



COPPE/UFRJ

NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS A BASE DE
POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E NANOCRISTAIS DE AMIDO

Ana Paula da Silva Nascimento

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais.

Orientador: Rossana Mara da Silva Moreira

Thiré.

Rio de Janeiro

Março de 2009

NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS A BASE DE
POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E NANOCRISTAIS DE AMIDO

Ana Paula da Silva Nascimento

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA
(COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MATERIAIS.

Aprovada por:

Prof.^a Rossana Mara S. M. Thiré, D.Sc.

Prof.^a Renata Antoum Simão, D.Sc.

Dr. Andréa Curiacos Bertolini, PhD.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2009

Nascimento, Ana Paula da Silva

Nanocompósitos biodegradáveis a base de poli(3-hidroxi-
butirato) e nanocristais de amido/ Ana Paula da
Silva Nascimento. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2009.

X, 78 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré.

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de
Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2009.

Referências Bibliográficas: p. 68-78.

1. Poli(3-hidroxi-
butirato). 2. Nanocristais de amido. 3.
Polímeros biodegradáveis. I. Thiré, Rossana Mara da
Silva Moreira. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro,
COPPE, Programa de Engenharia Metalúrgica e de
Materiais. III. Título.

*Aos meus pais, Ivanildo e Neuza, por
todo amor, carinho e apoio em
todos os momentos da minha vida*

A Deus, criados dos céus e da Terra, por cuidar de mim sustentando-me e fortalecendo-me para vencer todas as batalhas da minha vida.

À Professora Rossana Mara da Silva Moreira Thiré por todo apoio, incentivo e suporte para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado e todo apoio financeiro.

A PHB Industrial S/A e Corn Products do Brasil por terem cedido as matérias-primas utilizadas neste trabalho.

Ao Professor Sérgio Camargo por ter cedido espaço no Laboratório de Recobrimentos onde foi conduzida a maior parte dos experimentos.

Ao Laboratório de Estudos Aplicados em Fotossíntese que nos disponibilizou o uso da centrífuga.

Às amigas Tatiana e Roberta pela amizade e por fazerem parte desta conquista.

A todos os amigos do mestrado em especial Rodrigo, René, Elizandra, Jeremias, Taíla, Anastácia e Cristiane.

Aos amigos Lílian, Cláudia, Lívia, Allan e Fred.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS A BASE DE
POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E NANOCRISTAIS DE AMIDO

Ana Paula da Silva Nascimento

Março/ 2009

Orientadora: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré

Programa: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Neste trabalho, bionanocompósitos foram preparados pela técnica de evaporação por solvente utilizando-se nanocristais de amido como agente de reforço em uma matriz de poli(3-hidroxibutirato) (PHB). Os nanocristais de amido foram obtidos por hidrólise ácida do amido de milho ceroso com ácido sulfúrico. A influência da incorporação dos nanocristais de amido em concentrações de 2-20% (p/p) na matriz de PHB foi avaliada por difração de raios-X, análise termogravimétrica, calorimetria diferencial de varredura, microscopia eletrônica de varredura, ângulo de contato e porcentagem de absorção de água. Quando comparados com os filmes de PHB puros, a incorporação de teores de nanocristais de amido menores do que 10% propiciaram a redução da cristalinidade, aumento da temperatura de início da degradação térmica, diminuição do caráter hidrofílico e aumento do percentual de água absorvida no equilíbrio. Os nanocristais apresentam-se na forma de aglomerados com baixa adesão com a matriz polimérica.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M. Sc.)

BIODEGRADABLE NANOCOMPOSITES OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE)
AND STARCH NANOCRYSTALS

Ana Paula da Silva Nascimento

March/ 2009

Advisor: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré

Department: Metallurgy and Materials Engineering

In this work, bionanocomposites materials were prepared by casting using poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) as matrix and starch nanocrystals as the reinforcing phase. Starch nanocrystals were obtained from sulphuric acid hydrolysis of waxymaize starch granules. The influence of the incorporation of 2-20%wt. of nanocrystals content in films were evaluated by X-ray diffraction, thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry, scanning electronic microscopy, contact angle measurements and water absorption experiments. The incorporation of starch nanocrystal contents until 10% wt. decreased the crystallinity, increased the onset temperature of thermal degradation, decreased the hydrophilic character and increased the equilibrium water uptake of the nanocomposites as compared to pure PHB films. Starch nanocrystals formed aggregates with poor adhesion to the polymeric matrix.

ÍNDICE GERAL

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO E OBJETIVO

1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos	3

CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plásticos Ambientalmente Degradáveis.....	4
2.2 Poli(3-hidroxi-butarato) - PHB.....	5
2.3 Bionanocompósitos.....	8
2.4 Amido	11
2.4.1 Cristalinidade do amido nativo.....	16
2.4.2 Propriedades do Amido.....	17
2.4.2.1 Gelatinização.....	17
2.4.2.2 Retrogradação.....	18
2.5 Produção dos Nanocristais de Amido.....	20
2.5.1 Hidrólise ácida dos grãos de amido.....	21
2.5.1.2 Mecanismo de hidrólise.....	21

CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais	27
3.2 Preparação dos Nanocristais de Amido (NcAm).....	27
3.2.1 Hidrólise Ácida do Amido de Milho Nativo.....	27
3.2.2 Cálculo do Rendimento da Hidrólise.....	28
3.3 Preparação da solução de PHB.....	28

3.4 Preparação dos filmes de PHB/NcAm	28
3.5 Caracterização dos Nanocristais de Amido (NcAm).....	29
3.5.1 Espectroscopia Raman.....	29
3.5.2 Microscopia de Força Atômica (AFM).....	30
3.6 Caracterização dos Bionanocompósitos.....	30
3.6.1 Difração de raios-X.....	30
3.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	32
3.6.3 Análise Termogravimétrica (TGA)	32
3.6.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	33
3.6.5 Ângulo de Contato.....	34
3.6.6 Ensaio de Absorção de Água.....	36

CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cálculo do Rendimento da Hidrólise.....	37
4.2 Caracterização dos Nanocristais de Amido (NcAm).....	38
4.2.1 Raman.....	38
4.2.2 Análises Microscópicas.....	41
4.3 Caracterização dos Bionanocompósitos.....	45
4.3.1 Difração de raios-X.....	45
4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	50
4.3.3 Análise Termogravimétrica (TGA).....	53
4.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	56
4.3.5 Ângulo de Contato.....	60
4.3.5 Ensaio de Absorção de Água.....	61

CAPÍTULO V - CONCLUSÕES

5.1 Conclusões..... 64

5.2 Sugestões para Trabalhos Futuros.....67

CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....68

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

Os problemas decorrentes da poluição ambiental gerada pelo lixo plástico têm recebido grande destaque mundial, devido à constatação de que, apesar dos polímeros e seus derivados terem contribuído imensamente para o desenvolvimento tecnológico mundial, o uso continuado destes materiais tem causado severos impactos ambientais. Isto porque os polímeros sintéticos, que tem no petróleo sua principal fonte de matéria-prima, apresentam baixa reciclabilidade e grande poder acumulativo na biosfera, particularmente devido a sua baixa biodegradabilidade e origem não renovável (GUIMARÃES *et al*, 2005).

Os produtos produzidos com os polímeros sintéticos convencionais são considerados inertes ao ataque imediato de microorganismos. Essa propriedade faz com que esses materiais apresentem um longo tempo de vida útil e, conseqüentemente, provoquem 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 (CHIELLINI e SOLARO, 1998).

Uma das possíveis alternativas para minimizar os impactos ambientais causados pelo acúmulo de plásticos é a produção de substitutos ambientalmente sustentáveis, os chamados polímeros ou plásticos ambientalmente degradáveis (PADs). Os PADs pertencem a uma classe de polímeros que sofrem alterações químicas, sob a influência de fatores ambientais, como radiação, umidade e ação de microorganismos, sendo

convertidos em substâncias de baixo peso molecular, como CO₂, CH₄ e água que são reabsorvidas pelo meio ambiente (GROSS e KALRA, 2002).

Exemplos de PADs que vem merecendo atenção são os polidroxialcanoatos, principalmente o poli(3-hidroxi-butirato) – PHB. A produção desses polímeros biodegradáveis acontece por um processo de fermentação bacteriana (EL-HADI *et al*, 2002). O PHB possui propriedades similares a termoplásticos sintéticos, como o polipropileno isotático, mas possui algumas propriedades físicas que limitam sua utilização, como fragilidade, alto grau de cristalinidade e estreita faixa de processamento (YANG *et al*, 2007). Com o intuito de melhorar essas propriedades, reduzir o custo do produto final e viabilizar as aplicações do PHB como material biodegradável, muitas pesquisas tem sido direcionadas na fabricação de compósitos através da incorporação de polímeros naturais como carga (CARASCHI *et al*, 2002).

Recentemente, a nanotecnologia, que é uma das áreas mais promissoras de desenvolvimento tecnológico, tem sido amplamente aplicada a materiais poliméricos. A incorporação de nanopartículas (pelo menos uma das dimensões < 100 nm) em matrizes poliméricas criou uma nova gama de aplicações para os polímeros convencionais. Partículas deste tamanho apresentam uma grande área superficial e, frequentemente, exibem propriedades mecânicas, ópticas, magnéticas ou químicas distintas de partículas e superfícies macroscópicas. Assim foram desenvolvidos os chamados bionanocompósitos, uma nova classe de materiais proveniente do atual interesse no desenvolvimento de nanomateriais derivados de fontes renováveis. Os bionanocompósitos possuem aplicações potenciais na área médica, na agricultura, no setor de embalagens, entre outros. As principais nanocargas utilizadas incluem as sílicas esfoliadas, nanotubos de carbono e os polissacarídeos. Polissacarídeos como a celulose, o amido e a quitina são fontes renováveis em potencial para o uso como nanopartículas

de reforço (THIELEMANS *et al*, 2006). Dentre estas cargas naturais, o amido merece destaque por sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, não-toxicidade e por ser proveniente de fonte vegetal renovável disponível durante todo o ano, sendo encontrado no milho, trigo, mandioca, batata entre outros (THIELEMANS *et al*, 2006).

O amido é um carboidrato de reserva de energia vegetal que é armazenado na forma de pequenos grânulos insolúveis em água a temperatura ambiente. O amido nativo é composto por dois polímeros, a amilose e a amilopectina, ambos constituídos de unidades alfa-D-glucose. A hidrólise ácida do amido de milho nativo permite a obtenção de um resíduo cristalino insolúvel na forma de pequenas placas com espessura da ordem de nanômetros, denominado nanocristal de amido.

1.2 OBJETIVO

Na busca pelo desenvolvimento de materiais biodegradáveis de fonte renovável, este trabalho teve como objetivo produzir bionanocompósitos de PHB através da incorporação de nanocristais de amido.

O trabalho seguiu as seguintes etapas:

- Produção dos nanocristais de amido a partir da hidrólise ácida do amido de milho nativo;
- Preparação dos bionanocompósitos na forma de filmes com diferentes composições;
- Caracterização das propriedades físicas e morfológicas dos filmes obtidos.

CAPÍTULO II

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plásticos Ambientalmente Degradáveis

Os plásticos ambientalmente degradáveis (PADs) compõem um vasto grupo de materiais poliméricos naturais ou sintéticos, que sofrem alterações em suas propriedades químicas e físicas (degradação) sob a influência de fatores ambientais (VINHAS *et al*, 2007). Segundo a ASTM D 883-94, os PADs são polímeros designados para sofrerem uma mudança significativa em sua estrutura química sob condições ambientais específicas, resultando na perda de algumas propriedades que podem variar quando medidas por testes padrões apropriados ao polímero.

Dependendo do fator ambiental ativo, a degradação pode ser classificada em fotodegradação (por luz), termodegradação (por temperatura), hidrólise (presença de água), oxidação (presença de oxigênio), biodegradação (por microorganismos), entre outros.

Segundo a ASTM D 6400-99, os polímeros biodegradáveis são aqueles onde o mecanismo principal de degradação é a ação de microorganismos como bactérias, fungos e algas. A biodegradação é um processo natural pelo qual compostos orgânicos do meio ambiente são convertidos em compostos mais simples, mineralizados e redistribuídos através de ciclos elementares como o do carbono, nitrogênio e enxofre (CHANDRA e RUSTGI, 1998). A velocidade de biodegradação pode ser influenciada por uma série de fatores como: natureza do polímero, tipos de organismos presentes no meio de

degradação, área superficial, temperatura, pH, umidade, disponibilidade de oxigênio e suprimento de nutrientes (SILVA e GOMEZ, 2007).

Os polímeros biodegradáveis são classificados de acordo com seu processo de obtenção e dividem-se em quatro categorias que são (AVEROUS e BOQUILLON, 2004):

- a) Polímeros naturais biodegradáveis: extraídos diretamente da biomassa vegetal ou animal. Exemplos desse tipo são os polissacarídeos como o amido e a celulose, proteínas como a caseína e o glúten do trigo e os lipídios;
- b) Polímeros de origem bacteriana: produzidos por microorganismos ou bactérias. Os mais conhecidos são os polihidroxicanoatos, principalmente o poli(3-hidroxiacetato) (PHA) e o poli(3-hidroxiacetato-co-valerato) (PHBV).
- c) Polímeros sintetizados de monômeros bioderivados: como polilactato (PLA) e as poliuretanas obtidas a partir de polímeros de óleos vegetais.
- d) Polímeros sintetizados a partir de monômeros derivados da indústria petroquímica: como a policaprolactona (PCL), o poli(vinil álcool) (PVA), o poli(butileno succinato) (PBS) e os poliésteres alifáticos.

2.2 Poli(3-hidroxiacetato) - PHA

O poli(3-hidroxiacetato) (PHA) é um polímero totalmente biodegradável pertencente a família dos polihidroxicanoatos. Foi descoberto em 1925 por Maurice Lemoigne que, observando grânulos insolúveis inclusos no citoplasma das células da bactéria *Bacillus megaterium*, constatou um poliéster tendo uma fórmula empírica

$(C_4H_6O_2)_n$. Mais tarde, esse poliéster foi identificado como PHB, cuja estrutura está representada na Fig. 2.1.

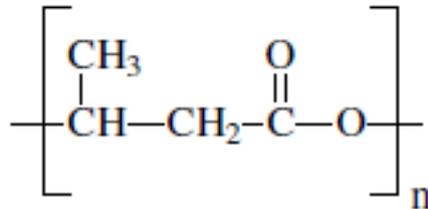


Figura 2.1: Fórmula estrutural do PHB (Poli (3-hidroxibutirato)).

O processo de produção industrial do PHB constitui-se basicamente de duas etapas: uma etapa fermentativa onde o microorganismo metaboliza o açúcar disponível no meio e acumula o PHB no interior da célula como fonte de reserva e uma etapa posterior, onde o polímero acumulado no interior da célula do microorganismo é extraído e purificado até a obtenção do produto final sólido e seco, pronto para ser utilizado. No Brasil, o substrato principal para a produção de PHB é a sacarose derivada da cana-de-açúcar (NASCIMENTO, 2001).

O PHB é insolúvel em água e solúvel em alguns solventes apolares como o clorofórmio. O PHB é altamente cristalino com uma temperatura de fusão aproximada de 180°C e uma temperatura de cristalização em torno de 5°C. Pode ser processado como um termoplástico convencional por diversas técnicas para ser utilizado nas mais diversas aplicações, como embalagens, recipientes e materiais descartáveis, com propriedades mecânicas similares às dos plásticos convencionais (CARASCHI *et al*, 2002). Uma combinação de alta cristalinidade e altas temperaturas faz com que os seus filmes sejam bastante brilhantes. Sua rigidez e baixa resistência ao impacto têm dificultado bastante sua utilização. As principais propriedades do PHB podem ser observadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: algumas propriedades térmicas e mecânicas do PHB (EL-HADI, 2002).

PROPRIEDADE	VALOR
<i>CRISTALINIDADE (%)</i>	<i>55-80</i>
<i>TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA (°C) T_g</i>	<i>5</i>
<i>DENSIDADE MÉDIA (g/mol)</i>	<i>1,26</i>
<i>TENSÃO DE ESCOAMENTO (MPa)</i>	<i>35</i>
<i>ALONGAMENTO NA RUPTURA (%)</i>	<i>10</i>
<i>MODULO DE ELASTICIDADE (GPa)</i>	<i>1,70</i>
<i>RESISTÊNCIA AO IMPACTO (KJ/mm²)</i>	<i>3</i>

Em termos cristalográficos, o PHB apresenta célula unitária ortorrômbica com os seguintes parâmetros de rede: $a = 5,69 \text{ \AA}$; $b = 13,04 \text{ \AA}$ e $c = 5,90 \text{ \AA}$ referentes aos planos cristalinos (110), (020) e (021) (OLIVEIRA *et al*, 2006). Devido a sua origem natural, o PHB tem uma excepcional regularidade estereoquímica; suas cadeias são lineares com interações do tipo van der Waals, entre os oxigênios da carbonila e os grupos metila, e ligações hidrogênio devido à presença de grupos hidroxila. Os centros quirais possuem apenas uma configuração o que faz com que o polímero seja isotático e assim, altamente favorável à cristalização (LUO *et al*, 2003).

Existem muitas razões para o comportamento frágil do PHB (EL-HADI *et al*, 2002):

- A cristalização secundária da fase amorfa que ocorre durante armazenagem a temperatura ambiente;
- A temperatura de transição vítrea que é próxima da temperatura ambiente;
- Possui baixa densidade de nucleação, apresentando esferulitos grandes com grandes vazios entre eles, fazendo com que o material trinque facilmente.

Além da fragilidade, o PHB possui processabilidade limitada, pois sua temperatura de degradação encontra-se na faixa da temperatura de fusão cristalina (T_m). Assim as características de processabilidade, elevada cristalinidade e elevada T_m podem ser alteradas através da fabricação de blendas ou compósitos de PHB com outros polímeros biodegradáveis (IKEJIMA e INOUE, 2000; EL-HADI, 2002; THIRÉ *et al*, 2006).

2.3 Bionanocompósitos

Materiais compósitos podem ser definidos como materiais formados por dois ou mais constituintes com composições, estruturas e propriedades distintas, onde há uma fase agregadora chamada matriz e uma fase dispersa chamada reforço ou carga. Estas duas fases estão separadas por uma região de transição chamada interface (GIBSON, 1994). O objetivo principal em se produzir um material compósito é combinar as diferentes propriedades de seus constituintes para produzir um único dispositivo com propriedades superiores às dos componentes individuais.

O avanço de pesquisas em nanotecnologia permitiu o desenvolvimento de uma nova classe de materiais compósitos: os nanocompósitos, que são compósitos de matriz polimérica reforçados por partículas que possuem pelo menos uma das dimensões na

escala nanométrica. O uso de nanopartículas confere melhorias de propriedades mecânicas, térmicas e de barreira em matrizes poliméricas em comparação a seus correspondentes macroscópicos, inclusive a baixas concentrações de partículas. Estes efeitos estão relacionados à grande área superficial das nanopartículas, que favorecem uma maior interação entre a carga e o polímero. Em matrizes termoplásticas as nanopartículas podem causar variações na cristalinidade, na conformação da cadeia e no peso molecular. Em matrizes semicristalinas, além de alterações no grau de cristalinidade, as nanopartículas podem causar tanto alterações no tamanho e organização das lamelas quanto na estrutura dos esferulitos (SCHADLER *et al*, 2007).

Muitos materiais têm sido empregados eficazmente como nanocargas em matrizes poliméricas como é o caso da fibra de vidro, do nanotubo de carbono e da argila esfoliada (PARALIKAR, 2006). Muitos estudos baseados no uso de argila como nanorreforço foram apresentados nos últimos anos. Filmes com boa resistência térmica, rigidez e boas propriedades de barreira foram obtidos com a incorporação de argila em poli(ácido lático) (PLA), policaprolactona (PCL), poli(butileno succinato) (PBS), poli(3-hidroxi-butilirato) (PHB) e amido termoplástico (TPS) (YANG *et al*, 2007, CHEN e EVANS, 2006, MAITI *et al*, 2007).

Atualmente, a questão ambiental tem gerado um grande interesse no desenvolvimento de nanocompósitos que combinem biodegradabilidade e sustentabilidade. Assim, surgiu uma nova classe de nanomateriais biodegradáveis derivados de polímeros naturais de fontes renováveis, os chamados bionanocompósitos. Nos bionanocompósitos o polímero natural pode ser utilizado como matriz, nanocarga ou ambos. Dentre os polímeros naturais, os polissacarídeos são a principal fonte para a produção de nanopartículas. Os polissacarídeos são abundantes na natureza por serem

provenientes de diversas fontes naturais. Geralmente, as nanopartículas naturais são o resíduo cristalino, de estrutura uniforme, formado após a hidrólise ácida ou alcalina de polissacarídeos como os nanocristais de celulose e quitina, também chamados *whiskers*, e os nanocristais de amido (CHEN *et al*, 2008).

Dentre as nanopartículas naturais, a mais extensivamente investigada é o *whisker* de celulose. Este termo “*whiskers*” refere-se às nanopartículas de estrutura alongada, na forma de bastão. Os *whiskers* de celulose são como um feixe de microfibras onde as moléculas de celulose são estabilizadas lateralmente por ligações hidrogênio entre os grupos hidroxila. Devido a sua estrutura cristalina, os *whiskers* de celulose possuem alto módulo de elasticidade e podem agir como um eficiente agente de reforço (OKSMAN *et al*, 2006). O primeiro trabalho a utilizar *whiskers* de celulose como agente reforço foi em 1995 (FAVIER *et al*, 1995). Os autores mostraram que a utilização de uma fração mássica de 6% de *whiskers* de celulose extraídos da tunicina sobre a matriz do copolímero poli(estireno-acrilato de butila) conferiu um aumento no módulo de cisalhamento do material em até 100 vezes.

Diversas pesquisas têm apresentado a utilização de *whiskers* de quitina como agente de reforço em nanocompósitos. Características como redução do grau de cristalinidade da matriz (MORIN E DUFRESNE, 2002) e redução do teor de absorção de água (LU *et al*, 2004) foram as principais propriedades observadas.

Atualmente, os nanocristais de amido têm atraído à atenção de diversos pesquisadores por conferir propriedades de reforço e resistência à água.

Pesquisas recentes mostram os efeitos da incorporação de nanocristais de amido em diversas matrizes de polímeros naturais. ANGELLIER *et al* (2005) observaram que a adição de nanocristais de amido em borracha natural promoveu melhoria de

propriedades mecânicas e reduziu a permeabilidade à água e ao oxigênio. Uma diminuição na temperatura de transição vítrea (Tg) foi obtida conforme o aumento da concentração de nanocristais.

ANGELLIER *et al* (2006) observaram que a adição de nanocristais de amido intensificou substancialmente as propriedades mecânicas de filmes de amido termoplástico (TPS). Este efeito foi atribuído, principalmente, à forte interação entre matriz e carga. Uma diminuição significativa da retrogradação e cristalização do amido termoplástico, fenômenos que ocorrem durante a estocagem e causam variações das propriedades termomecânicas, também foram observadas.

KRISTO & BILIADERIS (2007) avaliaram as propriedades físicas de filmes de pululana reforçados com nanocristais de amido. Um aumento das propriedades de barreira à água foi observado em filmes contendo mais de 20% (p/p) de nanopartículas. O aumento significativo do módulo de elasticidade e de resistência à tração com o aumento do conteúdo de carga, mostrou a eficiência dos nanocristais de amido como agente de reforço.

2.4 Amido

O amido é um polissacarídeo natural encontrado na forma de pequenos grânulos nas raízes, frutos e sementes dos vegetais. É uma substância de reserva para a maioria das plantas e constitui fonte de energia essencial para os seres humanos, muitas espécies de animais e microorganismos (LACERDA, 2006). O amido está entre os polissacarídeos mais abundantes da Terra, o segundo logo após a celulose. Apesar de sua ampla distribuição no reino vegetal, poucas fontes são utilizadas extensivamente na produção comercial de amido. Cereais como milho, trigo e arroz e tubérculos como batata, batata

doce, mandioca e araruta podem ser considerados como as fontes mais importantes (BETANCUR e CHEL, 1997). No Brasil, entretanto, o milho e a mandioca são as fontes mais abundantes.

O amido é uma mistura de dois polímeros estruturalmente diferentes, a amilose e a amilopectina (Figura 2.2).

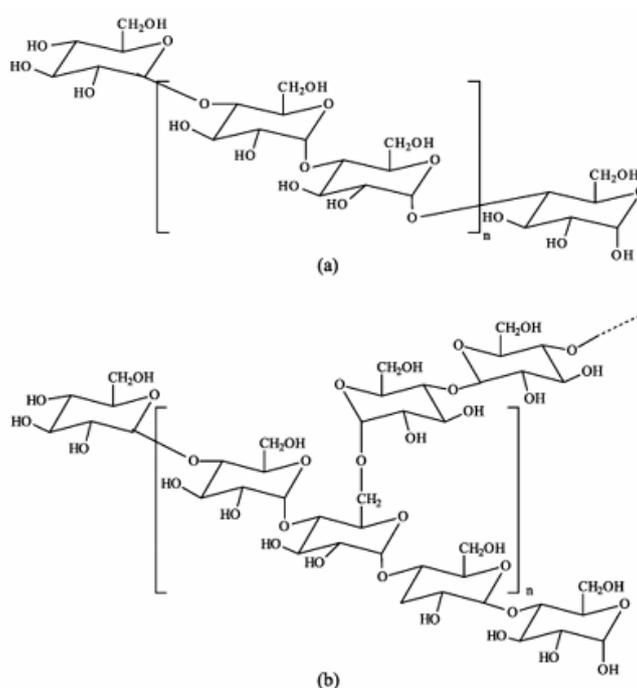


Figura 2.2: Representação das estruturas da amilose (a) e da amilopectina (b).

A amilose é uma molécula essencialmente linear formada de unidades de α -D-glicopiranosose (Figura 2.3) ligadas, predominantemente, por ligações glicosídicas α -(1,4) (Figura 2.2a). O peso molecular da cadeia está em torno de $10^5 - 10^6$ g/mol, dependendo da origem botânica e das condições de processo empregadas na extração do amido (BULÉON *et al*, 1998). A abundância de grupos hidroxila confere propriedades hidrofílicas ao polímero, como afinidade por umidade e dispersibilidade em água. Contudo, as cadeias de amilose tendem a orientar-se paralelamente permitindo a

formação de ligações hidrogênio entre as hidroxilas das cadeias adjacentes, reduzindo assim, a afinidade do polímero por água (WURZBURG, 1986).

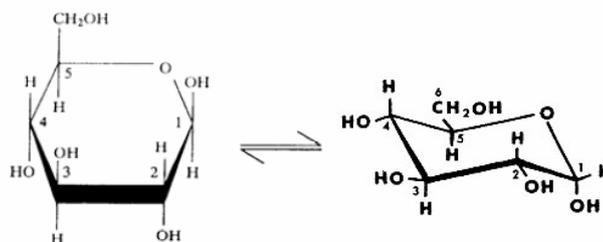


Figura 2.3: Fórmula estrutural da molécula de α -D-glicopirranose.

A amilopectina é um polímero altamente ramificado formado por unidades de α -D-glicopirranose também unidas por ligações α -(1,4). No entanto, há pontos de ramificação onde existem ligações α -(1,6), que compreendem de 4 a 5% do total de ligações da molécula (FIGURA 2.2b). Devido a sua grande quantidade de ramificações, o peso molecular da amilopectina é muito maior que o da amilose, ficando em torno de $10^7 - 10^9$ g/mol. A organização básica das cadeias de amilopectina é descrita com base no modelo de *clusters*, onde uma cadeia principal (C), que carrega o grupo redutor da molécula, está ligada a numerosas ramificações denominadas cadeias A e B (Figura 2.4). As cadeias mais externas (A) não possuem ramificação e são ligadas à molécula, por uma única ligação α -1,6 com as cadeias mais internas (B). As cadeias B são ramificadas e podem estar ligadas a duas ou mais cadeias, também via ligações glicosídicas α -1,6 (BULÉON *et al*, 1998).

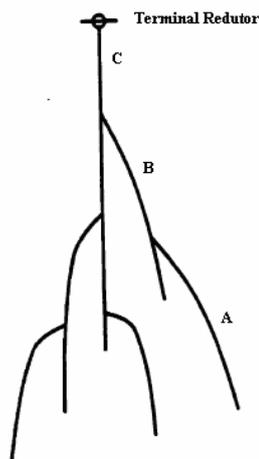


Figura 2.4: Representação esquemática dos pontos de ramificação da amilopectina.

Além da amilose e da amilopectina, no grânulo de amido são encontrados outros componentes em menor quantidade. Estes componentes estão presentes tanto na superfície quanto no interior do grânulo e podem ser separados em três categorias, de acordo com sua localização (BULÉON *et al*, 1998):

- Material particulado, composto principalmente de fragmentos de parede celular;
- Componentes superficiais, composto basicamente de proteínas, enzimas, aminoácidos e ácidos nucleicos;
- Componentes internos, composto principalmente de lipídios.

A proporção exata dos componentes minoritários depende da origem botânica do amido. Contudo, as proteínas e os lipídios são os mais abundantes entre estes.

A razão amilose/amilopectina nos grânulos de amido varia de acordo com sua origem botânica. Os amidos mais comuns como o amido de milho regular, o amido de trigo, de batata e de mandioca contêm cerca de 18 a 28% de amilose. Certos tipos de amidos, obtidos de modificações genéticas de milho, distam significativamente desta

faixa. Por exemplo, o amido de milho ceroso (*waxy maize*) que contém apenas traços de amilose (< 1%) e o amido de milho com alto teor de amilose (*amilomaize*) que contém de 55 a 70% de amilose (WURZBURG, 1986). Variações nas proporções entre estes componentes e em suas estruturas podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais diferentes.

Por ser totalmente insolúvel em água, o amido acumula-se nas plantas na forma de pequenas partículas ou grânulos. Dependendo da fonte vegetal, o tamanho do grânulo de amido nativo varia de 1 a 100 µm de diâmetro (FRENCH, 1973). Todos os grânulos possuem um hilo, que constitui o centro de nucleação, ao redor do qual o grânulo se desenvolve na forma de anéis concêntricos denominados “anéis de crescimento” (Figura 2.5). Os grânulos de amido nativo quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, apresentam um sinal de birrefringência (Cruz de Malta) que é característico de uma organização esferocristalina. Além disso, outras técnicas de microscopia demonstram que há um alto grau de orientação das cadeias do amido numa direção perpendicular a superfície do grão, revelando um arranjo cristalino radialmente orientado (TESTER *et al*, 2004). A análise por microscopia eletrônica revelou que os grânulos de amido são formados por anéis semicristalinos e amorfos alternados. A distribuição das áreas semicristalinas e amorfas foi analisada através de hidrólise ácida. Sob estas condições, os grânulos se rompem revelando uma organização lamelar (BULÉON *et al*, 1998). Através de diferentes tipos de análise acredita-se que os anéis semicristalinos consistem de sucessivas lamelas cristalinas e amorfas intercaladas (FRENCH, 1984). A camada cristalina consiste de regiões ordenadas compostas de hélices duplas formadas pelas cadeias laterais (cadeias A) da amilopectina e que são mantidas unidas por ligações hidrogênio. As regiões amorfas são compostas de amilose

e dos pontos de ramificação entre as cadeias A e B da amilopectina (MURPHY, 2000; TESTER *et al*, 2004). Experimentos de raios-X (MUHR *et al*, 1984; JENKINS *et al*, 1995; GALLANT *et al*, 1997) revelaram que os grânulos de amido exibem uma estrutura lamelar formada pelo empacotamento de subunidades nanométricas (lamela cristalina e amorfa alternada) com periodicidade de 9-10 nm.

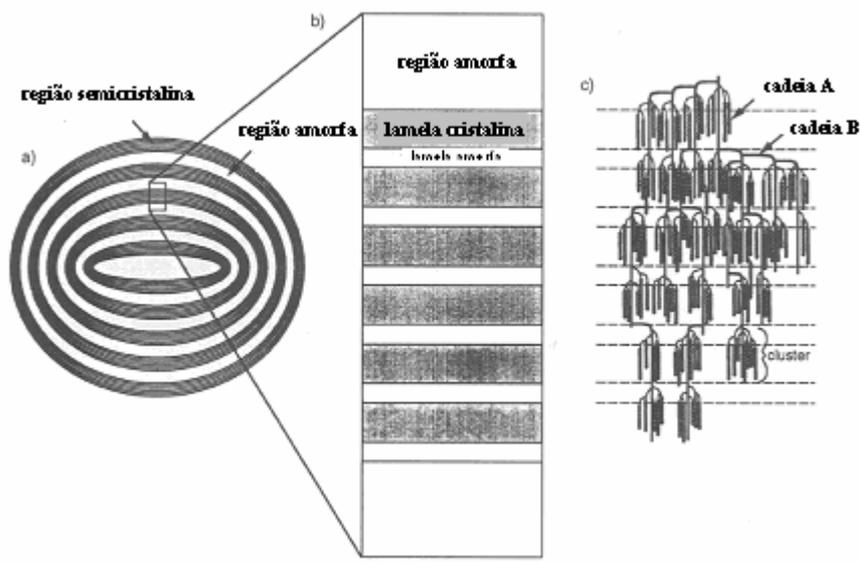


Figura 2.5: Representação esquemática da estrutura lamelar do grânulo de amido. (A) regiões semicristalinas e amorfas formando os anéis de crescimento. (B) visão expandida da estrutura interna. (C) estrutura de *clusters* da amilopectina (Jenkins *et al*, 1995).

2.4.1 Cristalinidade do amido nativo

Os grânulos de amido nativo apresentam três estruturas cristalinas principais, que variam de acordo com a fonte vegetal. O tipo A, encontrado nos cereais; o tipo B, encontrado em tubérculos e o tipo C, considerado uma mistura das estruturas A e B, encontrado em leguminosas. Há ainda uma estrutura cristalina tipo V, do alemão "*Verkleisterung*" (gelatinização), formada durante a gelatinização do amido,

característica da amilose complexada com ácidos graxos e monoglicerídeos (BULÉON *et al*, 1998).

Do ponto de vista estrutural, os diferentes níveis de hidratação e o empacotamento da estrutura helicoidal são os responsáveis pela diferença entre as formas cristalinas do tipo A e B. A célula unitária do tipo A possui uma estrutura mais compacta e menos hidratada que a do tipo B (TESTER *et al*, 2004). Na estrutura cristalina do tipo A, as duplas hélices estão empacotadas em uma célula unitária monoclinica (parâmetros de rede: $a = 2,124$ nm, $b = 1,172$ nm, $c = 1,069$ nm e $\gamma = 123,5^\circ$) com oito moléculas de água. O difratograma de raios-X apresenta 2 picos de pequena intensidade em $2\theta = 10,1^\circ$ e $11,5^\circ$, 2 picos de forte intensidade a $15,3^\circ$ e $23,5^\circ$ referentes a um espaçamento intercrystalino $d = 5,8$ Å e $d = 3,8$ Å, respectivamente e um pico duplo a $17,1^\circ$ ($d = 5,2$ Å) e $18,2^\circ$ ($d = 4,9$ Å) (IMBERTY *et al*, 1988). Na estrutura do tipo B as duplas hélices estão empacotadas em uma célula unitária hexagonal (parâmetros de rede: $a = b = 1,85$ nm, $c = 1,04$ nm e $\gamma = 120^\circ$), onde estas hélices estão dispostas ao redor de uma cavidade central com 36 moléculas de água (BULÉON *et al*, 1998). O difratograma de raios-X apresenta um pico a $2\theta = 5^\circ$ ($d = 17,7$ Å), um pico largo de média intensidade a $15,0^\circ$ ($d = 5,9$ Å), um pico de forte intensidade a $17,05^\circ$ ($d = 5,2$ Å) e 3 picos de média intensidade a $19,7^\circ$ ($d = 4,5$ Å), $22,2^\circ$ ($d = 4,0$ Å) e $24,04^\circ$ ($d = 3,7$ Å).

2.4.2 Propriedades do Amido

2.4.2.1 Gelatinização

A gelatinização pode ser definida como um processo irreversível de inchamento e rompimento granular que ocorre quando uma suspensão de amido é aquecida em

presença de água. Pode ser ainda, considerado como um processo de transição de fase endotérmico. Esta transição de fase está associada com a difusão de água nas zonas amorfas, inchamento do grânulo, liberação de amilose para a solução, aumento da viscosidade, perda da birrefringência, perda da cristalinidade, dissociação das duplas hélices e por fim, a solubilização do amido.

Com o aquecimento, as zonas amorfas do grânulo de amido absorvem água, expandem-se de maneira irreversível, levando ao desaparecimento de toda ordem estrutural do grânulo. Posteriormente, ocorre o desenovelamento das duplas hélices e a ruptura das ligações hidrogênio nas zonas cristalinas do grânulo, levando ao seu rompimento (JENKINS E DONALD, 1998). Assim que a estrutura granular se desintegra, ocorre uma separação de fase entre a amilose e a amilopectina. A amilose lixiviada do grânulo comporta-se como uma matriz contínua reforçada por partículas de grânulos inchados e amilopectina gelatinizada (HONGSPRABHAS, 2007). À medida que a solução é resfriada, a viscosidade tende a aumentar e ocorre a formação de uma pasta viscoelástica turva ou, em concentrações altas de amido, um gel elástico opaco. A temperatura na qual ocorre este tipo de transformação é chamada de temperatura de gelatinização, T(G).

Diversos métodos são empregados para avaliar a gelatinização do amido, dentre eles a microscopia óptica sob luz polarizada, calorimetria diferencial de varredura (DSC), espalhamento de raios-X a baixo ângulo, ressonância magnética nuclear (RMN), entre outros. Devido ao caráter endotérmico da gelatinização, os métodos de análise térmica, em particular o DSC, têm atraído o interesse no estudo do fenômeno de transição de fase durante a gelatinização do amido (BILIADERIS *et al*, 1986). As mudanças de entalpia observadas por DSC estão relacionadas com as transições do tipo ordem-desordem da estrutura semicristalina e amorfa do grânulo.

2.4.2.2 Retrogradação

O fenômeno de retrogradação pode ser definido como um processo de reorganização estrutural (ou recristalização) que ocorre durante o resfriamento e armazenagem dos géis de amido em temperaturas acima da temperatura de transição vítrea (T_g). Durante o resfriamento, as cadeias de amilose e amilopectina agregam-se na forma de duplas hélices estabilizadas por ligações hidrogênio, formando estruturas cristalinas tridimensionais estáveis. Admite-se que a retrogradação do amido consiste em dois processos que ocorrem separadamente: um envolvendo a cristalização da amilose solubilizada durante a gelatinização (processo de 24h) e outro envolvendo a recristalização da amilopectina do grânulo gelatinizado (várias semanas) (MILES *et al*, 1985; VAN SOEST *et al*, 1994).

A retrogradação é um processo que depende de diversos fatores como concentração de amido, peso molecular, presença de solutos, tempo de estocagem, temperatura e pH (ELIASSON & GUDMUNDSSON, 1996).

O amido nativo apresenta limitações que reduzem seu uso em aplicações industriais, como baixa resistência ao cisalhamento, decomposição térmica e retrogradação (BETANCUR e CHEL, 1997). Modificações químicas podem ser usadas para melhorar propriedades funcionais do amido nativo para proporcionar produtos com diferentes aplicações. As várias formas de modificação do amido nativo envolvem o tratamento dos grânulos de amido por meios químicos, físicos ou enzimáticos causando a ruptura dos grânulos, diminuição da capacidade de inchamento e absorção de água e redução do tamanho das moléculas (WURZBURG, 1986). Com o avanço no desenvolvimento de materiais biodegradáveis baseados em amido, aprofundou-se o estudo na utilização do

amido modificado em processos industriais. Dentre os processos de modificação, a hidrólise ácida tem sido largamente utilizada na indústria na preparação de xaropes de glicose a partir do amido nativo. É também, uma ferramenta muito utilizada na análise da estrutura do grânulo de amido e, além disso, permite a obtenção de resíduos cristalinos insolúveis que podem ser utilizados como carga de reforço em materiais compósitos (ANGELLIER, 2005).

5. Produção dos Nanocristais de Amido

O nanocristal de amido é a porção cristalina obtida após a hidrólise ácida do amido nativo. PUTAUX *et al* (2003) observaram, através de análises por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), que os resíduos insolúveis obtidos por hidrólise ácida, mostravam morfologia de placas (*platelet*), com espessura de 5-7 nm, empacotadas na forma de estruturas lamelares (Figura 2.6).

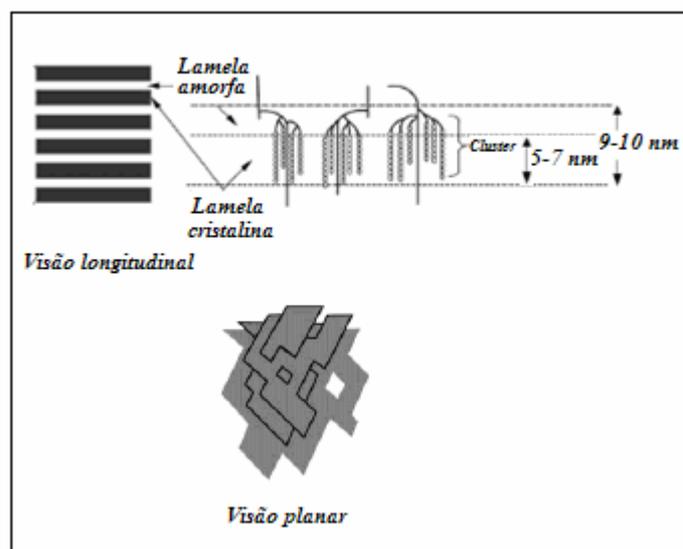


Figura 2.6: Representação esquemática dos nanocristais de amido: (a) vista longitudinal e (b) vista planar (b). Adaptado de DONALD *et al*, 1997 e PUTAUX *et al* (2003).

5.1 Hidrólise ácida dos grãos de amido

Os amidos hidrolisados são produzidos quando uma suspensão concentrada de amido (30 a 40% de sólidos) é aquecida e agitada com um ácido mineral, geralmente ácido clorídrico (HCl) ou ácido sulfúrico (H₂SO₄), a uma temperatura abaixo da temperatura de gelatinização (30 a 60°C). A hidrólise ácida é um processo que causa ruptura dos grânulos de amido, diminuição do tamanho das moléculas, redução da viscosidade e diminuição da sinerese (WURZBURG, 1986).

5.1.1 Mecanismo de hidrólise

O mecanismo de hidrólise ácida de um polissacarídeo ocorre com a quebra da ligação glicosídica. O ácido funciona como catalisador da reação, promovendo um ataque eletrofílico ao átomo de oxigênio da ligação glicosídica, formando um íon oxônio. A deficiência eletrônica deste carbocátion formado é estabilizada via efeitos de indução da ligação carbono C₄ e oxigênio da ligação glicosídica. Como consequência, o átomo de oxigênio da ligação glicosídica passa a possuir densidade eletrônica maior que o seu outro carbono adjacente (C₁).

A redução da densidade da nuvem eletrônica próxima a C₁ também é causada por efeitos de indução do oxigênio do anel de glicopirranose, que é um grupo retirador de elétrons. Esta deficiência eletrônica favorece o ataque eletrofílico de um próton no oxigênio da ligação glicosídica, acarretando na quebra da ligação C₁-O. O carbocátion intermediário formado é um ácido de Lewis que reage com a água do meio (base de Lewis), regenerando o grupo hidroxila (OH) (Figura 2.7).

Classicamente, a hidrólise ácida é realizada em meio aquoso com ácido clorídrico 8%, produzindo amilodextrinas Lintner ou amido lintnerizado (LINTNER, 1886) ou com ácido sulfúrico 15%, produzindo amilodextrinas Naegeli (NAEGELI, 1874).

A degradação do amido nativo por hidrólise ácida depende de muitos parâmetros como origem botânica do amido, morfologia do grânulo e proporção relativa de amilose e amilopectina. Além disso, depende das condições de hidrólise, como tipo de ácido, concentração de ácido, concentração de amido, temperatura, tempo de hidrólise e agitação.

A cinética de hidrólise mostra duas etapas principais. Para curtos períodos de hidrólise, a cinética é rápida e corresponde a hidrólise das zonas amorfas. Para longos períodos, a cinética de hidrólise é lenta e corresponde a hidrólise das zonas cristalinas (DUFRESNE, 2008). GÉRARD *et al* (2002) confirmaram este comportamento através da análise das curvas de hidrólise de diferentes tipos de amido. As curvas, plotadas na forma semi-logarítmica [$\log(100/100-X)$] vs tempo, onde X é a extensão da hidrólise, mostraram duas cinéticas de primeira ordem indicando a variação do comportamento do ácido em duas organizações estruturais distintas. Resultados semelhantes foram observados por BILIADERIS *et al* (1981) (Figura 2.8). A primeira etapa (etapa rápida) corresponde à hidrólise das camadas amorfas do grânulo de amido. Na segunda etapa as camadas cristalinas são lentamente degradadas.

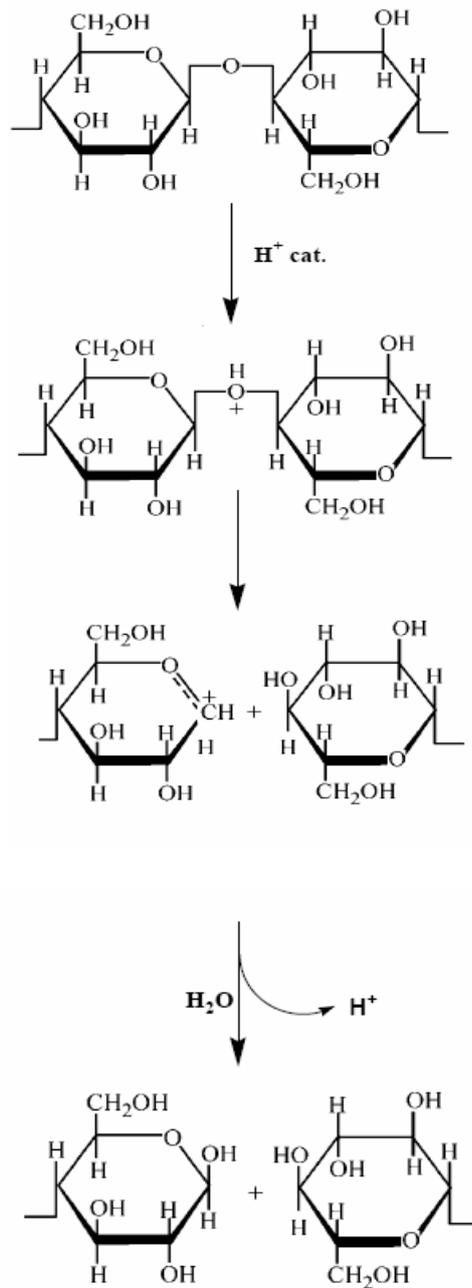


Figura 2.7 Mecanismo de hidrólise ácida do amido adaptado de LOSEV *et al*, 2003

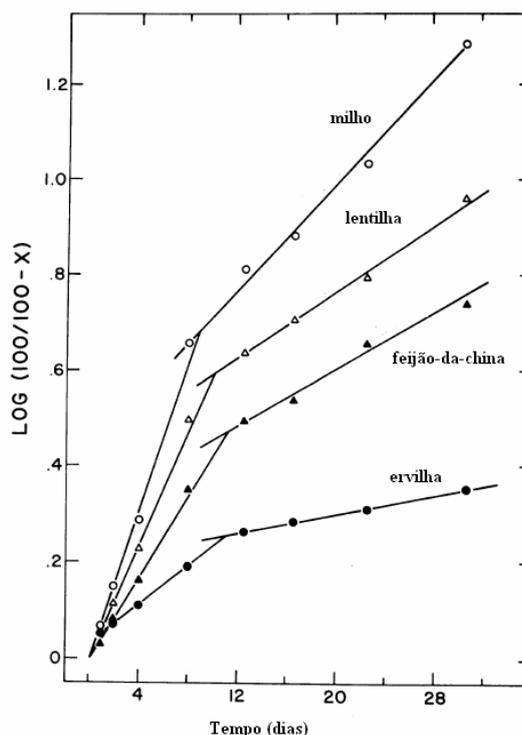


Figura 2.8: hidrólise ácida de diferentes tipos de amido (HCL 2,2 N, 35 °C). Adaptado de BILIADERIS *et al* (1981).

Geralmente, os amidos ricos em amilose são menos susceptíveis à hidrólise ácida (ROBIN, 1976). BILIADERIS *et al* (1981) sugeriram que a estrutura cristalina dos amidos ricos em amilose seria composta de amilose retrogradada. Devido à presença de ligações hidrogênio entre os agregados de amilose retrogradada, esta estrutura seria resistente à hidrólise ácida. Muitos estudos foram realizados na tentativa de se determinar a baixa reatividade da amilose ao ataque ácido, mas nenhum deles foi conclusivo. Atualmente, sabe-se que o ácido é mais reativo na quebra de moléculas ramificadas do que lineares (PUTAUX *et al*, 2003). No entanto, para o amido as moléculas mais ramificadas (amilopectina) encontram-se na região cristalina do grânulo, menos acessível aos íons H_3O^+ . Este fato sugere que a hidrólise ácida do amido é governada por dois fatores: a reatividade e a acessibilidade do ácido.

Diversos estudos já foram realizados para se determinar a cinética da reação de hidrólise ácida do amido e quais os parâmetros que podem influenciar significativamente a taxa de hidrólise e, conseqüentemente, o rendimento do produto final (LOSEV *et al*, 2003; GÉRARD *et al*, 2002; BETANCUR e CHEL, 1997; BILIADERIS *et al*, 1981). Segundo estes autores, a reação de hidrólise ácida do amido é descrita por uma cinética de primeira ordem, que é proporcional a concentração de ácido e independente da concentração de amido. A Tabela 2.2 apresenta o efeito da variação de diferentes condições de operação no rendimento mássico da hidrólise ácida do amido de milho ceroso.

Tabela 2.2: Rendimentos mássicos da hidrólise em função da variação das condições de operação.

Tipo de ácido	H ₂ SO ₄	HCl
Concentração de ácido	3,16 M	2,2 M
Concentração de amido	14,7%	5%
Temperatura	40°C	36°C
Tempo de hidrólise	5 dias	40 dias
Rendimento mássico	15,7%	0,5%

A temperatura e o ácido utilizado podem agir como catalisadores da reação. Por esta natureza catalítica, a agitação não é um fator que influencie significativamente a cinética da reação de hidrólise (ANGELLIER *et al*, 2004).

Conforme observado na Tabela 2.2, a principal desvantagem do uso dos resíduos de hidrólise ácida com HCl para uso em compósitos é o tempo de duração da hidrólise. Trata-se de um processo lento, onde uma suspensão de amido é constantemente agitada por cerca de 40 dias, sob temperatura controlada e com rendimento de 0,5% (p/p).

ANGELLIER *et al* (2004) analisaram, através de modelos estatísticos, que é possível a obtenção de nanocristais de amido por hidrólise ácida com H_2SO_4 3,16 M em 5 dias, com rendimento de 15% (p/p) e com a mesma morfologia daqueles obtidos por hidrólise com HCL.

A diminuição significativa no tempo de hidrólise e o aumento do rendimento tornam a hidrólise ácida com H_2SO_4 mais atrativa na obtenção de nanocristais de amido para aplicação em nanocompósitos. Além disso, as suspensões de amido provenientes da hidrólise ácida com H_2SO_4 são mais estáveis, favorecendo o processamento de materiais compósitos quando os nanocristais de amido são utilizados na forma de solução aquosa.

CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

O amido de milho ceroso (*waxy maize*), composto de 99% de amilopectina, foi fornecido pela Corn Products Brasil (São Paulo, Brasil) sob o nome comercial de Amidex 4001. O poli(3-hidroxibutirato) (PHB) foi fornecido pela PHB Industrial S/A (São Paulo, Brasil) na forma de pó branco com peso molecular médio de (Mw) de 524.000 Da e polidispersão igual a 8,6.

3.2 Preparação dos Nanocristais de Amido (NcAm)

3.2.1 Hidrólise Ácida do Amido de Milho Nativo

Os nanocristais de amido foram obtidos por hidrólise ácida do amido de milho nativo em ácido sulfúrico (H_2SO_4) conforme descrito na literatura (ANGELLIER *et al*, 2004). Primeiramente, 36,725 g de amido de milho foram misturados com 250 mL de solução de H_2SO_4 3,16 M. Esta solução foi mantida em banho de óleo a 40°C e sob agitação de 500 rpm, aproximadamente, por 5 dias. A suspensão resultante foi, então, neutralizada com água destilada em centrifugações sucessivas (Sorvall RC-5B, Du Pont Instrument) a 10.000 rpm e 10°C por 20 min, até que o pH da suspensão estivesse próximo de 7,0. Posteriormente, utilizou-se um homogenizador Ultra Turrax T25 a 13.500 rpm por 3 min para dispersar os agregados e assim obter uma suspensão

homogênea. Esta suspensão foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido e colocada em um liofilizador onde em um processo de secagem por congelamento a vácuo todo solvente foi sublimado e nanocristais secos foram obtidos.

3.2.2 Cálculo do Rendimento da Hidrólise

O rendimento final da hidrólise é definido pela equação abaixo:

$$R = \frac{m_{final}}{m_{inicial}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.1}$$

onde m_{final} é a massa seca dos resíduos insolúveis após a hidrólise e $m_{inicial}$ é massa seca de amido nativo antes da hidrólise.

3.3 Preparação da solução de PHB

A solução de PHB foi obtida pela solubilização de 7,0 g de PHB em 80 mL de clorofórmio sob agitação constante, em uma primeira etapa (etapa de inchamento) a temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente (etapa de solubilização) com aquecimento sob refluxo a 65°C por 3 horas. A solução resultante, depois de atingir a temperatura ambiente foi filtrada a vácuo.

3.4 Preparação dos filmes de PHB/NcAm

Os filmes de PHB e nanocristais de amido (PHB/NcAm) foram obtidos pela técnica de evaporação por solvente (casting). Os filmes de PHB/NcAm foram preparados a partir de uma solução de PHB 8% (p/v) em clorofórmio, onde diferentes frações mássicas de nanocristais de amido foram adicionadas. Foram obtidos filmes PHB/NcAm nas proporções, em %(p/p): 100/0, 98/2, 95/5, 90/10 e 80/20. A mistura PHB/NcAm foi aquecida a 40°C (temperatura inferior ao ponto de ebulição do clorofórmio) por 15 min sob agitação constante em placa de agitação magnética. A solução foi vertida em placa de Petri e colocada no dessecador até completa evaporação do solvente.

3.5 Caracterização dos Nanocristais de Amido (NcAm)

3.5.1. Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica de espectroscopia vibracional que analisa um conjunto de transições vibracionais em uma determinada amostra, obtendo informações a respeito do tipo, estrutura e conformação molecular, bem como a natureza das ligações químicas presentes.

O princípio da técnica baseia-se no espalhamento inelástico de fótons pela matéria, quando irradiada por luz monocromática. Quando se incide sobre uma molécula uma radiação monocromática de frequência ν_0 tipicamente na região do visível, verificam-se dois tipos de espalhamento desta radiação. Um mais intenso que ocorre com a mesma frequência original ν_0 (chamado espalhamento Rayleigh) e o outro mais fraco, que ocorre com uma frequência que varia de $\nu_0 \pm \nu_i$ (espalhamento inelástico ou Raman). O conjunto das frequências Raman espalhadas por uma determinada amostra é chamado

espectro Raman da amostra. As frequências Raman espalhadas por determinado material podem ser relacionadas a movimentos vibracionais característicos da molécula. Em moléculas complexas, algumas destas frequências estão associadas a modos vibracionais de grupos funcionais específicos (AGARWAL e ATALLA, 1995).

Para monitorar as modificações ocorridas ao amido de milho nativo durante o processo de hidrólise, a solução de amido hidrolisado foi analisada por espectroscopia Raman. O espectro Raman foi obtido em um espectrômetro Raman Station 400 (PerkinElmer) em uma faixa de varredura de 100-1800 cm^{-1} e intervalo de 2 cm^{-1} . Alíquotas de 5 mL, retiradas uma vez ao dia durante os cinco dias de hidrólise do amido de milho nativo, foram colocadas em um tubo de quartzo e analisadas.

3.5.2 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A Microscopia de Força Atômica (AFM) é uma técnica que permite obter imagens reais, em três dimensões, da topografia das superfícies, com uma resolução espacial que se aproxima das dimensões atômicas.

A solução de nanocristais de amido foi analisada com o auxílio de um microscópio de força atômica (JPK Nanowizard AFM 1). As imagens de AFM foram obtidas com o equipamento operando em modo de contato intermitente.

3.6. Caracterização dos Bionanocompósitos

3.6.1. Difração de raios-X

Dentre as várias técnicas de caracterização de materiais, a técnica de difração de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas presentes em materiais sólidos. Isto é possível porque na maior parte dos sólidos (cristais), os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X (ALBERS *et al*, 2002).

Ao incidir um feixe de raios X em um cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenômeno de difração. A difração de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg (Equação 3.2), a qual estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram (característicos para cada fase cristalina):

$$n\lambda = 2d \text{ sen } \theta \quad (1) \quad \text{Eq. 3.2}$$

n: número inteiro

λ : comprimento de onda dos raios X incidentes

d: distância interplanar

θ : ângulo de difração

Por meio dos difratogramas de raios-X é possível estimar o grau de cristalinidade do material segundo a Equação 3.3:

$$X_{C,DRX} = \frac{I_c}{I_c + KI_a} \times 100 \quad \text{Eq. 3.3}$$

onde I_c é a área cristalina, I_a a área do halo amorfo e K é uma constante de proporcionalidade característica para cada polímero. Para o PHB esta constante é $0,96 \pm 0,03$.

PHB, amido de milho ceroso nativo, nanocristais de amido e filmes de PHB/NcAm foram analisados por difração de raios-X. Os difratogramas de raios-X foram obtidos em um difratômetro Rigaku, modelo MiniFlex, operado com comprimento de onda $\text{CuK}\alpha$ de 1,542 Å, passo 0,05 e tempo de contagem de 1 s. As medidas das intensidades difratadas foram feitas ao longo de uma região angular de 2-60° (2θ).

3.6.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura é amplamente utilizado para estudar a topografia de superfícies de materiais sólidos. Nesse aparelho, a superfície do material é varrida ponto a ponto por um feixe de elétrons, permitindo que uma imagem seja construída em seqüência à medida que a amostra é varrida. O MEV tem grande profundidade de foco. Como consequência, a topografia superficial das amostras pode ser examinada com grande facilidade e as micrografias têm aspecto tridimensional (GALLETI, 2003).

As micrografias dos filmes de PHB/NcAm foram obtidas com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM (modelo 6460 LV), operando a 15 KV. As amostras foram imersas em nitrogênio líquido e fraturadas para a análise da seção transversal. Posteriormente, as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro obtida por pulverização a vácuo.

3.6.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) é um método para determinação da taxa de decomposição de substâncias onde uma balança é usada para medir a perda de massa

em função da temperatura. A medição é realizada em uma atmosfera definida, geralmente em condições inertes (nitrogênio) ou em um ambiente oxidativo (ar ou possivelmente oxigênio) (HATAKEYAMA & QUINN, 1994).

As curvas termogravimétricas foram obtidas em um módulo termogravimétrico TGA-7 (PerkinElmer) acoplado ao analisador Pyris 1 (PerkinElmer). As amostras foram secas em estufa (2 h a 50°C) previamente à análise térmica. As amostras foram aquecidas a partir da temperatura ambiente até 500°C a uma taxa de 20°C/min em atmosfera de nitrogênio.

3.6.4. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica usada para caracterizar eventos físicos e químicos através das mudanças na entalpia ou calor específico da amostra (COLEMAN & CRAIG, 1996). As medições de DSC fornecem informações sobre os efeitos térmicos que são caracterizados por uma mudança na entalpia e pela faixa de temperatura, como o comportamento de fusão, cristalização, transições sólido-sólido e reações químicas. Uma vez que a capacidade calorífica também é medida, uma alteração dessa capacidade, semelhante ao que ocorre na transição vítrea, também pode ser determinada.

Os termogramas de DSC foram obtidos em um calorímetro DSC Pyris Diamond (Perkin-Elmer). As amostras foram aquecidas a uma taxa de 10°C/min da temperatura ambiente até 200°C. Em seguida foram resfriadas a uma taxa de 10°C/min até 0°C e então, reaquecidas a 10°C/min até 200°C, onde foram obtidas, assim, as temperaturas de fusão, cristalização e entalpia de fusão. A temperatura de fusão e a entalpia de fusão foram calculadas considerando o ponto de mínimo e da área do pico da curva

endotérmica, respectivamente. A temperatura de cristalização correspondeu ao ponto de máximo da curva exotérmica. Com o valor da entalpia de fusão pôde ser calculado o grau de cristalinidade total do material ($X_{t,DSC}$) pela equação 3.4:

$$X_{C,DSC} = \frac{\Delta H_{fa}}{\Delta H_{f100\%}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.4}$$

onde ΔH_{fa} é a entalpia de fusão da amostra e $\Delta H_{f100\%}$ é a entalpia de fusão do polímero 100% cristalino, que para o PHB é considerado 146 J/g (ERCEG *et al* , 2005).

O grau de cristalinidade considerando apenas a massa de PHB presente na amostra (grau de cristalinidade mássico, X_c mássico) pode ser calculado substituindo-se o ΔH_{fa} da Equação 3.4 pela entalpia de fusão por unidade de massa de PHB presente na amostra (ΔH_{fa}^*), de acordo com a equação 3.5:

$$\Delta H_{fa}^* = \frac{\Delta H_{fa}}{W_{PHB}} \quad \text{Eq. 3.5}$$

Onde W_{PHB} representa a fração mássica de PHB presente na amostra.

3.6.5 Ângulo de Contato

Quando a gota de um líquido é colocada sobre uma superfície, as forças de atração entre o sólido e o líquido tendem a aumentar a área de contato e esta tendência é contrabalançada pela tensão superficial que tende a manter a área superficial mínima, pelas forças de atração líquido-vapor. O ângulo formado entre a interface esférica

líquido-vapor e a interface sólido-líquido é denominado ângulo de contato Figura 3.1. Ele é específico para cada sistema e depende das interações entre as três interfaces (LIMA, 2004).

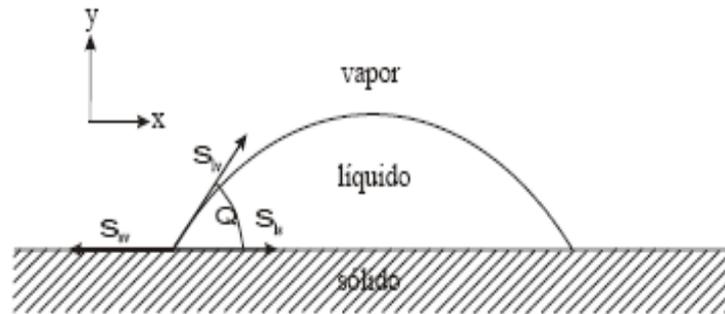


Figura 3.1 – Equilíbrio de forças de um sistema consistindo de uma gota sobre uma superfície sólida.

As tensões superficiais e o ângulo de contato podem ser relacionados pela equação de Young (Eq. 3.6):

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos\theta \quad \text{Eq. 3.6}$$

onde γ_{LV} é a tensão líquido-vapor, γ_{SV} é a tensão sólido-vapor e γ_{SL} é a tensão sólido-líquido.

A molhabilidade dos filmes de PHB/nanocristais de amido foi avaliada por meio de medidas de ângulo de contato. As medidas foram obtidas pelo método da gota séssil utilizando Goniômetro (Ramé – Hart Instruments Co – Drop Image Advanced). Uma gota de água foi aplicada na superfície dos filmes e o respectivo ângulo de contato foi medido com o auxílio de um software para análise de imagens. As medidas foram realizadas em triplicata e a cada amostra foram adicionadas 3 gotas em diferentes regiões.

3.6.6 Ensaio de Absorção de Água

A absorção de umidade é uma característica que pode causar variações nas propriedades dos materiais e que determina sua aplicação final (CARASCHI *et al*, 2002). A quantificação do teor de água absorvida pelos filmes de PHB e de PHB/NcAm foi realizada conforme procedimento experimental baseado na Norma ASTM D 570 (Absorção de água para plásticos) e no trabalho de ANGELLIER *et al* (2005). A Norma ASTM D 570 é utilizada para se determinar a quantidade de água absorvida por uma amostra sob condições específicas de exposição.

Os corpos-de-prova foram cortados na forma de pequenos quadrados de dimensões 10 X 10 X 0,2 mm³, conforme procedimento utilizado por ANGELLIER *et al* (2005). Os filmes foram inicialmente pesados em uma balança analítica e imersos em água destilada por 24 horas a (23±1)°C. Após o tempo determinado, as amostras foram retiradas do banho e pesadas novamente. A porcentagem de absorção de água foi calculada segundo a equação 3.6:

$$\%absorção_{H_2O} = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad \text{Eq. 3.7}$$

onde m_i e m_f são, respectivamente, as massas inicial e final dos filmes.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cálculo do Rendimento da Hidrólise

Conforme discutido anteriormente, a cinética do processo de hidrólise ácida do amido pode ser influenciada por diversos parâmetros como temperatura, tipo de ácido, concentração de ácido, concentração inicial de amido e agitação. Estes parâmetros podem favorecer a degradação do amido interferindo diretamente no rendimento mássico final obtido (ANGELLIER, 2005).

Para o processo de hidrólise ácida do amido de milho ceroso realizado neste trabalho (concentração inicial de amido de 15% (p/v), concentração de ácido sulfúrico 3,16 M, 40°C, 500 rpm e 5 dias), o rendimento final de nanocristais obtido foi de 7,4±0,2 % (p/p). Este valor representa a metade do obtido por ANGELLIER *et al* (2004), 15% (p/p). Estes autores utilizaram condições de operação semelhantes, diferenciando apenas a velocidade (100 rpm) e o sistema de agitação.

Apesar da diferença na velocidade de agitação, sabe-se que este parâmetro isoladamente não influencia a cinética da reação (ANGELLIER *et al*, 2004). No entanto, um aumento na velocidade de agitação gera uma maior transferência de calor por convecção (INCROPERA, 2005). O aumento de temperatura no meio reacional pode acelerar a cinética da reação de hidrólise, levando a um processo rigoroso de despolimerização do amido. Como consequência, obtém-se moléculas de baixo peso molecular, como dextrina e glicose, que são solúveis em água.

Uma outra hipótese poderia estar relacionada à diferença no sistema de agitação. Enquanto neste trabalho utilizou-se uma placa de aquecimento com um agitador magnético, ANGELLIER *et al* (2004) utilizaram um equipamento de agitação orbital (*shaker*). Segundo TRINDADE *et al* (2001), a distribuição de temperatura provocada por um agitador magnético não é homogênea, pois se observa um aumento de temperatura nas paredes do vaso de reação e, conseqüentemente, uma diminuição de temperatura na região central do agitador. Para uma reação catalisada por temperatura, gradientes de temperatura no interior do vaso de reação podem favorecer ou inibir a cinética da reação. Estas diferenças entre os sistemas e as velocidades de agitação, provavelmente refletiram no rendimento do produto final obtido.

4.2 Caracterização dos Nanocristais de Amido (NcAm)

4.2.1 Raman

As variações nos espectros Raman para o amido de milho ceroso ocorridas durante o processo de hidrólise ácida para diferentes tempos de reação são mostradas na Figura 4.1. O espectro foi obtido da região de 100-1850 cm^{-1} .

Muitas variações na intensidade dos picos podem ser observadas, principalmente nas regiões entre 200-600 cm^{-1} e 900-1100 cm^{-1} . Na Figura 4.2, são apresentados os espectros Raman do amido de milho ceroso antes e após 120 h de hidrólise, detalhando estas regiões.

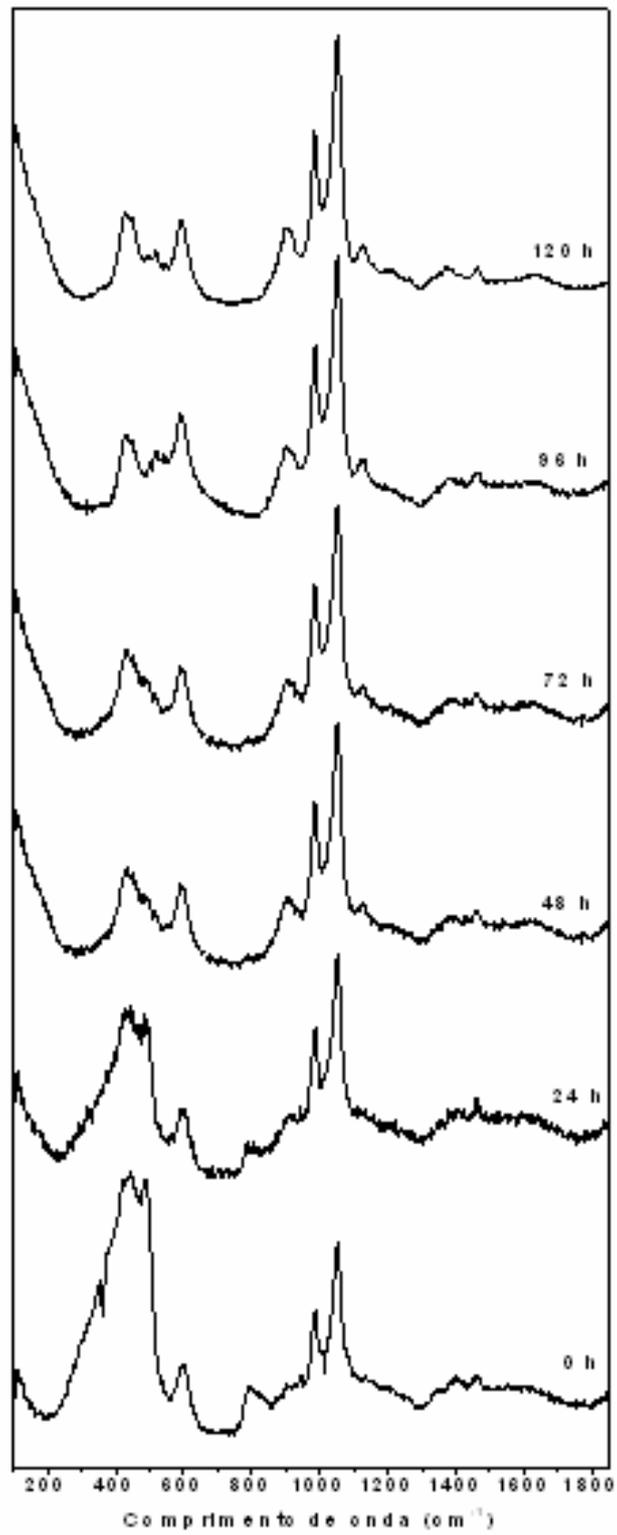


Figura 4.1: Espectro Raman do amido de milho ceroso durante o processo de hidrólise.

A tabela 4.1 mostra as principais bandas de frequências Raman para o amido de milho.

Tabela 4.1: Principais bandas na frequência Raman para amido de milho (SCHUSTER *et al*, 2000).

FREQUÊNCIA (cm^{-1})	TIPO DE DEFORMAÇÃO
257-774	Vibração da ligação C–C–O do anel glicosídico
874	Deformação das ligações dos grupamentos CH e CH ₂
900-932	Estiramento da ligação C–C–H e flexão da ligação C–O–H
940-950	Deformações da ligação glicosídica α -1,4
1054-1130	Deformação da ligação C–O–H
1147-1215	Vibração das ligações C–O, C–C e C–H
1633	Água adsorvida
2905-2930	Estiramento da ligação C–H
3213-3500	Estiramento da ligação O–H

Em função do tempo de hidrólise, muitas mudanças são observadas na região das deformações da cadeia principal ($420\text{-}590\text{ cm}^{-1}$). A banda a 480 cm^{-1} , relacionada ao grau de polimerização do amido nativo, desaparece após 48 h de hidrólise e duas outras ($426\text{ e }592\text{ cm}^{-1}$) aumentam de intensidade significativamente, indicando que reação de hidrólise provocou uma quebra das cadeias poliméricas do amido, o que refletiu na diminuição acentuada do grau de polimerização. Além disso, a diminuição de intensidade da banda 946 cm^{-1} , característica das deformações da ligação glicosídica α -1,4, sugere que houve uma redução na quantidade destas ligações na amostra. Estes resultados conferem com o que foi discutido anteriormente, que a hidrólise é um

processo de quebra da ligação glicosídica que resulta na fragmentação da cadeia polimérica.

A fragmentação das cadeias poliméricas também pôde ser confirmada por meio do aumento de intensidade das bandas 1054 cm^{-1} e 1128 cm^{-1} relacionadas a estiramento da ligação C–O–H e C–O, respectivamente. De acordo com SCHUSTER *et al* (2000), este fenômeno pode ser atribuído ao aumento da concentração de grupos hidroxila livres (–OH) devido à quebra de ligação glicosídica.

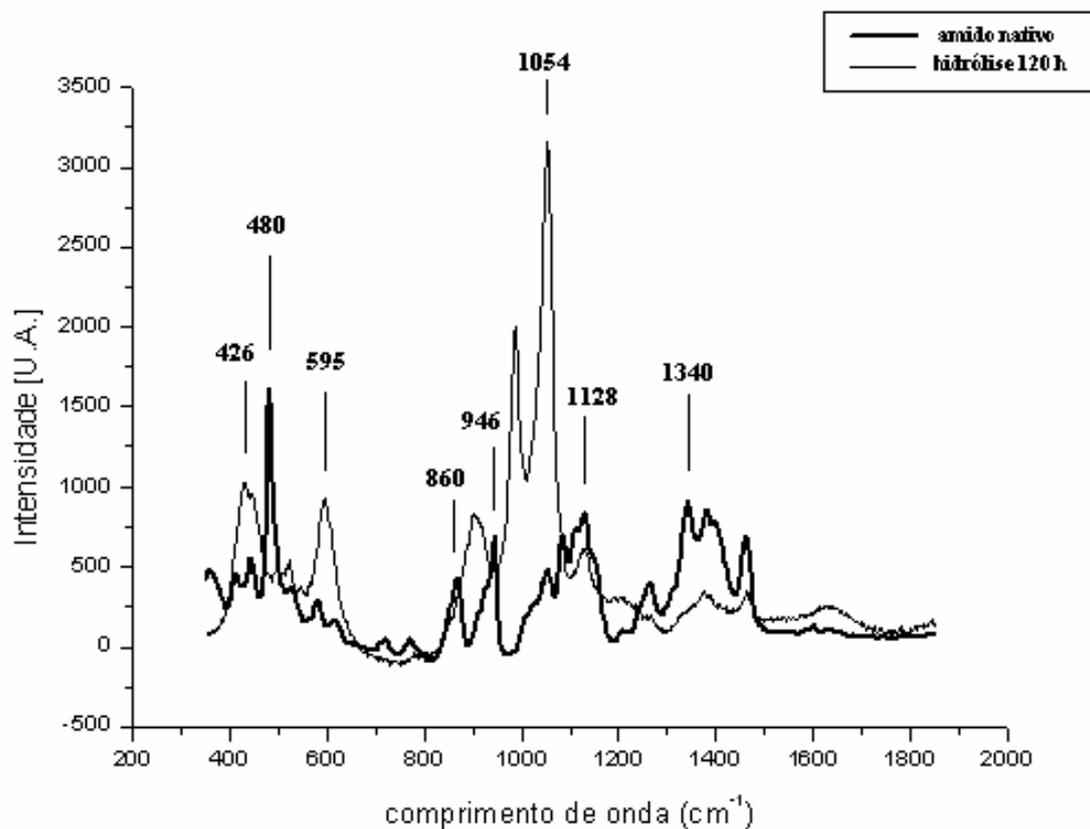


Figura 4.2: Espectros Raman do amido de milho ceroso nativo e após 120 h de hidrólise.

4.2.2 Análises Microscópicas

As microscopias eletrônica de varredura (MEV) e de força atômica (AFM) foram utilizadas para caracterizar a morfologia do produto obtido. A Figura 4.3 mostra a micrografia de MEV da solução de amido hidrolisado após centrifugação e neutralização. Nesta imagem observa-se que o material obtido é formado por estruturas, que aparentam ser uma superposição de pequenas placas, dispostos na forma de aglomerados. PUTAUX *et al* (2003) analisaram o resíduo da hidrólise ácida do amido de milho ceroso nativo por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e observaram a presença de aglomerados da ordem de 100-500 nm.

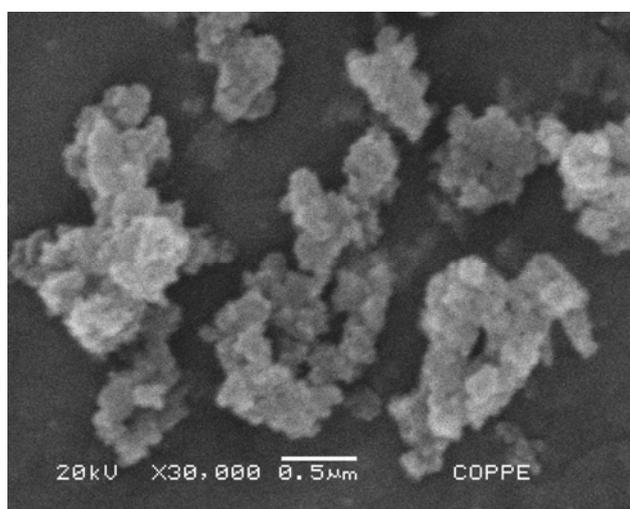
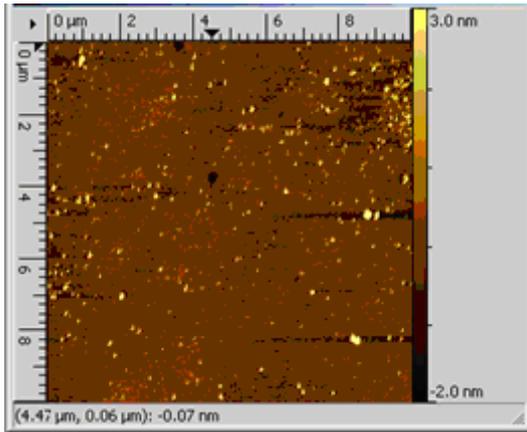


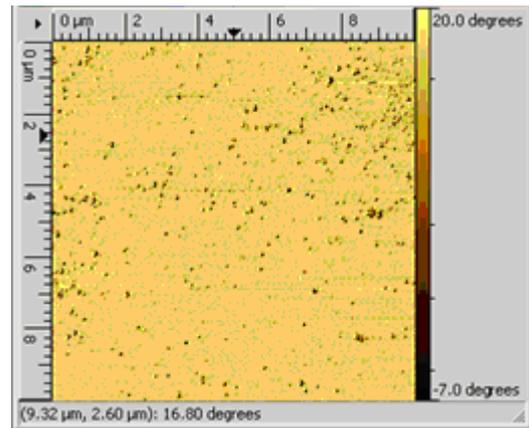
Figura 4.3: Micrografia eletrônica de varredura da solução de amido hidrolisado.

Na tentativa de detalhar a estrutura dos aglomerados observados na imagem de MEV, utilizou-se da análise por AFM (Figura 4.4). A amostra foi preparada pela adição de uma gota de solução de amido hidrolisado sobre mica. As imagens da topografia e de contraste de fase (Figuras 4.4 (a) e (b), respectivamente) dos nanocristais revelam que estes se apresentam na forma de aglomerados. Em um aumento da imagem (Figura 4.4 (c)) observou-se que estes aglomerados possuíam dimensões da ordem de nanômetros. O perfil de linha da amostra (Figura 4.4 (d)) revelou que a maior parte dos aglomerados era na faixa de 10 nm de altura e 100 nm de comprimento lateral. Este dado pode ser

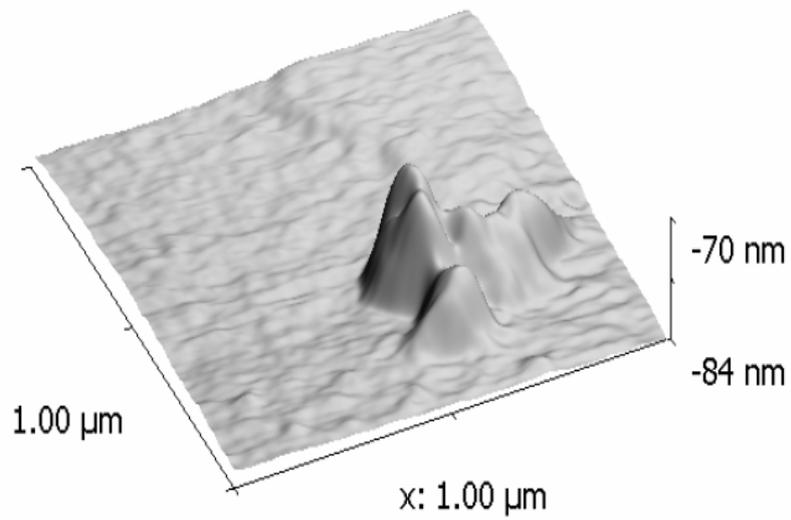
confirmado pela análise da topografia (Figura 4.4 (e)) e do perfil de linha (Figura 4.4 (f)) de uma solução de nanocristais de amido sobre placa de silício. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por PUTAUX *et al* (2003).



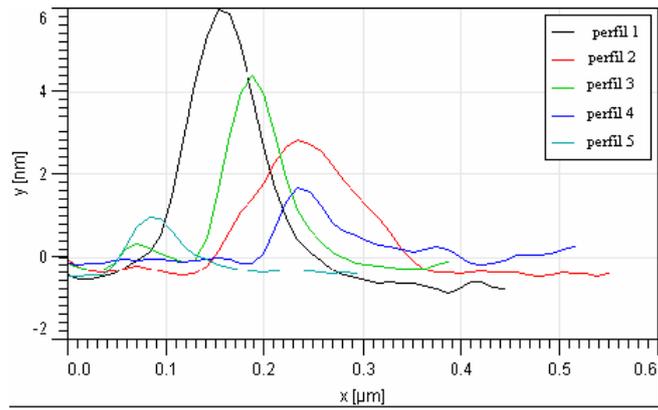
(a)



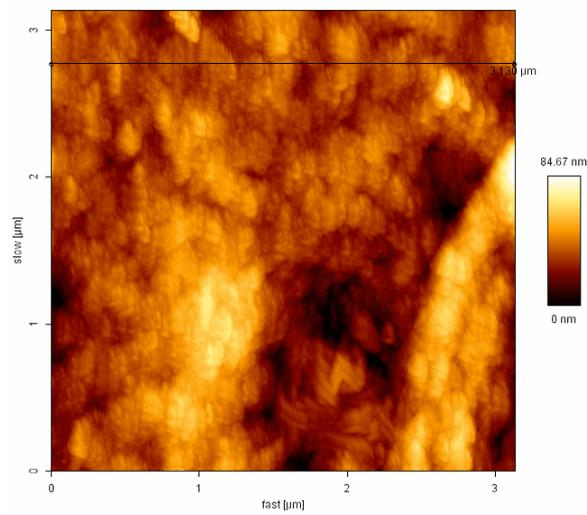
(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 4.4: Imagens de AFM dos nanocristais de amido: (a) topografia, (b) contraste de fase, (c) imagem 3D e (d) perfil de linha .

4.3 Caracterização dos Bionanocompósitos

4.3.1 Difração de raios-X

A cristalinidade dos filmes de PHB, dos nanocompósitos de PHB/NcAm com diferentes concentrações de nanocristais, assim como do amido de milho ceroso nativo e dos nanocristais de amido foi avaliada por difração de raios-X. A Figura 4.5 mostra os difratogramas obtidos para o amido de milho nativo e os nanocristais de amido.

O amido de milho ceroso nativo apresenta um padrão de cristalinidade típico do tipo A, caracterizado por 2 picos de pequena intensidade a $2\theta = 10,1^\circ$ e $11,5^\circ$, um pico de grande intensidade a $15,3^\circ$, um pico duplo a $17,1^\circ$ e $18,2^\circ$ e um último pico de forte intensidade a $23,5^\circ$ (IMBERTY *et al*, 1988). Os nanocristais de amido preservaram o mesmo padrão de cristalinidade (tipo A) do amido de milho nativo. No entanto, nos picos de difração observou-se uma diminuição do halo amorfo, indicando um aumento de cristalinidade do material. Para BILIADERIS *et al* (1981), este aumento de cristalinidade poderia estar relacionado a um reordenamento dos segmentos de cadeia devido a um deslocamento de moléculas de água do interior das zonas cristalinas. Atualmente, sabe-se que a hidrólise ácida degrada, preferencialmente, as zonas amorfas do grânulo de amido, independente da organização estrutural que este possua (GÉRARD *et al*, 2002).

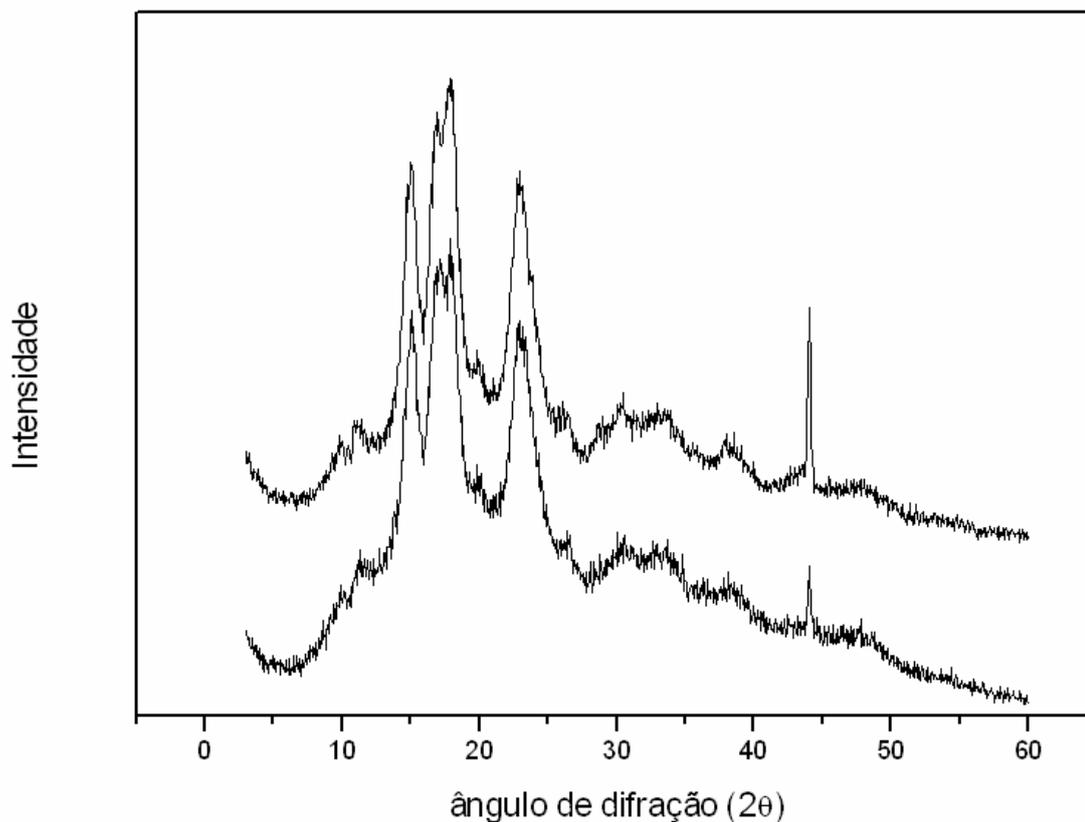


Figura 4.5: Difratomogramas de raios-X de amido de milho ceroso nativo (a) e de nanocristais de amido (b).

Os difratogramas de raios-X para PHB puro, nanocristais de amido e nanocompósitos PHB/NcAm após acondicionamento de 15 dias a 15% UR são apresentados na Figura 4.6.

O perfil de difração de raios-X para o filme de PHB apresenta picos bem definidos em $2\theta = 13,6; 17,1; 21,7$ e $25,6^\circ$, que correspondem, respectivamente, às reflexões dos planos cristalinos (020), (110), (101) e (121) da estrutura cristalina ortorrômbica (OLIVEIRA *et al*, 2006). Os difratogramas dos filmes de PHB/NcAm apresentaram os mesmos picos característicos do filme de PHB.

Os picos referentes ao padrão de cristalinidade dos nanocristais de amido também podem ser observados, mesmo a baixas concentrações de nanocristais (2%). A magnitude destes picos aumenta com o aumento da concentração de nanocristais na

amostra. Comparando estes difratogramas, observa-se que não houve a formação de novos picos de difração, o que indica que não houve formação de uma nova estrutura cristalina no PHB após a adição dos nanocristais de amido, ao contrário das observações feitas por HABIBI & DUFRESNE (2008). Neste trabalho, os autores verificaram a ocorrência do processo de transcristalização em compósitos de policaprolactona e nanocristais de amido, evidenciada pelo surgimento de um novo pico de difração a $2\theta = 21,3^\circ$.

A tabela 4.2 mostra o percentual de cristalinidade das amostras calculado com base nos difratogramas apresentados na Figura 4.6. Pode ser observado que a cristalinidade do PHB é reduzida em função do aumento da concentração de nanocristais de amido na amostra.

Tabela 4.2: Percentual de cristalinidade para PHB puro, amido de milho ceroso, nanocristais de amido e nanocompósitos PHB/NcAm após acondicionamento de 15 dias a 15% UR

<i>Amostra</i>	<i>Cristalinidade (%)</i>
PHB puro	50,5
PHB/NcAm 2%	50,2
PHB/NcAm 5%	46,0
PHB/NcAm 10%	44,7
PHB/NcAm 20%	39,8
Nanocristais de amido	35,1
Amido de milho nativo	23,3

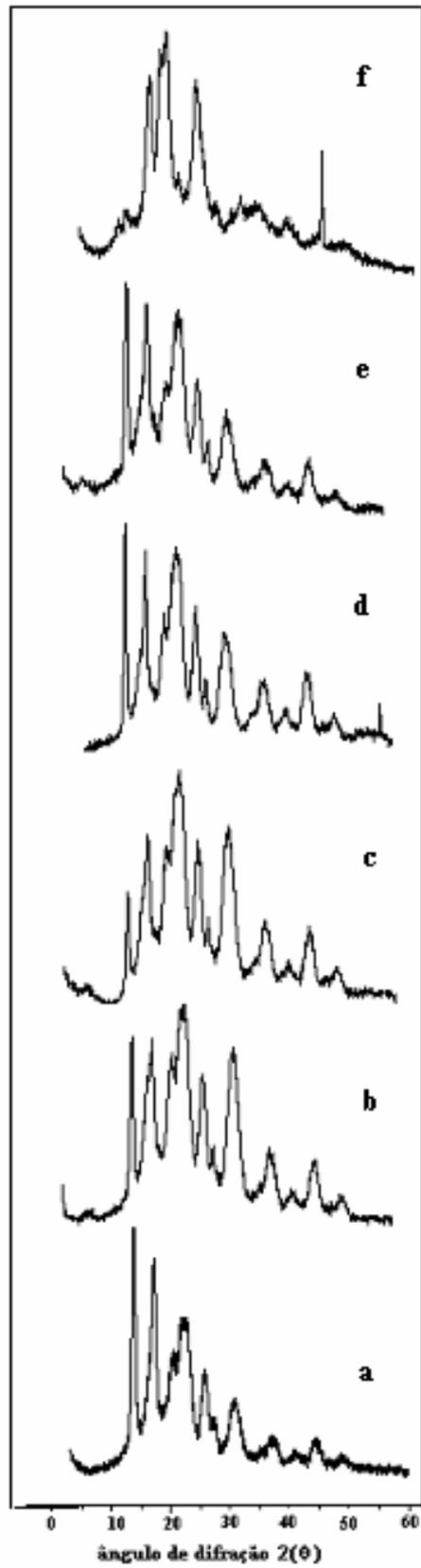


Figura 4.6: Difratomogramas de raios-X de (a) PHB, nanocompósitos PHB/NcAm (%p/p) (b) 2, (c) 5, (d) 10, (e) 20 e (f) nanocristais de amido.

O filme com 20% de nanocristais apresentou uma diminuição de 21% da cristalinidade total em comparação ao filme de PHB puro. Este decréscimo na cristalinidade dos filmes pode ser atribuído à incorporação de cargas com grau de cristalinidade menor que a matriz polimérica. Além disso, os nanocristais de amido poderiam estar localizados entre as cadeias do PHB, dificultando a aproximação das moléculas para a formação dos cristais. Para avaliar esta hipótese, calculou-se a distância interplanar (d) entre os planos cristalográficos da estrutura cristalina do PHB para estabelecer uma relação entre os parâmetros de rede (a , b , c) da célula unitária. Mudanças no ângulo de difração resultam da variação das distâncias interplanares, o que por sua vez indica mudanças nos parâmetros de rede da amostra.

Para uma estrutura ortorrômbica a relação entre a distância interplanar e os parâmetros de rede é dada por:

$$d = \left(\frac{h^2}{a^2} + \frac{k^2}{b^2} + \frac{l^2}{c^2} \right)^{-\frac{1}{2}}$$

onde (h k l) são os índices de Miller dos planos cristalográficos da estrutura cristalina.

A Tabela 4.3 apresenta os valores dos parâmetros de rede calculados para o PHB e os nanocompósitos PHB/NcAm. Os parâmetros de rede a , b e c foram calculados dos planos cristalinos (110), (020) e (021), respectivamente. Observou-se que os parâmetros de rede dos nanocompósitos aumentaram ligeiramente em relação ao filme de PHB puro, o que indica uma expansão da rede cristalina. Estes resultados reforçam a hipótese de que os nanocristais de amido estariam localizados entre as cadeias de PHB interferindo na formação dos cristalitos e, conseqüentemente, causando redução na cristalinidade do material.

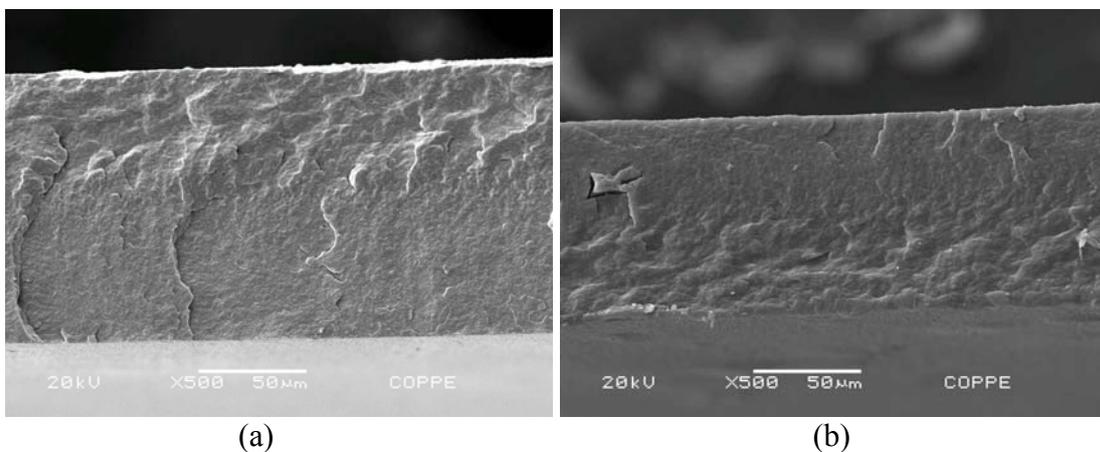
Tabela 4.3: Parâmetros de rede da célula unitária para PHB e nanocompósitos

PHB/NcAm

<i>Amostra</i>	<i>a</i> (Å) (<i>110</i>)	<i>b</i> (Å) (<i>020</i>)	<i>c</i> (Å) (<i>021</i>)
PHB puro	7,49	12,98	6,51
PHB/NcAm 2%	7,43	12,87	6,46
PHB/NcAm 5%	7,86	13,61	6,82
PHB/NcAm 10%	7,80	13,51	6,77
PHB/NcAm 20%	7,54	13,06	6,55

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos bionanocompósitos foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 4.7 apresenta as micrografias da seção transversal dos filmes de PHB puro e PHB/NcAm.



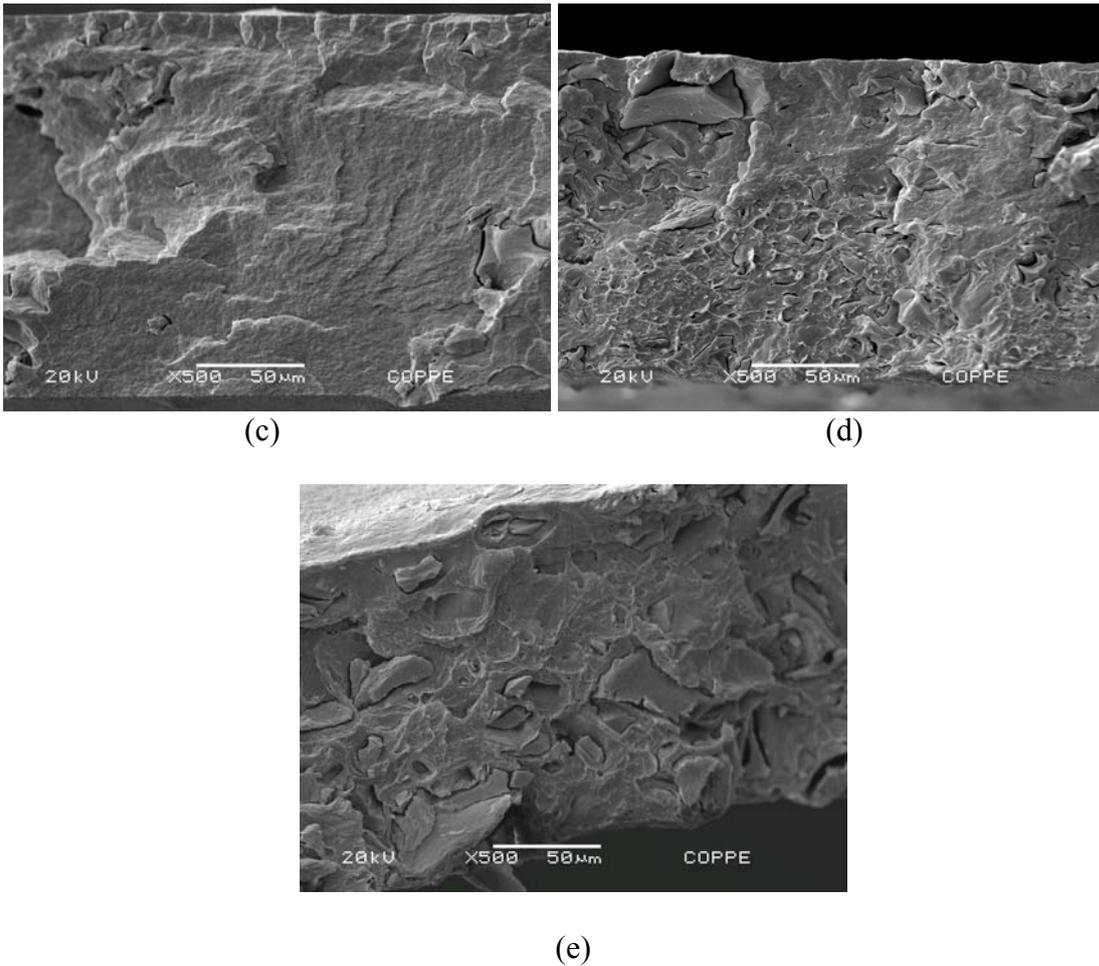


Figura 4.7: Micrografias eletrônicas de varredura da seção transversal dos filmes de PHB puro (a) e PHB/NcAm a 2% (b), 5% (c), 10%(d) e 20% (e) (p/p). Aumento de 500X.

A morfologia do filme de PHB puro, conforme observado na Fig. 4.7 (a), é levemente rugosa, compacta e uniforme. Para os filmes de PHB/NcAm com baixa concentração de nanocristais de amido, 2 e 5% (Fig. 4.7 (b) e 4.7 (c), respectivamente), nenhuma mudança aparente e significativa pôde ser observada na morfologia da matriz. À medida que a concentração de nanocristais aumentou os filmes tornaram-se mais heterogêneos, principalmente nas regiões mais próximas a interface matriz-carga, conforme observado nas Figuras 4.7 (d) e 4.7 (e).

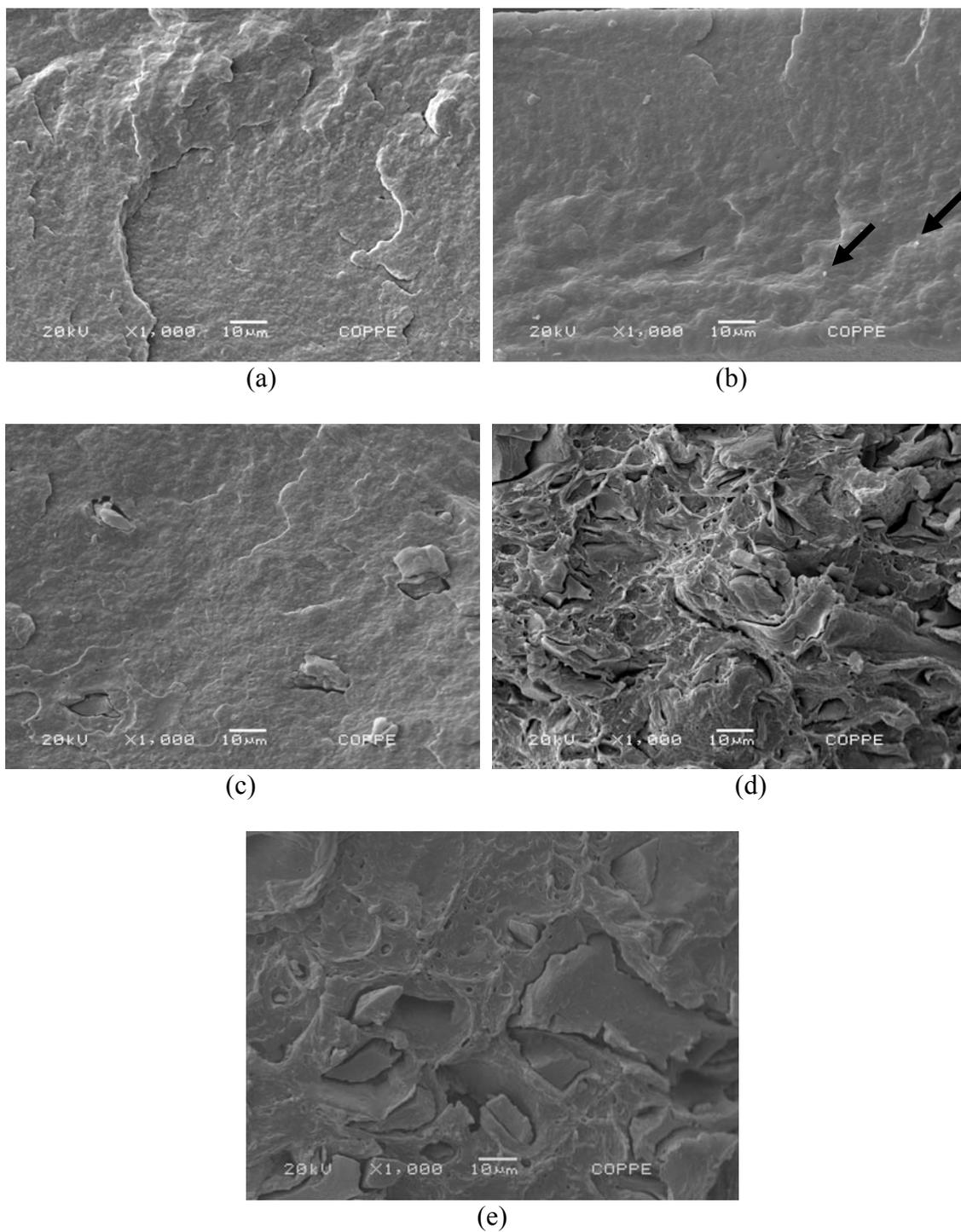


Figura 4.8: Micrografias eletrônicas de varredura da seção transversal dos filmes de PHB puro (a) e PHB/NcAm a 2% (b), 5% (c), 10%(d) e 20% (e) (p/p). Aumento 1000X.

Na imagem de maior aumento da seção transversal dos filmes de PHB/NcAm a 2%, foram visualizados pequenos pontos distribuídos uniformemente na matriz (indicados com setas), que podem ser atribuídos aos nanocristais de amido (Figura 4.8 (b)). Para os

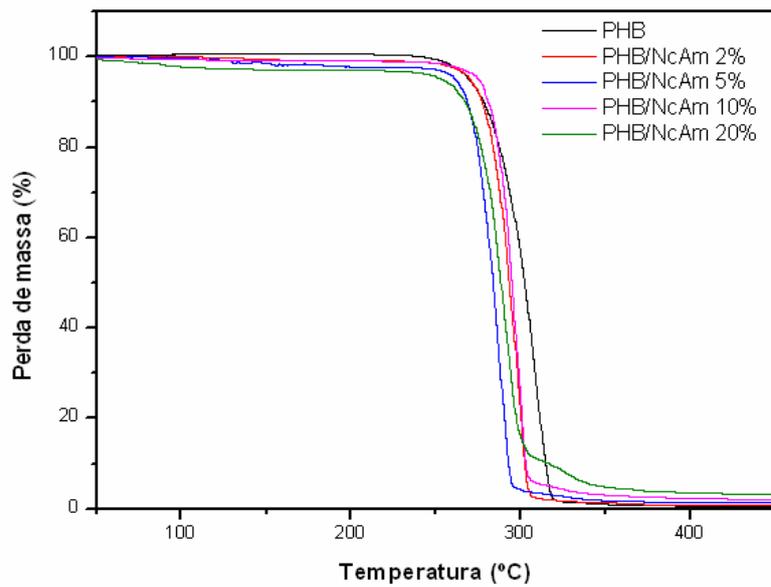
filmes mais concentrados, 5, 10 e 20% (Figs. 4.8 (c), 4.8 (d) e 4.8 (e), respectivamente), observa-se que os nanocristais estão distribuídos na forma de agregados. Apesar de alguns destes agregados serem da ordem de micrômetros, supõem-se que estes sejam constituídos por partículas com espessura inferior a 10 nm, conforme análise morfológica dos nanocristais de amido mostrada anteriormente (Figura 4.4 (c)). A presença destes aglomerados também foram observados por ANGELLIER *et al* (2005) para nanocompósitos de borracha natural e nanocristais de amido, embora as propriedades da matriz sejam diferentes do PHB.

Ademais, nenhum fenômeno de sedimentação da carga pôde ser observado, estando os nanocristais, aparentemente distribuídos de maneira uniforme ao longo da espessura da matriz.

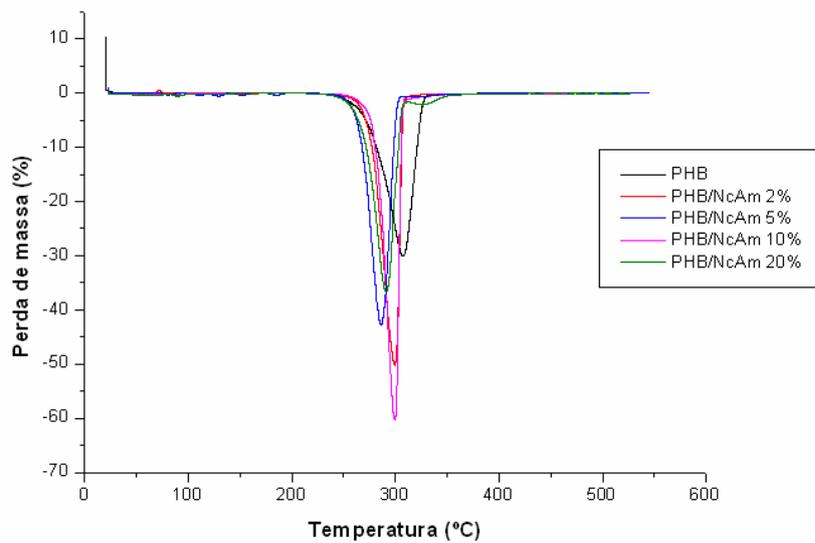
Estas imagens revelam também a fraca adesão interfacial entre a matriz de PHB e os nanocristais de amido, pelo menos a nível microscópico. Resultados semelhantes foram observados por THIRÉ *et al* (2006) e REIS *et al* (2008) para compósitos de PHB e PHBV, respectivamente, reforçados com amido de milho nativo. A dispersão das partículas na matriz polimérica e a adesão matriz-carga em materiais compósitos desempenham um papel determinante nas propriedades mecânicas e físicas destes materiais. Estas propriedades estão diretamente relacionadas com a eficiência da transferência de carga (tensões) da matriz para a o agente de reforço.

4.3.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

O padrão de degradação do PHB e dos filmes compósitos de PHB/NcAm são mostrados de forma comparativa na Figura 4.9.



(a)



(b)

Figura 4.9: Termogramas de TGA do PHB e nanocompósitos PHB/NcAm: (a)curvas de perda de massa e (b) curvas da derivada de perda de massa.

Na tabela 4.4 são apresentados os valores de temperatura de início da degradação (T_{onset}), temperatura de taxa máxima de degradação (T_{deg}) e resíduo final de todas as amostras analisadas.

A curva de TGA (Figura 4.9 (a)) para o PHB puro apresentou um único estágio de perda de massa, que se iniciou a 208,5°C. Este resultado pode ser confirmado pelo único pico observado na curva derivativa (DTG), que indica que a temperatura de taxa máxima de degradação está em torno de 307°C (Figura 4.9 (b)).

Os nanocompósitos de PHB/NcAm 2, 5 e 10%, semelhantemente ao PHB, apresentaram apenas um único estágio de perda de massa. Mas as temperaturas de início da degradação e máximo de perda de massa foram inferiores às observadas para o PHB puro, conforme mostrado na Tabela 4.3. Para os termogramas dos nanocompósitos não foi observado o pico próximo a 100°C, referente à liberação de água, pois as amostras foram submetidas a um processo de secagem antes da análise.

Tabela 4.4: Temperatura do início da degradação (T_{onset}), temperatura de taxa máxima de degradação (T_{deg}) e resíduo final do processo de degradação do PHB e nanocompósitos PHB/NcAm.

NcAm (% p/p)	T_{onset} (°C)	T_{deg} (°C)	T_{onset} (°C)	T_{deg} (°C)	Resíduo (%)	Janela de Processamento (° C)
0	208,5	307,3	–	–	0,33	98,8
2	232,9	299,3	–	–	0,70	66,4
5	229,1	286,0	–	–	2,99	56,9
10	242,4	299,5	–	–	1,73	57,1
20	223,3	290,9	ND	326,8	5,38	67,6

ND: não foi possível determinar devido à sobreposição dos picos

Para o nanocompósito de PHB/NcAm 20% foi observado dois estágios de perda de massa: o primeiro entre 200 e 300°C e o segundo acima de 300°C. O primeiro processo, cujas T_{onset} e T_{deg} são mostradas na Tabela 4.4, pode ser atribuído, principalmente, a perda de massa do PHB. O segundo processo de degradação que ocorre acima de 300°C pode estar relacionado à perda de massa dos nanocristais de amido.

A redução da temperatura de degradação dos nanocompósitos indica que a adição de nanocristais de amido não aumentou a faixa de temperatura para o processamento do PHB. No entanto, a incorporação dos nanocristais promoveu um aumento na temperatura de início de degradação, possibilitando, portanto, o processamento do material a temperaturas mais elevadas.

4.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas para verificar o comportamento térmico do PHB e a influência da incorporação de nanocristais de amido nas temperaturas de transição (temperatura de fusão (T_f), temperatura de cristalização (T_c) e temperatura de transição vítrea (T_g)) da matriz bem como nas energias associadas a estes processos. Os termogramas de DSC referentes ao segundo estágio de aquecimento das amostras são apresentados na Figura 4.10.

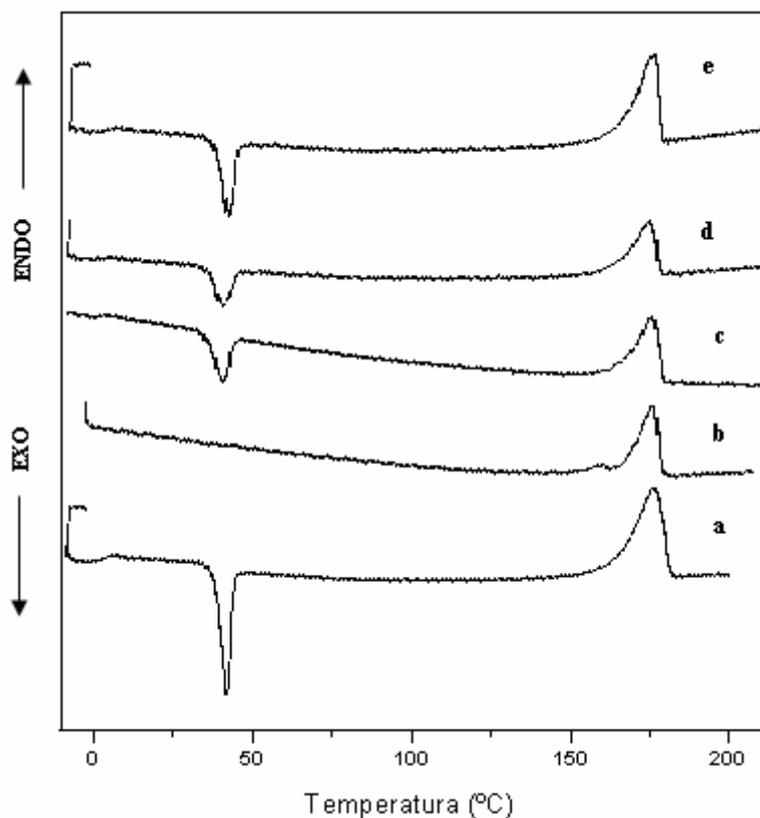


Figura 4.10: Termograma de DSC do segundo estágio de aquecimento para (a) PHB e nanocompósitos PHB/NcAm (%p/p): (b) 2, (c) 5, (d) 10, (e) 20.

A temperatura de fusão das amostras variou entre 172 e 175°C, diminuindo em função do aumento da concentração de nanocristais. Segundo GODBOLE *et al* (2003), o pequeno decréscimo na T_f de misturas poliméricas indica que ocorreu uma separação de fase, geralmente encontrada em polímeros imiscíveis. Este resultado sugere que há uma baixa interação entre o PHB e os nanocristais de amido, conforme mostrado nas imagens de MEV. Na Tabela 4.5 são apresentadas as temperaturas de transição do PHB e de seus nanocompósitos com diferentes concentrações de nanocristais de amido e as energias associadas a estas transições. Os termogramas obtidos não permitiram a determinação correta da temperatura de transição vítrea das amostras.

Tabela 4.5: Parâmetros térmicos do PHB e dos nanocompósitos PHB/NcAm obtidos por DSC no segundo estágio de aquecimento.

% NcAm	ΔH_c (J/g)	T_c (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)
0	-6,99	40,6	64,95	175
2	-	-	58,64	174,15
5	-27,62	38,02	56,37	172,8
10	-27,56	38,13	49,62	172,31
20	-26,90	39,7	58,32	173,24

Observou-se uma ligeira diminuição nas temperaturas e nas entalpias de fusão dos filmes com o aumento da concentração de nanocristais.

Na Tabela 4.6 são apresentados os valores de cristalinidade ($X_{C, DSC}$) do PHB, dos nanocompósitos PHB/NcAm e os valores de cristalinidade considerando-se somente a fração mássica de PHB presente na amostra (X_C mássico).

A partir dos valores de cristalinidade (X_C) observou-se que os bionanocompósitos apresentaram um decréscimo na cristalinidade em relação ao filme de PHB puro. Para filmes com até 10% de nanocristais de amido, o aumento da concentração de nanocristais acarretou em uma diminuição da cristalinidade da amostra. Esta tendência está de acordo com os resultados de DRX apresentados na tabela 4.2. No entanto, ao contrário do observado por DRX, os filmes com adição de 20% de nanocristais apresentaram um aumento de cristalinidade em relação aos filmes com 10% de nanocristais.

Tabela 4.6: Valores de cristalinidade (X_C) e cristalinidade mássica (X_C mássico) do PHB e nanocompósitos PHB/NcAm obtidos por DSC no segundo estágio de aquecimento.

% NcAm	W_{PHB}	ΔH_f (J/g)	X_c	X_c mássico
0	1	64,95	44,5	44,5
2	0,98	58,64	40,2	41,0
5	0,95	56,37	38,6	40,6
10	0,90	49,62	34,0	37,8
20	0,80	58,32	39,9	49,9

A fim de avaliar o efeito da incorporação dos nanocristais de amido na cristalização do PHB, calculou-se o X_C mássico. Com o aumento da concentração de nanocristais houve uma diminuição no grau de cristalinidade do PHB, indicando que o processo de cristalização do PHB é inibido pela presença dos nanocristais de amido. Este resultado sugere que a presença dos nanocristais diminuiu a mobilidade das cadeias de PHB, impedindo que estas se reassociem formando zonas cristalinas. No entanto, o filme PHB/NcAm 20% apresentou um aumento da cristalinidade do PHB em relação ao filme de PHB puro. Segundo as análises de MEV discutidas anteriormente, supõem-se que em função dos grandes aglomerados e da falta de adesão interfacial, houve uma separação de fases no material e o PHB comportou-se como uma substância isolada.

4.3.5 Ângulo de Contato

Na Tabela 4.7 são apresentados os valores de ângulo de contato dos filmes de PHB e dos nanocompósitos PHB/NcAm.

Tabela 4.7: Medidas de ângulo de contato para os filmes de PHB e PHB/NcAm.

Concentração de NcAm (%)	Ângulo de Contato (°)
0	66,5 ± 0,2
2	76,5 ± 0,6
5	77,7 ± 0,2
10	83,2 ± 0,4
20	67,2 ± 0,8

O PHB é um polímero conhecido por sua baixa polaridade e pouca afinidade com a água, diferentemente do amido que é polar, hidrofílico e possui uma alta tendência para absorção de água. Devido ao caráter hidrofílico do amido, esperava-se que a incorporação de nanocristais de amido promovesse um aumento da molhabilidade do PHB, conforme resultados obtidos por THIRÉ *et al* (2006) para blendas de PHB e amido. Neste trabalho os autores observaram um aumento da molhabilidade do PHB, evidenciada pela diminuição do ângulo de contato do material, com o aumento da concentração de amido nas amostras. No entanto, ao contrário dos resultados de THIRÉ *et al* (2006), observou-se um aumento do ângulo de contato dos bionanocompósitos PHB/NcAm com o aumento do teor de nanocristais de amido nas amostras.

Segundo JAYASEKARA *et al* (2004), o ângulo de contato está relacionado com a rugosidade da superfície e aumenta com o aumento da rugosidade. Conforme imagens

de MEV apresentadas anteriormente, o aumento do teor de nanocristais promoveu um aumento da rugosidade do PHB, o que explicaria o aumento do ângulo de contato observado. Mas para uma concentração de nanocristais de 20%, observou-se uma redução acentuada do ângulo de contato de 83,2° para 67,2°. Este resultado sugere que dois efeitos concomitantes podem estar regendo as variações de ângulo de contato: a rugosidade da superfície e a hidrofobicidade da carga. Para concentrações de nanocristais de 20%, o efeito da alta concentração de substância hidrofílica seria predominante ao aumento da rugosidade, promovendo uma diminuição no ângulo de contato observado.

4.3.6 Ensaio de Absorção de Água

Os resultados de absorção de água dos filmes de PHB e seus nanocompósitos, após imersão em água destilada por 24 horas a temperatura de 23°C, foram plotados em função da concentração de nanocristais de amido nas amostras (Figura 4.11). Pôde-se observar que todas as amostras absorveram água durante a imersão, inclusive o PHB.

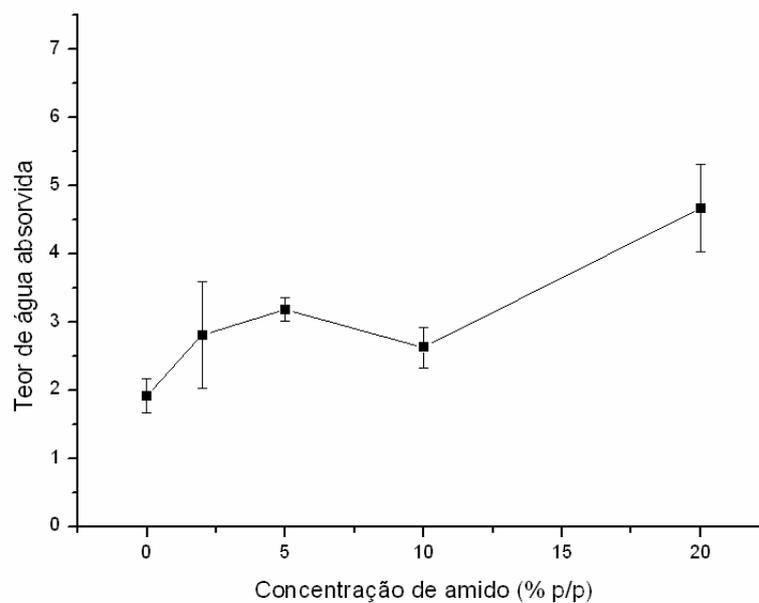


Figura 4.11: Teor de água absorvida em função da concentração de NcAm.

Para o filme de PHB, a baixa taxa de absorção era esperada devido ao caráter hidrofóbico do material. Os valores do ensaio de absorção de água em função do teor de nanocristais de amido presente nas amostras são apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8: Valores de porcentagem de absorção de água em função da concentração de NcAm presente nas amostras.

% NcAm	% absorção _{H2O}
0	1,92
2	2,81
5	3,18
10	2,63
20	4,67

Com o aumento da concentração de nanocristais, observou-se um aumento crescente da porcentagem de absorção de água, com exceção do filme PHB/NcAm 10%. Este aumento pode se atribuído à natureza hidrofílica dos nanocristais e/ou ao aumento dos espaços interfaciais entre matriz-carga, que podem ter possibilitado a absorção de água por capilaridade. Apesar da incorporação de uma carga hidrofílica ao material houve apenas um pequeno aumento do teor de absorção de água observado. Contudo, para uma concentração de nanocristais de 10% observou-se uma pequena redução do teor de água absorvida. O mesmo resultado foi observado por ANGELLIER *et al* (2005) para nanocompósitos de nanocristais de amido em borracha natural. Os autores sugerem que para a concentração de carga de 10% ocorre a formação de uma rede tridimensional

rígida, devido à presença de fortes ligações hidrogênio entre as nanopartículas de amido e que dificultaria a absorção de água para o interior do material.

Como discutido anteriormente, o aumento da concentração de carga compromete a distribuição dos nanocristais de amido sobre a matriz, devido à formação de aglomerados. Para uma concentração de 10% de NcAm, estes aglomerados poderiam estar sobrepostos de maneira tal que dificultasse a difusão de água para o interior do material. Para concentrações de nanocristais acima de 10% a fraca adesão entre as fases promove um aumento no teor de água absorvida.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

- Neste trabalho, nanocristais de amido com dimensões médias de 10 nm de altura e 100 nm de comprimento lateral, foram obtidos com sucesso a partir da hidrólise ácida de amido de milho ceroso. No entanto, o rendimento do processo de hidrólise foi de apenas 7,4%, sendo menor que o descrito na literatura para processos utilizando condições experimentais semelhantes. Este decréscimo pode estar relacionado à diferença na taxa de transferência de calor para solução.
- A análise de espectroscopia Raman confirmou que a hidrólise ácida provocou a quebra das ligações glicosídicas, levando à fragmentação das cadeias poliméricas. O resíduo de hidrólise preservou o padrão de cristalinidade do tipo A do amido de milho nativo, sendo um indício de que esta estrutura seria constituída pelas lamelas cristalinas do grânulo nativo. Os picos de difração do resíduo apresentaram-se mais acentuados em comparação com os picos do amido nativo, indicando um aumento de cristalinidade do material.
- Pela técnica de evaporação por solvente, foram obtidos filmes de PHB/nanocristais de amido com teor de até 20% (p/p) de nanocarga. As imagens de MEV dos filmes de PHB e PHB/NcAm revelaram que os nanocristais estavam distribuídos na matriz na forma de agregados. Para os bionanocompósitos contendo mais de 2% (p/p) de nanocristal, foi observada a distribuição pouco homogênea destes agregados. As imagens ainda deram um indicativo da fraca adesão interfacial entre matriz-carga.

- A adição de até 10% (p/p) de nanocristais diminuiu a cristalinidade do PHB sem alterar sua estrutura cristalina, conforme evidenciado por análises de DRX e DSC. No caso dos bionanocompósitos PHB/NcAm 20%, foi observado um aumento na cristalinidade mássica do PHB em relação ao filme de PHB puro, possivelmente devido à separação de fases entre os materiais.
- Análises térmicas mostraram que apesar da incorporação de nanocristais ter diminuído a faixa de temperatura de processamento do PHB, houve um aumento da temperatura de início de degradação, o que possibilitaria o processamento do material a temperaturas mais elevadas. As temperaturas de fusão e de cristalização do PHB não foram afetadas significativamente pela presença dos nanocristais.
- As análises de ângulo de contato mostraram que os nanocristais de amido, apesar de possuírem caráter hidrofílico, promoveram uma diminuição na molhabilidade do PHB evidenciada pelo aumento dos valores de ângulo de contato. No entanto, nanocompósitos contendo 20% de nanocristais apresentaram uma diminuição do ângulo de contato.
- Verificou-se um aumento do teor de água absorvida em função do aumento do teor de carga adicionado. No entanto, para os nanocompósitos contendo 10% de nanocristais, foi observado um decréscimo do teor de água absorvido quando comparado com os filmes de PHB/NcAm 5%. Este comportamento foi atribuído à possível formação de uma estrutura em rede que dificultaria a difusão de água para o interior do material.
- De acordo com os resultados obtidos, os filmes contendo concentração de nanocristais de amido inferior a 10% apresentaram maior potencial para

aplicação como plásticos biodegradáveis para o setor de embalagens, por exemplo.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar as propriedades mecânicas e de barreira a gases (vapor de água, oxigênio, dióxido de carbono) dos bionanocompósitos de PHB/NcAm.
- Investigar processos de modificação dos nanocristais de amido que proporcionem uma melhor adesão entre matriz-carga e uma melhor dispersão dos nanocristais sobre a matriz.
- Avaliar outras técnicas de produção dos bionanocompósitos, diferentes da evaporação por solvente e que envolvam tecnologias totalmente limpas, sem a presença de solventes clorados.

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, U. P., ATALLA, R. H., “Raman Spectroscopy”. In: Connors, T. E., Banerjee, S. (eds.), *Surface Analysis of Paper*, chapter 8, Florida, USA, CRC Press Inc., 1995.

ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O. “Um Método Simples de Caracterização de Argilominerais por Difração de Raios X”. *Cerâmica*, 2002, v. 48, p. 34-37.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, Philadelphia. Standarts and Terminology Relating to Plastics: ASTM D 883-94, Annual Book of ASTM Standarts, v. 08.01, 1994.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, Philadelphia. Standart Specification for Compostable Plastics: ASTM D 6400-99, Annual Book of ASTM Standarts, v. 08.03, 1999.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, Philadelphia. Standarts and Terminology Relating to Plastics: ASTM D 570-98, Annual Book of ASTM Standarts, v. 08.01, 2007.

ANGELLIER, H., *Nanocristaux D'amidon de Maïs Cireux Pour Applications Composites*. Thèse de D. Sc. Université Joseph Fourier, Grenoble, 2005.

ANGELLIER, H., CHOISNARD, L., MOLINA-BOISSEAU, S., OZIL, P., DUFRESNE, A., "Optimization of the Preparation of Aqueous Suspensions of Waxy Maize Starch Nanocrystals Using a Response Surface Methodology". *Biomacromolecules*, v. 5, p. 1545-1551, 2004.

ANGELLIER, H., MOLINA-BOISSEAU, S., DOLE, P., DUFRESNE, A., "Thermoplastic Starch-Waxy Maize Starch Nanocrystals Nanocomposites". *Biomacromolecules*, v. 7, p. 531-539, 2006.

ANGELLIER, H., MOLINA-BOISSEAU, S., LEBRUN, L., DUFRESNE, A., "Processing and Structural Properties of Waxy Maize Starch Nanocrystals Reinforced Natural Rubber". *Macromolecules*, v. 38, p. 3783-3792, 2005.

AVEROUS, L., BOQUILLON, N., "Biocomposites Based on Plasticized Starch: Thermal and Mechanical Behaviors". *Carbohydrate Polymers*, v. 56, p. 111-122, 2004.

BETANCUR, A. D., CHEL, G. L., "Acid Hidrolysis and Characterization of *Canavalia ensiformis* Starch". *J. Agric. Food Chem.*, v. 45, p. 4237-4241, 1997.

- BILIADERIS, C.G., PAGE, C. M., MAURICE, T.J., “On the Multiple Melting Transitions of Starch/Monoglyceride Systems”. *Food Chemistry*, v. 22, p. 279-295, 1986.
- BILIADERIS, C. G., GRANT, D. R., VOSE, J. R. “Structural Characterization of Legume Starches. II. Studies on Acid-Treated Starches”. *Cereal Chemistry*, v. 58, p. 502-507, 1981.
- BULÉON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V., BALL, S., “Starch Granules: Structure and Biosynthesis”. *Biological Macromolecules*, v. 23, p. 85-112, 1998.
- CARASCHI, J. C., RAMOS, U. M., LEÃO, A. L., “Compósitos Biodegradáveis de Polihidroxibutirato Reforçado com Farinha de Madeira: Propriedades e Degradação”. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 6, p. 1609-1614, 2002.
- CHANDRA, R., RUSTIGI, R., “Biodegradable Polymers”. *Polymer Science*, n. 23, p. 1273-1335, 1998.
- CHEN, B., EVANS, J. R. G., “Poly (ϵ -caprolactone) – Clay Nanocomposites: Structure e Mechanical Properties”. *Macromolecules*, v. 39, n. 2, p. 747-754, 2006.
- CHEN, G., WEI, M., CHEN, J., HUANG, J., DUFRESNE, A., CHANG, P. R., “Simultaneous Reinforcing and Toughening: New Nanocomposites of Waterbone Polyurethane Filled With Low Loading Level of Starch Nanocrystals”. *Polymer*, v. 49, p. 1860-1870, 2008.

- CHIELLINI, E., SOLARO, R., “Environmentally Degradable Polymers and Plastics”.
in: *International Workshop on Environmentally Degradable and Recyclable Polymers in Latin American*, p. 15-20, Campinas, SP, 1998.
- COLEMAN, N. J.; CRAIG, D. Q. M. “Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry: A novel approach to pharmaceutical thermal analysis”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 135, p.13-29, 1996.
- DUFRESNE, A. “Biopolymers on Nanocomposites” In: Bertolini, C. A. (eds) *Biopolymers Technology*, ed: Cultura Acadêmica, 2007.
- EL-HADI, A., SCHNABEL, R., STRAUBE, E., MÜLLER, G., HENNING, S., “Correlation between Degree of Crystallinity, Morphology, Glass Temperature, Mechanical Properties and Biodegradation of Poly (3-hydroxyalkanoate) PHAs and Their Blends”. *Polymer Testing*, v. 21, pp. 665-674, 2002.
- ELIASSON, A. C., GUDMUNDSSON, M.,. *Starch: Physicochemical and Functional Aspects*, In: *Carbohydrates in Foods*. pp 431-503. Marcel Dekker, New York, 1996.
- ERCEG, M., KOVACIC, T., KLARIC, I. “Thermal Degradation of Poly(3-hydroxybutyrate) Plasticized with Acetyl Tributyl Citrate”. *Polymer Degradation and Stability*, v. 90, p. 313-318, 2005.

- FAVIER, V., CHANZY, H., CAVAILLÉ, J. Y., “Polymer Nanocomposites Reinforced by Cellulose Whiskers”. *Macromolecules*, v. 28, p. 6365-6367, 1995.
- FRENCH, D., “Chemical and Physical Properties of Starch”. *J. Animal Science*, v. 3, p. 1048-1061, 1973.
- FRENCH, D., “Organization of Starch Granules”. In: Whistler, R. L., BeMiller, J. N., Paschall, E. F. (eds), *Starch: Chemistry and Technology*, Orlando, USA, Academic Press, p. 183-247, 1984.
- GALLANT, D. J., BOUCHET, B., BALDWIN, P. M., “Microscopy of Starch: Evidence of a New Level of granule Organization”. *Carbohydrate Polymers*, v. 32, p. 177-191, 1997.
- GALLETI, S. R., “Introdução a Microscopia Eletrônica”. *Biológico*, v. 65, p. 33-35, 2003.
- GÉRARD, C., COLONNA, P., BULÉON, A., PLANCHOT, V. “Order in Maize Mutant Starches Revealed by Mild Acid Hydrolysis”. *Carbohydrate Polymers*, v. 48, p. 131-141, 2002.
- GIBSON, R. F., *Principles of Composite Material Mechanics*. 1 ed., McGraw-Hill International Editions, New York, USA, 1994.

- GODBOLE, S., GOTE, S., LATKAR, M., CHAKRABARTI, T. "Preparation and Characterization of Biodegradable Poly-3-hydroxybutyrate–Starch Blend Films". *Bioresource Technology*, v. 86, p. 33–37, 2003.
- GROSS, R. A., KALRA, B., "Biodegradable Polymers for the Environment". *Science*, v. 297, p. 803-806, 2002.
- GUIMARÃES, J. P., SATYANARAYANA, K. G., WYPYCH, F., RAMOS, L. P., *Preparo de Compósitos Biodegradáveis a Partir de Fibras de Bananeira Plastificadas com Amido e Glicerina Bruta derivada da Alcoólise de Óleos Vegetais*. Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2005.
- HABIBI, Y., DUFRESNE, A., "Highly Filled Bionanocomposites from Functionalized Polysaccharide Nanocrystals". *Biomacromolecules*, v. 9, p. 1974-1980, 2008.
- HATAKAYAMA, T., QUINN, F. X., *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymers*. New York, Willey, 1994.
- HONGSPRABHAS, P., "On the Gelation of Mungbean Starch and its Composites". *Inter. J. Food Science and Technology*, v. 42, p. 658-668, 2007.
- IKEJIMA, T., INOUE, Y., "Crystallization Behavior and Environmental Biodegradability of the Blends of poly(3-hydroxybutiric acid) with Chitin and Chitosan". *Carbohydrate Polymers*, v. 41, n. 4, p. 351-356, 2000.

- IMBERTY, A., CHANZY, H., PÉREZ, S., BULÈON, A., TRAN, V., “The Double-Helical Nature of the Crystalline Part of A-Starch”. *Journal of Molecular Biology*, v. 201, p. 365-378, 1988.
- INCROPERA, F. P., DEWITT, D. P, BERGMAN, T., LEVINE, A. *Fundamentos de Transferência de Calor e de Massa*. Ed: LTC, 2008.
- JAYASEKARA, R., HARDING, I., BOWATER, I., CHRISTIE, G. B. Y., LONERGAN, G. T., “Preparation, Surface Modification and Characterization of Solution Cast Starch PVA Blended Films”. *Polymer Testing*, v. 23, p. 17-27, 2004.
- JENKINS, P. J., DONALD, A. M., “Gelatinisation of Starch – a Combined WAXS/SAXS/DSC and SANS Study”. *Carbohydrate Research*, v. 308, p. 133-147, 1998.
- JENKINS, P. J., DONALD, A. M., “The Influence of Amylose on Starch Granule Structure”. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 17, n. 6, p. 315-321, 1995.
- KRISTO, E., BILIADERIS, C. G., “Physical Properties of Starch Nanocrystal-Reinforced Pullulan Films”. *Carbohydrate Polymers*, v. 68, p. 146-158, 2007.

LACERDA, L. G., *Uso de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização da Hidrólise Enzimática Parcial de Amido de Matérias-Primas Tropicais*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

LINTNER, C. J., *J. of Prakt. Chemistry*, v. 34, p. 378, 1886.

LOSEV, N. V., MAKAROVA, L. I., LIPATOVA, I. M. “Rate of Acid Hydrolysis of Starch as Influenced by Intensive Mechanical Effects”. *Journal of Applied Chemistry*, v. 76, p. 997-1001, 2003.

LUO, S., NETREVALI, A. N., “A Study of Physical and Mechanical Properties of Poly(hydroxybutyrate-co-valerate) During Composting”. *Polymer Degradation and Stability*, v. 80, p. 59-66, 2003.

MAITI, P., BATT, C. A., GIANNELIS, E. P., “New Biodegradable Polyhydroxybutyrate/Layered Silicate Nanocomposites”. *Biomacromolecules*, v. 8, p. 3393-3400, 2007.

MILES, M. J.; MORRIS, V. J.; ORFORD, P. D.; RING, S. G. “The Roles of Amylase and Amylopectin in the Gelation and Retrogradation of Starch”. *Carbohydrate Research*, v. 135, p. 271-281, 1985.

MUHR, A. H., BLANSHARD, J. M. V., BATES, D. R., “The Effect of Lintnerisation on Wheat and Potato Starch Granules”. *Carbohydrate Polymers*, v. 4, n. 6, p. 399-425, 1984.

MURPHY, P., “Starch”. In: Phillips, G. O., Williams, P. A. (eds), *Handbook of Hydrocolloids*, chapter 3, Wood Head Publishing, 2000.

NÄGELI, W., *Liebigs Annalen der Chemie*, v. 173, p.218, 1874.

NASCIMENTO, J. F. *Estudo da Processabilidade e da caracterização do Poli(ácido 3-hidroxibutírico)- PHB Obtido a Partir da Cana-de-açúcar*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2001.

OKSMAN, K., MATHEW, A. P., BONDESON, D., KVIEN, I., “Manufacturing Process of Cellulose Whiskers/Polylactic Acid Nanocomposites”. *Composites Science and Technology*, v. 66, p. 2776-2784, 2006.

OLIVEIRA, L. M., ARAÚJO, E. S., GUEDES, S. M. L., “Gamma Irradiation Effects on Poly(hydroxybutyrate)”. *Polymer Degradation and Stability*, v. 91, p. 2157-2162, 2006.

PARALIKAR, S., *Poly(Vinyl Alcohol)/Cellulose Nanocomposite Barrier Films*, Masters Dissertation, Oregon State University, Oregon, 2006.

PUTAUX, J. L., MOLINA-BOISSEAU, S., MOMAUR, T., DUFRESNE, A., “Platelet Nanocrystals Resulting from Disruption of Waxy Maize Starch Granules by Acid Hydrolysis”. *Biomacromolecules*, v. 4, p. 1198-1202, 2003.

- REIS, K. C., PEREIRA, J., SMITH, A. C., CARVALHO, C. W. P., WELLNER, N., YAKIMETS, I. "Characterization of Polyhydroxybutyrate-hydroxyvalerate (PHB-HV)/Maize Starch Blend Films". *Journal of Food Engineering*, v. 89, p. 361–369, 2008.
- SCHADLER, L. S., BRINSON, L. C., SAWYER, W. G. "Polymer Nanocomposites: A Small Part of the Story". *Nanocomposite Materials*, p.53-60, 2007.
- SCHUSTER, K. C., EHMOSE, H., GAPES, J. R., LENDL, B. "On-line FT-Raman Spectroscopy Monitoring of Starch Gelatinisation and Enzyme Catalysed Starch Hydrolysis". *Vibrational Spectroscopy*, v. 22, p. 181-190, 2000.
- SILVA, L. F., GOMEZ, J. G. C., "Produção Biotecnológica de Poli-Hidroxialcanoatos Para a Geração de Polímeros Biodegradáveis no Brasil". *Química Nova*, v. XY, p-1-12, 2007.
- TESTER, R. F., KARKALAS, J., QI, X., "Starch – Composition, Fine Structure and Architecture". *J. Cereal Science*, v. 39, p. 151-165, 2004.
- THIELEMANS, W., BELGACEM, M. N., DUFRESNE, A., "Starch Nanocrystals with Large Chain Surface Modifications". *Langmuir*, v. 22, p. 4804-4810, 2006.
- THIRÉ, R. M. S. M., RIBEIRO, T. A. A., ANDRADE, C. T., "Effect of Addition on Compression-Molded Poly (3-hydroxybutyrate)/Starch Blends". *Journal of Applied polymer Science*, v. 100, p. 4338-4347, 2006.

TRINDADE, L. B., VILELA, A. C. S., VILHENA, M. T. M. B., SOARES, R. B.

“Efeitos Térmicos e Fluido-Dinâmicos Devidos a um agitador Eletromagnético para Tarugos”. *Revista Escola de Minas*, v. 54, n. 3, 2001.

VAN SOEST, J. J. G., DE WIT, D., TOURNOIS, H., VLIEGENTHART, J. F. G.

“Retrogradation of Potato Starch as Studied by Fourier Transform Infrared Spectroscopy”. *Starch/Stärke*, v. 46, p. 453-457, 1994.

VINHAS, M. G., ALMEIDA, Y. M. B., LIMA, M. L. G. A., “Estudo das Propriedades

e Biodegradabilidade de Blendas de Poliéster/Amido Submetidas ao Ataque Microbiano”. *Química Nova*, v. 15, n. 00, 2007.

WURZBURG, O. B., *Modified Starches: Properties and Uses*. CRC Press Inc., 1986.

YANG, K. K., WANG, X-L., WANG, Y-Z., “Progress in Nanocomposite Polymer”. *J.*

Ind. Eng. Chem., v. 13, n. 4, pp. 485-500, 2007.