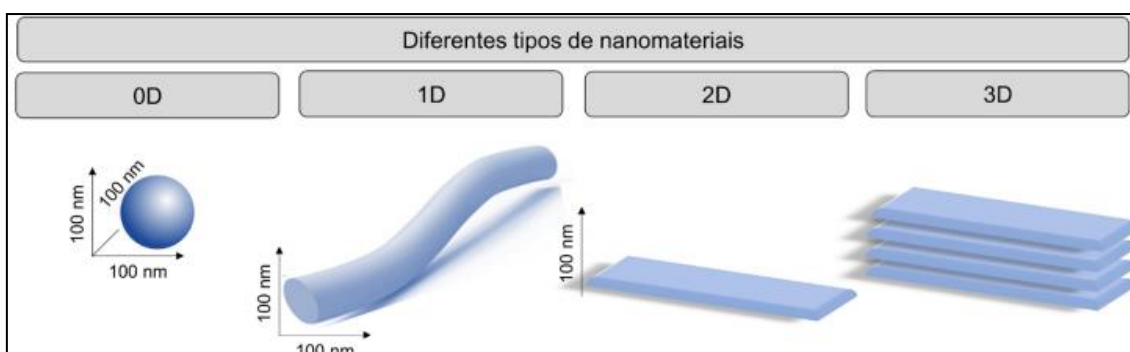


Figura 13 - Tipos de nanoestruturas (Fonte: SANFELICE, 2022)

A interação entre as nanopartículas e a matriz, bem como a dispersão dela, terá grande influência nas propriedades do nanocompósito. Os bionanocompósitos são nanocompósitos nos quais pelo menos uma das fases é produzida com material de origem renovável. É esperado que esses materiais mantenham o seu caráter biodegradável, e que as suas propriedades sejam melhoradas pela incorporação das nanocargas. Os bionanocompósitos são aplicados principalmente nas áreas biomédicas e na confecção de embalagens (BORDES et al., 2009). Entre os bionanocompósitos, existem os materiais poliméricos reforçados com nanocristais de celulose (NCC) e nanocristais de amido (NCA), que são produzidos por hidrólise ácida a partir de celulose (GARDNER et al., 2008) e de amido (CHEN et al., 2008; LE CORRE et al., 2010), respectivamente.

As cargas nanométricas apresentam uma elevada área superficial, o que teoricamente aumentaria a interação entre a carga e a matriz. Contudo, a dispersão na matriz pode ficar comprometida devido à aglomeração das partículas. Os componentes utilizados como carga nos nanocompósitos podem ser de origem orgânica ou inorgânica. A utilização das nanopartículas se deve as suas propriedades singulares como o efeito quântico de dimensão, propriedades de transportes, entre outras. Além disso, a incorporação de nanocargas na matriz polimérica pode ter um baixo custo atribuído, uma vez que a quantidade de material incorporado geralmente é baixa, e mesmo assim é possível obter um material com boas qualidades (ESTEVES et al., 2004).

Alguns pesquisadores têm relatado que concentrações de nanopartículas abaixo de 5% promovem melhoras nas propriedades mecânicas e na permeabilidade a gases, aumentando a deformação e reduzindo a permeabilidade em plásticos acabados além da redução de custos (ZHAO et al., 2008).

A preparação de filmes utilizando amido como matriz polimérica e nanocristais obtidos a partir de hidrólise ácida da mesma matéria-prima da matriz como fase dispersa, enfatizando as melhorias nas propriedades mecânicas e de barreira com o acréscimo da concentração do nano reforço encerra o conceito de “all-starchcomposite”, proposto por Le Corre et al (2014)

3.7.2. Filmes contendo nanopartículas

Os nanocompósitos oriundos de fontes naturais são provenientes de uma matriz polimérica biodegradável com a incorporação de partículas em escala nanométrica como material de reforço. Sendo uma classe relativamente nova, esses materiais têm despertado muito interesse dos pesquisadores e da indústria, devido à necessidade crescente de desenvolvimento de materiais ecologicamente corretos. Os polissacarídeos têm ganhado destaque entre as matrizes biodegradáveis e de origem natural (amido, alginato, quitosana, entre outros) além de algumas proteínas (do soro de leite, glúten de trigo, colágeno, entre outras). Entre os polímeros sintéticos biodegradáveis, os mais estudados são os: polilactídeo - PLA (também obtido por rota biotecnológica), poli(εcaprolactona) - PCL, poli(ácido glicólico) - PGA, poli(hidroxiocetanoato) - PHO, poli(hidroxibutirato) - PHB, e o seu copolímero poli(hidroxibutirato-co-

hidroxivalerato) - PHBV (PEREIRA et al., 2014). Como em todo material compósito, as propriedades dos nanocompósitos dependem das propriedades individuais de cada componente (matriz e reforço), da composição (fração volumétrica dos constituintes), da morfologia de cada fase (arranjo espacial, dimensões, cristalinidade) e das propriedades da interface (PEREIRA et al., 2014). De acordo com Samir et al. (2005), a relação de alguns parâmetros nas propriedades mecânicas de compósitos com reforço de nanofibras de celulose estão associadas com: (i) razão de aspecto (comprimento/diâmetro, L/D) das nanopartículas, que está relacionada ao material de origem e ao método de extração das nanofibras de celulose, no qual quanto maior essa razão, maior é o efeito do reforço esperado, (ii) método de preparação dos nanocompósitos que pode ser por evaporação de solvente ou no estado fundido, em processos baseados em extrusão e injeção e (iii) resultado das interações entre matriz polimérica/nanopartículas. Portanto, esses parâmetros são importantes na busca de melhores propriedades para os nanocompósitos.

3.7.2.1. Nanoamido

Recentemente, a preparação e a aplicação de nanopartículas biodegradáveis têm despertado interesse na área de pesquisas, e o amido, por ser um polímero natural biodegradável é um excelente material para formação de nanopartículas (PEI et al., 2019; SONG et al., 2011).

Os grânulos de amido nativo podem ser reduzidos a partículas menores, em escala nanométricas, gerando os nanoamidos tem bem chamados de nanocristais, nanopartículas e ainda nanocolóides de amido. No entanto, os termos "nanocristais de amido" e "nanopartículas de amido" têm sido utilizados com mais frequência para se referir a partes cristalinas de amido restante após a hidrólise ou outros tratamentos físicos em que os grânulos de amido são submetidos (SU et al., 2020). De forma mais específica, nanocristais de amido refere-se à parte cristalina do amido que foi obtido por meio da hidrólise das partes amorfas dos grânulos de amido, Segundo Le Corre, Bras e Dufresne (2010). Enquanto nanopartículas de amido são pequenas partículas de amido obtidas por meio de processos físicos, que podem incluir matrizes amorfas. Assim, pode-se dizer que os nanocristais são originados a partir da hidrólise enzimática ou hidrólise ácida, as nanopartículas são produzidas por processo de

regeneração e precipitação, enquanto os nanocolóides, que possuem nanopartículas sólidas dispersas em meio líquido, são produzidos por tratamento mecânico, como homogeneização em alta pressão e extrusão reativa dando a estas três nanoestruturas propriedades, cristalinidade e formas diferentes (MAJZOOBI et al., 2021).

Aldão e colaboradores (2018) fez grânulos de amido alcançarem a escala nanométrica utilizando dois tipos de tratamentos químicos podendo observar, por meio da microscopia, que o mecanismo físico de nano-tamanho dos grânulos foi de descamação, ou seja, houve uma fragmentação das camadas externas, deixando intactas as camadas internas. Desta forma, o autor concluiu que o amido nanométrico que foi produzido poderia substituir o amido micrométrico em suas utilidades industriais, pois o processo não comprometeu a estrutura interna no grânulo.

Le Corre, Bras e Dufresne (2010) publicaram uma revisão acerca da preparação, caracterização e possíveis aplicações de nanoamidos, os quais têm muitos usos potenciais, podendo ser usados como aditivos alimentares, adesivos, compostos biodegradáveis, entre outros. Em comparação ao amido nativo, os nanoamidos possuem novas utilidades e funções em materiais de embalagem, compósitos de polímeros, encapsulamento de moléculas ativas, estabilizadores de emulsão e adsorventes (EL-SHEIKH, 2017). Na área de alimentos, os nanoamidos são também utilizados como estabilizantes de emulsões *Pickering*, intensificadores de filmes (ROY et al., 2020). São potenciais substitutos em filmes para as embalagens tradicionais de plástico usadas para alimentos devido ao seu baixo valor, biodegradabilidade e respeito a natureza (DULARIA et al., 2019). Além do que, a transparência, a baixa permeabilidade as moléculas de O₂ e CO₂, comestibilidade e biocompatibilidade superior do filme à base de amido também o tornam uma escolha desejável para embalagem de alimentos (HASSAN et al., 2018).

Os nanoamidos podem ser obtidos por diversas técnicas, sendo as principais: hidrólise ácida, hidrólise enzimática, chamados métodos convencionais, e os tratamentos físicos, como: ultrassonicação, homogeneização a alta pressão, extrusão reativa e irradiação gama, chamados métodos não convencionais. Os produtos resultantes destes tratamentos descritos acima podem ser

diferenciados em nanocristais, nanopartículas ou nanocolóides (SANA et al., 2019).

A hidrólise ácida tem sido usada há muito tempo e é amplamente utilizada para produção de nanoamidos por ser um método simples e de baixo custo (QIU et al., 2020). Na reação de hidrólise ácida, o ácido age inicialmente sobre a região amorfa do grânulo, que é mais susceptível à degradação, ocorrendo de forma mais rápida pela combinação de variados fatores como teor de amilose, complexo amilose-lipídeo e a presença de porosidade na superfície dos grânulos. Em seguida, a região cristalina é atacada, com uma velocidade mais lenta devido a fatores como teor de amilopectina, extensão da distribuição das ligações α -(1-6) no polímero entre as áreas amorfas e cristalinas e a densidade de empacotamento das duplas hélices dentro da área cristalina (JAYAKODY et al., 2002; SANCHEZ DE LA CONCHA et al., 2018).

A hidrólise ácida ocorre de fora para dentro, ou seja, das camadas externas do grânulo de amido em direção às camadas internas. Neste processo, as regiões cristalinas dos grânulos de amido são consideradas mais resistentes que as regiões amorfas, e, assim, pequenos cristais podem ser isolados a partir da hidrólise (KIM et al., 2013; XU et al., 2014). Entretanto, sua pouca flexibilidade, alto consumo de energia, problemas de corrosão de equipamentos e necessidade de neutralização com subsequente retirada dos sais formados se apresentam como desvantagem desse método. (KAUR et al., 2018; KIM et al., 2015).

A hidrólise enzimática possui uma perspectiva muito promissora do ponto de vista ambiental, visto que não se usa solventes orgânicos ou reagentes químicos nocivos (ALMEIDA et al., 2019). Amilases como α -amilase, β -amilase e outras enzimas como amiloglucosidase têm considerável relevância, sendo amplamente utilizadas no processo de hidrólise para indústria alimentícia, têxtil e farmacêutica, pois são preferíveis em etapas que envolvem sua difusão na superfície do grânulo de amido, possuindo maior adsorção para promover a catálise (LACERDA et al., 2018). A degradação dos grânulos de amido inicia-se primeiramente pela região amorfa e ocorre de duas maneiras: exo-corrosão, na qual a enzima desgasta a superfície do grânulo criando poros específicos; e endo-corrosão, processo pela qual a enzima cria uma fissura direcionada ao

centro do grânulo, colapsando sua estrutura de modo que leva à quebra (DAS et al., 2019).

Amidos que naturalmente apresentam superfície mais porosa, como os de milho, são degradados mais facilmente que aqueles cuja superfície é lisa, como o de mandioca, pois é necessário que haja rugosidades na superfície para que a formação de partículas esféricas (LANGENAEKEN et al., 2019; SERRANO et al., 2005).

O alto custo de produção, baixa estabilidade, resistência ao ataque enzimático que pode ser afetado por fatores como o estado policristalino, tempo de processamento para que ocorra a hidrólise e sua estrutura que influencia diretamente na chance da enzima em se ligar ao substrato, são as desvantagens desse método (DAS et al., 2018).

O processamento ultrassônico de alta intensidade é um método que se baseia na propagação de ondas acústicas com frequências acima de 20 kHz e sua energia gerada é a prova de transformações físicas e químicas pelo efeito de cavitação (ZHAO et al., 2018). A cavitação acústica provoca rápida geração de bolhas no líquido que crescem durante os ciclos de compressão e rarefação das ondas sonoras e, em seguida, colapsam abruptamente (MALLAKPOUR et al., 2018).

O método puramente físico de ultrassom de alta intensidade é considerado como um tratamento não convencional de produção de nano-amidos, ecologicamente correto e eficaz, utilizado para viabilizar modificações físicas em biopolímeros (ALIYU et al., 2000; BAXTER et al., 2005; CHEMAT et al., 2017), inativação de microrganismos (CAMERON et al., 2008; RANA; PARMAR et al., 2017), e rompimento das membranas fosfolipídicas (ANDRADE et al., 2004; LIMA et al., 2007).

No amido, as massas molares dos seus compostos influenciam significativamente em propriedades como absorção de água e solubilidade (HUANG et al., 2017). A hidrólise acontece principalmente próximo ao meio da cadeia, não causando alterações da estrutura química (MADRAS et al., 2000; VERRUCK et al., 2018). Particularmente no amido, a sonicação tem sido usada para promover a desagregação das moléculas de amido retrogradadas (HUANG; LI; FU, 2007), a hidrólise de grânulos gelatinizados (CHUNG et al., 2002) e diminuição da viscosidade (IIDA et al., 2008).

O tratamento por ultrassom surge como um método emergente de obtenção de nano-amido ecologicamente correto, com características de processamentos rápidos e reações mais brandas com altos rendimentos (LIN et al., 2020b).

O plasma frio é considerado um novo método de modificação física para amidos que tem despertado grande interesse por não utilizar produtos químicos na modificação de biopolímeros (BANURA et al., 2018). Conhecido como o quarto estado da matéria, pode ser definido como um gás ionizado, constituído por uma mistura de elétrons, átomos, moléculas altamente excitadas, íons positivos e negativos, radicais livres e partículas neutras (DONG et al., 2018). O plasma frio à pressão atmosférica pode ser obtido expondo um gás ou mistura de gases a um campo elétrico, que por sua vez agita as partículas carregadas, levando a colisões com as espécies pesadas (por exemplo, íons e neutros) (THIRUMDAS et al., 2017).

O tratamento com este método causa modificações nas características estruturais por mecanismos como: o aumento da energia superficial, incorporações de grupos funcionais, reticulação, alterações na natureza hidrofílicas e despolimerização que pode ocorrer nas cadeias laterais de amilopectina ou quebra das ligações glicosídicas que estão próximas as cadeias laterais (WONGSAGONSUP et al., 2014; ZHANG et al., 2014). Esse método tem a vantagem de economizar tempo, não necessita de reagentes químicos, não é tóxico e é ecologicamente correto (ATTRI et al., 2017).

A moagem de bolas é um método físico simples de modificação de nanoamidos que tem sido usado para produzir partículas em escala nanométrica (DAI et al., 2018). A técnica se baseia em ações mecânicas por meio de esferas de aço giratórias em alta velocidade que geram modificações na estrutura e propriedades do amido através do impacto da moagem, força de cisalhamento, fricção, impacto e colisão, causando uma descamação da superfície para o interior das camadas do amido, ocasionando mudanças nas propriedades funcionais como cristalinidade diminuída, viscosidade reduzida, maior dispersão em água fria e uma diminuição de calor e temperatura necessários para o processo de gelatinização (PATEL et al., 2016; SOE et al., 2020).

Estudos anteriores mostraram que ao induzir a quebra do grânulo e amorfização foi confirmado que a técnica é capaz de alterar a morfologia, cristalinidade,

massa molar dos grânulos de amido e razão amilose/amilopectina (LIU et al., 2020; LV et al., 2019).

A vantagem do método é sua simplicidade na operação, economia, isenção de impacto ambiental e reagentes químicos (LU et al., 2018).

A nanoprecipitação é um método embasado na formação espontânea de nanopartículas quando uma solução de amido gelatinizado em uma determinada concentração é adicionada a um não solvente como etanol, metanol, n-propanol, isopropanol ou n-butanol entre outros, ou inversamente, deste modo, ocorre a formação de precipitado de polímeros em nanoescala (HEDAYATI et al., 2020).

A precipitação pode ser atingida promovendo supersaturação, seguida por nucleação e crescimento de partículas, e partículas de amido coloidal de tamanho nanométrico são subseqüentemente formadas. Quando o processamento começa, o grau de supersaturação começa a aumentar rapidamente à medida que o não solvente é adicionado à solução de amido, e variações na tensão interfacial fornecem uma força motriz para a formação de nanocristais (CHANG et al., 2017).

Estudos anteriores mostraram que a concentração da solução de amido, a proporção do volume de solvente para não solvente e tipos de solvente e não solvente influenciaram o tamanho das nanopartículas precipitadas, ou seja, para sintetizar nanopartículas menores por meio da precipitação é necessária uma solução de amido altamente diluída e um volume maior de não-solventes devem ser usados porque a alta concentração de amido leva à formação de solução viscosa. A alta viscosidade da solução de amido dificulta a difusão dessa solução em direção ao não solvente, formando partículas maiores (FARRAG et al., 2018b).

Esse método não requer nenhum equipamento especial, formam partículas mais homogêneas e tem baixo consumo de energia, entretanto o uso de solvente, que deve ser removido após a formação das nanopartículas, é uma desvantagem (LEBOUILLE et al., 2014).

A extrusão reativa é um método mecânico usado para modificar as propriedades de biopolímeros existentes ou para produzir novos através da combinação de operações de transporte de massa e calor com reações químicas simultâneas ocorrendo dentro da extrusora forçando a quebra molecular, criando novas estruturas helicoidais (ESCOBARPUENTES et al., 2019; SIYAMAK et al., 2020).

Na técnica de extrusão, os grânulos de amido sob a influência de uma temperatura de entrada, forças de cisalhamento significativas e pressão que abre estruturas fechadas sofrem mudanças estruturais notáveis, incluindo sua fusão, gelatinização e fragmentação (GARCÍA-ARMENTA et al., 2021). Em especial, extrusoras de dupla rosca é um ótimo equipamento de mistura e reação e podem ser usadas para produzir amido modificado com uma qualidade mais consistente em um processo contínuo (CAI et al., 2019).

Tem a vantagem de ser uma tecnologia versátil e eficiente em energia para rápida fabricação, produzindo grandes quantidades de material modificado em um curto intervalo de tempo, gerando economia no processamento e possui uma aplicação industrial mais ampla por usar menos solventes e catalisadores, tornando-o um processo mais eficiente e ambientalmente correto (FONSECA-FLORIDO et al., 2019; GUTIÉRREZ et al., 2021).

3.7.2.2. Nanocelulose

A celulose é um homopolissacarídeo que tem sua unidade de repetição, composta por dois anéis de anidroglicose ($C_6H_{10}O_5$)_n, em que n pode variar entre 10.000 e 15.000, dependendo da fonte de celulose, com ligação covalente estabelecida entre o oxigênio ligado ao carbono 1 de uma cadeia e ao carbono 4 da cadeia adjacente (ligação 1→4), como mostra a Figura 14. A ligação de hidrogênio intramolecular, entre os grupos hidroxila e os oxigênios das moléculas adjacentes estabilizam as ligações e conferem uma conformação linear à cadeia, além de ligações de hidrogênio intermolecular. A partir dessas ligações, sucessivas estruturas são formadas, originando as fibrilas de celulose constituídas de regiões cristalinas e amorfas (MOON et al., 2011).

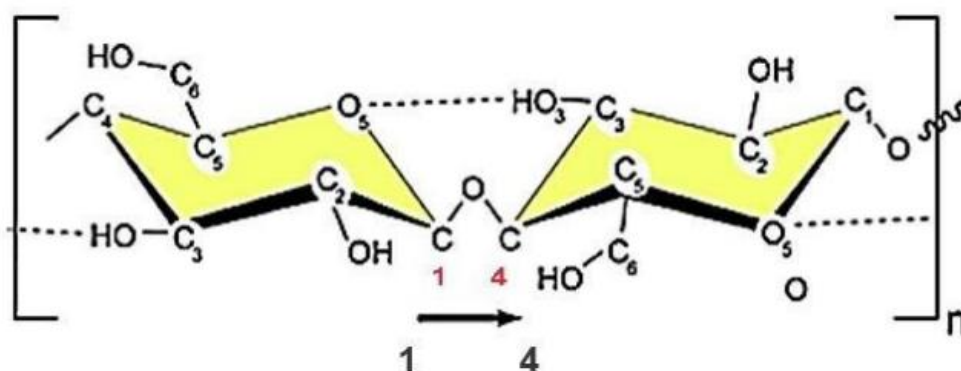


Figura 14 - Estrutura da celulose (Fonte: MOON, 2011).

A celulose pode apresentar diferentes polimorfos, classificados em tipo I, II, III e IV, sendo, os dois primeiros tipos objeto do maior número de pesquisas. A celulose do tipo I, ou celulose nativa, é a forma mais comum de ser encontrada, por ser produzida de forma natural por vários organismos vivos e apresenta dois sub-polimorfos, o tipo I α , que é encontrado predominantemente em algas e bactérias, e cristaliza uma célula unitária triclínica e o tipo I β , encontrado majoritariamente em plantas superiores e associada ao sistema monoclinico. Ambas as fases coexistem na celulose tipo I, em diferentes proporções, sendo uma delas predominante (MOON et al., 2011).

Quando submetida a algum processo de recristalização ou mercerização por meio de solução de hidróxido de sódio, a celulose do tipo I pode ser convertida em celulose tipo II, com estrutura monoclinica, sendo o polimorfo mais estável. Apesar de apresentarem uma certa semelhança, o tipo I de celulose pertence aos polimorfos de cadeias de celulose organizados paralelamente, ou com ligações 1-4 com o mesmo direcionamento, enquanto a celulose tipo II apresenta cadeias alinhadas em sentido antiparalelo (MOON et al., 2011; ZUGENMAIER et al., 2021). Os outros tipos de celulose são obtidos através dos tipos I e II em tratamentos à base de amônia ou subsequentes tratamentos térmicos (ZUGENMAIER et al., 2021). Gonçalves et al. (2018), obtiveram nanocristais de celulose com um líquido iônico prótico aquoso à base de amônio e hidrogenossulfato.

A capacidade da celulose atuar como reforço está diretamente relacionada à sua natureza semicristalina e à conformação das cadeias em suas regiões cristalinas. Esta conformação particular é resultado do forte sistema de interações intermoleculares de ligação de hidrogênio originado a partir da alta densidade de grupos hidroxila presentes na molécula principal de celulose (GUTIÉRREZ et al., 2017).

Atualmente, dado o interesse da comunidade científica e da indústria para matéria-prima em escala nanométrica, há o incentivo para o desenvolvimento de novos produtos celulósicos. Processos hidrolíticos podem converter a celulose presente em biomassas vegetais (por meio de ácidos e enzimas) em nanocelulose, seja na forma de nanocristais de celulose (NCC) ou nanofibrilas

de celulose (NFC), as quais podem ser empregadas em inúmeras aplicações (MIRANDA et al., 2019).

E entre os resultados obtidos com a incorporação da nanocelulose, trabalhos como o de Machado et al. (2014), que tiveram como objetivo obter nanocelulose da fibra de coco verde e a incorporar em filmes biodegradáveis de amido de mandioca plastificados com glicerol, observaram que a concentração de nanocelulose foi responsável em alterar de forma significativa as propriedades mecânicas com o aumento no módulo de Young e tração máxima, além de minimizar a solubilidade e atividade de água, sem comprometer o caráter biodegradável.

Hornung et al. (2017), ao verificarem as propriedades calorimétricas do biofilme de amido de araruta (*Maranta arundinaceae*) variando as concentrações de nanocelulose de *Pinus elliottii* como material de reforço, observaram que quanto maior é o teor presente de gel aquoso de nanocelulose de pinus, maior é a temperatura transição vítrea (T_g) dos biofilmes, o que conseqüentemente lhe confere melhor desempenho quanto à permeação a gases e ao vapor d'água.

Hoffmann & Siguel (2018), ao desenvolver filmes biodegradáveis inserindo lignina e ágar, adicionando glicerol e óleo de soja como plastificantes, observaram que as amostras de filme com adição de nanocelulose (teores de 2% de lignina, 2% de ágar e 0,06% de nanocelulose) apresentaram melhoras nas propriedades mecânicas, com um aumento no módulo de Young de 67% se comparado as amostras de filme sem nanocelulose.

Lima (2019), ao desenvolver filmes à base de goma de cajueiro modificada e goma kappa reforçada com nanocelulose, também verificou melhoras em relação à barreira ao vapor de água dos filmes e nas propriedades mecânicas, no qual maiores percentuais de nanocelulose resultaram em filmes com maior resistência à tração, alongação e tensão na ruptura.

Zainuddin et al. (2012) ao utilizar nanocristais de celulose a partir de fibras de Kenaf como reforço em compósitos de amido de mandioca, apresentaram como resultado melhores propriedades mecânicas, com maior resistência à tração (8,2 MPa) para o compósito contendo 6% de NCCs.

Chen e colaboradores (2013), ao reforçar matriz de amido termoplástico com nanocristais obtidos de resíduos de casca de batatas, nas concentrações de NCCs de 0, 1 e 2% em massa, evidenciaram que como resultado da

incorporação de nanocristais houve um aumento de 19 e 39% no módulo de elasticidade para os compósitos contendo 1 e 2% dos nanocristais, respectivamente.

De forma semelhante Silva (2017), ao melhorar as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de amido de amêndoa de manga por meio da incorporação de nanocristais de amido e/ou de celulose, com incorporação de 5% de NCA e 5% de NCC, observou em comparação com o filme sem nanoestruturas, aumentos de cerca de 90% e 70% (respectivamente) na resistência à tração e módulo elástico dos filmes, além de uma redução de cerca de 30% na permeabilidade ao vapor de água.

De modo geral, a principal vantagem do uso da nanocelulose em filmes e revestimentos à base de amido consiste no aprimoramento das propriedades mecânicas e de barreira, especialmente porque a interação entre a nanocelulose com a matriz polimérica do amido pode reduzir a afinidade do material com meios aquosos. Além disso, o baixo custo e ampla disponibilidade desses reforços, bem como a baixa densidade, torna-os viável para incorporação (GUTIÉRREZ et al., 2017).

4. METODOLOGIA

4.1. Extração do amido

A extração do amido foi realizada segundo a metodologia de Cruz e EL Dash, com adaptações. Para a extração do amido, as raízes de Inhambu (*Dioscorea trifida L.*) foram lavadas, descascadas e trituradas em um liquidificador até a obtenção de uma massa densa e uniforme, acrescentando-se água destilada na proporção de 1:4. A massa obtida foi filtrada em sacos confeccionados com tecido (abertura da malha próxima a 100 *mesh*). A suspensão de amido filtrada foi decantada, em ambiente refrigerado a 5 °C por 24 horas.

O sobrenadante foi descartado e o amido foi suspenso em água destilada e decantado novamente. Este procedimento de suspensão e decantação foi efetuado até que, praticamente, toda a mucilagem presente na suspensão fosse eliminada e o produto apresentasse cor e textura características de amido. Após esta etapa o amido foi liofilizado por 48 horas e passado em peneira 200 *mesh*.

4.2. Modificação do amido por acetilação

O amido foi extraído dos tubérculos de Inhambu segundo a metodologia descrita no item 4.1. No processo de modificação química do amido de inhambú foi utilizada uma mistura contendo ácido acético e anidrido acético. A acetilação do amido de inhambú foi realizada segundo procedimento descrito por Larotonda (2002). Os reagentes modificadores foram o anidrido acético e o ácido acético, a reação foi catalisada pelo ácido sulfúrico (Figura 15).

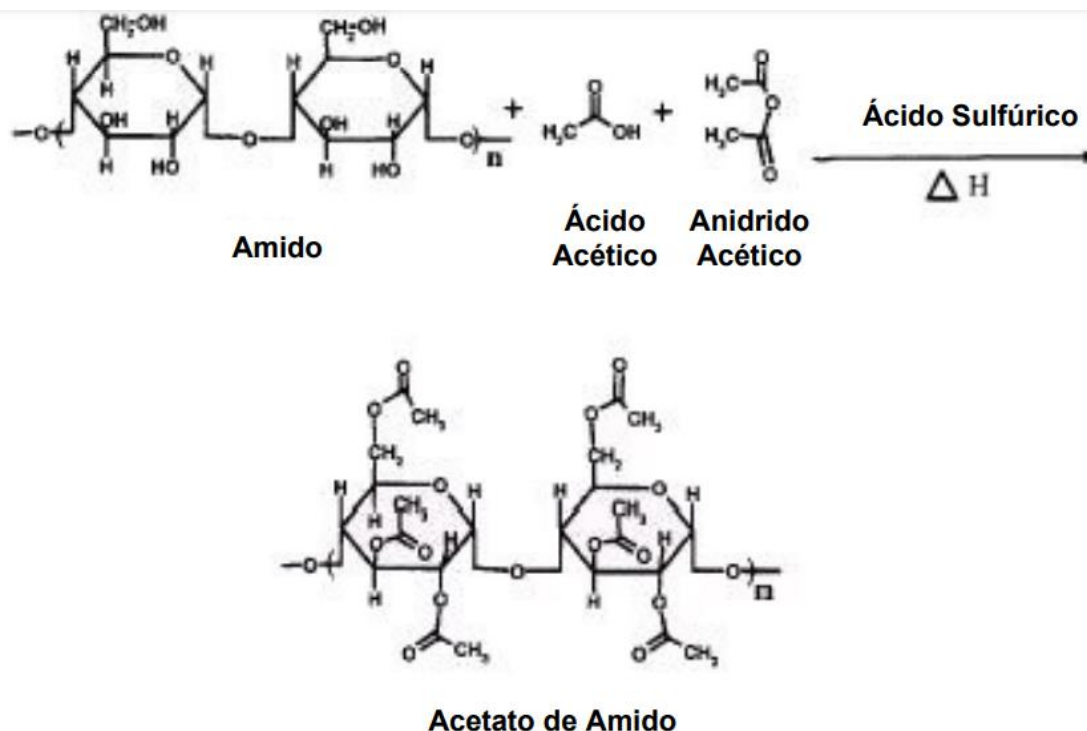


Figura 15 - Síntese do Acetato de Amido (LEPENIOTIS, 1997)

Em um béquer de 1000 mL colocou-se 75 g de amido seco, 135 mL de ácido acético glacial e 138 mL de anidrido acético (mistura acetilante). A solução foi aquecida a 40 °C com agitação para assegurar uma mistura completa. Após atingir 40 °C, retirou-se a mistura do aquecimento e adicionou-se cuidadosamente e gradualmente a mistura catalisadora (1,05 mL de ácido sulfúrico concentrado e 12,45 mL de ácido acético glacial). Durante a adição da solução catalisadora a mistura foi mantida banho de gelo, com agitação, durante os 10 primeiros minutos de reação. Em seguida, a solução foi aquecida até atingir a temperatura de reação desejada (40, 50, 60 e 70 °C), mantendo-se a agitação durante 2 horas. Após as 2 horas de reação, foi adicionado, sob agitação, aproximadamente 250 mL de água destilada gelada (5-6 °C), para a

precipitação do acetato de amido. Após a decantação do precipitado, o sobrenadante foi retirado e descartado. O precipitado foi filtrado a vácuo, em funil de Buchner, em seguida foi lavado com água destilada e seco em estufa a 60 °C por 8 horas, conforme diagrama esquemático apresentado na Figura 16. Após secagem, o sólido foi pulverizado e passado em peneira de 200 mash.

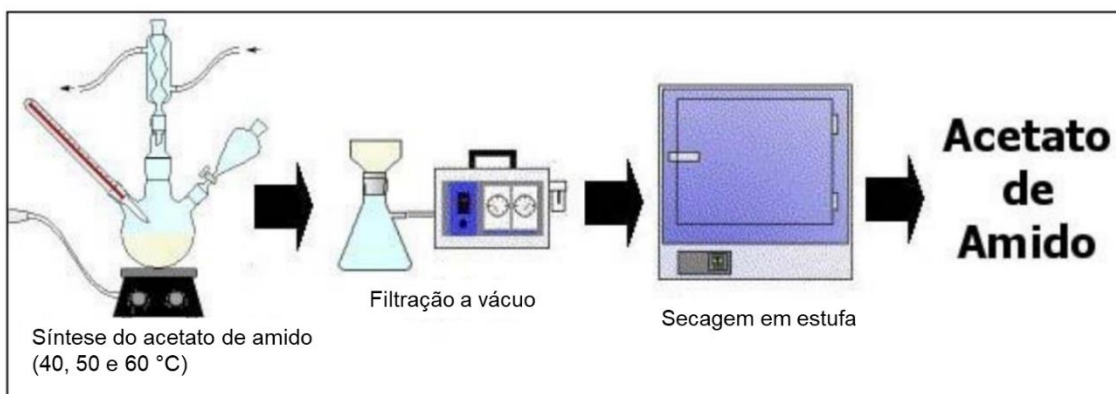


Figura 16 - Esquema para a obtenção do acetato de amido.

Os amidos resultantes desse processo foram identificados com os códigos apresentados na tabela.

Amostras	Descrição
AN	Amido de Inhambu nativo
AA40	Amido de Inhambu acetilado a 40°C
AA50	Amido de Inhambu acetilado a 50°C
AA60	Amido de Inhambu acetilado a 60°C

4.3. Grau de substituição – GS

O Grau de Substituição do amido modificado foi obtido através de uma retrotitulação (MILADINOV et al., 2000). Para a realização desse procedimento, pesou-se cerca de 1 g do amido modificado e dissolveu em 15 mL de uma solução aquosa de NaOH 0,5 mol/L, mantida sob agitação e aquecimento a 40 °C. Esta solução foi então mantida em repouso por 48 h a temperatura ambiente e, finalmente, titulada com uma solução aquosa de HCl 0,5 mol/L.

O GS foi calculado com base nas Equações 1 e 2:

$$\%Acetila\c{c}\tilde{a}o = \frac{(V_0 - V_p) \times NHCl \times 43}{p_a(g)} \cdot 100 \quad (1)$$

$$GS = \frac{\%Acetila\c{c}\tilde{a}o}{100} \cdot 3 \quad (2)$$

Nas quais V_0 e V_p são os volumes de HCl gasto na ausência e na presença do polímero, respectivamente, p_a massa da amostra de amido acetilado e GS o grau de substituição.

4.4. Preparo das nanopartículas

4.4.1. Preparo do nanoamido

As nanopartículas de amido de Inhambu nativo e acetilado foram preparadas pelo método de ultrassom utilizando um equipamento Qsonica, Modelo Q55, com frequência de 20 kHz e 80 W de potência. A suspensão de amido (0,87 g de amido de Inhambu e 50 mL de água destilada) foi sonicada a 80% de potência por 75 min e, depois disso, a suspensão coloidal foi resfriada (25°C) (HAAJ et al., 2013). A determinação do rendimento de nanopartículas de amido foi realizada de acordo com Condés et al 2015.

O rendimento percentual foi calculado gravimetricamente, de acordo com a Equação (3). Esta análise foi realizada em triplicata.

$$Rendimento (\%) = (P_i - P_f) / (P_i \cdot 100) \quad (3)$$

Na qual P_i é o peso da amostra antes da secagem e P_f é o peso da amostra após a secagem.

4.4.2. Preparo dos nanocristais de celulose

Para o preparo nos nanocristais de celulose, utilizou-se 3,0 g de algodão comercial da marca Apollo, lavados previamente em água destilada entre 45 – 50 °C e secos em estufa de ar circulante. Submeteu-se a fibra seca a processo de hidrólise ácida em 200 mL de solução de ácido sulfúrico 56% (m/v), a temperatura de 68 - 70 °C sob agitação constante por 90 minutos. Após esse tempo, adicionou-se 200 mL de água destilada gelada ao sistema. Em seguida,

submeteu-se a suspensão resultante a ciclos de centrifugação, cerca de 16 ciclos, para extração dos nanocristais de celulose. Após as centrifugações, submeteu-se a suspensão ao processo de diálise por 7 dias até que a mesma alcançasse pH neutro. Depois do processo de diálise, a suspensão resultante foi armazenada em geladeira.

4.5. Extração do extrato de hibisco

Os compostos fenólicos bem como as antocianinas totais foram extraídos do hibisco utilizando 10 g de amostra seca, colocadas em erlenmeyers e adicionando-se 50 mL de solvente água/etanol 50/50 (v/v). O tempo de extração utilizado foi de 24 h mantendo-se a temperatura constante de 25 °C. Posteriormente, a mistura foi filtrada para a separação do material sólido e concentrada em rotaevaporador até saída do etanol.

4.6. Óleo da pimenta rosa

O óleo comestível da pimenta rosa foi obtido no comércio de Salvador.

4.7. Preparo do filme

Os filmes a base do amido de Inhambu foram preparados pelo método *casting*. As soluções filmogênicas foram elaboradas misturando 7,50 g de amido em 250 mL de água, o que corresponde a 3% de amido em relação à água, 2,25 g de glicerol, que corresponde a 30% em massa em relação ao amido. As misturas resultantes foram submetidas à agitação constante em agitador magnético (Tecnal 0851) a 200 rpm por 30 minutos a 80 °C. Em seguida, os frascos contendo a solução filmogênica foram mantidos sob agitação sem aquecimento até alcançarem a temperatura ambiente. As soluções foram transferidas para placas de Petri (150 mm de diâmetro), com 0,5 g de solução por cm². Para evaporação total do solvente, as placas contendo a solução filmogênica, foram levadas à estufa com circulação de ar (Tecnal TE 394/1) a 45 °C por aproximadamente 24 h. Após esse tempo os filmes foram retirados da estufa e mantidos em condições de umidade controlada até análises posteriores.

Os aditivos naturais, extrato de hibisco e óleo de pimenta rosa, foram adicionados na fase de gelatinização da solução nas proporções de 10%, 20% e 30% em massa, em relação ao amido. As formulações preparadas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Amostras de filmes contendo aditivos naturais

Amostras	% de extrato de hibisco	% de pimenta rosa
FP	0	0
FH10	10	0
FH20	20	0
FH30	30	0
FR10	0	10
FR20	0	20
FR30	0	30

O filme padrão (FP) foi preparado com amido e glicerol. As amostras FH são filmes de amido, glicerol e extrato de hibisco nas concentrações de 10, 20 e 30% m/m em relação ao amido (FH10, FH20 e FH30 respectivamente).

A suspensão de nanopartículas de amido de Inhambu, nativo e acetilado, e nanocristais de celulose foram adicionados a mistura filmogênica durante a etapa de gelatinização. A mistura foi mantida sob agitação constante até atingir a temperatura de 25° C. Em seguida foi transferida para placa de Petri e secas em estufa com circulação de ar (Tecnal TE 394/1) a 45 °C por aproximadamente 24 h. Os percentuais de nanoamido e nanocristais de celulose (m/m) para cada formulação de nanocompósitos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Amostras de filmes compósitos

Amostras	% de nanoamido nativo	% de nanoamido acetilado	% de nanocristais de celulose
FP	0	0	0
CAN3	3	0	0
CAA3	0	3	0
CCAN2,5	2,5	0	0,5
CCAA2,5	0	2,5	0,5

O filme padrão (FP) foi preparado com amido e glicerol. Os nanocompósitos CAN3 e CAA3 são filmes de amido, glicerol e 3% m/m, em relação a massa de

amido seco, de nanoamido nativo e acetilado respectivamente. As amostras CCAN2,5 e CCAA2,5 são filmes de amido, glicerol, 0,5% m/m de nanocristais de celulose e 2,5% m/m de nanoamido nativo e acetilado, respectivamente. Os percentuais em massa de nanoamido e nanocristais de celulose foram medidos considerando a massa de amido seco.

4.8. Caracterização do amido

4.8.1. Teor de umidade

O teor de umidade das amostras de amidos nativo e acetilados (NA, AA40, AA50 e AA60) foi determinado por gravimetria em estufa a 105°C até peso constante, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2004).

4.8.2. Poder de Inchamento e Solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade das amostras de amidos foram determinados como descrito por Leach, McCowen e Schoch (1959). Uma dispersão de amido foi preparada misturando 1,0 g de amido em 40 mL de água destilada em tubos Falcon. A dispersão foi mantida sob agitação por 1 minuto em agitador de tubos e levada em banho térmico, com agitação, por 30 minutos nas temperaturas de 50, 60, 70 e 80 °C. Os tubos foram retirados do banho, resfriados a temperatura ambiente e centrifugados por 10 minutos a 4677 G. O sobrenadante foi seco em estufa a 105 °C por 24 horas, para determinação da massa de amido solúvel (M1) e os tubos, contendo os grânulos de amido intumescidos, foram pesados para determinar a massa final intumescida (M2) e calcular o poder de inchamento dos grânulos de amido. A solubilidade foi calculada pela relação da massa de amido solúvel e a massa inicial de amido (Mi), em base seca (Equação (4)).

$$\text{Solubilidade (\%)} = (M1 \div Mi) \cdot 100 \quad (4)$$

O poder de inchamento, expresso em $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ foi obtido pela Equação (5).

$$\text{Poder de inchamento (g} \cdot 100 \text{g}^{-1}) = M2 \div (Mi - M1) \quad (5)$$

4.8.3. Análise termogravimétrica

O comportamento termogravimétrico dos amidos nativo e modificado (AN, AA40, AA50 e AA60) foi analisado utilizando uma termobalança Marca Shimadzu®, modelo TGA-50, entre 25 a 600 °C, a uma taxa de aquecimento de 10° C/min, sob fluxo de nitrogênio.

4.8.4. Teor de amilose e amilopectina

O teor de amilose foi determinado de acordo com o método AACC. Para preparar as amostras, pesou-se 100 mg da amostra de amido e, em seguida transferiu-se para balões volumétricos de 100 mL previamente identificados. Posteriormente, acrescentou-se 1 mL de álcool etílico 95% (v/v) e agitou-se cuidadosamente.

A seguir, acrescentou-se 9 mL de solução de NaOH 1 molL⁻¹. Os balões foram tampados e deixados em repouso, por 12 horas, para gelatinização do amido. Posteriormente o volume do balão volumétrico foi completado com água destilada. Retirou-se uma alíquota de 5 mL da solução preparada e transferiu-se para outro balão volumétrico de 100 mL devidamente identificado. Então foram adicionados 1 mL de ácido acético 1 molL⁻¹ e 2 mL de solução de iodo-iodeto de potássio (2 g de I₂ e 20 g de KI para 1 litro de solução) que ao reagir com o amido forma um complexo de coloração azul.

O volume do balão volumétrico foi completado com água destilada e a solução foi deixada em repouso durante 30 minutos no escuro. Em seguida, foi feita a leitura de absorbância a 620 nm.

O teor de amilose foi calculado a partir de uma curva padrão de amilose pura (Sigma-Aldrich). Utilizando a equação resultante da curva de calibração da amilose (Figura 17), os valores das absorbâncias lidas em cada amostra, foram inseridos na equação da reta para calcular o teor de amilose em percentual. O teor de amilopectina (%) foi calculado pela diferença de 100% com do teor de amilose (%).

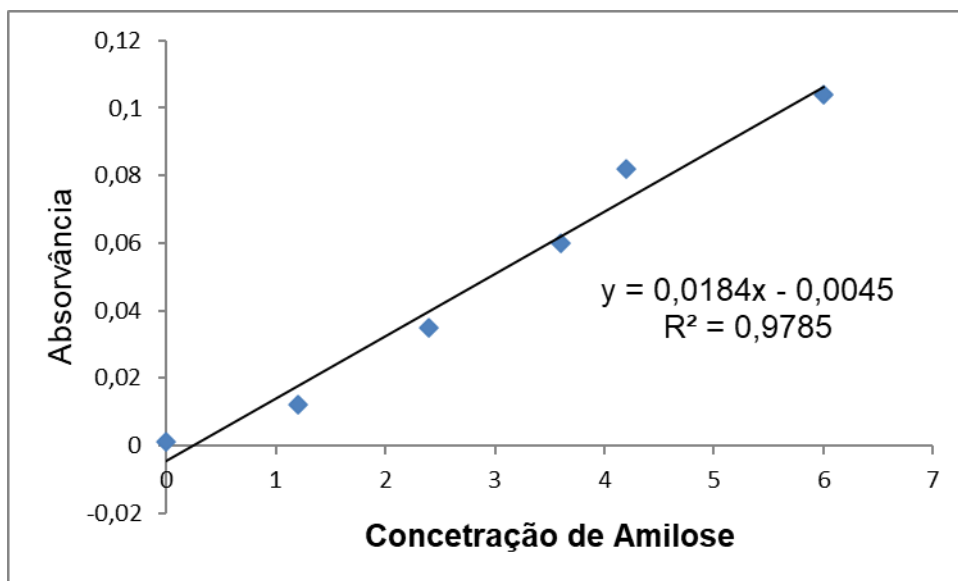


Figura 17 - Curva de calibração da amilose

4.8.5. Microscopia eletrônica de varredura – MEV

Para análise de microscopia eletrônica de varredura das amostras AN, AA50 e AA60 foi utilizado um equipamento Tescan 3LMU no Laboratório de Caracterização de Materiais do IFBA, com aumento de 10000x, profundidade de foco de 1 mm e resolução de 30 nm. As amostras de partida foram colocadas sobre suporte metálico com fitas adesivas de carbono utilizadas como adesivos condutores e recoberta com 10 nm de ouro.

4.8.6. Microscopia eletrônica de transmissão – MET

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão das suspensões de nanoamido e nanocristais de celulose foram obtidas no laboratório de microscopia do Instituto Gonçalo Moniz da Fiocruz de Salvador, utilizando um microscópio eletrônico Jeol, modelo JEM-1230 e o protocolo seguido foi por contrastação negativa de suspensões. As amostras foram preparadas com antecedência, nas quais uma gota da suspensão 0,005% m/v foi depositada sobre uma grade de microscopia revestida com filme de carbono ultrafino do tipo Lacey carbon (400 mesh, TED PELLA). Uma solução aquosa contendo 2% em massa de acetato de uranila foi utilizada como contraste. Com as imagens, as dimensões das partículas foram medidas usando o aplicativo ImageJ.

4.8.7. Difração de Raios X – DRX

Os difratogramas das amostras de amidos nativo e acetilados (AN, AA40, AA50 e AA60) foram obtidos utilizando um difratômetro de raios X, Marca Shimadzu®, modelo XRD-6000, operando com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,548 \text{ \AA}$), com tensão de 30 kV e corrente de 30 mA. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente (25 °C) e com ângulos 2θ entre 5 e 70° (2° min⁻¹).

4.8.8. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

Para o estudo dos grupos funcionais contidos nas amostras de amidos (AN, AA40, AA50 e AA60) foi utilizado um instrumento FT-IR MB100 Bomem, usando varredura na faixa espectral de 4000 a 400 cm⁻¹. Os espectros foram obtidos a partir de amostras dos amidos em pastilhas de KBr (1,0%; amostra/KBr).

4.9. Caracterização dos filmes

4.9.1. Espessura

A espessura dos filmes de amido padrão (FP); contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30) e contendo nanopartículas (CAA3, CAN3, CCAA2,5 e CCAN2,5) foram obtidas através de um micrômetro digital Mitutoyo (+/-0,001 mm) em 6 pontos diferentes, tirando uma média das leituras.

4.9.2. Análise termogravimétrica

O comportamento termogravimétrico dos filmes padrão (FP) e contendo extrato de hibisco (FH30) foram analisados utilizando uma termobalança Marca Shimadzu®, modelo TGA-50, entre 25 a 600 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, sob fluxo de nitrogênio.

4.9.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As medidas de variação de entalpia nas mudanças de fase dos filmes padrão (FP); contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30) e contendo nanopartículas (CAA3, CAN3, CCAA2,5 e CCAN2,5) foram analisados utilizando um equipamento DSC da Marca Seiko, Modelo Exstar DSC-6220. Todas as amostras foram analisadas entre 25 a 550 °C, com taxa de aquecimento de 10° C.min⁻¹.

4.9.4. Ensaio mecânico

As amostras foram cortadas em corpos-de-prova com 25 mm de largura e 100 mm de comprimento e acondicionadas em umidade relativa de 58%, em dessecadores contendo solução saturada de NaBr a 25 °C, 48 h antes das análises. Os ensaios mecânicos foram realizados utilizando o Emic DL2000 empregando-se o programa Tesc versão 3.04®. Cada análise foi realizada com, no mínimo, seis ensaios válidos.

A força máxima, deformação específica e o módulo de elasticidade dos corpos-de prova foram determinados com base no método D882-00 da American Society for Testing and Materials (ASTM, 1996), com distância inicial entre as garras de 50 mm e velocidade de tração de 12 mm/s. Os resultados foram tratados estatisticamente através de Análise de variância (ANOVA) pelo teste de Tukey a 95% de confiança, através do programa Excel 2010 (Microsoft)®

4.9.5. Solubilidade em água

As solubilidades em água das amostras dos filmes padrão (FP), contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30) e contendo nanopartículas (CAA3, CAN3, CCAA2,5 e CCAN2,5) foram determinadas por meio de procedimento adaptado, a partir das metodologias descritas por Gontard *et al.* (1994) e Turhan e Sahbaz (2004). Uma pequena quantidade dos filmes (pedaços de 4 cm²) foram recortados e secas em estufa a 45 °C por 30 minutos. Após secos, os esses filmes foram acondicionados em placas e petri e pesados. Em seguida, foram adicionados 30 mL de água destilada às placas contendo os filmes, que permaneceram em repouso por 24 h. Após esse tempo, a água foi retirada com auxílio de micropipeta e os filmes foram secos em estufa equipada com circulação de ar (105 °C – 24 horas). Após a secagem, os filmes foram pesados e a porcentagem de material solubilizado foi obtida por meio da Equação (6). O procedimento foi realizado em triplicata.

$$\%MS = \left(\frac{\Delta m}{m_i} \right) \cdot 100 \quad (6)$$

Em que, %MS é a porcentagem de material solubilizado, Δm é a variação de massa do filme ($m_i - m_f$), m_i é a massa inicial do filme.

4.9.6. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) das amostras dos filmes padrão (FP), contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30) e contendo nanopartículas (CAA3, CAN3, CCAA2,5 e CCAN2,5) foram determinadas em triplicata pelo método gravimétrico, com base na norma da ASTM E96-00 descrito por Sarantópoulos et al. (2002). As amostras de filmes foram fixadas em células de permeação de vidro, com abertura circular, de 35 mm de diâmetro, correspondente à área do filme exposta para troca, vedada hermeticamente, e contendo sílica gel no seu interior (0% UR), em ambiente climatizado a 25°C. As células de permeação (Figura 18) foram acondicionadas em dessecadores contendo água destilada (100% de UR; $P = 3,167$ KPa a 25°C). As amostras foram mantidas em ambiente com umidade e temperatura controladas durante 48 h antes da análise, que procedeu em intervalos de 30 minutos durante 7 horas.

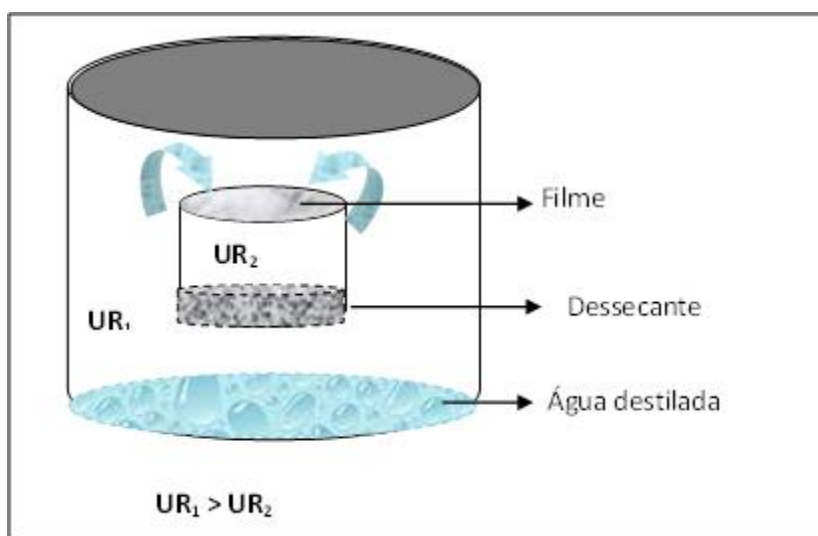


Figura 18 - Ilustração da célula de permeação utilizada para a determinação da permeabilidade ao vapor de água

Para calcular a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram utilizadas as Equações (7) e (8).

$$TPVA = \frac{w}{t \cdot A} (g \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}) \quad (7)$$

$$PVA = \frac{TPVA \cdot \varepsilon}{t \cdot A} (g \cdot mm \cdot h^{-1} \cdot m^{-2} \cdot KPa^{-1}) \quad (8)$$

Na qual,

W = ganho de massa da célula.

t = tempo da marcação.

A = área exposta do filme.

ε = espessura do filme.

ΔP = diferença de pressão entre os dois lados do filme.

4.9.7. Intumescimento

Para o ensaio de intumescimento as amostras em torno de 4 cm² dos filmes padrão (FP), contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30) e contendo nanopartículas (CAA3, CAN3, CCAA2,5 e CCAN2,5) foram cortados (pedaços de 2cm x 2 cm), e secos em estufa a 60°C por 2 h. Após a secagem as amostras foram pesadas, obtendo-se os valores de peso seco (Ps). Em seguida os filmes foram imersos em 50 mL de solução tampão fosfato (p H7,4) e em água destilada (pH 5,0) em intervalos variados por 3 h. Após cada intervalo, os filmes foram secos em papel absorvente e pesados, obtendo-se o peso úmido (Pu). O cálculo de intumescimento foi feito em triplicata através da Equação (9).

$$I(\%) = (Pu - Ps). 100 \quad (9)$$

4.9.8. Atividade antioxidante

Para a avaliação da atividade antioxidante dos filmes padrão (FP), contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30) foram realizados os ensaios do sequestro do radical DPPH•. As amostras dos filmes (2,0 cm²) foram pesadas, em seguida, transferidas para frasco âmbar contendo 10 ml de solvente hidroetanólico (50% v/v), e submetidos a ultrassom por 30 minutos, a fim de extrair os compostos antioxidantes presentes nos filmes. Então, foram determinadas as porcentagens de inibição do radical DPPH para cada solução dos filmes.

A atividade antioxidante do extrato de hibisco foi avaliada com o uso do radical livre DPPH• (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) seguindo a metodologia descrita por Rebaya et al. (2014), com modificações. Para 100 µL do extrato, ou padrão,

foram adicionados 840 µL de uma solução de etanol (80%), seguida da adição de 60 µL de uma solução 0,5 mM de DPPH• (em solução etanólica 80%). Após adição do DPPH•, o sistema foi agitado em vórtex e mantido em repouso durante 1 hora, protegido da luz. Diferentes concentrações do extrato (10 – 50 µg/mL) e da quercetina (padrão) (2 – 10 µg/mL) foram utilizadas nesse ensaio. O branco foi realizado para cada concentração de extrato, ou padrão, com a finalidade de minimizar a interferência dos componentes na leitura das amostras sem adição de DPPH. O controle foi composto de uma mistura de 940 µL de uma solução etanólica (50%) e 60 µL da solução de DPPH• (0,5mM). Após o tempo de reação, as absorvâncias das amostras foram medidas em um espectrofotômetro UV-VIS Evolution™ 220 (Thermo Scientific) no comprimento de onda de 517 nm.

A porcentagem de inibição das amostras foi calculada a partir dos valores de absorvância pela Equação(10):

$$\% Inib = \left(\frac{Abs_{controle} - Abs_{teste}}{Abs_{controle}} \right) \cdot 100 \quad (10)$$

Em que:

% Inib = porcentagem de inibição do radical DPPH (%);

Abs_{controle} = Absorvância do controle;

Abs_{teste} = Absorvância da amostra.

Os gráficos foram gerados plotando a porcentagem de inibição *versus* a concentração em µg/mL. A equação obtida permitiu calcular o valor do IC₅₀ correspondente à concentração da amostra que reduziu a absorvância inicial do DPPH• em 50%. A análise foi realizada em triplicata.

4.9.9. Atividade antimicrobiana

Os filmes preparados com adição de hibisco e pimenta rosa, nas diferentes concentrações, foram selecionados e tiveram sua atividade antimicrobiana testada através da técnica descrita abaixo.

A avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes *in vitro* foram realizada pela técnica de difusão em disco de acordo com a metodologia desenvolvida pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), e os microrganismos utilizados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) e *Escherichia coli* (ATCC 35218).

Inóculos de cada microrganismo foram preparados por meio da suspensão direta, em solução salina esterilizada, de colônias isoladas, selecionadas de uma placa de meio não seletivo inoculada com o microrganismo e incubada a 35 °C por 18-24 horas. A suspensão foi ajustada até sua turbidez coincidir com a da solução padrão de McFarland 0,5 que corresponde a 10⁸ UFC/mL. Placas de ágar Mueller-Hinton foram inoculadas com os microrganismos friccionando-se um Swab de algodão esterilizado umedecido com a solução do inóculo previamente preparado. Sobre a superfície do ágar inoculado foram colocados discos (Ø = 1 cm) dos filmes esterilizados em câmara com lâmpada UV 30 (Prodicil, 110v, 254 nm) por 2 minutos. As placas foram incubadas a 35 °C e após 16-18 horas os halos de inibição foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco (NCCLS, 2003b).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados das análises e caracterizações dos materiais obtidos.

5.1. Amido Nativo e Acetilado

Seguindo a metodologia descrita, foram obtidos os amidos de Inhambu branco e roxo. Quanto às características visuais não houve diferença dos de outras fontes botânicas, apresentando coloração branca em forma de pó fino e homogêneo. O rendimento foi 28,8% de amido considerando a massa inicial do tubérculo com casca. O amido extraído foi submetido à modificação química por reação de acetilação, conforme metodologia descrita e, em seguida, foram caracterizados.

Os amidos modificados a 40, 50 e 60°C, apresentaram diferença na sua estrutura química, confirmadas através das análises de grau de substituição (GS). As

suspensões de amidos modificados nas diferentes temperaturas estão demonstradas na Figura 19.

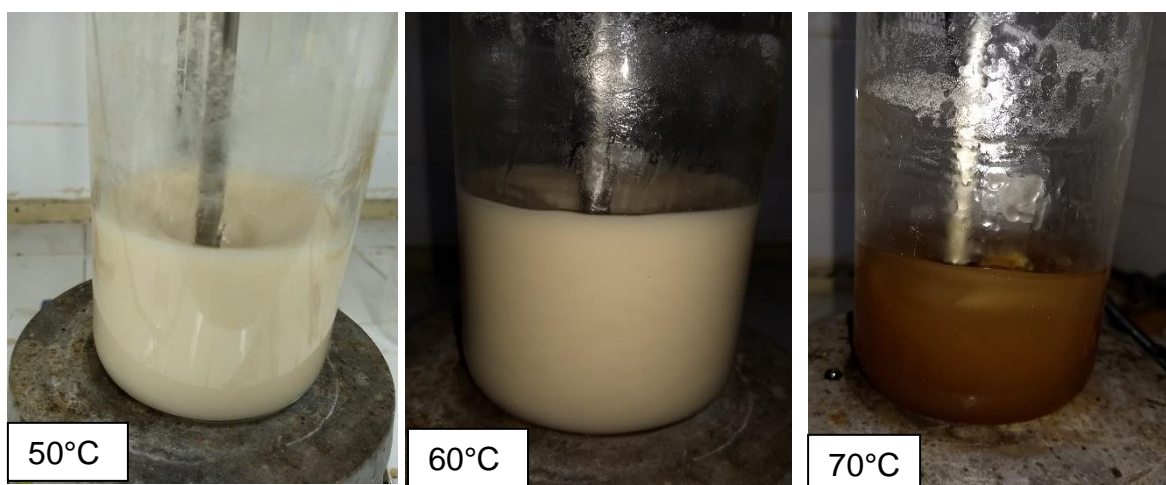


Figura 19 - Suspensões de amidos após o processo de acetilação nas temperaturas de 50, 60 e 70°C.

A acetilação a 70°C provocou uma transformação indesejada formando uma emulsão de coloração castanha, com textura de pasta, descaracterizando o amido. Neste caso, o resultado não foi interessante para o desenvolvimento do projeto. Os amidos, nativo (AN) e modificados (AA40, AA50 e AA60), tiveram suas características determinadas por várias técnicas, e serão apresentadas a seguir.

5.1.1. Grau de Substituição

Após a etapa de filtração, os amidos acetilados, permaneceram com a coloração branca, sem diferenças visuais em relação ao amido nativo (Figura 20).

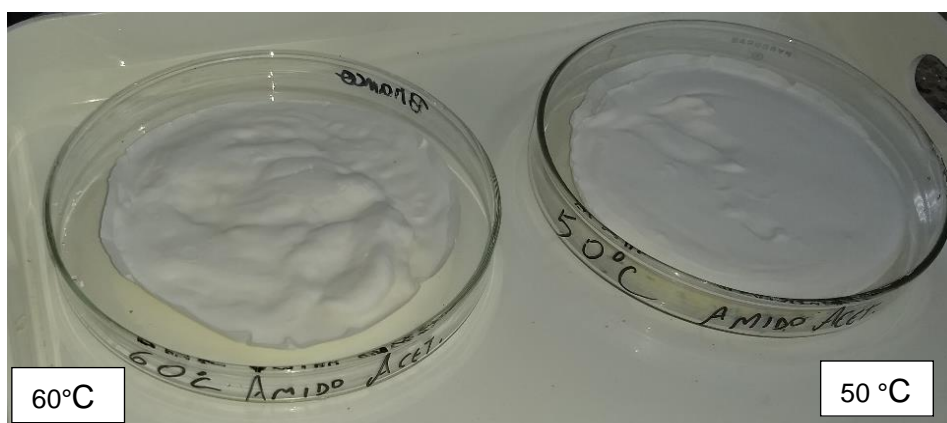


Figura 20 - Amidos acetilados após filtração e secagem.

Foram realizados os testes de grau de substituição (GS) para os amidos acetilados (AA40, AA50 e AA60). O GS foi calculado em triplicata através das equações apresentadas na metodologia. Os valores do GS e do percentual de acetilação para as amostras AA40, AA50 e AA60 são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Dados de graus de substituição (GS) e percentual de acetilação.

Amostras	Massa (g)	ΔV (mL)	%Acetilação	GS
AA40	1,00	3,33	7,16	0,21
AA50	1,00	6,45	13,8	0,41
AA60	1,00	21,55	46,3	1,38

O aumento da temperatura de reação aumentou o grau de substituição dos amidos modificados, o mesmo foi verificado por Grossi et al. (1999). Uma melhora das características do amido acetilado como propriedades mecânicas, resistência à umidade, processabilidade e taxa de biodegradação encontra-se preferencialmente na faixa de 1,2 a 1,7 do grau de substituição (NARAYAN et al., 1999). Amidos com baixo GS (>0,1) e de médio GS (0,1 a 1,0) são empregados na indústria alimentícia como agente texturizantes e estabilizantes. Os amidos de médio e alto GS têm aplicações na formulação de termoplásticos substituído o acetato de celulose (BISWAS et al., 2008). Acetato de amido também tem sido aplicado na obtenção de embalagens biodegradáveis de alimentos e aplicações farmacêuticas (CHI et al., 2007). Com o maior GS para o amido modificado a 60°C (AA60), esse foi escolhido para produção de nanopartículas de amido por processamento ultrassônico.

5.1.2. Determinação do Teor Umidade

Os alimentos, em especial as farinhas vegetais, independente da forma de processamento que foram submetidos apresentam água em sua composição. Para o amido nativo de Inhambu (AN) e acetilados (AA40, AA50 e AA60). Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teor de umidade das amostras AN, AA40, AA50 e AA60

Amostras	Umidade (%)
AN	11,8 ± 0,6

AA40	10,7 ± 0,5
AA50	10,4 ± 04
AA60	8,7 ± 0,4

Esses valores estão dentro do valor de referência estabelecido pela legislação brasileira em vigor, abaixo de 15% para farinhas e até 21% para amido de batata (RDC 2022). Os amidos modificados apresentaram umidade inferiores comparados ao amido nativo. A água contida no alimento representa a umidade que pode ser classificada como umidade superficial e umidade absorvida. A primeira se refere às moléculas de água ligadas à superfície do alimento que é facilmente evaporada, a segunda se refere a moléculas de água ligada no interior do alimento interagindo mais fortemente com o mesmo dificultando sua evaporação (HAUTRIVE, 2021). O resíduo resultante do processo de aquecimento direto, $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$, é chamado resíduo seco, obtido após retirada das umidades superficial e absorvida. Com a substituição de grupos hidroxila por grupo acetila, mais hidrofóbico, a quantidade de água superficial diminui com o aumento do GS.

5.1.3. Solubilidade e Poder de Inchamento

A medida da capacidade de hidratação dos grânulos de amidos em diferentes temperaturas é conhecida como poder de inchamento. Quando o grânulo de amido é aquecido em excesso de água sua estrutura cristalina é rompida, devido à quebra das interações entre as moléculas do amido, permitindo que as moléculas de água interajam com as hidroxilas da amilose e da amilopectina. Essas interações causam o inchamento dos grânulos e parcial solubilização, pela entrada de água (HOOVER, 2001). Quanto maior a temperatura, maior mobilidade das moléculas dentro do grânulo e conseqüentemente maior penetração de água, aumentando o inchamento.

A tendência do aumento da solubilidade em função da temperatura pode ser vista na Figura 21. Todas as amostras apresentaram um aumento significativo da solubilidade em função da temperatura. Os amidos AA50 e AA60 apresentaram um leve aumento na solubilidade, comparados ao amido nativo, com valores maiores para AA60. Para o AA40 houve pouca variação na

solubilidade comparado ao AN, o que pode estar relacionado ao baixo GS para essa amostra.

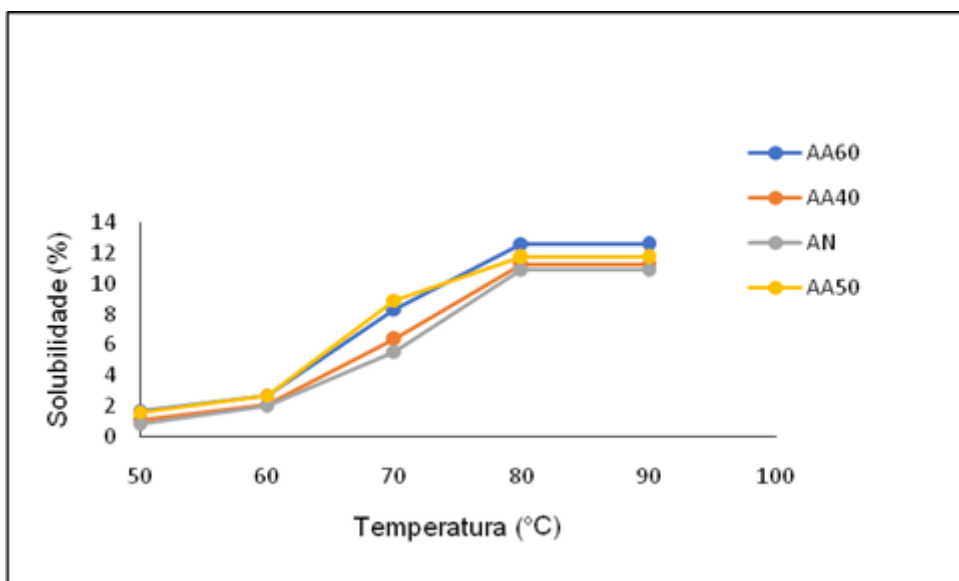


Figura 21 - Solubilidade das amostras AN, AA40, AA50 e AA60.

O poder de inchamento ou intumescimento para os amidos em estudo estão apresentados na Figura 22, na qual é possível observar um aumento no inchamento em função da temperatura para todas as amostras. Para as amostras AA50 e AA60 houve um aumento no inchamento, em torno de 70°C, comparados aos valores de AN. O AA40 não apresentou variações significativas nos valores comparados ao AN, possivelmente pelo baixo valor do GS.

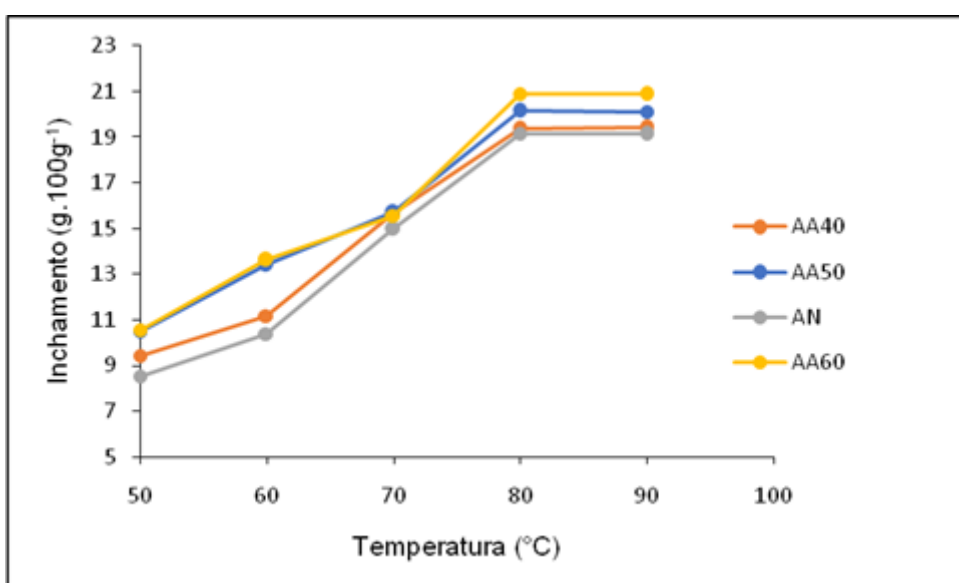


Figura 22 - Poder de inchamento dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.

A solubilidade dos acetatos de amido depende do índice de esterificação, do grau de degradação da molécula esterificada, da fragmentação do grão de amido ou do derivado, da natureza do substituinte acetila, do tipo de amido, do solvente e da temperatura. Nos graus de substituição até 0,3, aproximadamente, os acetatos continuam insolúveis. Entre os GS 0,3 a 1,1, tornam-se solúveis em água e insolúveis em solventes orgânicos, acima desse grau de substituição são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (MEIRA et al., 2012; GHIOTTI et al., 1994). Com a acetilação, a temperatura de gelatinização diminui e o inchamento dos grânulos aumenta. Com a substituição do grupo hidroxila por acetil, há redução das ligações de hidrogênio, possibilitando o aumento na entrada de moléculas de água nos grânulos de acetato de amido (SCHMIDT et al., 2018).

O aumento na solubilidade após a oxidação foi devido à desintegração e enfraquecimento estrutural do grânulo de amido (CHONG et al., 2013). Lawal e Adebowale (2005) também descobriram que o aumento na solubilidade era provavelmente influenciado pela lixiviação das regiões amorfas dos grânulos de amido. A organização e a intensidade das interações no interior do grânulo de amido determinam os perfis de inchamento e de solubilidade, nos quais menores valores sugerem maior organização intra-granular (NWOKOCHA et al., 2009). Tanto para a solubilidade quanto para o poder de inchamento os valores não sofreram variações em temperaturas acima de 80 °C, dessa forma a solubilidade máxima e o maior inchamento ocorrem nesta temperatura.

5.1.4. Teor de amilose

Os teores de amilose para os amidos nativo (AN) e acetilados (AA40, AA50 e AA60), foram obtidos a partir da curva padrão de amilose (Figura 23). Os valores calculados para as amostras, estão apresentados na Tabela 5. Os valores dos percentuais de amilopectina foram obtidos pela diferença entre o teor de amilose e o total (100%).

Tabela 5 - Teor de amilose e amilopectina

Amostras	Teor de Amilose (%)	Teor de Amilopectina (%)
----------	---------------------	--------------------------

AN	28,53 ± 0,73	71,47
AA40	28,02 ± 0,44	71,98
AA50	26,43 ± 1,12	73,57
AA60	26,31 ± 1,06	73,69

Esses valores apresentados estão próximos de valores encontrado para o inhame, um tubérculo pertencente a espécie Dioscorea.

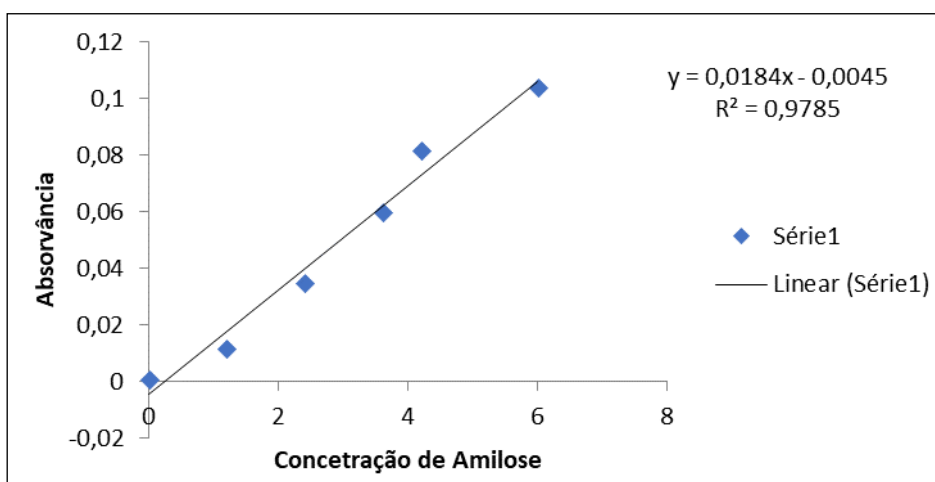


Figura 23 - Curva de absorção da amilose

As amostras AA40, AA50 e AA60 não apresentaram diferença significativa nos teores de amilose, comparados ao AN, sugerindo que as substituições dos grupos hidroxilas por acetila ocorreram nas duas cadeias.

O teor de amilose/amilopectina está diretamente relacionado ao perfil cristalino do amido e influencia o processo de gelatinização das soluções filmogênicas e consequentemente nas propriedades dos filmes formados (LIU et al., 2005).

5.1.5. Difração de Raios – X (DRX)

Os difratogramas obtidos para os amidos nativo (AN) e acetilados (AA40, AA50 e AA60), estão apresentados na Figura 24. Os picos, estreitos e bem definidos, observados no difratograma, sugerem que há uma boa cristalinidade na amostra AN. Os ângulos de difração 2θ sugerem o perfil cristalino tipo B para o amido este amido, devido a presença dos picos principais no plano difratado em torno de 15° , 17° , 19° , 22° e 24° . Para os amidos AA40 e AA50 não houve mudanças aparentes no perfil do difratograma, quando comparado ao AN. Para o amido

AA60 é possível observar um alargamento dos picos destacados para o AN, que pode ser justificado pela perda da cristalinidade dos grânulos.

Estes padrões de cristalinidade dependem, em parte, do comprimento das cadeias de amilopectina, da densidade de empacotamento dentro dos grânulos, bem como da presença de água (SAJILATA et al. 2006; Teixeira et al. 2008). Amidos de tubérculos costumam apresentar perfil cristalino tipo B e C.

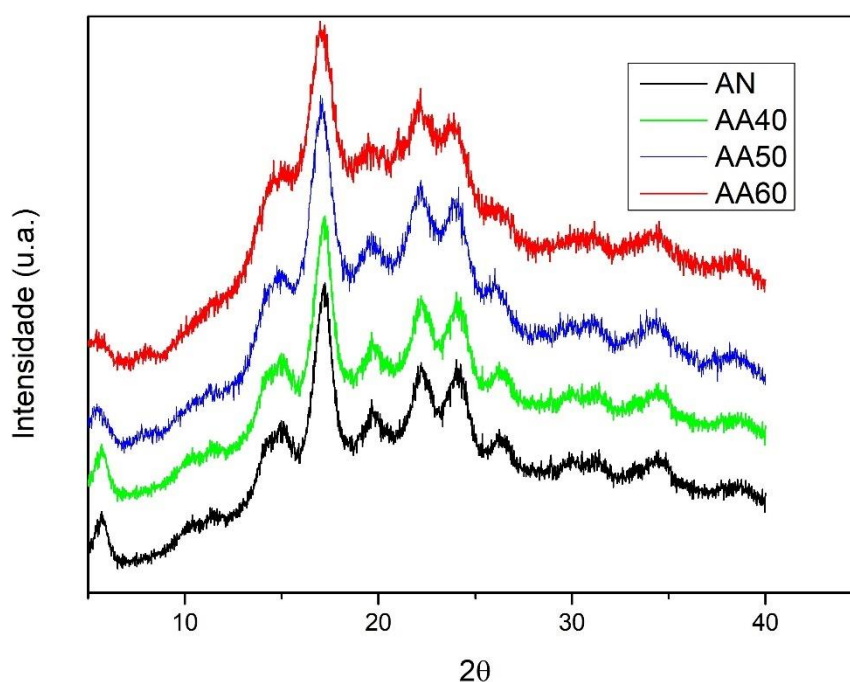


Figura 24 - Difratograma de raios X dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.

Comportamento similar foi observado por Oliveira (2012) ao comparar os difratogramas de Raios – X do amido nativo e fosforilado de Lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*). De acordo com Neto (2003), quanto maior o número de cristais em um plano de uma estrutura, mais estreitos, intensos e finos serão os picos na difração de Raios – X.

5.1.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 25 mostra as imagens de MEV dos grânulos do amido nativo de Inhambu (*Dioscorea trifida L.*), na qual é possível observar que os grânulos têm

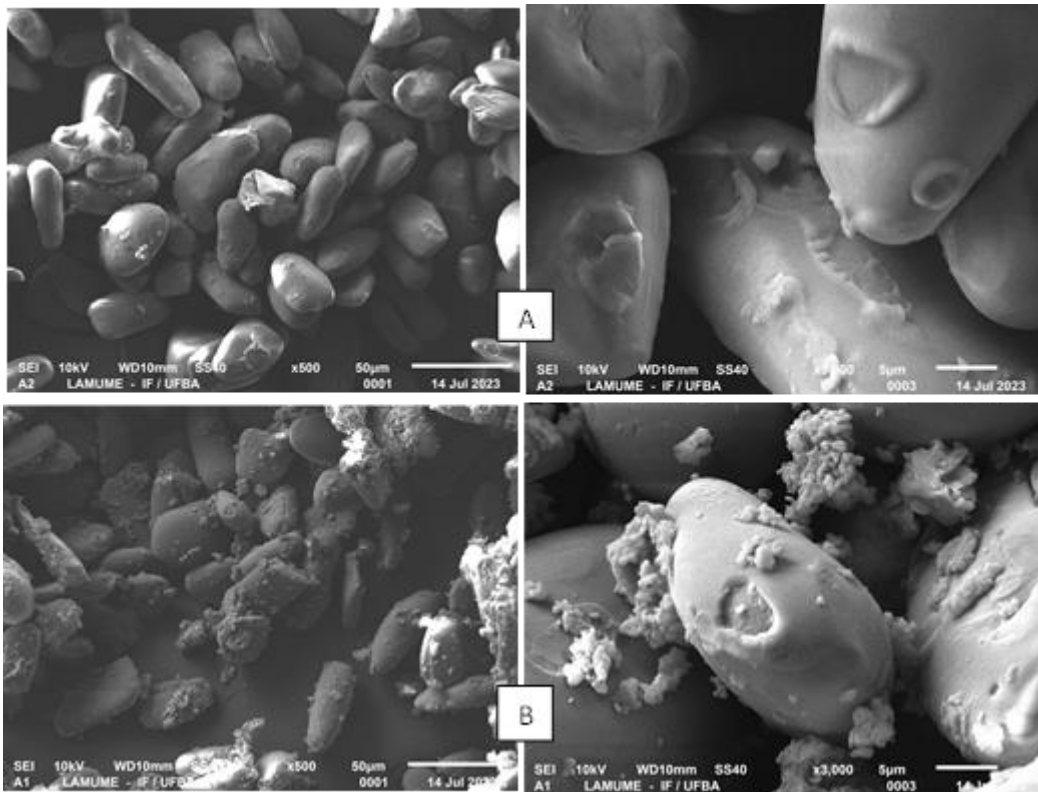


Figura 26 - Microscopia dos grânulos dos amidos AA50 e AA60.

O amido acetilado a 50°C (A) não apresentou grânulos com alterações superficiais visíveis, comparados ao AA60 (B). É possível observar formação de defeitos em alguns grânulos, de forma mais intensa na Figura B. Bello-Pérez et al. (2010) e Singh et al. (2007) que estudaram acetilação de amido observaram efeito semelhante ao qual denominaram de fusão de grânulos devido a inserção de grupos hidrofílicos na estrutura molecular do amido.

5.1.7. Propriedades térmicas

A propriedades térmicas do amido nativo e modificados por acetilação foram verificadas por análise Termogravimétrica (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

5.1.7.1. Análise Termogravimétrica(TG)

Na Figura 27 estão apresentados os comportamentos termogravimétricos dos amidos nativo AN e acetilados (AA40, AA50 e AA60). Observando a curva de análise termogravimétrica foi possível determinar a temperatura inicial média de degradação para os amidos nativo e modificados.

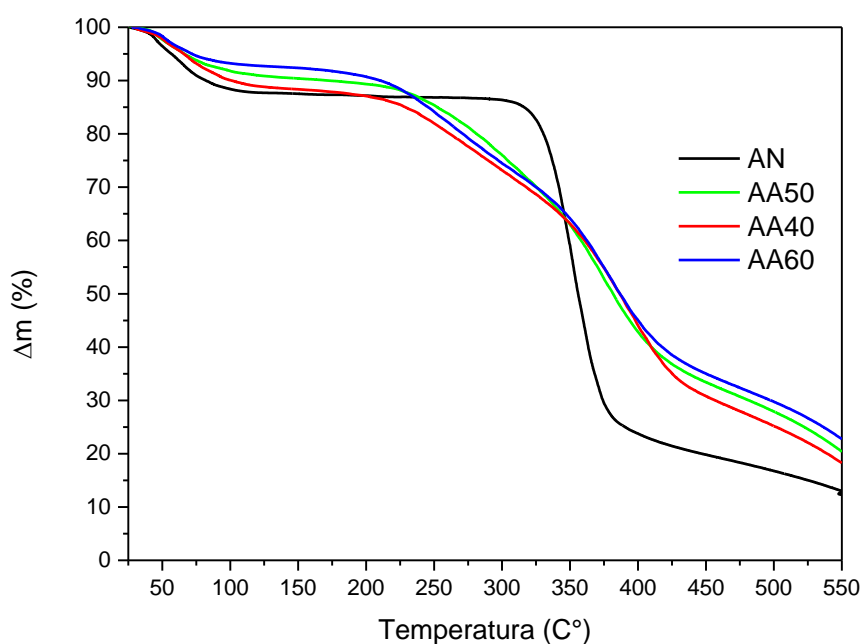


Figura 27 - Curva TG dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60

A temperatura inicial de degradação máxima para o amido de Inhambu encontra-se em torno de 320 °C. A partir de 48 °C é possível observar eventos endotérmicos na curva DTG (Figura 28) que pode ser associado a perda de água ligada superficialmente à estrutura do amido. Estas interações são mais fracas para as amostras AA50 e AA60 devido à diminuição dos grupos hidroxilas, que interagem por ligação de hidrogênio com a água, substituídos pelos grupos acetila. O percentual de perda de massa referente a saída de água se mostra menor para os amidos modificados, devido à redução no teor de umidade, discutido. As reações hidrotérmicas estão relacionadas com as interações dos grânulos de amido com a água e as variações de temperatura a partir de 40 °C provocam alterações estruturais pela saída de água superficial e de água ligada no interior dos grânulos (CEREDA et al. 2003). Então, no primeiro evento endotérmico há mudança na estrutura dos grânulos. Para os amidos modificados a 50 e 60 °C as temperaturas de degradação máxima estão entre 370 e 400 °C, evidenciando que as modificações alteraram as propriedades térmicas desses materiais.

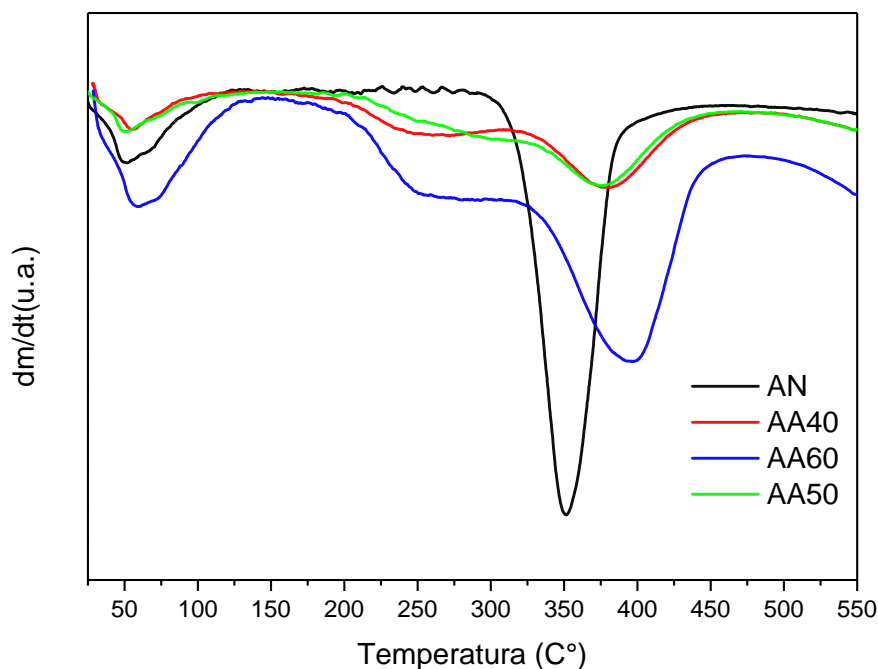


Figura 28 - Curva DTG dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.

O primeiro estágio de pequena diminuição de massa percentual, que ocorre em temperaturas situadas entre 30 °C e 150 °C está relacionado com a perda de água ligada e de água livre (LIU et al., 2010)

A degradação dos polissacarídeos ocorre inicialmente em temperaturas próximas aos 300 °C para os amidos modificados e em torno de 220 °C para o amido nativo, conforme picos endotérmicos vistos nas curvas de DTG (ARAUJO et al., 2006). Os picos em torno de 240 °C, que aparecem para os amidos modificados (AA40, AA50 e AA60), podem estar relacionados a degradação dos grupos acetilas quem substituíram as hidroxilas.

5.1.7.2. Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

Os diagramas de fluxo de calor das amostras de amidos nativo e modificados estão apresentados na Figura 29. A análise por DSC mostra a variação de entalpia das transições nos materiais.

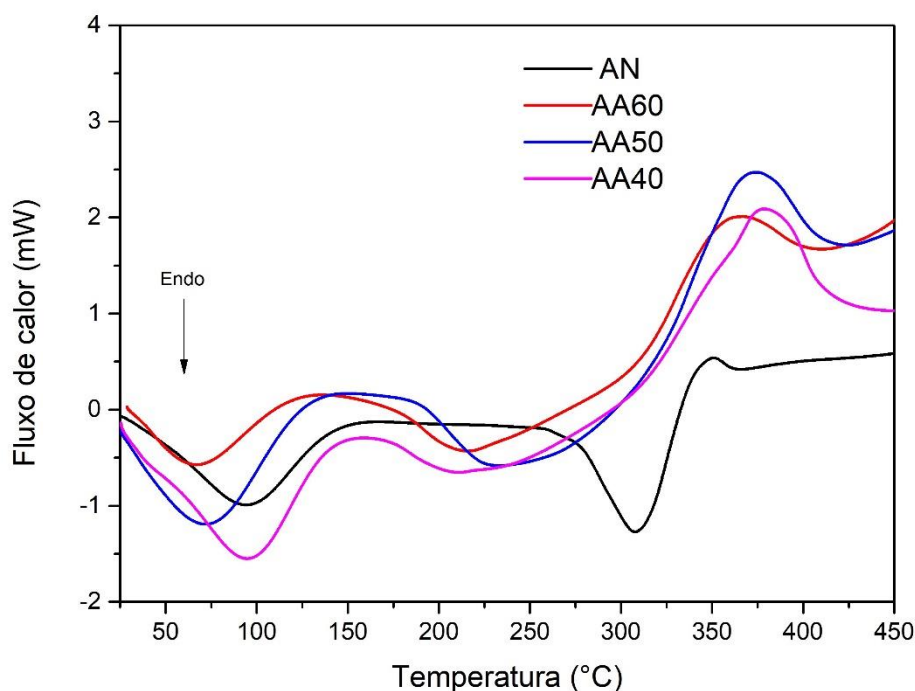


Figura 29 - Curva DSC dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60.

Os picos endotérmicos observados entre 70 e 100 °C estão relacionados a transição de fase dos grânulos que passam por um processo de gelatinização, uma transformação física. Os amidos modificados apresentaram redução de temperatura para o primeiro pico, referente à temperatura de gelatinização, com menor temperatura para a amostra com maior grau de substituição, AA60. Os picos em temperaturas superiores, acima dos 300 °C, estão associados a degradação das estruturas dos polissacarídeos, uma transformação química. Para os amidos modificados aparecem picos endotérmicos próximos de 250 °C, que pode estar relacionado às transformações químicas relativas aos grupos acetilas adicionadas durante a modificação, conforme pico observado na curva DTG. Essa diminuição ocorre devido ao enfraquecimento dos grânulos de amido após tratamento químico, e resulta na ruptura prematura das duplas hélices de amilopectina (VANIER et al., 2017; ADEBOWALE et al., 2006).

5.1.8. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

Os espectros de infravermelho foram obtidos para avaliação da eficiência do processo de acetilação do amido, através da análise das bandas de absorção dos grupos funcionais das amostras de amidos nativo e acetilados. Na Figura 30 os espectros são mostrados considerando a região de 400 a 4500 cm^{-1} . A modificação por acetilação resulta na substituição de grupos hidroxilas das moléculas de anidroglicose do amido por grupos acetilas do anidrido acético (SINGH et al., 2004; RAINA et al., 2007). Nas amostras de amidos modificados (AA50 e AA60) aparecem picos de absorção na região próxima de 1730 cm^{-1} , que pode ser atribuídos ao grupo carbonila, que não existem nas moléculas de amido nativo (AN), confirmando que houve substituição dos grupos hidroxilas. Para a o AA40 o referido pico não é perceptível, possivelmente, devido ao seu baixo GS.

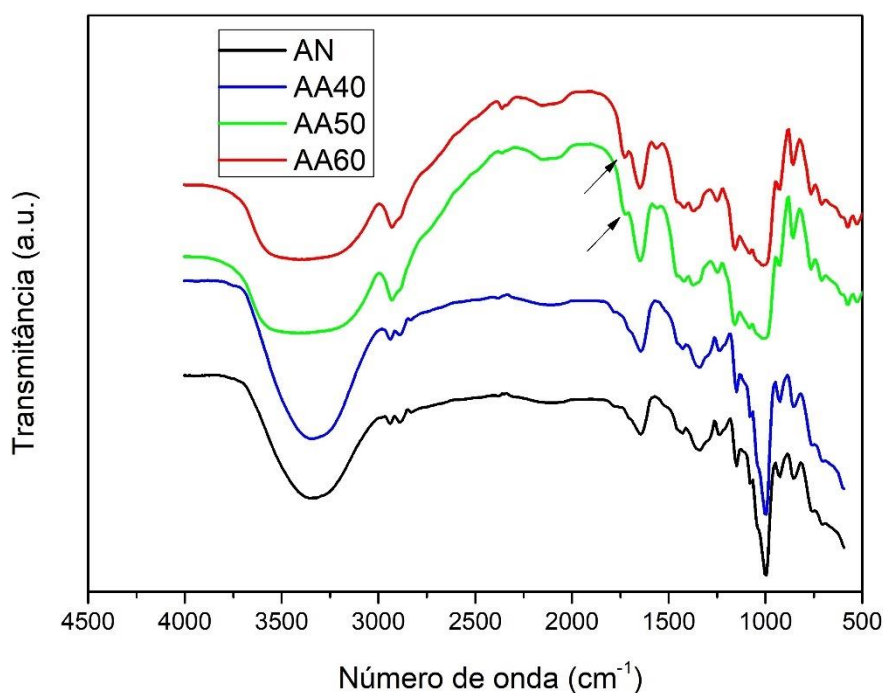


Figura 30 - Espectro infravermelho dos amidos AN, AA40, AA50 e AA60

Essas observações corroboram com os resultados encontrados em outras análises, como o grau de substituição que variou com a temperatura de

modificação das amostras e as propriedades térmicas mais acentuadas para maiores GS. Resultados semelhantes foram observados para amido de araruta modificado a diferentes temperaturas (DE JESUS, 2019). Como todas as características foram mais acentuadas para o amido modificado a 60 °C (AA60), este foi escolhido para obtenção de nanopartículas.

5.2. Nanopartículas de amido e Nanocristais de celulose

Os amidos, nativo e acetilado, submetidos ao tratamento ultrassônico, conforme metodologia citada resultaram em suspensões de nanopartículas que foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão, potencial zeta e gravimetria. As medidas foram feitas imediatamente após o processamento ultrassônico para evitar aglomeração das nanopartículas. De Almeida et al 2020, demonstrou que as suspensões de nanoamido armazenadas por um tempo de 24 h ou mais apresentaram aumento no tamanho médio das nanopartículas em relação às medidas feitas imediatamente após o processamento ultrassônico.

5.2.1. Microscopia Eletrônica de transmissão – MET

As suspensões de nanoamido, nativo e acetilado, foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão, logo após o tratamento ultrassônico, a fim de obter imagens das nanopartículas antes de sofrerem aglomeração, o que ocorre após um tempo de armazenamento.

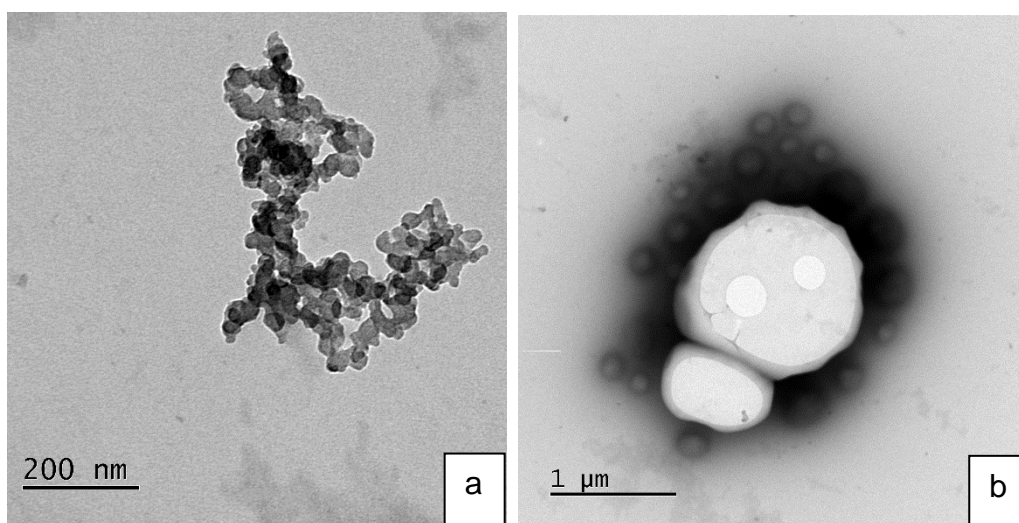


Figura 31 - Microscopia eletrônica de transmissão dos amidos AN (a) e AA60 (b).

A Figura 31 mostra imagens obtidas com MET de nanopartículas de amido nativo (a) e acetilado (b) obtidas a partir do método ultrassônico. As imagens apresentam nanopartículas de formato arredondado sugerindo que o processo de obtenção foi bem-sucedido. As dimensões das partículas foram obtidas com o auxílio do software ImageJ. As medidas revelaram tamanhos médios de partículas de $137,5 \pm 36,5$ nm para nanopartículas de amido nativo e de $30,8 \pm 5,8$ nm para amido acetilado, confirmando a formação de estruturas nanométricas desses materiais.

As micrografias revelam também, que as partículas tendem a se aglomerarem. Possivelmente o tempo de 24h, entre o preparo da grade e a análise, colaborou para a aglomeração das nanopartículas.

A Figura 32 mostra micrografias obtidas com MET de nanocristais de celulose (NCC) obtidas pela hidrólise ácida do algodão. A imagem (a) é de NCC sem processamento ultrassônico e a imagem (b) nanocristais cuja suspensão passou por processamento ultrassônico (NCS). O processamento ultrassônico não interferiu na morfologia das partículas que apresentaram, nos dois casos, formatos alongados conhecidos como *nanowhiskers*.

As dimensões, comprimento e diâmetro, também não sofreram alterações significativas. Com auxílio do software ImageJ as dimensões de comprimento foram estimadas em valores médios de $249,5 \pm 61,9$ nm para NCC e $245,4 \pm 46,0$ nm para NCS, considerando o erro pode-se afirmar que não há diferença significativa entre as médias.

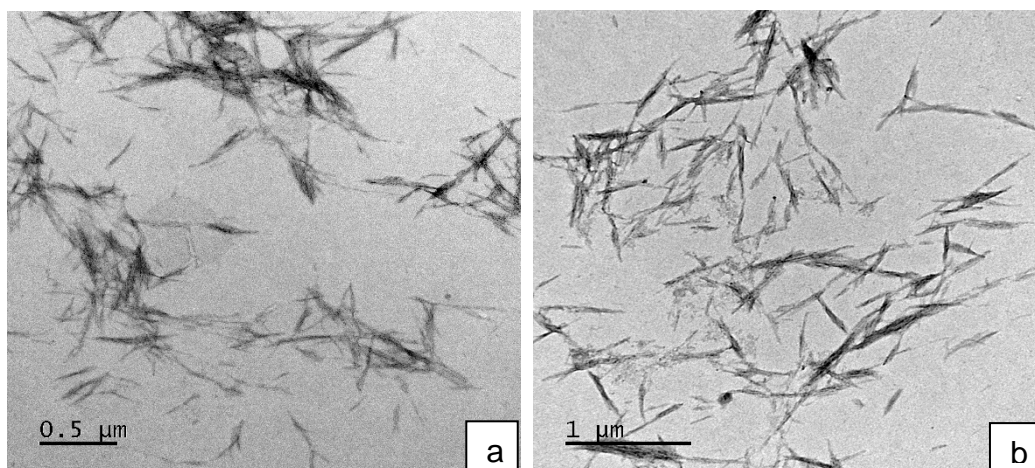


Figura 32 - Microscopia eletrônica de transmissão dos nanocristais de celulose NCC (a) e NCS (b).

As dimensões de diâmetro foram de $18,3 \pm 5,1$ nm para NCC e de $19,0 \pm 4,3$ nm para NCS. Da mesma forma, as médias não apresentaram diferença significativa, considerando o erro. A razão de aspecto comprimento/diâmetro (L/D) foram de 13,6 para NCC e de 12,9 para NCS. Os nanocristais de celulose extraído de plantas apresentam diâmetros médios entre 5 e 20 nm e comprimentos variam entre algumas centenas de nanômetros, afirmou Ng et al., (2021).

Diante do exposto pode-se afirmar que as nanopartículas de amido e os nanocristais de celulosas, apresentam-se em escala nanométrica.

5.2.2. Potencial Zeta e Distribuição do Tamanho de Partículas

As suspensões obtidas a partir do amido de Inhambu, nativo e acetilado, foram submetidas às análises de tamanho de partícula e potencial zeta (Figura 33). Os resultados mostraram que para o amido nativo as nanopartículas apresentaram distribuição de tamanho e percentuais variados (65,4% com 46,29 nm; 26,6% com 342 nm e 8% com 210 nm), totalizando 100% das partículas em escala nanométrica.

Para o amido acetilado, a suspensão analisada apresentou os seguintes resultados de distribuição de tamanho e percentual (82,4% com 69,03 nm; 14,0% com 1869,3 nm e 3,6% com 1473,6 nm), totalizando 82,4% das partículas em escala nanométrica.

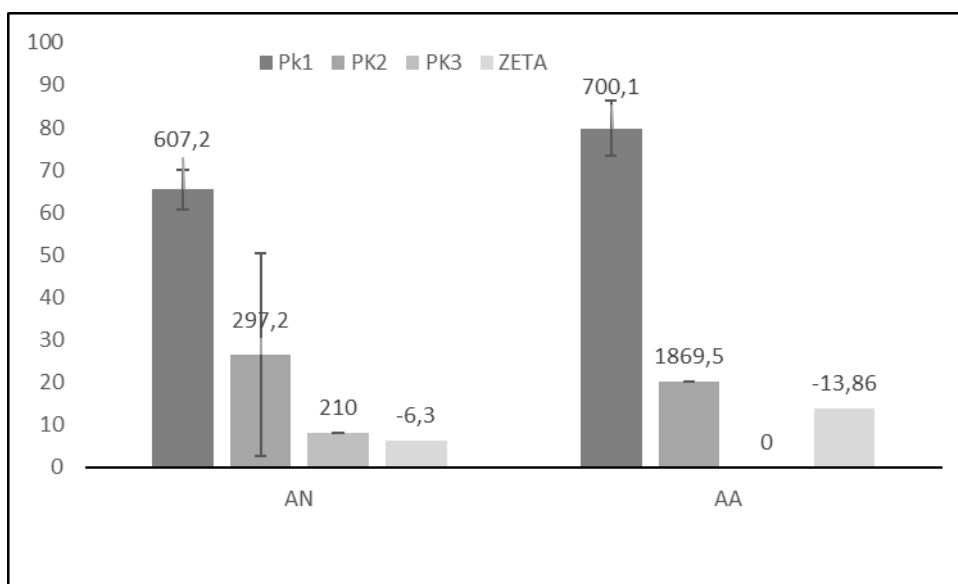


Figura 33 - Potencial zeta e distribuição de tamanho de partículas das nanopartículas de amidos AN e AA60.

O tratamento ultrassônico é um método eficiente, resultando em um bom rendimento, baixo custo e rapidez no processamento, comparadas a processos que utilizam aditivos químicos, como a hidrólise ácida, por exemplo.

O potencial zeta (ζ) para a suspensão de amido nativo ficou em torno de -6,93 mV e para amido acetilado -13,86 mV. Partículas com cargas negativas abaixo de -12 mV, o que ocorre com as nanopartículas citadas acima, apresentam forte tendência à aglomeração enquanto valores de potencial zeta ζ maiores que 30 mV em módulo são consideradas eletricamente estáveis devido às forças de repulsão excederem as forças de atração, mantendo dispersas em solução. Nesse contexto, os nanoamidos produzidos nesse trabalho são consideradas instáveis, podendo sofrer aglomerações durante o armazenamento, por isso devem ser utilizadas imediatamente após a sonicação.

A Figura 34 mostra os valores de distribuição de tamanho e potencial zeta dos nanocristais de celulose, NCC e NCS. O tamanho médio das partículas em suspensão varia com 94,2% dos NCS com $607,2 \pm 43,2$ nm e com 83,7% dos NCC com $700,1 \pm 38,3$ nm.

O potencial zeta encontrado foi de -20,2 mV para NCS e de -19,9 mV para NCC, mostrando que o método ultrassônico também não interferiu nesses valores. Esses valores ressaltam a boa estabilidade dessas partículas em suspensão.

Conforme publicado por Morais et al (2013), suspensões com valores de potencial zeta próximos de 25 mV em módulo são estáveis para aplicação como reforço.

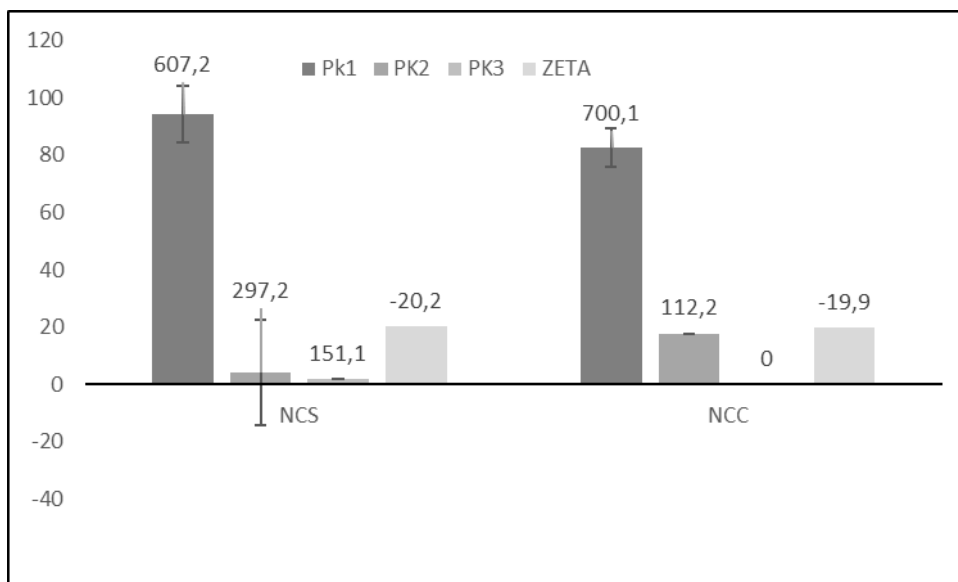


Figura 34 - Potencial zeta e distribuição de tamanho de partículas de nanocristais de celulose NCC e NCS.

Barros et al (2017) encontraram valores de 26,9 mV em módulo, semelhante ao potencial relatado nesse trabalho. Os autores avaliaram o potencial zeta após várias modificações na metodologia de hidrólise, e concluíram que as condições da hidrólise influenciam na carga da superfície dos nanocristais.

Potencial zeta em torno de 33,4 mV em módulo, foi observado por Flores et al (2017) para suspensão de NCC. Esse valor foi justificado pela variação nas condições de hidrólise e/ou pH da suspensão.

Vale ressaltar que as diferenças nos tamanhos médios das partículas obtidos pelo Zeta Size e pela MET, para os nanoamidos, se deve ao fato de nesse último as medidas serem feitas em cada nanopartícula separadamente, enquanto o outro deve realizar medidas de aglomerados em suspensão. Nos dois casos foi possível concluir que as partículas analisadas estão em escala nanométrica.

5.3. Filmes de Amido

Os filmes de amido produzido por *casting* apresentaram textura uniforme com superfície lisa sem nenhum defeito ou fissura visível a olho nu. O filme padrão (FP), com amido e plastificante e os compósitos contendo; nano partículas de amidos nativo (CAN3) e acetilado (CAA3) com 3% em massa e nano partículas de amidos nativo e acetilados 2,5% em massa e nanocristais de celulose 0,5% em massa (CCAN2,5 e CCAA2,5) estão apresentados na Figura 35.

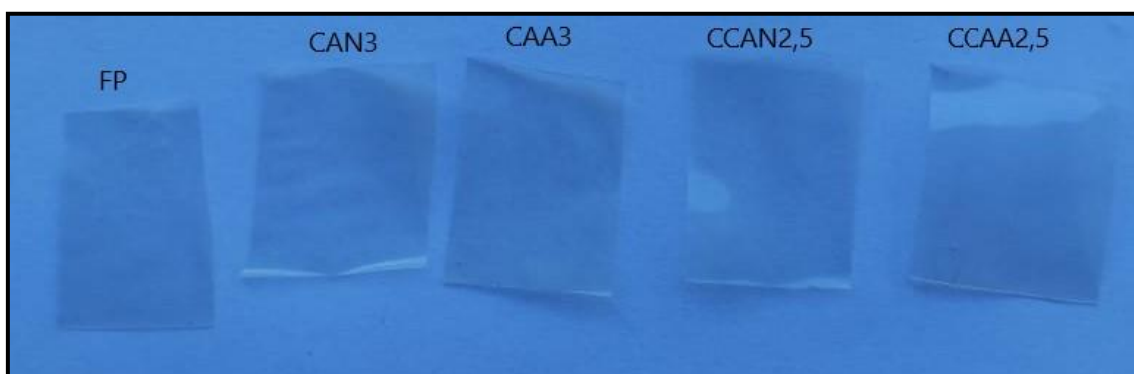


Figura 35 - Filmes FP, CAN3, CAA3, CCAN2,5 e CCAA2,5.

Os filmes padrão (FP) e contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30), que tiveram resultados positivos para os testes de potencial antioxidante e potencial antibacteriano estão apresentados na Figura 36. Esses materiais também apresentaram características visuais limpas, sem fissuras e com superfícies uniformes ao olho nu.

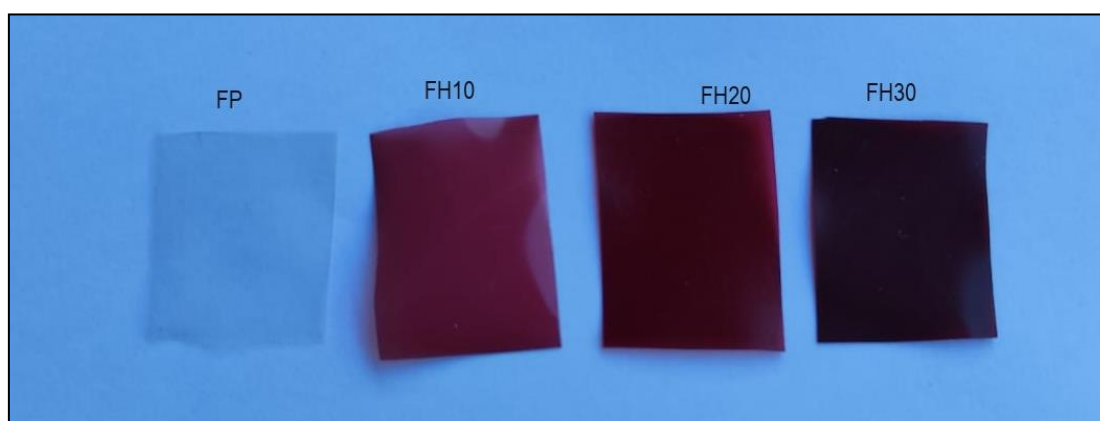


Figura 36 - Filmes FP, FH10, FH20 e FH30.

5.3.1. Solubilidade em água

A maioria das aplicações dos filmes de amido envolve o contato com meios aquosos ou fluidos biológicos. Esta característica mostra como as mudanças nas composições dos filmes influenciam esta propriedade, pois, a solubilidade em água está diretamente relacionada com os seus componentes como, por exemplo, o tipo de estrutura que formam e também com a hidrofiliidade/hidrofobicidade. Para o filme de amido sem aditivo a solubilidade em água foi de 33,76% e com hibisco foi de 27,9%. Esses valores sugerem que o aditivo reduz a solubilidade do filme em água. Por outro lado, a coloração do filme, referente ao aditivo, desapareceu, indicando que o aditivo se despreendeu do filme durante o processo.

5.3.2. Propriedades Térmicas

5.3.2.1. Análise Termogravimétrica – TG

A técnica termogravimétrica pode fornecer informações sobre umidade e temperatura de decomposição. As curvas TG do filme de amido padrão (FP) e contendo 30% hibisco (FH30) estão apresentadas na Figura 37. É possível observar que houve uma perda mais acentuada de água em torno dos 100b°C para a amostra FP, que possivelmente tenha as moléculas de água ligada mais intensamente a estrutura molecular do filme. As duas amostras apresentaram maior perda de massa entre 300 e 350 °C e o resíduo final é maior para a amostra FH30, provavelmente resultante da massa de extrato de hibisco adicionado. Na curva DTG, Figura 38, pode-se observar que a temperatura máxima de degradação para a amostra FP é de 357 °C e para amostra FH30 é de 360 °C, valores bem próximos, mas a diferença também pode estar associada a adição do extrato de hibisco, provavelmente por estar interagindo mais forte com a estrutura do filme.

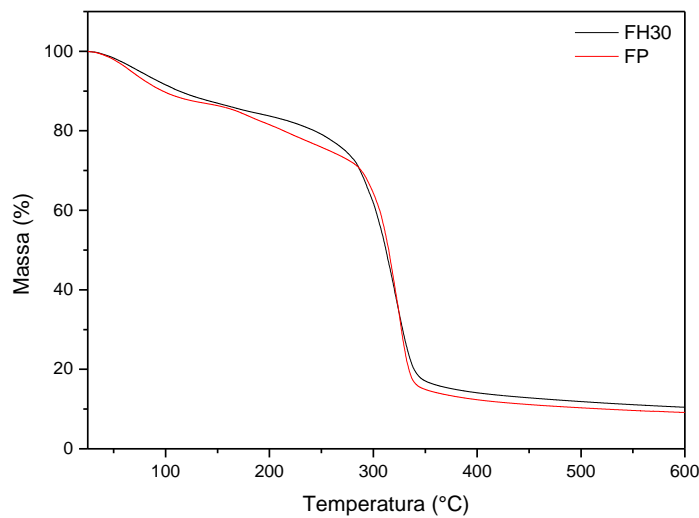


Figura 37 - Curvas TG dos filmes FP e FH30.

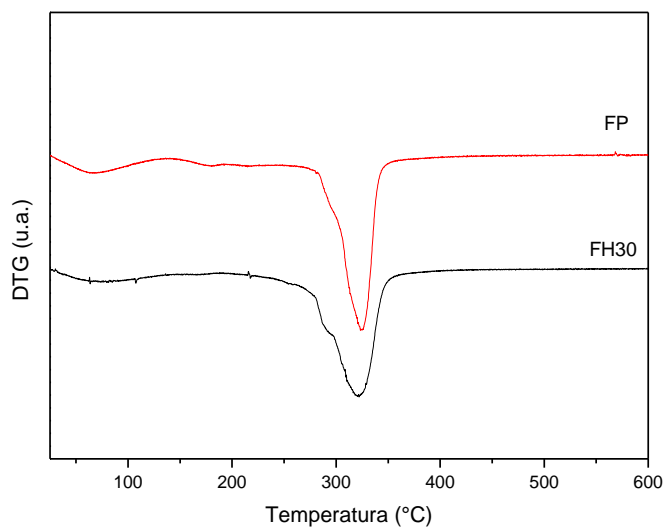


Figura 38 - Curvas DTG dos filmes FP, FH30.

5.3.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

A Figura 39 mostra o padrão de curva DSC para os filmes de amido padrão (FP), reforçados com nanoamido nativo (CAN3) e acetilado (CAA3) e reforçados com nano cristais de celulose e nanoamido nativo (CCAN2,5) e acetilado (CCAA2,5). Observando o primeiro pico endotérmico, houve uma pequena redução nos valores de temperatura para os filmes CAA3 e CAN3 em relação a amostra FP.

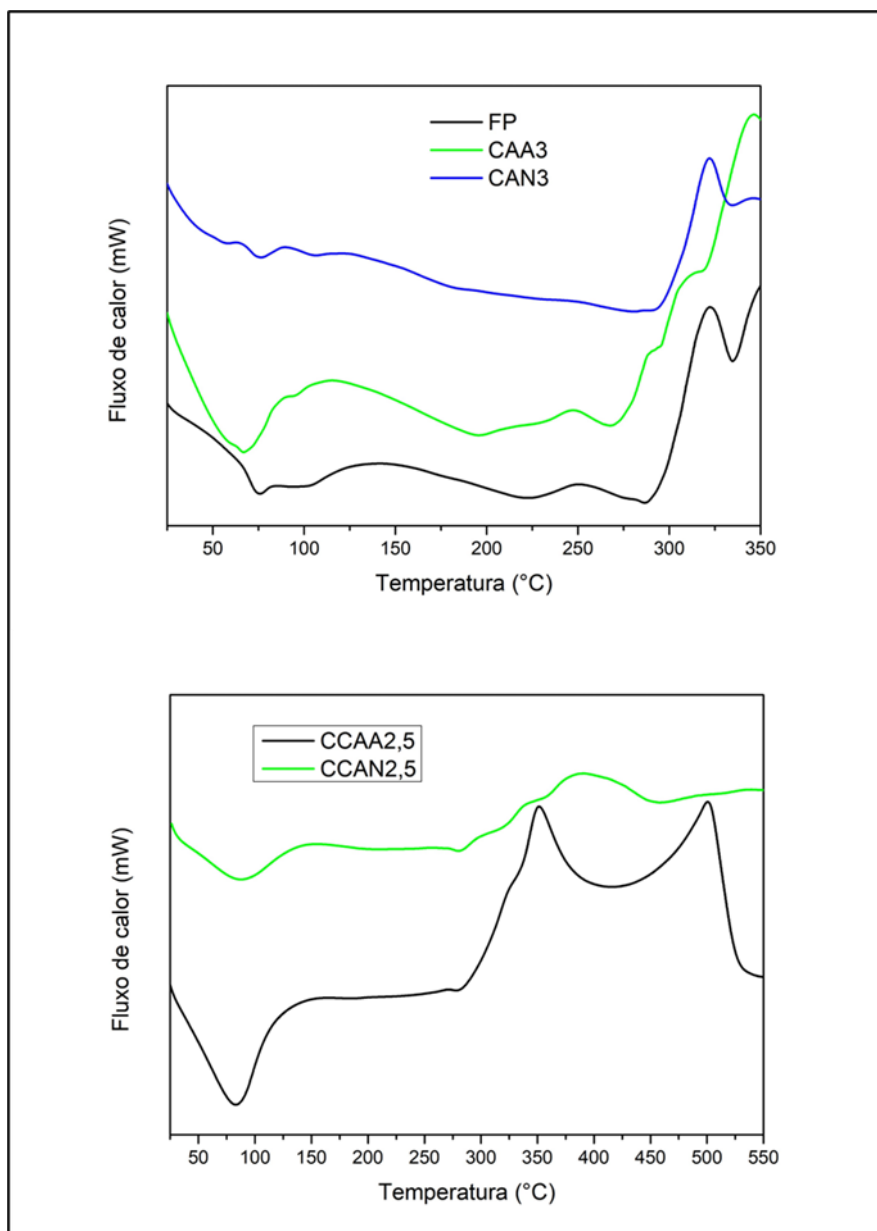


Figura 39 - Curvas DSC para os filmes FP, CAN3, CAA3, CCAN2,5 e CCAA2,5.

Comparando o filme padrão (FP) com os filmes reforçados com nanoamido e nanocristais de celulose (CCAN2,5 e CCAA2,5) observa-se um aumento na temperatura no primeiro evento endotérmico. Esse evento está associado a mudança de fase do polímero e saída de água residual, que atua na formação de interações entre as cadeias poliméricas.

A redução na estabilidade térmicas para os filmes contendo nanoamido nativo e acetilado, deve estar relacionada ao aumento da rigidez do polímero resultante das interações com as nanopartículas.

Para os filmes contendo NCC, houve um aumento de temperatura para o primeiro evento. Este fato pode estar relacionado com as interações mais fortes entre as cadeias poliméricas e os nanocristais de celulose e entre este e a água. Os picos acima dos 300°C estão relacionados a decomposição térmica dos polímeros em discussão.

5.3.3. Permeabilidade ao vapor de água

Os filmes de amido possuem caráter hidrofílico oferecendo baixa ou média resistência a água, permitindo a permeação ao vapor d'água. Materiais com alta resistência ao vapor de água são utilizados para embalagem de alimentos frescos ou congelados evitando a perda de água na superfície. O caráter hidrofílico dos filmes de amido oferece baixa permeabilidade ao oxigênio, propriedade desejável para diminuir a taxa de respiração de frutas retardando seu amadurecimento (DEBEAUFORT et al., 1998).

A Figura 40 mostra a variação na permeabilidade ao vapor de água para as diferentes formulações de filmes.

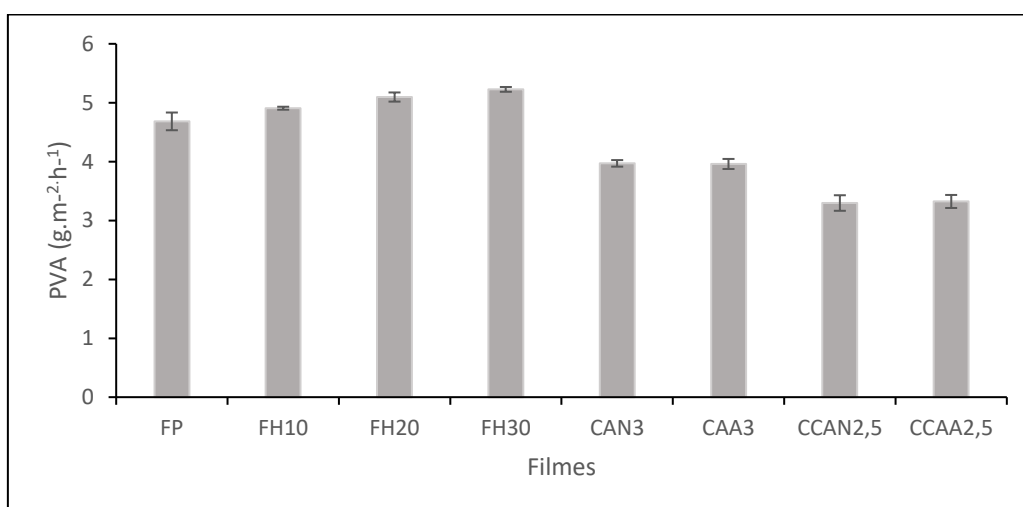


Figura 40 - Permeabilidade ao vapor de água dos filmes FP, FH10, FH20, FH30, CAN3, CAA3, CCAA2,5 e CCAN2,5.

Os filmes contendo extrato de hibisco (FH10, FH20, FH30) apresentaram um leve aumento na permeabilidade ao vapor de água (PVA) em relação ao filme padrão (FP). O aumento na concentração de extrato favoreceu a permeabilidade, e o valor cresce com o aumento percentual de extrato nas formulações (Figura 40). É possível que esse aumento de massa esteja

relacionado ao acúmulo de água junto às moléculas que compõe o extrato de hibisco, uma vez que este é higroscópico.

Para os filmes reforçados com nanoamidos e NCC houve uma diminuição na PVA comparados ao filme padrão. Para as formulações reforçadas com 3% nanoamido nativo (CAN3) e acetilado (CAA3) houve uma diminuição significativa na PVA comparado ao FP, mas não houve diferença significativa entre eles. Dessa forma, pode-se afirmar que as nanopartículas de amido nativo e acetilado forneceram as mesmas características de permeabilidade aos filmes.

Para os filmes contendo 2,5% de nanoamido nativo e acetilado e 0,5% de nano cristais de celulose (CCAN2,5; CCAA2,5) é possível observar menores valores de PVA em comparação com as demais formulações, e sem variações significativas entre eles. A diminuição na permeabilidade foi ainda maior comparados aos filmes reforçados somente com nanoamido, provando que a presença de NCC aumentou resistência a passagem de vapor de água. As nanopartículas e nanocristais provocam um aumento na intensidade das interações entre as cadeias poliméricas criando barreiras para impedirem a difusão das moléculas de água através do filme, diminuindo a PVA (Mittal et al., 2016; Monteiro et al., 2018). A presença de reforço em escala monométrica funciona como um obstáculo, oferecendo um caminho tortuoso para as moléculas de água passarem dificultando a PVA (JIANG et al., 2016). Guimarães et al. (2016) também relataram diminuição de PVA de filmes de amido com incorporação de celulose microfibrilada a partir de cenouras. Almeida et al., 2020 observaram uma redução significativa da PVA para filmes reforçados com nanoamido e nano partículas de proteínas.

5.3.4. Ensaio Mecânico e Medida de Espessura

O uso de reforços em materiais poliméricos pode melhorar as propriedades mecânicas do material quando existir interações entre a matriz e a carga. Dessa forma o reforço atua conferindo ao material resistência à ação de determinados tipos de esforços, como a tração e compressão.

No ensaio mecânico das amostras produzidas neste trabalho foram analisadas as seguintes variáveis: força máxima na ruptura, deformação e módulo de elasticidade dos filmes produzidos.

Tabela 6 - Dados de espessura e de ensaio mecânico dos filmes de amido padrão (FP), dos reforçados com nanoamido (CAA3, CAN3), nanocristais (CCAA2,5, CCAN2,5) de celulose e contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30).

Amostras	Espessura (mm)	Força Máxima (N)	Deformação (%)	Módulo de elasticidade
FP	0,23 ± 0,05 ^a	8,9 ± 1,1 ^b	33,2 ± 7,9 ^h	142,6 ± 48,2 ⁱ
CAA3	0,26 ± 0,06 ^a	16,35 ± 1,7	23,6 ± 3,8 ^h	341,6 ± 106,2 ^j
CAN3	0,25 ± 0,07 ^a	27,8 ± 5,3 ^d	18,9 ± 1,9 ^h	532,0 ± 126,0 ⁱ
CCAN2,5	0,29 ± 0,07 ^a	23,7 ± 2,3 ^c	22,2 ± 2,5 ^h	660,3 ± 31,9 ^j
CCAA2,5	0,26 ± 0,04 ^a	22,6 ± 3,4 ^c	12,7 ± 1,7 ^g	610,1 ± 43,3 ^j
FH10	0,22 ± 0,7 ^a	9,3 ± 2,5 ^b	43,4 ± 5,3 ^f	113,2 ± 18,0 ⁱ
FH20	0,24 ± 0,7 ^a	8,7 ± 3,3 ^b	57,4 ± 3,2 ^e	133,2 ± 23,1 ⁱ
FH30	0,24 ± 0,3 ^a	10,6 ± 4,4 ^b	68,3 ± 4,7 ^e	118,3 ± 11,5 ⁱ

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey com nível de confiança de 95% de probabilidade.

A Tabela 6 mostra os dados de espessura e dos ensaios mecânicos das amostras de filmes. Comparando os resultados entre o filme padrão (FP) e os filmes reforçados com nanoamido (CAA3 e CAN3) e os reforçados com nanoamido e nanocristais de celulose (CCAN2,5 e CCAA2,5) é possível observar que não houve variação na espessura dessas amostras. No entanto, o ensaio mecânico mostrou um aumento da resistência para os filmes reforçados com nanoamidos e nanocristais, através dos valores de força máxima na ruptura. A distribuição nas nanopartículas na matriz polimérica aumentou a resistência do material e diminuiu a elasticidade deixando o material mais rígido conforme os valores referentes a de deformação na ruptura e o módulo de elasticidade. Os filmes reforçados apresentaram maior resistência a tração, no entanto diminuiu sua elasticidade e aumentou a rigidez.

Para os filmes contendo extrato de hibisco (FH10, FH20 e FH30), comparados ao filme padrão, pode-se observar um aumento na deformação através dos valores de deformação na ruptura. Para os demais valores de espessura e força máxima não houve diferença significativa. O aumento na deformação das amostras, proporcional ao percentual de aditivo, pode estar relacionado ao efeito plastificante do extrato de hibisco nos filmes. As estruturas moleculares das antocianinas dispõem de vários grupos hidroxilas que pode interagir através de ligação de hidrogênio com as cadeias de amilose e amilopectina aumentando a flexibilidade da matriz polimérica (EDHIREJ et al., 2017). A adição de aditivos e

modificadores reduz as intensas interações entre amilose e amilopectina que ocorrem por ligações de hidrogênio (IBRAHIM et al., 2019)

Filmes de amido de mandioca contendo extrato de jamelão, apresentaram maior deformação e menor força na ruptura para maiores concentrações do aditivo (QUEIROZ et al., 2021). Tal fato poderia estar relacionado à interação dos açúcares e compostos fenólicos presentes no extrato da fruta, os quais, junto ao glicerol, podem ter atuado como um plastificante extra.

Observou-se a capacidade do plastificante e do extrato em aumentar a deformação na ruptura dos filmes. Comportamentos similares foram relatados por Cunha (2017), acerca do filme de amido de mandioca adicionado de extrato de própolis (28,39%); Souza et al. (2012), com o filme de amido de mandioca adicionado de polpas de manga e acerola (72,45%); Rodríguez et al. (2006), com o filme de amido de batata com surfactante (31,5%), e Souza et al. (2012), com o filme à base de proteínas miofibrilares de carne bovina (17,94%), com a utilização de glicerol como agente plastificante em diferentes concentrações (0 a 75%).

Na análise de compostos fenólicos, pode-se verificar que o filme com maior teor (2,99 mg GAE/g de filme) é aquele incorporado com maior concentração de extrato aquoso de jamelão (44,1%) (QUEIROZ et al., 2021). Resultados similares foram reportados na literatura para filmes formulados com extrato de própolis. Cunha (2017), com o filme de amido adicionado de 30 e 60% de extrato etanólico de própolis, obteve teor de fenóis de 4,183 e 5,525 mg GAE/g de filme, respectivamente. Bodini (2011) relatou teor de 8,8 mgGAE/g de filme para formulação elaborada com gelatina como matriz principal e adição de extrato etanólico de própolis.

A mudança na rigidez dos filmes devido à presença de reforço observadas por vários autores podem ser atribuídas a escala nanométrica desses reforços que permite com que se forme fortes redes de interações com a matriz polimérica (DO LAGO et al., 2021).

5.3.5. Avaliação da atividade dos filmes com aditivos naturais

O potencial antioxidante mede a capacidade que determinado material tem de sequestrar radicais produzidos pelo processo de oxidação dos produtos

embalados. Entre os diversos materiais estudados para essas finalidades, estão os filmes de amido com aditivos naturais. Os filmes de amido de Inhambu, produzidos nesse trabalho foram aditivados com diferentes percentuais (em relação a massa de amido) de extrato de hibisco e óleo de pimenta rosa a fim de avaliar suas atividades antioxidantes e antibacterianas.

5.3.5.1. Atividade antioxidante

Os filmes contendo diferentes percentuais e tipos de aditivo foram identificados com códigos, conforme Tabela 1.

Seguindo a metodologia descrita no item 4.9.8, foi construída uma curva de DPPH, como mostra a curva apresentada na Figura 41.

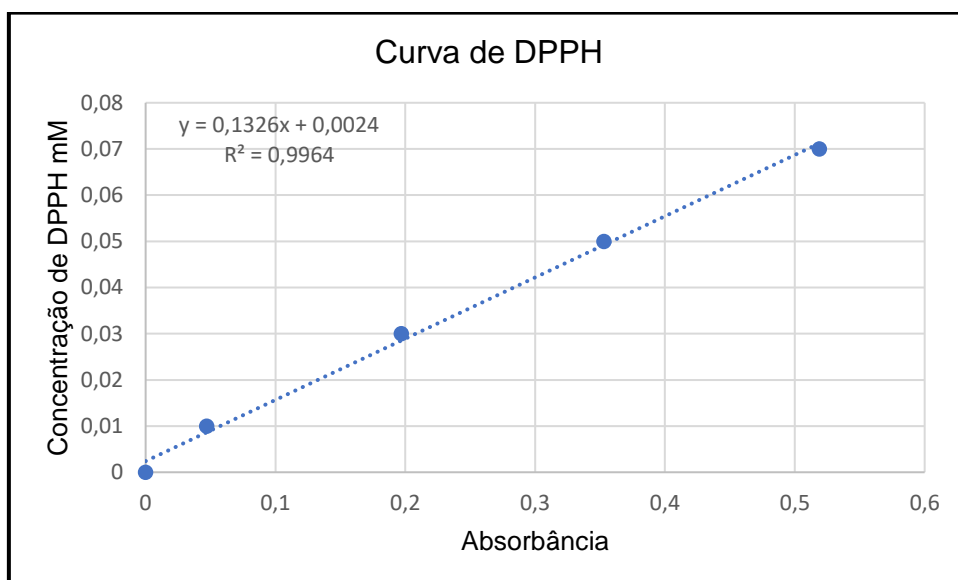


Figura 41 - Curva de DPPH e absorbância

Com os valores das absorbâncias das amostras e da solução controle foi possível calcular a percentagem de inibição de radicais DPPH (Captura de DPPH) através da Equação 10 e os resultados estão apresentados na Tabela 7. A percentagem de DPPH remanescente foi calculada pela diferença entre a percentagem total de radical no início da reação e percentagem de radical capturado através da Equação 11.

$$DPPH_{remanescente}(\%) = 100 - \%In \quad (11)$$

Tabela 7 - Valores de DPPH remanescentes e captura de radicais DPPH.

Amostra	%DPPH remanescente	Captura de DPPH (%)
FH10	86,0	14,0
FH20	66,6	33,4
FH30	48,7	51,3

Após o cálculo da porcentagem de radical remanescente, foi obtida a equação da reta que correlaciona a concentração final de extrato de hibisco com a porcentagem de DPPH remanescente. Com isso, foi obtido o gráfico de concentração inibitória IC₅₀. Com a equação 12, foi calculada a concentração de antioxidante necessária para que haja 50% de DPPH remanescente no sistema (IC₅₀)

$$IC_{50} = (50 - b) \div a \quad (12)$$

Onde:

b = interceptação do eixo y

a = inclinação da reta

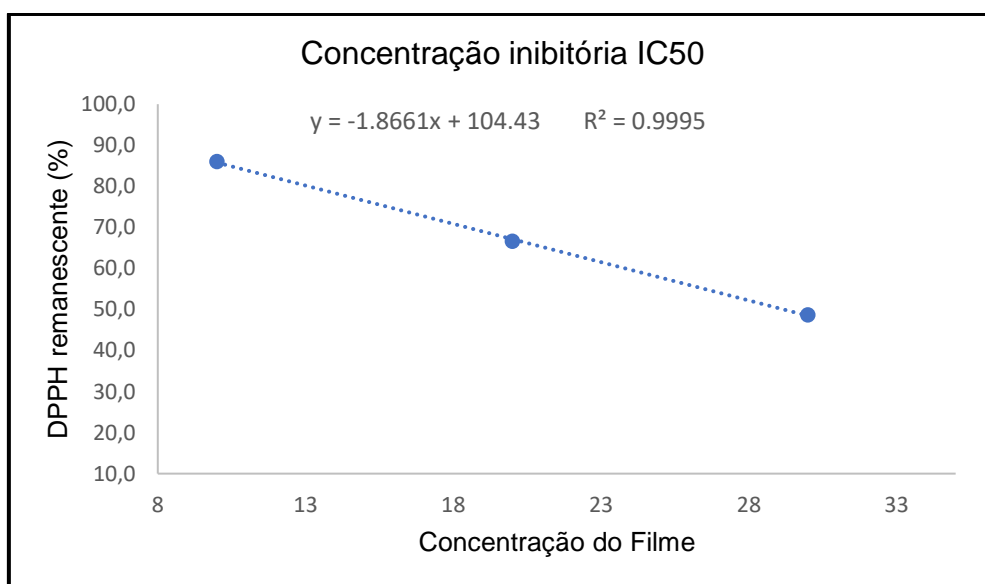


Figura 42–Concentração inibitória para DPPH remanescente 50%.

Com a equação da reta, o valor calculado para concentração de extrato de hibisco necessário para que a concentração de DPPH permanecesse, pela metade, foi de 29,17 mg.L⁻¹.

A atividade antioxidante está relacionada com a capacidade de desativar moléculas reativas de oxigênio singlete (EROs), protegendo, assim, a membrana da ação de peroxidação lipídica. A antocianina é capaz de estabilizar as EROs, mediante a reação do seu grupo hidroxil com o radical, isso faz com que este fique inativo (Castro et al. 2004). O extrato hidroalcolólico apresenta atividade antioxidante por ter maiores teores de compostos fenólicos e antocianinas, pertencentes à família dos grupos de flavonoides, responsável pela pigmentação (vermelha) natural da planta, ajudando na prevenção e redução de várias doenças. Os alimentos que possuem mais compostos fenólicos e antocianinas apresentam maior percentual de atividade antioxidante (Sobota et al, 2016). Desta forma, é possível afirmar que a atividade antioxidante dos filmes contendo extrato de hibisco (*Hibiscus rosas-sinensis*) correlaciona-se com o teor de metabólitos fenólicos presentes nestes aditivos (Silva et al, 2019).

5.3.5.2. Atividade antibacteriana

As atividades antibacteriana dos filmes listados na Tabela 1, foram determinadas pela metodologia descrita 4.9.9.

As amostras dos filmes contendo óleo de pimenta rosa não apresentaram formação de halo de inibição para nenhum dos microrganismos, *Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus* (Figura 43). O óleo comercial utilizado, provavelmente apresenta baixa atividade antibacteriana, frente ao óleo essencial, e no filme essa atividade se manifestou muito discretamente.

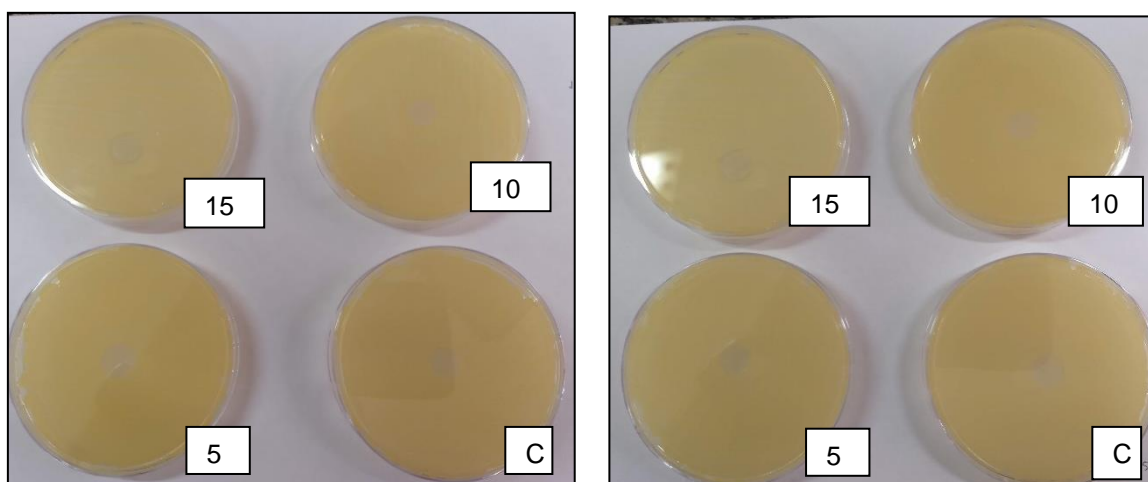


Figura 43 - Atividade antibacteriana por difusão em disco para filmes contendo óleo de pimenta rosa em diferentes percentuais.

A amostra de filme contendo 15% de óleo apresentou uma leve formação de halo de inibição frente a *E. Coli* quanto ST, sugerindo uma baixa atividade para esse material. Nenhuma formação de halo foi observada para as amostras contendo 5% e 10% de óleo e nem para o controle (Figura 43).

As amostras contendo extrato de hibisco apresentaram atividade antibacteriana com formação de halo de inibição para *Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus*. Os diâmetros dos halos formados para cada amostra variaram com o percentual de extrato de hibisco (Figura 44).

Para as amostras com 10, 20 e 30% de extrato (Figura 44), os halos formados são bem perceptíveis, com seus diâmetros proporcionais a concentração de aditivo, conforme valores apresentados na Tabela 8.

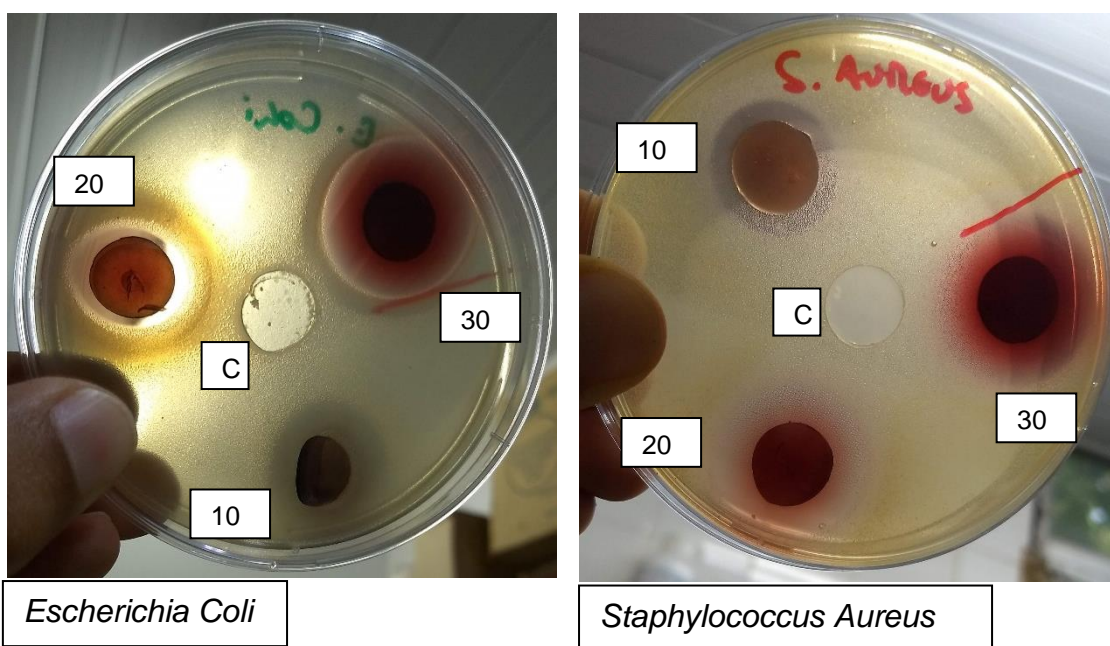


Figura 44 - Atividade antibacteriana por difusão em disco para filmes FH10, FH20 e FH30.

Tabela 8 - Medidas dos diâmetros dos discos e dos halos de inibição para FH10, FH20 e FH30.

Amostra	Diâmetro do disco (mm)	Diâmetro do halo para <i>E. Coli</i> (mm)	Diâmetro do halo para <i>S. Aureus</i> (mm)
FH10	10	12	16

FH20	10	16	22
FH30	10	19	28

Para as amostras com 5% de extrato de hibisco, a formação do halo foi muito discreta, praticamente imperceptível (Figura 45).

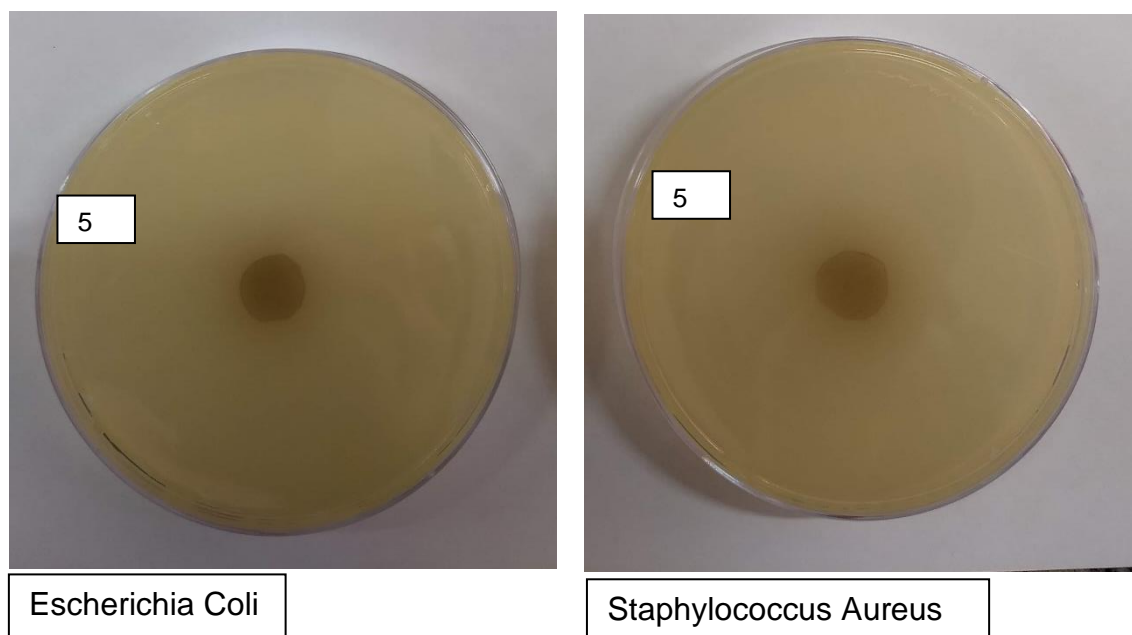


Figura 45 - Atividade antibacteriana por difusão em disco para filmes contendo extrato de hibisco (5%).

A formação de um halo de inibição está relacionada à ausência de crescimento do microrganismo e difusão do antimicrobiano em meio sólido (GOUVÊA et al., 2015). Segundo Moreira et. al (2005), halos de 9-14 mm são considerados sensíveis; entre 15-19 mm são considerados muito sensíveis. Os valores dos halos demonstram um maior potencial antibacteriano das amostras frente ao *Staphylococcus Aureus*.

Segundo Toledo (2000), a formação do halo de inibição está relacionada com a difusão do antimicrobiano e com a velocidade de crescimento do microrganismo. Os fatores que podem influenciar a difusão do antimicrobiano no meio são: a composição do ágar e as interações que ocorrem entre o antimicrobiano e o filme (ALMEIDA et al., 2013).

Espíndola Sobczyk et al. (2021), produziram filmes com óleo essencial de orégano que exibiram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*, mostrando eficiência do óleo como agente antimicrobiano.

Santos et al. (2019), relataram que emulsões filmogênica de quitosana e óleos essenciais apresentaram propriedades antimicrobianas em diferentes espectros de ação. Com isso, os resultados sugerem que filmes de quitosana incorporados aos óleos essenciais de cravo-da-índia e de melaleuca podem ser empregados para aplicações de cicatrização de feridas.

Brixner et al (2022), relata que filmes com atividades antibacterianas possuem alto potencial para aplicações biomédicas, em especial como material cicatrizante.

As plantas exercem atividade antibacteriana e associam-se à capacidade de produzir compostos fitoquímicos para se protegerem contra uma diversidade de microrganismos (MAHADEVAN, et al, 2009). A literatura descreve a atividade antibacteriana de compostos fenólicos presentes no Hibisco frente às bactérias Gram positivas (LIU, et al, 2005). Dessa forma podemos afirmar que a atividade antibacteriana dos filmes está relacionada a concentração de extrato de hibisco contendo compostos fenólicos que mantiveram suas composições químicas e propriedades biológicas após adicionados aos filmes.

6 COCLUSÕES

Os resultados obtidos na extração e caracterização do amido indicam que esse material pode ser aplicado na produção de filmes e utilizado para fins alimentícios. As características físico-químicas se assemelham as dos amidos de outros tubérculos, com o DRX mostrando picos característicos da estrutura tipo B. A microscopia revelou grânulos de formas ovais, lembrando um grão de feijão, com geometria bem definidas sem muitas impurezas ou fissuras. O teor de amilose e de umidade estão dentro do esperado para farinhas vegetais comerciais.

Os amidos modificados a 50 e 60 °C apresentaram grau de substituição semelhante aos encontrados em outros trabalhos, sugerindo aplicações diversas para esses materiais, além de apresentarem alterações significativas nas suas características físico-químicas, comparadas ao amido nativo. O amido modificado a 40 °C apresentou baixo grau de substituição e não apresentou diferenças significativas em algumas características físico-químicas.

O filme obtido a partir do amido de Inhambu e glicerol apresentou boas características visuais, um bom desempenho mecânico e boas características fitoquímicas. Os filmes reforçados apresentaram alterações significativas nas propriedades mecânicas com o aumento de resistência e diminuição da elasticidade, no ensaio de tração. Nas características físico-químicas houve mudanças significativas na permeabilidade ao vapor de água e nas propriedades térmicas.

Os filmes contendo extrato de hibisco e óleo de pimenta rosa apresentaram boas características visuais e de textura. Os resultados dos testes de potenciais antioxidantes e antibacterianos foram positivos para os filmes contendo extrato de hibisco, com valores interessantes para os filmes com 10, 20 e 30% do aditivo. Houve também, variações nas propriedades físico-químicas como a permeabilidade e solubilidade e pouca variação nas propriedades térmicas. Nas propriedades mecânicas, houve variações consideráveis na elasticidade dos filmes com extrato de hibisco, observadas nos valores de deformação na ruptura.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC, Approved methods of the American Association of Cereal Chemistry, in Method 61-032000, AACC: St. Paul.

ADEBOWALE, K. O.; AFOLABI, T. A.; OLUOWOLABI, B. I. Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, p. 93–101, 2006.

ALDÃO, D. C.; ULBRICH, P.; MENSÍKOVÁ, E. Starch nanoparticles – two ways of their preparation. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 36, n. 2, p. 133–138, 2018.

ALIYU, M.; HEPHER, M. J. Effects of ultrasound energy on degradation of cellulose material. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 7, n. 4, p. 265–268, 2000.

ALMEIDA, G. W. R. et al. In vitro antimicrobial efficiency of cellulose based nanocomposites against food born pathogens. **Higiene Alimentar**, v. 27, p. 2058-2062, 2013.

ALMEIDA, R. L. J.; PEREIRA, T. S.; FREIRE, V. A.; SANTIAGO, A. M.; OLIVEIRA, M. O.; CONRADO, L. S.; GUSMÃO, R. P. Influence of enzymatic hydrolysis on the properties of red rice starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 141, p. 1210–1219, dez. 2019.

ALVES, R., GROSSMANN, M. y SILVA, R. Gelling properties of extruded yam (*Dioscorea alata*) starch. **Food Chemistry** 67:123-127. 1999.

ANDRADE, F. J. L.; et al. Anais do **XII Simposio de Plantas Medicinais do Brasil**, 1992.

ANDRADE, L., A.; BARBOSA, N., A.; PEREIRA, A. Rendimento e características dos amidos de inhame e de taro. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, p. 237-243, 2021.

ANJOS, C. J.; GONÇALVES, M. P. M.; SILVA, V. N.; TIRAPELI, K. G.; PEREIRA, A. P. F.; NAKAMUNE, A. C. M. F. Estudo in vitro da atividade antioxidante de *Hibiscus Sabdariffa*. **Revista Saúde Uni Toledo**. Vol. 01, n. 01, pág. 20-30. São Paulo, 2017.

ARAÚJO, A. A. S.; MERCURI, L. P.; SEIXAS, S. R. S. STORPIRTIS, S.; MATOS, J. R. - Braz. J. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p.269, 2006.

ATTRI, P.; ARORA, B.; CHOI, E. H. Retraction: Utility of plasma: a new road from physics to chemistry. **RSC Advances**, v. 7, n. 26, p. 15735–15735, 2017.

AZEREDO, H.; FARIA, J.; AZEREDO, A. Embalagens Ativas para alimentos. **Food Science and Technology**, Campinas, v.20, n. 3, p.337- 341, 2000.

BADER, H. G.; GÖRITZ, D. Investigations on high amylose corn starch films. Part 1: Wide angle X-ray scattering (WAXS). **Starch/Stärke**, v. 46, n. 6, p. 229-232, 1994.

AZEVEDO, L., C.; DE SÁ, A., S., C.; ROVANI, S.; FUNGARO, D., A. Propriedades Do Amido E Suas Aplicações Em Biopolímeros. **Caderno de Prospecção**, Salvador, v. 11, Edição Especial, p.351-358, 2018.

BAKER, A.A.; MILES, M. J.; HELBERT, W. Internal structure of the starch granule revealed by AFM. **Carbohydrate Research**, v.330, p.249-256, 2001.

BALDWIN, E. A.; CARRIEDO, M. O. (Ed.). Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster (USA): **Technomic Publishing**, p.1-25, 1994.

BANURA, S.; THIRUMDAS, R.; KAUR, A.; DESHMUKH, R. R.; ANNAPURE, U. S. Modification of starch using low pressure radio frequency air plasma. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 719–724, mar. 2018.

BARDI, M. A. G.; ROSA, D. S. Avaliação da biodegradação em solo simulado de poli (ϵ -caprolactona), acetato de celulose e suas blends. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, São Paulo, v. 26, n. 1, p.43-47, 2007.

BARROS, L. P. R. C. Obtenção de nanocelulose por hidrólise ácida e enzimática de fibras de algodão de resíduo de tecido tingido com corante índigo. 127f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia mecânica, **Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, Natal-RN, Brasil, 2017.

BATISTA, W. P.; SILVA, C. E. M.; LIBERATO, M. C. Propriedades químicas e de pasta dos amidos de trigo e milho fosforilados. **Food Science and Technology**. v. 30, n. 1, 2010.

BAXTER, S.; ZIVANOVIC, S.; WEISS, J. Molecular weight and degree of acetylation of high-intensity ultrasonicated chitosan. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 5, p. 821–830, 2005.

BIQUET, B.; LABUZA, T. P. Evaluation of the moisture permeability characteristics of chocolate films as an edible moisture barrier. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 4, p. 989-998, 1988.

BISWAS, A.; SHOGREN, R. L.; SELLING, G.; SALCH, J.; WILLETT, J. L.; BUCHANAN, C. M. Rapid and environmentally friendly preparation of starch esters. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 1, p. 137-141, 2008.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2ª ed., São Paulo: p 151 . Varela, 1995.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos: pigmentos**. 2ª ed.,Campinas: p 105-120, Varela, 1995.

BOLUMAR, T., ANDERSEN, M. L., ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v.129, p. 1406–1412, 2011.

BORDES, P.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Nano-biocomposites: Biodegradable Polyester/Nanoclay Systems. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 125-155, 2009.

BOUSALEM, M., VIADER, V., MARIAC, C., GOMEZ, RM., HOCHU, I., SANTONI, S.; DAVID , J. Evidence of diploidy in the wild Amerindian yam, a putative progenitor of the endangered species *Dioscorea trifida* (Dioscoreaceae). **Genome**, vol. 53, no. 5, p. 371-383, 2005

BOVINI MG, CARVALHO-OKANO RM, VIEIRA MF. Malvaceae A. **Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais**, Brasil. *Rodriguésia*, v 52, nº 81, p 17-47. 2001.

BRASILEIRO O. L. Comparação das propriedades funcionais de amido de inhame (*Dioscorea cayennensis*) nativo e modificado por acetilação e succinilação. João Pessoa: UFPB, 2006. 88 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, **Universidade Federal da Paraíba**. João Pessoa, 2006.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.

Brixner, B.; Silva, C. M.; Pollo, L. D.; Renner, J. D. P. Antimicrobial activity of chitosan associated with essential oils in biomedical application: an integrative review. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 14, 2022.

BROUILLARD R.; WIGAND M.C.; DANGLES O. pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. **Journal Chemical Society Perkin Trans**. v.2, p.1235-1241, 1991.

BROUILLARD, R.; HARBORNE. J. B. The Flavonoids. London: **Ed. Chapman and Hall**, p 525-538, 1988.

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

CADIOLI, L.; SALLA, L. Nanotecnologia: Um Estudo Sobre Seu Histórico, Definição e Principais Aplicações Desta Inovadora Tecnologia. **Revista de Ciências Exatas e Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 98-105, 2006.

CAI, C. et al. Structural changes of chemically modified rice starch by one-step reactive extrusion. **Food Chemistry**, v. 288, p. 354–360, ago. 2019.

CAMERON, M.; MCMASTER, L. D.; BRITZ, T. J. Electron microscopic analysis of dairy microbes inactivated by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 6, p. 960–964, set. 2008.

CAO, G. Nanostructures & Nanomaterials - Synthesis, Properties & Applications. **1º. ed. Covent Garden: Imperial College Press**, 2004.

CARLSEN, C.; STAPELFELDT, H. Light sensitivity of elderberry extract. Quantum yields for photodegradation in aqueous solution. **Food Chemistry**, v. 60, p. 383-387, 1997.

CASCON, S.C.; CARVALHO, M.P.M.; MOURA, L.L. Corantes de batata doce roxa para uso em alimentos. **infoteca.cnptia.embrapa.br, EMBRAPA**, 1984

CASTRO N. E. A.; PINTO J, E. B. P.; CARDOSO M. G.; MORAIS A. R.; BERTOLUCCI S. K. V.; SILVA F. G. Planting time for maximization of yield of vinegar plant calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, n. 28, n, 3, p. 542-51, 2004.

CASTRO-BADER, M., S. Filmes Comestíveis: Uma Breve Revisão. **Ciências e Tecnologias de Alimentos**, v. 6, p. 89-105, 2023

CEREDA, M.; VILPOUX, O.F. - “Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas”, **Fundação Cargill**, São Paulo 2003.

CEREDA, M.P.; FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, J.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; VILPOUX, D.F.; SARMENTO, S.B.S. Propriedades gerais do amido. Campinas, **Fundação Cargill**, 2001.

CHANG, Y. et al. High efficiency and low cost preparation of size controlled starch nanoparticles through ultrasonic treatment and precipitation. **Food Chemistry**, v. 227, p. 369–375, jul. 2017.

CHAU, C.F.; WU, S.H.; YEN, G. C. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 18, n. 5, p. 269-280, 2007.

CHEMAT, F.; ROMBOUT, N.; MEULLEMIESTRE, A.; TURK, M.; PERINO, S.; TIXIER, A. S. F.; VIAN, M. A. Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction Innovative. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, v 41, p. 357-377, 2017.

CHI, H.; XU, K.; CHEN, Q.; XUE, D.; SONG, C.; ZHANG, W.; WANG, P. Effect of acetylation on the properties of corn starch. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 923-928, 2008.

CHIELLINI, E. & SOLARO, R. Environmentally Degradable Polymers and Plastics. An Overview, in: Anais do International Workshop on **Environmentally Degradable and Recyclable Polymers in Latin America** , p. 15-20, Campinas, 1998.

CHIESA, M.; GARG, J.; KANG, Y. T.; CHEN, G. Thermal conductivity and viscosity of water-in-oil nanoemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 326, n. 1-2, p. 67-72, 2008.

CHONG, W. T.; UTHUMPORN, U.; KARIM, A. A.; CHENG, L. H. The influence of ultrasound on the degree of oxidation of hypochlorite-oxidized corn starch. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, p. 439–443, 2013.

CHUNG, K. M.; MOON, T. W.; KIM, H.; CHUN, J. K. Physicochemical Properties of Sonicated Mung Bean, Potato, and Rice Starches. **Cereal Chemistry Journal**, v. 79, n. 5, p. 631–633, 2002.

CLSI – Clinical Laboratory Standards Institute. Document M2-A8 – Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. **Approved Standard**. 8^a ed, v. 23, 2003.

COLÍN C. C. et al. Fabrication and Properties of Antioxidant Polyethylenebased Films Containing Marigold (*Tagetes erecta*) Extract and Application on Soybean Oil Stability. **Packaging Technology and Science**, v. 26, n. 5, p. 267-280, 2013

COLUSSI, R.; PINTO, V. Z.; EL HALAL, S. L. M.; VANIER, N. L.; VILLANOVA, F. A.; MARQUES E SILVA, R.; DA ROSA ZAVAREZE, E.; DIAS, A. R. G. Structural, morphological, and physicochemical properties of acetylated high-, medium-, and low-amylose rice starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, p. 405-413, 2014.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. Alimentos funcionais componentes bioativos e efeitos fisiológicos; 2ª. Ed. Rio de Janeiro. Edt. RUBIO LTDA, 2010.

Cunha, G. F. Biofilmes à base de amido incorporados com extrato etanólico de própolis (Dissertação de mestrado). **Instituto Federal De Educação, Ciência e Tecnologia Goiano**, Rio Verde, 2021.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M. L. (Ed.). **Active Food Packaging**, p. 111-142, 1995.

DAI, L.; ZHANG, J.; CHENG, F. Preparation and characterization of starch nanocrystals combining ball milling with acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, p. 122–127, jan. 2018.

DANTAS, E. A., COSTA, S. S., CRUZ, L. S., BRAMONT, W. B., COSTA, A. S., PADILHA, F. F., DRUZIAN, J. I., MACHADO, B. A. S. Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. **Ciência Rural**, v.45, p.142-148, 2015.

DARAVINGAS, G.; CAIN, R.F. Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model system, **Journal of Food Science**, v. 33, p 138-142, 1968.

DAS, R.; KAYASTHA, A. M. Enzymatic hydrolysis of native granular starches by a new β -amylase from peanut (*Arachis hypogaea*). **Food Chemistry**, v. 276, p. 583–590, mar. 2019.

DAS, R.; TALAT, M.; SRIVASTAVA, O. N.; KAYASTHA, A. M. Covalent immobilization of peanut β -amylase for producing industrial nano-biocatalysts: A comparative study of kinetics, stability and reusability of the 48 immobilized enzyme. **Food Chemistry**, v. 245, p. 488–499, abr. 2018.

DE JONG A. R., BOUMANS H., SLAGHEK T., VAN VEEN J., RIJK R., & VAN ZANDVOORT M. Active and intelligent packaging for food: Is it the future? **Food Additives and Contaminants**, v.22, n.10, p.975–979, 2005.

DE LA CONCHA, S. B. B.; ACEVEDO, A. E.; SANTIAGO, M. C. N. S.; PEREZ, L. A. B.; GARCIA, H. S.; RAMIREZ, J. A. Acid hydrolysis of waxy starches with different granule size for nanocrystal production. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 193–200, jan. 2018.

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

DENARDINI C., C.; DA SILVA L., P. Starch granules structure and its regards with physicochemical Properties: A Review. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.945-954, 2009.

DIRBY, M.; WESTERGAARD, N.; STAPELFELDT. H., et al. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. **Food Chemistry**, v. 72, p.431-437, 2001.

DO LAGO, R. C. et al. Addition of wheat straw nanofibrils to improve the mechanical and barrier properties of cassava starch–based bionanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 170, p. 113816, 15 out. 2021.

DO SUL, J. A. I.; COSTA, M. F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental Pollution**, v. 185, p. 352-364, 2014

DONG, S.; GUO, P.; CHEN, Y.; CHEN, G.; JI, H.; RAN, Y. E.; LI, S.; CHEN, T. Surface modification via atmospheric cold plasma (ACP): Improved functional properties and characterization of zein film. **Industrial Crops and Products**, v. 115, p. 124–133, 2018.

DONHOWE, I. G.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions and testing methods. In: KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Ed.). **Edible Coatings and Films to Improve food quality**. Lancaster, PA (USA): **Technomic Publishing Co.**, p.1-25, 1994.

DULARIA, C.; SINHMAR, A.; PATHERA, A. K.; THORY, R.; NAIN V. Development of starch nanoparticles based composite films from non-conventional source - Water chestnut (*Trapa bispinosa*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 1161–1168, set. 2019.

EDHIREJ, A. et al. Effect of various plasticizers and concentration on the physical, thermal, mechanical, and structural properties of cassava-starch-based films. **Starch/Staerke**, v. 69, n. 1–2, p. 1–11, 2017.

ELIASSON, A.C. **Carbohydrates in food**. New York: Marcel Dekker, p. 664,1996.

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

ESCOBAR-PUENTES, A. A.; RÍCON, S.; GURROLA-GARCIA, A.; ZEPEDA, A. Preparation and Characterization of Succinylated Nanoparticles from High-Amylose Starch via the Extrusion Process Followed by Ultrasonic Energy. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, n. 10, p. 1672–1682, 2019.

ESPÍNDOLA, S. A.; LUCHESE, C. L.; FACCIN, D. J. L.; TESSARO, I. C. (2021). Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties. **International Journal of Macromolecules**, v. 8, p. 51-59, 2021.

ESTEVES, A. C. C.; BARROS-TIMMONS, A.; TRINDADE, T. Nanocompósitos de Matriz Polimérica: Estratégias de Síntese de Materiais Híbridos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 798-806, 2004.

FARRAG, Y. et al. Preparation of starch nanoparticles loaded with quercetin using nanoprecipitation technique. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 426–433, 2018.

FLORES, J.; KAMALI, M.; GHAREMANINEZHAD, A. An Investigation into the Properties and Microstructure of Cement Mixtures Modified with Cellulose nanocrystal. **Materials**, v.10, p.1-16, 2017.

FONSECA-FLORIDO, H. A.; CORRAL, S. F. Effects of multiphase transitions and reactive extrusion on in situ thermoplasticization/succination of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 225, p. 115250, 2019.

FRANCO, C. M. L. et al. Propriedades do Amido. In: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, Propriedades Gerais do Amido. Campinas: **Fundação Cargill**, v. 1, 2001.

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. Propriedades gerais do amido. Série: culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas. **Fundação Cargill**, v. 1, p. 224, 2001.

FREITAS, R. A.; GORIN, P. A. J.; NEVES, J.; SIERAKOWSKI, M. R. A rheological description of mixtures of a galactoxiloglucan with high amylose and waxy corn starches. **Carbohydrate polymers**, v. 51, p. 25-32, 2003.

FRIEDRICHSEN, J., S., A.; FERREIRA, C., S., R.; FRIGO, G.; GOMES, E., S.; SILVA, J., F.; SILVA, P., G.; PIACQUADIO, N., M.; ARAÚJO, E., S.; SANTOS, O., O. The use of starch as a proposal for biodegradable packaging – A review, Research, **Society and Development**, v. 11, n.14, 2022.

FRINGANT, C.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Physical properties of acetylated starch-based materials: relation with their molecular characteristics. **Polymer**, v. 37, n. 13, p. 2.663-2.673, 1996.

FUCHS, M., C., O. Pirodextrinização do amido de inhame brasileiro (*Dioscorea* sp.) e caracterização físico-química das dextrinas resistentes. Dissertação de Mestrado - Pós-Graduação em Bioquímica da **Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza – CE, Brasil, 2018.

GARCÍA, A. E.; CORRALES, L. A. P.; LOPEZ, G. F. G. Preparation of surfactant-free emulsions using amaranth starch modified by reactive extrusion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 608, p. 125550, 2021.

GARCÍA, M., MARTINO, M. y ZARITZKY N. Edible starch Films and coatings characterization: scanning electron microscopy, water vapor, and gas permeabilities. **Scanning**, v. 21, n. 5, p. 348-353, 1999.

GARCÍA, M., MARTINO, M. y ZARITZKY N. 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.

GAUTAM R, SAKLANI A, JACHAK M. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. **Journal Ethnopharmacol** 2007; 110: 200–234.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, v. 44, n. 10, p. 63-69, 1990.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-Visible Spectroscopy. In: Wrolstad, R. E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, 2001.

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

GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Analysis of water binding in starch plasticized films. **Food Chemistry**, Oxon, v. 96, n. 3, p. 380-386, 2006.

GOMEZ-ESTACA, J., LOPEZ-DE-DICASTILLO, C., HERNANDEZ-MUNOZ, P., CATALA, R., |GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p. 42-51, 2014

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films 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.

GONÇALVES, A. P.; OLIVEIRA, E.; MATTEDI, S.; JOSÉ, N. M. . Separation of cellulose nanowhiskers from microcrystalline cellulose with an aqueous protic ionic liquid based on ammonium and hydrogensulphate. **SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY**, v. 196, p. 200-207, 2018.

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

GOUVÊA, D. M.; MENDONÇA, R. C. S; SOTO, M. L.; CRUZ, R. S. et al. Acetate cellulose film with bacteriophages for potential antimicrobial use in food packaging. **LWT -Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 85-91, 2015.

GOVAERTS , R., WILKIN, P. and SAUNDERS, R. M. K. World checklist of Dioscoreales, yam and their allies. England: Kew Publishing, **Royal Botanic Gardens**. P. 84, 2007.

GUILBERT, S., GONTARD, N. y GORRIS G. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 29, n. 1-2), p. 10-17, 1996.

GUILBERT, S.; GONTARD, N. Technology and applications of edible protective films. In: **VII Biotechnology And Food Research**, p. 49-60, 1995.

GUINDANI M., TONET F., KUHN F., DAL MAGRO J., DALCANTON F., FIORI M. A., MELLO J. M. M.; Estudo do processo de extração dos compostos fenólicos e antocianinas totais do hibiscus sabdariffa. **XX Congresso brasileiro de Engenharia química**. Florianópolis/SC, 2014.

GUTIÉRREZ, T. J.; VALENCIA, G. A. Reactive extrusion-processed native and phosphated starch-based food packaging films governed by the hierarchical structure. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 172, p. 439–451, 2021.

GUTIÉRREZ, Tomy J; ALVAREZ, Vera A. Cellulosic materials as natural fillers in starch-containing matrix-based films: **A review. Polymer Bulletin**, v. 74, n. 6, p. 2401- 2430, 2017.

HAAJ, B. S.; MAGNIN, A.; PÉTRIER, C.; BOUFI, S. Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1625-1632, 2013.

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, n. 2, p. 388-397, 2007.

HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J.; HEUX, L.; DUBREUIL, F.; ROCHAS, C. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. **Biomacromolecules**, v.9, n. 1, p. 57-65, 2008.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A.S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA, K. M. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1095–1107, abr. 2018.

HEDAYATI, S.; NIAKOUSARI, M.; MOHSENPOUR, Z. Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 136–142, 2020.

HENRIQUE C. M.; CEREDA M. P.; SARMENTO S. B. S.; Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Food Science and Technology**. v.28, n.1, p. 231-240, 2011.

HEREDIA. F.J.; FRANCIA-ARICHA, E.M.; RIVAS-GONZALO, J.C., et al. Chromatic chaterization of anthocyanins from red grapes-I. PH effect, **Food Chemistry**, v.63, n.4, p.491-498, 1998.

HOFFMANN F. Z.; SIGUEL F. Produção de filmes biodegradáveis a base de lignina, ágar e nanocelulose. 2018. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, Ponta Grossa, 2018.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001.

HORIMOTO L. K. Cationização de amidos de tuberosas tropicais para fabricação de papéis. Botucatu: UNESP, 2006. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrônomas, **Universidade Estadual Paulista. Botucatu**, 2006.

HORNUNG P. S.; LAZZAROTTO S. R. S.;BBARBI R. C. T. ; LAZZAROTTO M.; RIBANI R.H. Propriedades calorimétricas do biofilme de amido de araruta (*Maranta arundinaceae*) com diferentes concentrações de nanocelulose de *Pinus elliottii*. **VIII Simpósio de Análise Térmica Ponta Grossa**, 196-199, 2017.

HUANG, G. et al. Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 144–149, 2017.

HUANG, Q.; LI, L.; FU, X. Ultrasound Effects on the Structure and Chemical Reactivity 50 of Cornstarch Granules. **Starch - Stärke**, v. 59, n. 8, p. 371–378, 2007.

HUANG, J.; SCHOLS, H. A.; JIN, Z.; SULMANN, E.; VORAGEN, A. G. J. Pasting properties and (chemical) fine structure of acetylated yellow pea starch is affected by acetylation reagent type and granule size. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 397-406, 2007.

IBRAHIM, M. I. J. et al. Physical, thermal, morphological, and tensile Properties of cornstarch-based films as affected by different plasticizers. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 925–941, 2019.

IIDA, Y.; TUZIUTI, T.; YASUI, K.; TOWATA, A.; KOZUKA, T. Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 140–146, 2008.

ISHIGURO, K.; NODA, T.; KITAHARA, K. Retrogradation of sweetpotato starch. **Starch/Stärke**. v.52, n.1, p.13-17. 2000.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G.A.F. and HOUGHTON, J.D. **Natural Food Colorants**. London: **Blackie Academic**. p.183-241, 1992.

JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; TUNG, M.A., et al. Anthocyanins as food colorants. - A Review. **Journal Food Biochemistry**. v.11, p.201-247, 1987.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. The Effect Of Lintnerization On Cereal Starch Granules. **Food Research International**, v. 7, p. 665–680, 2002.

JIANG, T.; DUAN, Q.; ZHU, J.; LIU, H.; YU, L. Starch-based biodegradable materials: challenges and opportunities. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, p. 8-18, jan. 2020.

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

KAUR, J.; KAUR, G.; SHARMA, S.; JEET, K. Cereal starch nanoparticles - A prospective food additive: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 7, p. 1097–1107, 3 maio 2018.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47- 59, 1986.

KIM, H.Y.; PARK, D. J.; KIM, J. Y.; LIM, S. T. Preparation of crystalline starch nanoparticles using cold acid hydrolysis and ultrasonication. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 295–301, 2013.

KINUPP V. F.; LORENZI H. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2007.

KROCHTA, J. y DEMULDER-JOHNSTON C. Edible and biodegradable polymer films: challengers and opportunities. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 61-74, 1997.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y. Internal structure and physicochemical properties of corn starches as revealed by chemical surface gelatinization. **Carbohydrate Research**, v.342, p.2253-2263, 2007.

LACERDA, L. D.; LEITE, D. C.; SOARES, R. M. D.; DA SILVEIRA, N. P. Effects of α -Amylase, Amyloglucosidase, and Their Mixture on Hierarchical Porosity of Rice Starch. **Starch - Stärke**, v. 70, n. 11–12, p. 1800008, 2018.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. Carbohidratos em alimentos regionales Iberoamericanos. **Universidade de São Paulo**, São Paulo, p. 648p, 2006.

LANGENAEKEN, N. A.; DE SCHEPPER, C. F.; DE SCHUTTER, D. P.; COURTIN, C. M. Different gelatinization characteristics of small and large barley starch granules impact their enzymatic hydrolysis and sugar production during mashing. **Food Chemistry**, v. 295, p. 138–146, 2019.

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

LAWAL, O.S., ADEBOWALE, K.O. ODERINDE, R. A. Functional properties of amylopectin and amylose fractions isolated from bambarra groundnut (Voandzeia subterranean) starch. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, p. 399-404, 2004.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O. Physicochemical characteristics and thermal properties of chemically modified jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch. **Carbohydrate Polymer**, v. 60, p. 331- 341, 2005.

LE CORRE, D., BRAS, J., DUFRESNE, A. Starchnanoparticles: A review. **Biomacromolecules**, v.11, p.1139-1153, 2010.

LE CORRE, D.; ANGELLIER-COUSSY, H. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, p. 97–120, dez. 2014.

LEAL R.S. Estudo etnofarmacológico e fitoquímico das espécies *Cleome spinosa* Jacq, *Pavonia varions* Moric e *Croton cajucara* Benth. Tese (doutorado), **Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de ciências exatas e da terra**. Programa de pós graduação em química. 2008.

LEBOT , V., Tropical root and tuber crops: cassava, sweet potato, yams and aroids. Wallingford: CABI. **Crop production science in horticulture series**, n. 17, p. 313, 2009.

LEBOUILLE, J. G. J. L.; STEPANYAN, R.; SLOT, J., J. M.; STUART, M. A. C.; TUINIER, R. Nanoprecipitation of polymers in a bad solvent. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 460, p. 225–235, 2014.

LEHNINGER, A.; NELSON, D. y COX, M. **Princípios de Bioquímica**. Sarvier, São Paulo, p. 839, 1995.

LEONEL, S.; GOMES, E. M.; PEDROSO, C. J. Desempenho agrônômico de bananeiras micropropagadas em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.2, p.245-248, 2004.

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

LICCIARDELLO, F., WITTENAUER, J., SAENGERLAUB, S., REINELT, M., STRAMM, C. Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging Study with grape pomace and olive leaf extracts . **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 16, 2015.

LIMA A. C. S.; FIGEUIREDO R. W. Desenvolvimento de filmes à base de goma de cajueiro modificada e goma kappa com reforço de nanocelulose. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - **Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2019.

LIMA, S. L. T. Reciclagem e biodegradação de plásticos. **Revista Científica do IMAPES**, Sorocaba, v. 2, n. 2, p. 28-34, 2004.

LIN, X.; SUN, S.; WANG, B.; ZHENG, B.; GUO, Z. Structural and physicochemical properties of lotus seed starch nanoparticles prepared using ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 68, p. 105199, nov. 2020.

LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. **Starch/Stärke**, v. 56, n. 3-4, p. 89-99, 2004.

LINEBACK, D. R. The starch granule: organization and properties. **Bakers Digest**, v. 58, n. 2, p. 16-21, 1984

LIU K.S., TSAO S.M., Yin MC. In vitro antibacterial activity of roselle calyx and protocatechuic acid. **Phytotherapy Research**. v. 19, p. 942-5. 2005

LIU, L.; N. A, X.; ZHANG, H.; LU, Z.; CAO, H.; XU, Q.; NIE, S.; LIU, H. Ball milling pretreatment facilitating α -amylase hydrolysis for production of starch-based bio-latex with high performance. **Carbohydrate Polymers**, v. 242, p. 116384, ago. 2020.

LIU, M.; ZHOU, Y.; ZHANG, Y.; YU, C.; CAO, S. Physicochemical, mechanical and thermal properties of chitosan films with and without sorbitol. **International Journal of Biological Macromoleculares**, v. 70, 340-346 p. 2014.

LIU, Y. et al. The study of electrochemically active microbial biofilms on different carbon-based anode materials in microbial fuel cells. **Biosensors and Bioelectronic**, v.25, n.9, p. 2167-2171, 2010.

LOPEZ DE DICASTILLO, C., BUSTOS, F., GUARDA, A., GALOTTO, M. J. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 335-344, 2016.

LÓPEZ DE DICASTILLO, C., GÓMEZ-ESTACA, J., CATALÁ, R., GAVARA, R., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v.131, p. 1376-1384, 2012.

LÓPEZ O.P.; JIMÉNEZ A.R.; VARGAS F.D. et al. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability, **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v.40, n.3, p.173-289, 2000.

LU, X.; XIAO, J.; HUANG, Q. Pickering emulsions stabilized by media-milled starch particles. **Food Research International**, v. 105, p. 140–149, 2018.

LV, Y.; ZHANG, L.; LI, M.; HE, X.; HAO, L.; DAI, Y. Physicochemical properties and digestibility of potato starch treated by ball milling with tea polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 207–213, 2019.

CONDÉS, M. C.; AÑÓN, M. C.; MAURI, A. N.; DUFRESNE, A. Amaranth protein films reinforced with maize starch nanocrystals. *Food Hydrocoll.* v. 47, p. 246-157, 2015.

MACHADO, B. A. S., NUNES, I. L., PEREIRA, F. V., DRUZIAN, J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v.42, 2012.

MACHADO, B. A. S., REIS, J. H. O.; SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Obtaining nanocellulose from green coconut fibers and incorporation in biodegradable films of starch plasticized with glycerol. **Química Nova**, v. 37, n. 8, p. 1275-1282, 2014.

MACIEL, M. J; PAIM, M. P; CARVALHO, H. H. C; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 2012.

MADRAS, G.; KUMAR, S.; CHATTOPADHYAY, S. Continuous distribution kinetics for ultrasonic degradation of polymers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 69, n. 1, p. 73–78, jun. 2000.

MAGANHA, E. G., HALMENSCHLAGER, R. C., ROSA, R. M., HENRIQUES, J. A. P., RAMOS, A. L. L. P., SAFFI, J. M. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. **Food Chemistry**, v. 118, n. 1, p. 1–10, 2010.

MAHADEVAN, N.; SHIVALI, PRADEEP, K. *Hibiscus sabdariffa* Linn. An overview. **Natural Product Radiance**, v. 8, n. 1, p.77-83, 2009.

MAJZOBI, M.; FARAHNAKY, A. Granular cold-water swelling starch; properties, preparation and applications, a review. **Food Hydrocolloids**, v. 111, p. 106393, 2021.

MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., GARCÍA, M. A., MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 157-164, 2005.

- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.
- MALI, S.; GROSSMANN, M.; GARCÍA, M.; MARTINO, M. y ZARITZKY N. Barrier mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 129-135, 2004.
- MALLAKPOUR, S.; KHODADADZADEH, L. Ultrasonic-assisted fabrication of starch/MWCNT-glucose nanocomposites for drug delivery. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 40, p. 402–409, 2018.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v.25, p. 207-225, 1987.
- 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**, Washington, v. 42, n. 4, p. 841-845, 1994.
- MEIRA, V. C. R. S. Preparação e caracterização de filmes de amido modificado por reticulação, acetilação e com adição de lipídio e celulose bacteriana. **Universidade Federal de Santa Catarina**, Centro Tecnológico; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2012.
- MILADINOV V.D., HANNA. M.A. Starch Esterification by reactive extrusionIndustrial. **Crops and Products**, v. 11, p. 51–57, 2000.
- MIRANDA, C. S.; TALMA, H. C. S. ; ANUNCIACAO, S. . Potencial dos nanocristais/nanowhiskers de celulose: revisão e mapeamento tecnológico. *Revista Scientia*, v. 4, p. 124-148, 2019.
- MITTAL, A., GARG, S., KOHLI, D.Effect of cross linking of PVA/starch and reinforcement of modified barley husk on the properties of composite films, **Carbohydrate Polymers**, v. 151, n.10, p. 926-938, 2016
- MONTEIRO, M.K.S., OLIVEIRA, V.R.L., SANTOS, F.K.G. Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction water vapor permeability. **Food Research International**, v. 105, n.3, pp 637-644. 2018.
- MOON, Robert J et al. ellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 7, p. 3941-3994, 2011.

MORAIS, J. P. S., ROSA, M. F., SOUZA FILHO, M. S., et al., Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, pp. 229-235, 2013.

MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G; VALLE, C.E. del; ROUR, S.I.; Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT – Food Science and technology**. V. 38, n. 5, p. 565-570, 2005.

MOURA, R. M. Doenças do Inhame. In: Kimati, H. et al. (Ed). Manual de fitopatologia. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 1997. v. 2, p.463-471.

MÜLLER; 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, n. 1, p. 82 87, 2008.

NAIR R, KALARIYA T, CHANDA S. Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora. **Turkish Journal Biology**, v.29, p. 41-7, 2005.

NARAYAN, M.S.; AKHILENDER NAIDU, K.; RAVISHANKAR, G.A., et al. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 60, n.1, p. 1-4, 1999.

NASCIMENTO W. F, RODRIGUES J. F, KOEHLER S, GEPTS P, VEASEY E. A. Spatially structured genetic diversity of the Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.). **Genetic resources and crop Evolution**, n. 60, p. 2405-2420, 2013.

NASCIMENTO, V. A. et al. Monitoramento tecnológico e científico da utilização de biopolímeros em embalagens alimentícias. *Revista Científica Semana Acadêmica*, v. 164, p. 1-17, 2019.

NETO, R.B. Raio-X In. CANEVAROLO JR., S.V., ed. Técnicas de Caracterização de polímeros. São Paulo: **Artiber Editora**, p.41-60, 2003.

NG, L. Y.; WONG, T. J.; NG, C. Y.; AMELIA, C. K. M. A review on cellulose nanocrystals production and characterization methods from *Elaeis guineenses* empty fruit bunches. **Arabian Journal of Chemistry**, v.14, p.1-25, 2021.

NISHIDA, C.; NOCITO, F. M. FAO/WHO. Scientific update on carbohydrates in human nutrition: introduction. **European journal of clinical nutrition**, n. 61, 2007

NWOKOCHA, L. M.; AVIARA, N.; SENAN, C.; WILLIAMS, P. A. A comparative study of some properties of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) and cocoyam

(*Colocasia esculenta*, Linn) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 362–367, 2009.

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

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓUPOLOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: **Centro de Tecnologia de Embalagem**, 1996.

OLIVEIRA S., F., S.; ROCHA A., P., T.; ARAÚJO T., J. Starch of mango seeds: Obtaining, properties and applications: A Review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, p. 1-8, 2023.

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

PEDRALLI, G. Dioscoreaceae e Araceae: aspecto taxonômicos, etnobotânicos e espécies nativas com potencial para melhoramento genético. In: Santos, E. S. (Ed). **Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro**, João Pessoa, p. 37-53, 2002.

PEDRALLI, G. Distribuição geográfica e taxonomia das famílias Araceae e Dioscoreaceae no Brasil. In CARMO, CAS. Inhame e taro: sistemas de produção familiar. Vitória: **Incaper**, p. 15-26, 2002.

PEI, X. et al. Polymer Brush Graft-Modified Starch-Based Nanoparticles as Pickering Emulsifiers. **Langmuir**, v. 35, n. 22, p. 7222–7230, 2019.

PEREIRA, F. V.; DE PAULA, E. L.; MESQUITA, J. P.; LUCAS, A. A.; MANO, V. Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofiliação. **Química Nova**, v. 37, p. 1209-1219, 2014.

PERONI, F.H.G. Características Estruturais e Físico-Químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas. 2003. 135p. Dissertação (Mestrado) – **Universidade Estadual Paulista**, São José do Rio Preto.

PUCKHABER, L., R.D. STIPANOVIC, and G.A. Bost. 2002. Analyses for flavanoid aglycones in fresh and preserved hibiscus flowers. p. 556–563. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), **Trends in new crops and new uses**. **ASHS Press, Alexandria**, 2002.

QIU, C.; WANG, C.; GONG, C.; McCLEMENTS, D. J.; JIN, Z. Advances in research on preparation, characterization, interaction with proteins, digestion and

delivery systems of starch-based nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 152, p. 117–125, 2020.

RAGHAVAN, D. Characterization of Biodegradable Plastics. **Polymer-Plastics Technology na Engineering**, v. 34, n. 1, p.41- 63, 2006.

RAINA, C. S.; SINGH, S.; BAWA, A. S.; SAXENA, D. C. A comparative study of Indian rice starches using different modification model solutions. *LWT – Food Science and Technology*, v. 40, p. 885-892, 2007.

RAMOS E. F., SANTOS B. C., PÉREZ A. J. J., Yáñez, JA. and Dueñas, M., HPLCAD-ESI/MS identification of anthocyanins in *Dioscorea trifida* L. yam tuber (purple sachapapa). **European Food Research and Technology**, v. 230, n. 5, p. 745-752, 2010.

RANA, A.; PARMAR, S.; SHWETA, A. R. Ultrasonic processing and its use in food industry: A review. **International Journal of Chemical Studies IJCS**, v. 5, p. 1961– 1968, 2017.

RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**, v. 39, n. 8, p. 840-846, 2006.

ROY, K.; THORY, R.; SINHMAR, A.; KUMAR, A.; VIKASH P. N. Development and characterization of nano starch-based composite films from mung bean (*Vigna radiata*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 242–251, 2020.

RUBAN, P.; GAJALAKSHMI, K. Atividade antibacteriana in vitro de extrato de flor de *Hibiscus rosa-sinensis* contra patógenos humanos. **Asian Pac J Trop Biomed**. v. 2, n. 5, p. 399-403, 2012.

SAHOO, S. K.; PARVEEN, S.; PANDA, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 3, n. 1, p. 20-31, 2007.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S. & KULKARNI, P. R. - Compr. Rev. **Food Science Food Safety**, v. 5, n.1, 2006.

SALAME, M. Barrier polymers. In: BAKER, M. The Wiley encyclopedia of packaging technology. **New York, USA: Wiley**, p. 48-54, 1986.

SAMIR, M.; 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.

SANA, S.; BOODHOO, K.; ZIVKOVIC, V. Production of starch nanoparticles through solvent-antisolvent precipitation in a spinning disc reactor. **Green Processing and Synthesis**, v. 8, n. 1, p. 507-15, 2019.

SANOFI. Hydrocolloids, Informativo Técnico. SANOFI – BIO-INDÚSTRIES. Paris, França. 73p. 1988.

SANTANA, M. C. C. B., MACHADO, B. A. S., SILVA. T. N., NUNES, I. L., DRUZIAN, J. I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural**, v.43, p.544-550, 2013.

SANTOS, E. P.; NICÁCIO, P. H. M.; BARBOSA, F. C. Chitosan/essential oils formulations for potential use as wound dressing: physical and antimicrobial properties. **Materials**, v. 12, n. 14, 2019.

SANTOS, E. S. dos. Inhame (*Dioscorea spp.*) aspectos básicos da cultura. João Pessoa: **EMEPA-PB**, Sebrae, 1ª ed., p. 158,1996.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; MORAIS, B.B. Embalagens ativas e inteligentes para frutas e hortaliças. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v.21, n.1, p.1-7, 2009.

SCHMIDT, V. C. R.; BLANCO-PASCUAL, N.; TRIBUZI, G.; LAURINDO, J. B. Effect of the degree of acetylation, plasticizer concentration and relative humidity on cassava starch films properties. **Food Science and Technology**, v. 2061, n. 2, p. 491- 499, 2018

SEYYEDNEJAD S. M, KOOCHAK H, DARABPOUR E, MOTAMEDI H. A survey on Hibiscus rosasinensis, Alcea rosea L. and Malva neglect wallr as antibacterial agents. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 5, p. 351-355, 2010.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e dobsorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79 – 88, 2007.

SILVA A. B, WIEST J. M, PAIM M. P, Girolometto G. Caracterização antibacteriana e fitoquímica de flores de Hibiscus rosa-sinensis L. (mimo-de-vênus) e Hibiscus syriacus L. (hibisco-da-síria). **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 73, n. 3, p. 264-71, 2014.

Silva N. L., Viana F. C., Alves F. L., Santos E. C. S., Andrade L. R., Morais M, G., Santos A. C., Amaro S. H. Evaluation of the antioxidant and antibacterial

activity of the flower extract of Hibiscus sabdariffa and Hibiscus rosa-sinensis. **Conexão Ciência**, v. 14, n. 1, p. 14-20, 2019.

SILVA, A. N.; WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. C. Chemicals and antioxidant activity analysis in Hibiscus rosa-sinensis L. (mimo-de-venus) and Hibiscus syriacus L. (hibiscus-the-syrian). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.19, 2016.

SILVA, A. P. M. Filmes de amido de amêndoa de manga: influência de nanocristais de amido e celulose. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Centro de Tecnologia, **Universidade Federal do Ceará, Fortaleza**, 2017.

SILVA, J., M.; JUNIOR, B., D.; VIEIRA, V., B.; KLOSOSKI, S., J.; BARÃO, C., E.; PINHEIRO, K., H.; PIMENTEL, T., C. Cassava starch modified by oxidation: Physical and Chemical properties and texture profile of the gels **Research, Society and Development**, v. 9, n.10, 2020.

SILVA, M., J., B.; ALVES, F., S.; QUEIROZ, R., N.; QUEIROZ, N., I., F.; LAGO, G., V., P.; PEREIRA, G., V., S.; MORAES, N., S.; PESSOA, M., M., S.; REGO, J., A., R.;BRASIL, D., S., B. Starch – A review of biopolymeric products and their derivations. **Research, Society and Development**, v. 11, n.12, 2022

SINGH, N.; CHAWLA, D.; SINGH, J. Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal properties of corn and potato starch. **Food Chemistry**, v. 86, p. 601-608, 2004.

SINGH, N.; KAUR, L. SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, Thermal and Rheological Properties of Starches from Different Botanical Sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219-231, 2003.

SIQUEIRA C. F. Q, CABRAL D. L. V, SOBRINHO T. J. S. P, AMORIM E. L. C, MELO J. G, ARAÚJO T. A. S, ALBUQUERQUE U. P. Levels of Tannins and Flavonoids in Medicinal Plants: Evaluating Bioprospecting Strategies. **Evidence-Based Complementary and Alternative**, 2011.

SIQUEIRA, M. V. B. M. and VEASEY, E. A. Raíces y tubérculos tropicales olvidados o subutilizados en Brasil. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, vol. 3, no. 1, p. 110-125, 2009.

SIQUEIRA, M. V. B. M. Yam: a neglected and underutilized crop in Brazil. **Horticultura Brasileira**, vol. 29, no. 1, p. 1620, 2011.

SIQUEIRA, M. V., NASCIMENTO, W. F., SILVA, L. R., FERREIRA, A. B., SILVA, E. F., MING, L. C. and VEASEY, E. A. Distribution, management and diversity of yam local varieties in Brazil: a study on *Dioscorea alata* L. **Revista Brasileira de Biologia**, vol. 74, no. 1, p. 52-61, 2014

SIRACUSA, V. et al. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.

SIYAMAK, S.; LAYCOCK, B.; LUCKMAN, P. Synthesis of starch graft-copolymers via reactive extrusion: Process development and structural analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, p. 115066, 2020.

SOBOTA, J. F.; PINHO, M. G.; OLIVEIRA, V. B. Perfil físico-químico e atividade antioxidante do cálice da espécie *Hibiscus sabdariffa* L. a partir do extrato aquoso e alcóolico obtidos por infusão e decocto. **Revista Fitos**. v. 10, n. 1, p. 33-46, 2016.

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. 1-14, 2000.

SONG, D.; THIO, Y. S.; DENG, Y. Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 208–214, 2011.

SOUZA, C. O., SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Química Nova**, v. 35, n 2, p. 262-267, 2012.

SOUZA, S. M. A., SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Propriedades físicas de filmes comestíveis a base de proteínas miofibrilares de carne bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 283-296, 2012.

STRINGHETA, P.C.; Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv.), Campinas, 1991, 138 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – **UNICAMP**

SU, Q.; WANG, Y.; ZHAO, X.; WANG, H.; WANG, N.; ZHANG H. Functionalized nano-starch prepared by surface-initiated atom transfer radical polymerization and quaternization. **Carbohydrate Polymers**, v. 229, p. 115390, 2020.

TAJLA, R. A.; HELÉN, H.; ROOS, Y. H.; JOUPPIA, K. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. **Carbohydrate polymers**, v. 67, n. 3. p. 288-295.

TEIXEIRA, E. M., PASQUIN, D., CURVELO, A. A. S., CORRADINI, E., BELGAGEM, M. N., DUFRESNE, A. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, n. 28, p. 422-431, 2009.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of starches 1. Effects of amylopectins, amyloses and lipids. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 551-557, 1990.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of starches 1. Effects of amylopectins, amyloses and lipids. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 551-557, 1990.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.151-165, 2004.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71-78, 2003.

THIRUMDAS, R.; TRIMUKHE, A.; DESHMUKH, R. R. Functional and rheological properties of cold plasma treated rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1723–1731, fev. 2017.

THOMAS, D.J., ATWELL, W. **Starches: Practical Guides for the Food Industry**. Minnesota: Eagan Press, p. 94, 1999.

TOLEDO, M. M. Crescimento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCK 400 e Produção de Nisina em Meio à Base de Extratos Vegetais. 2000. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), **Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa, 2000.

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.

VAN BUREN, J.P.; BERTINO, J.J.; SON, W.B., et al. Stability of wine anthocyanins on exposure to heat and light. **American Journal Enology & Viticulture**, v. 19, n. 3, p. 147, 1968.

- VANDEPUTTE, G.E.; DELCOUR, J.A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.58, p.245-266, 2004.
- VANIER, N. L.; EL HALAL, S. L. M.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R. Molecular structure, functionality and applications of oxidized starches: A review. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1546-1559, 2017.
- VEASEY, EA., SIQUEIRA, M. V. B. M., GOMES, LR., NASCIMENTO , W. F., FERREIRA, A. B., SILVA , D., Silva , E., MING, L. C., PERONI, N. and SANTOS , A. H., Ocorrência e diversidade de espécies cultivadas do gênero Dioscorea em diversos agroecossistemas brasileiros. In MING, L.C., AMOROZO, M. C.M. and KFFURI, C. W. **Agrobiodiversidade no Brasil: experiências e caminhos da pesquisa**. Recife: NUPEEA. p. 45-74. 2010.
- VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S. Ultrassom na indústria de alimentos: aplicações no processamento e conservação. **Atena**, 2018.
- VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. (Tese de doutorado em agronomia), **Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP**, São Paulo, 2003.
- VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. (Tese de doutorado). **Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP**, São Paulo, 2003.
- WANG, Y, J.; WANG, L. Characterization of Acetylated Waxy Maize Starches Prepared under Catalysis by Different Alkali and Alkaline-Earth Hydroxides. **Starch - Stärke**, v. 54, p. 25-30, 2002.
- WANI, I. A.; SOGI, D. S.; GILL, B. S. Physicochemical properties of acetylated starches from some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, p. 1993-1999, 2012.
- WHO/FAO. **Carbohydrates in human nutrition**. Rome: FAO, no. 66, 1998.
- WONG SK, LIM YY, CHAN EWC. Evaluation of Antioxidant, Anti-tyrosinase and Antibacterial Activities of Selected Hibiscus Species. **Ethno Leaflets**, v. 14, p. 781- 96, 2010.
- WONGSAGONSUP, R.; DEEYAI, P.; CHAIWAT, W.; HERRUNGSIWAT, S.; LEEJARIENSUK, K.; SUPHANTHARIKA, M.;FOUNGFUCHAT, A.; DANGTIP, S.

Modification of tapioca starch by non-chemical route using jet atmospheric argon plasma. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 790–798, 2014.

WU, X.; PRIOR, R. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2589-2599, 2005.

XAVIER, M.F. Estudo da extração de antocianinas em colunas recheadas. Florianópolis, 2004, 120 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - **Universidade Federal de Santa Catarina**.

XIANLI WU X.; PRIOR R. L. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **J. Agric. Food Chem.** 2005, v.53, p. 4290–4302

XU, Y.; MILADINOV, V.; HANNA, M. A. Pasting properties and (chemical) fine structure of acetylated yellow pea starch is affected by acetylation reagent type and granule size. **Cereal Chemistry**, v. 81, 2004.

XU, Y.; SISMOUR, E. N.; GRIZZARD, C.; THOMAS, M.; PESTOV, D.; HUBA, Z.; WANG, T.; BHARDWAI, H. L. Morphological, Structural, and Thermal Properties of Starch Nanocrystals Affected by Different Botanic Origins. **Cereal Chemistry Journal**, v. 91, n. 4, p. 383– 388, 2014.

YONEZAWA, U., G.; MOURA, R., M.; AOUADA, F., A. Estado da arte: um estudo sobre polímeros biodegradáveis na germinação e desenvolvimento de plantas. **Revista Ciências Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 69-78, 2017.

ZAINUDDIN S. Y. Z.; AHMAD I.; KARGARZADEH H. Preparation and Characterizations of Cassava Starch Nanocomposite Reinforced Kenaf. **Advanced Materials Research**, v. 545, p. 348-352, 2012.

ZHANG, B.; XIONG, S.; LI, X.; XIE, F.; CHEN, L. Effect of oxygen glow plasma on supramolecular and molecular structures of starch and related mechanism. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 69–76, 2014.

ZHAO, S.; YAO, C.; LIU, Y.; CHEN, G. Intensification of liquid-liquid two-phase mass transfer by oscillating bubbles in ultrasonic microreactor. **Chemical Engineering Science**, v. 186, p. 122–134, ago. 2018.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W.; The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.

ZHOU, M.; ROBARDS, K.; GLENNIE-HOLMES, M.; HELLIWELL, S. Structure and pasting properties of oat starch. **Cereal Chemistry**, v. 75, n.3, 273-281 p. 1998.

ZOBEL, H. F.; STEPHEN, A. M. Starch: structure, analysis and application. In: STEPHEN, A. M. **Food polyssacharides and their application**. Marcel Dekker, p. 196, 1995.

ZUGENMAIER, M.; SCHMIEG, R.; DIDERIKSEN, K. B.; POLZIK, E. S. Single-Photon Source with Near-Millisecond Memory based on Room-Temperature Atomic Vapour. **European Quantum Electronics Conference, Optical Society of America**, 2021.