



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

NATALIA ROMERO DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS  
BASEADAS EM AMIDOS MODIFICADOS E ESTUDOS DE  
INCORPORAÇÃO DE ANTIOXIDANTES**

---

Londrina  
2016

NATALIA ROMERO DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS  
BASEADAS EM AMIDOS MODIFICADOS E ESTUDOS DE  
INCORPORAÇÃO DE ANTIOXIDANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho

Londrina  
2016

NATALIA ROMERO DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS  
BASEADAS EM AMIDOS MODIFICADOS E ESTUDOS DE  
INCORPORAÇÃO DE ANTIOXIDANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profa. Dra. Gizilene Maria de  
Carvalho  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Alexandre Orsato  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 06 de Setembro de 2016.

*À minha família e a todos que  
contribuíram para esta conquista.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela coragem e força perante as dificuldades encontradas ao longo desta trajetória e por não me deixar desistir de alcançar meus objetivos.

À minha família, em especial a meus pais Luci e Laerte pelo apoio, dedicação e compreensão, por sempre acreditarem em minha capacidade mesmo nos momentos de dificuldade e por todo o esforço em contribuir para a minha formação.

À minha irmã Nayara pela parceria nos momentos de trabalho e estudo ao longo desta jornada.

À minha orientadora, Profa Dra Gizilene Maria de Carvalho por todo o conhecimento compartilhado, pela amizade, dedicação e apoio em todos os momentos, não apenas no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Grupo de Pesquisa em Polímeros e Compósitos (GPoI), em especial às alunas Aline, Ana Paula, Bárbara, Fernanda e Mariana, companheiras de longa data, pelo compartilhamento de idéias e conhecimento, carinho e amizade ao longo destes anos.

A todos os técnicos e funcionários do Departamento de Química pela amizade e auxílio prestado em todos os momentos.

Aos Laboratórios Multiusuários da PROPPG – Laboratório de Espectroscopia (ESPEC), Laboratório de Difração de Raios-X (LARX) e Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise (LMEM) da Universidade Estadual de Londrina pelas análises realizadas.

Ao Luís Fernando Patsko por estar ao meu lado em todos os momentos e por sempre me motivar a fazer o meu melhor.

A meus amigos de toda a vida pelo carinho, apoio e compreensão nos momentos de correria.

*“O método científico é comprovado e verdadeiro.  
Não é perfeito, é apenas o melhor que temos.  
Abandoná-lo, junto com seus protocolos céticos  
é o caminho para uma idade das trevas.”*

*Carl Sagan*

OLIVEIRA, Natalia Romero. **Síntese e caracterização de nanopartículas baseadas em amidos modificados e estudos de incorporação de antioxidantes.** 2016. 90p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

## RESUMO

Neste trabalho, nanopartículas (NPs) de amido acetilado (nativo e oxidado) foram produzidas pelo método de nanoprecipitação utilizando água como não-solvente. A morfologia e o tamanho da NPs foram investigados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Foram obtidas nanopartículas na forma de esferas com tamanhos médios entre 550 e 900 nm. NPs de amido podem ser utilizadas para diferentes finalidades como encapsulação de fármacos, incorporação de antioxidantes, reforço em matrizes poliméricas e para a produção de embalagens ativas. Foi avaliada a incorporação de antioxidantes (AOs) com hidrofiliidades distintas (Ácido Gálico e Butilhidroxitolueno, BHT) às nanopartículas. Obteve-se 90% de incorporação para o BHT enquanto para o Ácido Gálico a incorporação foi de apenas 10%. A cristalinidade das amostras foi determinada por Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR) e Difração de Raios-X de Alto Ângulo (WAXD), verificando-se que as NPs produzidas apresentaram menor cristalinidade que seus respectivos acetatos. Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) foram realizadas para investigar a estabilidade térmica e a interação dos AOs com as NPs. As NPs apresentaram maior estabilidade térmica que os acetatos, e a incorporação dos AOs promoveu um aumento na estabilidade térmica das NPs. Os resultados também mostraram que a temperatura de transição vítrea (T<sub>g</sub>) das NPs incorporadas foi maior que das NPs puras, indicando que a presença dos AOs restringiram a mobilidade das cadeias de amido acetilado. Buscando comprovar a interação e compatibilidade entre as nanopartículas e os antioxidantes incorporados, parâmetros cinéticos foram obtidos pelos métodos de Flynn-Wall-Ozawa e de Horowitz & Metzger. Os resultados mostraram que a incorporação dos antioxidantes, assim como a quantidade de antioxidante incorporada aumentam o valor da energia de ativação das nanopartículas, indicando que a interação entre os componentes protege as NPs do processo de degradação.

**Palavras-chave:** Amido acetilado. Nanopartícula. Antioxidante. Morfologia.

OLIVEIRA, Natalia Romero. **Synthesis and characterization of modified starch-based nanoparticles and studies of incorporation of antioxidants**. 2016. 90p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

## ABSTRACT

In this work, acetylated starch-based (native and oxidized) nanoparticles were prepared by nanoprecipitation method using water as non-solvent. The morphology and size of NPs were investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM). Nanoparticles were obtained in the shape of spheres having average sizes between 550 and 900nm. Starch NPs can be used for different purposes such as drug encapsulation, incorporation of antioxidants, reinforcement in polymeric matrices and for the production of active packaging. Incorporation of antioxidants (AOs) with different hydrophylivities (Gallic Acid and Butylated hydroxytoluene, BHT) to the nanoparticles was evaluated. It was obtained 90% incorporation for BHT while Gallic Acid incorporation was only 10%. The crystallinity of the samples was determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Wide Angle X-ray Diffraction (WAXD), verifying that the produced NPs had lower crystallinity than their respective acetates. Thermogravimetric analysis (TGA) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) were performed to investigate the thermal stability and interaction of AOs with NPs. NPs exhibited higher thermal stability than acetates, and the presence of AOs increased thermal stability of NPs. The results also showed that the glass transition temperature ( $T_g$ ) of the loaded NPs was higher than the pure NPs, indicating that the presence of AOs restricted mobility of acetylated starch chains. Seeking to prove the interaction and compatibility between the nanoparticles and the incorporated antioxidants, kinetic parameters were obtained by the methods of Flynn-Wall-Ozawa and Horowitz & Metzger. The results showed that the incorporation of antioxidants as well as the amount of antioxidant incorporated increased the value of activation energy of NPs, indicating that the interaction between the components protects the NPs from degradation process.

**Key words:** Acetylated starch. Nanoparticle. Antioxidant. Morphology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b>	Representação esquemática do processo de nanoprecipitação.....	20
<b>Figura 2:</b>	Estrutura química da (a) amilose e (b) amilopectina .....	22
<b>Figura 3:</b>	Estados brasileiros produtores de mandioca.....	23
<b>Figura 4:</b>	Mercado consumidor de amido .....	24
<b>Figura 5:</b>	Estruturas dos antioxidantes (a) Ácido Gálico e (b) Butilhidroxitolueno .....	30
<b>Figura 6:</b>	Amido de mandioca (a) e amido de mandioca acetilado (b).....	42
<b>Figura 7:</b>	Mecanismo de acetilação do amido com anidrido acético.....	42
<b>Figura 8:</b>	MEV do (a) amido de mandioca, (b) amido oxidado, (c) amido de mandioca acetilado, (d) amido oxidado acetilado, (e) nanopartículas de amido de mandioca acetilado e (f) nanopartículas de amido oxidado acetilado. ....	44
<b>Figura 9:</b>	Distribuição de tamanho para as nanopartículas de amido de mandioca acetilado (a) e de amido oxidado acetilado (b) .....	45
<b>Figura 10:</b>	Espectro FTIR do (a) amido de mandioca (Amido), amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA), (b) Amido oxidado (Amido Ox), amido oxidado acetilado (AoAc) e nanopartículas de amido oxidado acetilado (NPAo), (c) Deconvolução da região 900-1100 do espectro FTIR do amido de mandioca. ....	46
<b>Figura 11:</b>	WAXD para (a) amido de mandioca (Amido), amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartícula de amido de mandioca acetilado (NPA) e (b) amido oxidado (Amido Ox), amido oxidado acetilado (AoAc) e nanopartícula de amido oxidado acetilado (NPAo). Deconvolução dos difratogramas do (c) amido de mandioca e (d) amido de mandioca acetilado.....	50
<b>Figura 12:</b>	Curvas TGA (a) e DTG (b) do amido de mandioca, amido de mandioca acetilado, nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA). Curvas TGA (c) e DTG (d) amido oxidado, amido oxidado acetilado e nanopartículas de amido oxidado acetilado (NPAo).....	52

<b>Figura 13:</b> Espectros UV-Vis do sobrenadante da solução de nanopartículas puras (branco), das soluções controle e das soluções utilizadas para quantificação dos antioxidantes AG (a) e BHT (b) incorporados às nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA) e de amido oxidado acetilado (NPAo). .....	55
<b>Figura 14:</b> Curvas TGA (a) e DTG (b) dos antioxidantes ácido gálico (AG), butilhidroxitolueno (BHT) e das nanopartículas de amido de mandioca acetilado puras (NPA) e incorporadas com ácido gálico (NPA AG) e com BHT (NPA BHT). Curvas TGA (c) e DTG (d) dos antioxidantes AG, BHT e das nanopartículas de amido oxidado acetilado puras (NPAo) e incorporadas com ácido gálico (NPAo AG) e com BHT (NPAo BHT). .....	57
<b>Figura 15:</b> (a) Curvas DSC para o amido de mandioca acetilado (AAc) e para as nanopartículas de amido de mandioca acetilado puras (NPA) e incorporadas com ácido gálico (NPA AG) e com BHT (NPA BHT). (b) Curvas DSC para o amido oxidado acetilado (AoAc) e para as nanopartículas de amido oxidado acetilado puras (NPAo) e incorporadas com ácido gálico (NPAo AG) e com BHT (NPAo BHT). .....	60
<b>Figura 16:</b> Representação da incorporação dos antioxidantes ao volume da nanopartícula esférica e das interações entre as espécies. ....	62
<b>Figura 17:</b> Exemplo da aplicação do método de Flynn-Wall-Ozawa para o amido de mandioca acetilado. (a) Curvas TGA obtidas a 5, 15 e 20°C e (b) gráfico de Arrhenius. ....	64
<b>Figura 18:</b> Dependência da energia de ativação com o grau de conversão para (a) amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartículas de amido de mandioca acetilado puras (NPA) e incorporadas com AG (NPA AG) e BHT (NPA BHT) e (b) amido oxidado acetilado (AoAc), nanopartículas de amido oxidado acetilado puras (NPAo) e incorporadas com AG (NPAo AG) e BHT (NPAo BHT). ....	65
<b>Figura 19:</b> Exemplo da aplicação do método de Horowitz e Metzger para o amido de mandioca acetilado. (a) Gráfico de Arrhenius e (b, c) retas correspondentes a cada evento de degradação obtidos a partir de curvas TGA com taxa de aquecimento 5°C/min. ....	67

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Valores de Rc obtidos para o amido de mandioca, amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA), amido oxidado, amido oxidado acetilado (AoAc) e nanopartículas de amido oxidado acetilado (NPAo).....	48
<b>Tabela 2:</b> Temperaturas de degradação para os amidos, acetato de amido de mandioca (AAc), acetato de amido oxidado (AoAc) e NPs de amido de mandioca acetilado e de amido oxidado acetilado (NPA e NPAo).....	53
<b>Tabela 3:</b> Temperaturas de degradação dos antioxidantes ácido gálico (AG) e butilhidroxitolueno (BHT) e das NPs de amido de mandioca acetilado e de amido oxidado acetilado puras (NPA e NPAo) e incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e com BHT (NPA BHT e NPAo BHT).....	59
<b>Tabela 4:</b> Valores de temperatura de transição vítrea (Tg) obtidos para os amidos acetilados (AAc e AoAc), nanopartículas puras (NPA e NPAo) e incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e BHT (NPA BHT e NPAo BHT). ....	60
<b>Tabela 5:</b> Valores de energia de ativação para os antioxidantes (AG e BHT), acetatos de amido (AAc e AoAc), nanopartículas puras (NPA e NPAo) e nanopartículas incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e BHT (NPA BHT e NPAo BHT) obtidos pelo método Flynn-Wall-Ozawa a 5, 10, 15 e 20°C/min. ....	66
<b>Tabela 6:</b> Valores de energia de ativação obtidos para os eventos de degradação a 5°C/min dos antioxidantes puros (AG e BHT), amidos acetilados (AAc e AoAc), nanopartículas puras (NPA e NPAo) e incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e BHT (NPA BHT e NPAo BHT).....	68

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAc	Amido de mandioca acetilado
AG	Ácido gálico
AoAc	Amido oxidado acetilado
BHT	Butilhidroxitolueno
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
Ea	Energia de ativação
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho
GS	Grau de substituição
I <sub>c</sub>	Índice de cristalinidade
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
M <sub>v</sub>	Massa molar viscosimétrica
NP	Nanopartícula
NPA	Nanopartículas de amido de mandioca acetilado
NPA AG	Nanopartículas de amido de mandioca acetilado incorporadas com ácido gálico
NPA BHT	Nanopartículas de amido de mandioca acetilado incorporadas com butilhidroxitolueno
NPAo	Nanopartículas de amido oxidado acetilado
NPAo AG	Nanopartículas de amido oxidado acetilado incorporadas com ácido gálico
NPAo BHT	Nanopartículas de amido oxidado acetilado incorporadas com butilhidroxitolueno
R <sub>c</sub>	Cristalinidade relativa
TG	Análise termogravimétrica
UV-Vis	Espectroscopia na região ultravioleta e visível
WAXD	Difração de raios-X de alto ângulo

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
2	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	17
2.1	NANOMATERIAIS.....	17
2.1.1	Métodos de Preparo de Nanopartículas .....	18
2.1.1.1	Nanoprecipitação.....	19
2.2	POLISSACARÍDEOS .....	21
2.2.1	Amido .....	21
2.2.1.1	Modificação de amidos .....	25
2.3	ANTIOXIDANTES .....	29
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	31
3.1	OBJETIVO GERAL .....	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
4.1	MATERIAIS E REAGENTES .....	32
4.2	METODOLOGIA.....	32
4.2.1	Modificação Química dos Amidos (Acetilação).....	32
4.2.1.1	Determinação do grau de substituição (GS).....	33
4.2.2	Obtenção das Nanopartículas .....	33
4.2.3	Incorporação de Antioxidantes às Nanopartículas .....	34
4.2.3.1	Quantificação de antioxidantes incorporados às NPs.....	34
4.2.4	Caracterização dos Materiais .....	35
4.2.4.1	Viscosimetria .....	35
4.2.4.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	36
4.2.4.3	Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) .....	36
4.2.4.4	Difração de raios-X de alto ângulo (WAXD) .....	37
4.2.4.5	Análise termogravimétrica (TGA) .....	38
4.2.4.6	Calorimetria diferencial exploratória (DSC) .....	38
4.2.4.7	Cinética de decomposição térmica.....	38

<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS, ACETATOS E NANOPARTÍCULAS PURAS .....	41
5.1.1	Viscosimetria .....	41
5.1.2	Modificação Química e Grau de Substituição.....	41
5.1.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	43
5.1.4	Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR).....	45
5.1.5	Difração de Raios-X de Alto Ângulo (WAXD) .....	49
5.1.6	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	51
5.2	QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES INCORPORADOS ÀS Nanopartículas .....	54
5.2.1	Espectroscopia UV-Vis .....	54
5.3	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS INCORPORADAS COM ANTIOXIDANTES .....	56
5.3.1	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	56
5.3.2	Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) .....	59
5.3.3	Cinética de Decomposição Térmica .....	62
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES</b> .....	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>71</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>79</b>
	APÊNDICE A – GRÁFICOS DE DECONVOLUÇÃO DA REGIÃO 900-1100 DOS ESPECTROS FTIR PARA OS AMIDOS, ACETATOS E NANOPARTÍCULAS PURAS.....	81
	APÊNDICE B – GRÁFICOS DE DECONVOLUÇÃO DOS ESPECTROS WAXD PARA OS AMIDOS, ACETATOS E NANOPARTÍCULAS PURAS.....	81
	APÊNDICE C – GRÁFICOS DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA A DIFERENTES TAXAS DE AQUECIMENTO PARA OS AMIDOS, ACETATOS, NANOPARTÍCULAS PURAS E INCORPORADAS COM ANTIOXIDANTE .....	81

APÊNDICE D – GRÁFICOS DE ARRHENIUS PARA ANÁLISE DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO PELO MÉTODO DE FLYNN-WALL-OZAWA.....	85
APÊNDICE E – GRÁFICOS PARA ANÁLISE DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO PELO MÉTODO DE HOROWITZ E METZGER .....	88

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação com o meio ambiente tem levado à busca por matérias-primas renováveis para a produção de materiais biodegradáveis. Polissacarídeos como o amido encontram grande aplicação neste setor, por tratar-se de um polímero proveniente de fonte renovável, baixo custo e por estar disponível em abundância na natureza, podendo ser encontrado em vários produtos agroindustriais (XU; MILADINOV; HANNA, 2004; CUMPSTEY, 2013; ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015). A utilização de polissacarídeos como o amido para o preparo de nanomateriais é uma opção que vem sendo amplamente investigada devido ao fato de estes polímeros apresentarem características como biodegradabilidade e biocompatibilidade. (LU; XIAO; XU, 2009; RAMÍREZ *et al.*, 2010; OCHUBIOJO; RODRIGUES, 2012).

Nanopartículas (NPs) de amido podem ser utilizadas para encapsulação de fármacos, como reforço em matrizes poliméricas, entre outras aplicações (KUMARI *et al.*, 2010; OCHUBIOJO; RODRIGUES, 2012; SHI *et al.*, 2013; LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014; KIM; PARK; LIM, 2015; TEODORO *et al.*, 2015). NPs também podem ser incorporadas com antioxidantes para a produção de embalagens ativas, prevenindo a oxidação de alimentos e das próprias embalagens. Butilhidroxitolueno (BHT) e Ácido Gálico são antioxidantes comumente utilizados para produção de embalagens ativas e incorporação em matrizes biodegradáveis. (JURINA *et al.*, 2011; SUN *et al.*, 2014).

O preparo de nano e micromateriais de amido pode ser realizado por diferentes técnicas. A escolha do método depende, entre outros fatores, da forma e tamanho esperado para as NPs e área de aplicação (PAL *et al.*, 2011; NAMAZI; FATHI; HEYDARI, 2012; KIM; PARK; LIM, 2015). Devido à sua simplicidade e reprodutibilidade, o método de nanoprecipitação tem sido amplamente investigado para a obtenção de NPs poliméricas e para incorporação de substâncias como fármacos e proteínas. (BILATI; ALLÉMANN; DOELKER, 2005; CHIN; PANG; TAY, 2011). O processo envolve apenas uma etapa, na qual uma solução do polímero é adicionada a um não solvente, levando à precipitação instantânea das partículas (BILATI; ALLEMANN; DOELKER, 2005; SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2011). Entretanto, quando NPs são produzidas a partir do amido nativo, estes materiais possuem propriedades tais como hidrofiliabilidade, baixa resistência a ácidos

e tendência à agregação devido a interações dos grupos hidroxila presentes na estrutura do amido (MA *et al.*, 2008; TAN *et al.*, 2009; SANTANDER-ORTEGA *et al.*, 2010). Com o objetivo de melhorar algumas das propriedades do amido ou mesmo atribuir propriedades específicas às NPs produzidas (VALODKAR; THAKORE, 2011; OCHUBIOJO; RODRIGUES, 2012; ZHU, 2015), o amido nativo pode ser modificado por métodos mecânicos (PEPE *et al.*, 2016), químicos (CHI *et al.*, 2008; ABBA *et al.*, 2014) ou enzimáticos (RAJAN; SUDHA; ABRAHAM, 2008; KASPRZAK *et al.*, 2012).

Uma das modificações químicas mais comumente utilizadas é a reação de acetilação. Trata-se da conversão de grupamentos hidroxila a grupos acetato na molécula de amido, podendo produzir acetatos de amido com diferentes graus de substituição (GS) (CHI *et al.*, 2008; NEELAM; VIJAY; LALIT, 2012; ABBA *et al.*, 2014). O aumento do GS promove maior hidrofobicidade ao material, e afeta também sua biodegradabilidade (RIVARD *et al.*, 1995; CHI *et al.*, 2008; UDENSI *et al.*, 2010; KASPRZAK *et al.*, 2012; LUO; SHI, 2012; ASHOGON; AKINTAYO, 2014). Narayan, Bloembergen & Lathia (1999) mostraram que amidos com GS intermediários, preferencialmente entre 1,2 e 1,7, apresentam boas propriedades mecânicas, ainda mantendo sua completa biodegradabilidade. A substituição dos grupamentos hidroxila por grupos acetato também dificulta as associações intercadeias, resultando em materiais mais estáveis e com menor tendência à retrogradação (ASHOGON; AKINTAYO, 2014). Além disso, a formação de NPs a partir de amidos modificados possibilita a incorporação de substâncias hidrofóbicas a estas estruturas (SANTANDER-ORTEGA *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2015; KIM; PARK; LIM, 2015).

Este trabalho descreve a síntese de amido de mandioca acetilado e de amido oxidado acetilado para a produção de nanopartículas (NPs) pelo método de nanoprecipitação. A partir da investigação das propriedades térmicas (DSC e TGA), químicas (FTIR), estruturais (WAXD) e morfológicas (MEV) dos materiais obtidos, buscou-se correlacionar a incorporação dos antioxidantes Butilhidroxitolueno (BHT) e Ácido Gálico (AG) com a estrutura das NPs.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 NANOMATERIAIS

Em nanomateriais, o prefixo “nano” vem do grego “anão”, e descreve materiais que apresentem estrutura com tamanho nanométrico em pelo menos uma de suas dimensões. A escala de medida nanométrica denota materiais com tamanho menor que um micrômetro (1  $\mu\text{m}$ ), na qual um nanômetro corresponde a um bilionésimo de metro ( $10^{-9}$  m). Embora a idéia da manipulação de materiais em escala nanométrica (nanotecnologia) ter sido idealizada por Richard Feynman no encontro da Sociedade Americana de Física em 1959, os nanomateriais ou nanopartículas são conhecidos há muito tempo em todo o planeta. Organismos como os vírus, bactérias, partículas e poluentes presentes no ar, e até mesmo os átomos apresentam estrutura em escala nanométrica (BUZEA; BLANDINO; ROBBIE, 2007; BHATTACHARYYA *et al.*, 2009; PAL *et al.*, 2011).

Várias propriedades de materiais são dependentes de seu tamanho. Sendo assim, os nanomateriais podem apresentar características peculiares, além de exibir propriedades físicas, químicas e mecânicas distintas de materiais em macro escala (SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2011; LEE, 2014). Um dos fatores que promovem essa diferença nas propriedades é a variação na superfície de contato. Partículas com tamanho nanométrico apresentam área superficial e, conseqüentemente, fração de átomos na superfície muito maior que partículas maiores, o que contribui para um aumento na reatividade química dos nanomateriais. Estas características distintas e propriedades únicas propiciam a aplicação de nanomateriais em diversos setores como farmacêutico, industrial, entre outros (PAL *et al.*, 2011; LEE, 2014).

Na indústria, nanopartículas podem ser aplicadas em filmes, melhorando suas propriedades mecânicas (SHI *et al.*, 2013; TEODORO *et al.*, 2015). A incorporação de nanopartículas em filmes finos também pode torná-los resistentes à água e aos raios ultravioleta, sendo amplamente utilizada em óculos de sol e monitores de computadores e câmeras (BHATTACHARYYA *et al.*, 2009; KIM; PARK; LIM, 2015). Nanopartículas de prata apresentam atividade antibacteriana, podendo ser utilizadas no tratamento de água, na indústria têxtil e aplicadas em instrumentos cirúrgicos (BUZEA; BLANDINO; ROBBIE, 2007; EL NOUR *et al.*, 2010;

LEE, 2014). Aplicadas em embalagens, podem proporcionar maior durabilidade tanto à embalagem como aos alimentos (HUANG; LI; ZHOU, 2015; METAK; NABHANI; CONNOLLY, 2015). A incorporação de substâncias com caráter antioxidante em nanopartículas também é bastante comum para este fim. Compostos fenólicos como o Ácido Gálico e o Butilhidroxitolueno (BHT) são comumente utilizados para incorporação em nanopartículas e outras matrizes biodegradáveis devido a suas propriedades antioxidantes (KUMARI *et al.*, 2010; JURINA *et al.*, 2011; BOSSIO *et al.*, 2014; SUN *et al.*, 2014). No setor farmacêutico, nanopartículas são comumente utilizadas como matriz para o carregamento e liberação de fármacos e proteínas (KUMAR *et al.*, 2011; PAL *et al.*, 2011). Nanopartículas magnéticas são muito utilizadas nesta aplicação, especialmente como carregadoras de drogas anticâncer, pois podem ser manipuladas por um campo magnético externo até o local desejado (DORNIANI *et al.*, 2012). Polímeros naturais também são amplamente investigados como matéria-prima no preparo de nanopartículas para aplicações medicinais e farmacêuticas devido a estes materiais apresentarem biocompatibilidade (SATYAM *et al.*, 2010; EL-FEKY *et al.*, 2015; KIM; PARK; LIM, 2015; ZHENG; MONTY; LINHARDT, 2015; VENKATESAN *et al.*, 2016). Entretanto, é necessário um controle rígido ao se utilizar nanomateriais em qualquer aplicação, pois, devido a seu pequeno tamanho, estes têm a capacidade de penetrar barreiras fisiológicas e se translocar em organismos vivos, podendo apresentar certa toxicidade dependendo de seu tamanho e do material a partir do qual foram produzidas (BUZEA; BLANDINO; ROBBIE, 2007).

### **2.1.1 Métodos de Preparo de Nanopartículas**

Na literatura podem ser encontrados diversos métodos descritos para a obtenção de nanopartículas. Entretanto, a seleção do método apropriado depende de fatores como o tamanho e forma desejados para as nanopartículas, o material que será utilizado como matéria-prima, aplicação à qual as nanopartículas serão destinadas, entre outros (PAL *et al.*, 2011; RAJPUT, 2015). Dependendo do método e do material escolhido para o preparo, podem ser obtidos nanoesferas, nanocristais, nanocápsulas, nanocompósitos, nanotubos, nanoemulsões, entre outros, sendo assim classificados de acordo com sua morfologia, composição e

aglomeração (BUZEA; BLANDINO; ROBBIE, 2007; NAGAVARMA *et al.*, 2012; NAMAZI; FATHI; HEYDARI, 2012).

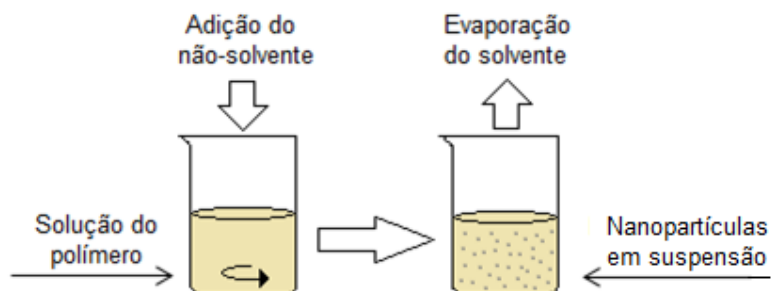
Os métodos mais comuns para a produção de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados incluem emulsificação/evaporação do solvente, difusão e nanoprecipitação. Estes métodos permitem a utilização tanto de polímeros naturais quanto sintéticos como material de partida, e são amplamente utilizados para encapsulação ou incorporação de substâncias às nanopartículas (PAL *et al.*, 2011; NAGAVARMA *et al.*, 2012; TAY; PANG; CHIN, 2012; CHIN; AZMAN; PAN, 2014; EL-FEKY *et al.*, 2015). Entre eles, o método de nanoprecipitação destaca-se por sua simplicidade e reprodutibilidade.

### **2.1.1.1 Nanoprecipitação**

O processo de nanoprecipitação, também conhecido como deslocamento de solvente, foi desenvolvido e patenteado por Fessi no final da década de 80 (FESSI *et al.*, 1989). Este método tem sido amplamente investigado para a obtenção de nanopartículas a partir de polímeros pré-formados e apresenta vantagens como a ausência de grandes quantidades de solventes orgânicos tóxicos e de fontes externas de energia (SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2010; CHIN; PANG; TAY, 2011; KIM; PARK; LIM, 2015).

Neste método, são utilizados apenas três componentes: o polímero escolhido, um solvente e um não-solvente. Enquanto o solvente se trata de um líquido volátil no qual o polímero seja solúvel, o não-solvente deve ser um líquido miscível com o solvente, mas no qual o polímero seja insolúvel (BILATI; ALLÉMANN; DOELKER, 2005). A água é um não-solvente bastante utilizado neste método. O uso de surfactantes também é comum, porém não é essencial para a formação das nanopartículas (NAGAVARMA *et al.*, 2012). O processo de nanoprecipitação envolve uma única etapa, na qual uma solução diluída do polímero é adicionada a um não-solvente. A difusão do solvente no meio reacional leva à precipitação do polímero e formação instantânea das partículas em tamanho nanométrico. A Figura 1 mostra uma representação do processo de nanoprecipitação. Nanopartículas também podem ser obtidas adicionando-se lentamente o não-solvente à solução do polímero (SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2010; PAL *et al.*, 2011).

**Figura 1:** Representação esquemática do processo de nanoprecipitação.



A formação das nanopartículas ocorre pela nucleação de pequenos agregados de macromoléculas do polímero, seguido da agregação destes núcleos. Estes processos são denominados nucleação e crescimento, respectivamente (SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2010).

A variação de parâmetros como concentração do polímero, razão solvente/não solvente e a presença de surfactantes pode interferir na formação e no tamanho das nanopartículas. Tan e colaboradores (2009) produziram nanoesferas de amido ceroso acetilado por um processo de nanoprecipitação e notaram que o diâmetro médio das nanopartículas foi maior com o aumento da concentração do polímero em acetona. A formação de nanopartículas maiores ocorre devido ao fato de que soluções concentradas tornam-se mais viscosas, dificultando a difusão do solvente pelo não-solvente e, conseqüentemente, a formação das nanopartículas (SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2010). Chin, Pang & Tay (2011) mostraram em seu trabalho que a presença de surfactante no meio reacional reduz o tamanho das nanopartículas. Isso ocorre devido à adsorção do tensoativo sobre a superfície das nanopartículas formadas, dificultando sua aproximação e o processo de coalescência (LEBOUILLE *et al.*, 2014).

A produção de nanopartículas baseadas em polissacarídeos tem despertado grande interesse científico e industrial devido ao fato de estes materiais apresentarem características como biodegradabilidade e biocompatibilidade, podendo encontrar aplicação nas áreas farmacêutica, biológica, alimentícia, entre outras (LIN; HUANG; DUFRESNE, 2012; SHI *et al.*, 2013; BOSSIO *et al.*, 2014; ZHENG; MONTY; LINHARDT, 2015).

## 2.2 POLISSACARÍDEOS

Polissacarídeos compõem uma das maiores famílias de biopolímeros existentes na natureza. Tratam-se de macromoléculas naturais formadas a partir da condensação de unidades menores (monossacarídeos), unidos entre si por ligações glicosídicas (ZHENG; MONTY; LINHARDT, 2015). Estes materiais podem ser encontrados em muitos organismos vivos como plantas, algas e animais, exercendo funções como armazenamento de energia e funções estruturais (LIN; HUANG; DUFRESNE, 2012; CUMPSTEY, 2013; ZHENG; MONTY; LINHARDT, 2015; VENKATESAN *et al.*, 2016). Estruturalmente, as moléculas mais simples consistem na repetição de um monossacarídeo contendo apenas o grupamento hidroxila como grupo funcional. Alguns exemplos são o amido, a celulose e a quitina (CUMPSTEY, 2013; ZHENG; MONTY; LINHARDT, 2015). Características como estrutura química e conformação, massa molar, tipo de substituinte e identidade das unidades de monossacarídeo recorrentes podem afetar as propriedades físico-químicas dos polissacarídeos (LIUN; WILLFÖR; XU, 2015; ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; ALI *et al.*, 2016).

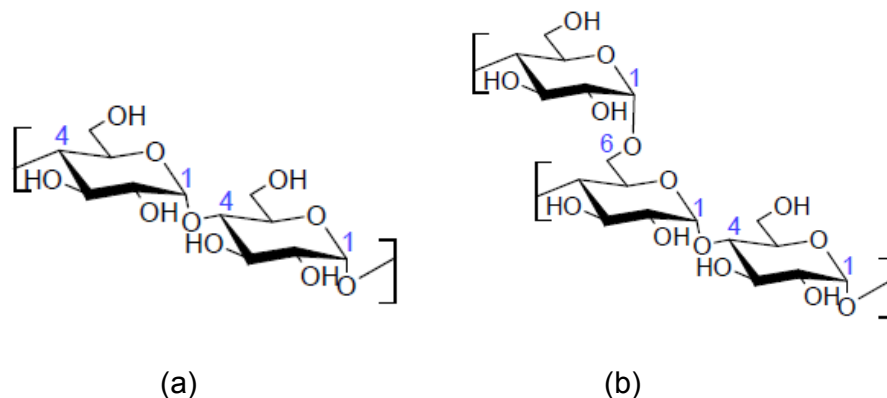
A utilização de polissacarídeos como amido, celulose e quitina para a produção de nanomateriais é interessante devido a seu baixo preço e facilidade de obtenção, além de apresentarem propriedades químicas e biológicas como biocompatibilidade, não toxicidade e biodegradabilidade (LIN; HUANG; DUFRESNE, 2012; ZHENG; MONTY; LINHARDT, 2015).

### 2.2.1 Amido

O amido é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza. Entre as fontes naturais mais comuns do amido encontram-se os cereais como arroz, milho e trigo, e os tubérculos como batata e mandioca. O amido serve à planta como reserva de energia em épocas de germinação, podendo ser encontrado em suas raízes, caules, sementes ou frutas (OCHUBIOJO; RODRIGUES, 2012; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014). Quando extraído da planta sem modificação, o amido é denominado nativo e é encontrado na forma de grânulos. A forma e o tamanho dos grânulos podem variar dependendo da origem botânica do amido (ZHU, 2015).

Amidos são compostos por duas estruturas poliméricas, amilose e amilopectina. Apesar de serem formadas pelo mesmo monômero (glicose), suas cadeias apresentam diferenças estruturais, como mostra a Figura 2 (OCHUBIOJO; RODRIGUES, 2012; LIUN; WILLFÖR; XU, 2015).

**Figura 2:** Estrutura química da (a) amilose e (b) amilopectina



Através da condensação enzimática, uma molécula de água é eliminada entre duas moléculas de glicose para formar uma ligação, ocorrendo predominantemente entre os carbonos 1 e 4 e ocasionalmente entre os carbonos 1 e 6 da estrutura. Quando somente ligações  $\alpha$  1-4 se desenvolvem, o polímero resultante apresenta cadeia linear, e é denominado amilose. No caso de também ocorrerem ligações ocasionais entre os carbonos 1 e 6, forma-se uma estrutura com cadeia ramificada, denominada amilopectina (LIUN; WILLFÖR; XU, 2015; ZHU, 2015). A amilose e a amilopectina podem ser arranjadas em uma estrutura semicristalina, formando, então, grânulos de amido com regiões amorfas (amilose) e cristalinas (amilopectina). A razão entre a amilose e a amilopectina pode variar de acordo com a fonte botânica do amido, afetando suas propriedades físico-químicas (ZHU, 2015; ALKÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; ALI *et al.*, 2016).

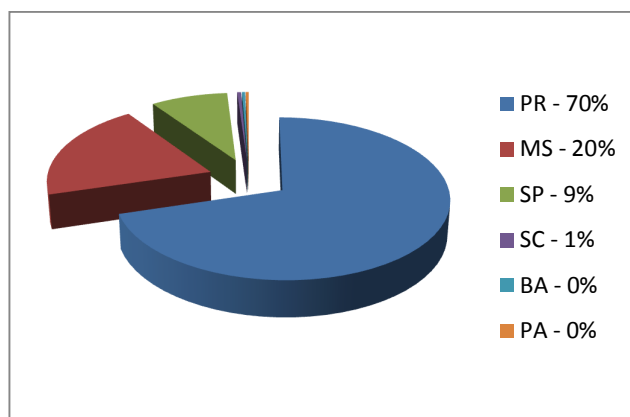
Grande parte do amido produzido no mundo é proveniente da mandioca, ficando atrás apenas do amido de milho. Isto se deve ao fato de esta raiz ser um dos principais alimentos energéticos para mais de 700 milhões de pessoas, sobretudo nos países em desenvolvimento (SEAB, 2012). Por sua facilidade de adaptação a diversas condições climáticas, e por suprir a necessidade alimentar de populações carentes, a mandioca vem assumindo lugar de destaque em produção.

Mais de 100 países cultivam mandioca, sendo o Brasil o segundo maior produtor. Responsável por cerca de 10% da produção mundial, o Brasil fica atrás apenas de países do continente africano, que contribui com cerca de 52% da produção mundial de mandioca (SEBRAE, 2008; DEMIATE; KOTOVICZ, 2011; SEAB, 2012). No ano de 2013, a produção mundial de mandioca foi superior a 270 milhões de toneladas, sendo mais de 21 milhões de toneladas produzidas no Brasil (SEAB, 2014).

A região sul do Brasil, além de grande produtora da raiz, conta também com o maior número de fecularias. O estado do Paraná é o segundo maior produtor agrícola da região, sendo responsável por mais de 70% da produção de amido de mandioca no Brasil, como mostra a Figura 3. A produção brasileira de fécula de mandioca foi de aproximadamente 500 mil toneladas no ano de 2013, sendo o Paraná responsável pela produção de cerca de 333 mil toneladas (ABAM, 2013; SEAB, 2014).

O amido de mandioca também é conhecido como fécula, polvilho doce ou goma. A variação na denominação entre amido e fécula deve-se apenas à origem do produto amiláceo (SEAB, 2012). Segundo legislação brasileira, o amido é definido como o produto extraído das partes aéreas comestíveis dos vegetais (sementes, etc), e fécula designa o produto extraído das partes subterrâneas comestíveis dos vegetais (tubérculos, raízes e rizomas). Todavia, amido e fécula são comumente utilizados como sinônimos (ANVISA, 1978).

**Figura 3:** Estados brasileiros produtores de mandioca

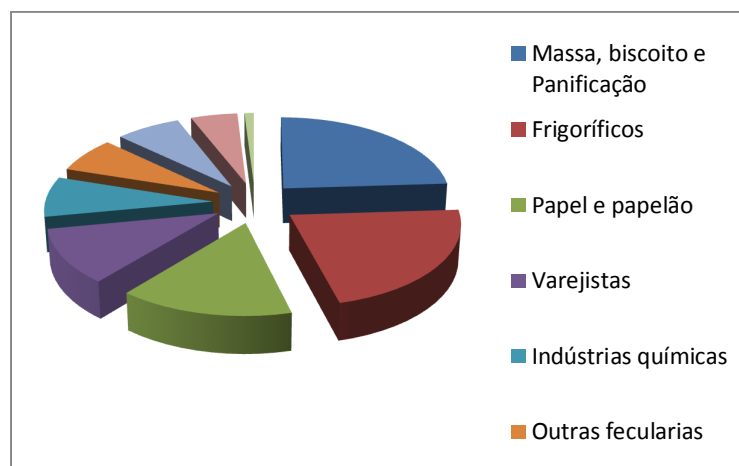


**Fonte:** Adaptado de ABAM (2013)

As aplicações do amido de mandioca são muitas, tanto na indústria alimentícia quanto no setor industrial. No setor alimentício, o amido é utilizado principalmente para alterar ou controlar características como textura, aparência, umidade e consistência, podendo ser aplicado como agente gelificante, espessante, entre outros (AMIDOS..., 2013, ALI *et al.*, 2016). A indústria de alimentos é a maior consumidora de amido, seguida pela indústria de papel e papelão, como mostra a Figura 4. Entretanto, o amido é muito utilizado também nas indústrias têxteis, de plásticos, adesivos e cosméticos (BERTOLINNI, 2009; ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015). Os setores farmacêutico e biomédico também fazem uso do amido, principalmente como excipientes para a manipulação de cápsulas e comprimidos (BUILDERS; ARHEWOH, 2016). Além disso, o amido também tem sido estudado como matéria prima no preparo de nanopartículas para o transporte de fármacos e na engenharia de tecidos, devido à sua biocompatibilidade (OCHUBIOJO; RODRIGUES, 2012; LI *et al.*, 2014). Os principais mercados consumidores de amido são apresentados na Figura 4.

Devido à facilidade de obtenção, baixo preço, biodegradabilidade e por ser proveniente de fontes renováveis, o amido tem sido amplamente investigado como possível matéria prima para produção de diversos tipos de materiais como embalagens e filmes biodegradáveis, além do preparo de nanomateriais (LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014).

**Figura 4:** Mercado consumidor de amido



Fonte: adaptado de ABAM (2013)

Nanopartículas produzidas a partir do amido são amplamente utilizadas especialmente por seu caráter biodegradável e por sua biocompatibilidade. Aplicadas em matrizes poliméricas, nanopartículas atuam como reforço melhorando propriedades físicas e mecânicas como resistência à inflamabilidade, permeabilidade ao vapor d'água e estabilidade térmica (SHI *et al.*, 2013; LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014; HUANG; LI; ZHOU, 2015; TEODORO *et al.*, 2015). Shi e colaboradores (2013) produziram filmes de amido com e sem a incorporação de nanopartículas de amido e notaram que os filmes incorporados com nanopartículas apresentaram menor permeabilidade ao vapor d'água, além de maior resistência à temperatura. Nanopartículas de amido também podem ser utilizadas como matrizes para o carregamento de substâncias como fármacos e proteínas devido à biocompatibilidade do material amiláceo (SANTANDER-ORTEGA *et al.*, 2010; EL-FEKY *et al.*, 2015).

Entretanto, nanomateriais produzidos a partir do amido nativo, assim como o próprio amido, podem ter uso limitado para certas aplicações. Devido à sua alta hidrofiliabilidade, o amido pode apresentar características como baixa estabilidade, especialmente em ambientes com alta umidade, baixa resistência mecânica e baixa solubilidade em certos solventes orgânicos. Além disso, é instável a variações de temperatura e de pH, dificultando sua utilização em certos processos industriais (AKPA; DAGDE, 2012; LE CORRE; COUSSY, 2014; ALKÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015). A modificação de amidos é uma alternativa que tem sido amplamente investigada com o objetivo de alterar características e superar possíveis limitações do amido nativo, aumentando assim a utilidade deste polímero e adequando-o a aplicações específicas (AKPA; DAGDE, 2012; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014; ALKÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

### **2.2.1.1 Modificação de amidos**

A modificação do amido visa acentuar peculiaridades, diminuir possíveis características indesejadas e limitações do material nativo ou mesmo atribuir novas propriedades a estes. Pela modificação adequada, as propriedades físico-químicas do amido podem ser alteradas, ampliando sua utilização tanto no setor alimentício como no industrial (BARRIOS *et al.* 2013; GRANZA *et al.*, 2015). Uma das limitações mais comuns do amido nativo é a alta hidrofiliabilidade devido à

presença de grupamentos hidroxila em sua estrutura, além de apresentar alta tendência à retrogradação (SIMI; ABRAHAM, 2007; MINA *et al.*, 2011). Apesar de sua hidrofiliçidade, o amido não é solúvel em água fria, porém, quando a suspensão é aquecida, os grânulos de amido incham e ocorrem mudanças em sua estrutura envolvendo o rompimento de ligações de hidrogênio que estabilizam a região cristalina do amido. Este processo é denominado gelatinização. O fenômeno de retrogradação ocorre quando as cadeias de amido gelatinizado reassociam-se, formando uma estrutura organizada. Quando a temperatura diminui, as cadeias tendem a interagir mais fortemente entre si, eliminando moléculas de água de sua estrutura. Este fenômeno é denominado sinérese e pode levar ao endurecimento do material, limitando também os usos do amido. Fenômenos como retrogradação e sinérese podem ser controlados a partir da modificação do amido (AMIDOS...2013; KORMA *et al.*, 2016).

Amidos podem ser modificados por métodos físicos, químicos, e enzimáticos, sendo o método químico o mais utilizado entre eles (AKPA; DAGDE, 2012; NEELAM; VIJAY; LALIT, 2012; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014; KORMA *et al.*, 2016; PEPE *et al.*, 2016). Modificações químicas são realizadas a partir dos grânulos de amido em sua forma nativa e envolvem a introdução ou modificação de grupos funcionais nas moléculas a partir do tratamento com reagentes químicos específicos (ASHOGBON; AKINTAYO, 2014; CHEN *et al.*, 2015). As propriedades do amido modificado dependem do método escolhido para a modificação e de condições de reação como concentração do reagente, tempo de reação, pH, entre outras. O tipo de substituinte, grau de substituição e a distribuição dos substituintes na molécula também afetam as propriedades do material modificado (BELLO-PÉREZ *et al.*, 2010; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014; CHEN *et al.*, 2015). A modificação química pode ser realizada utilizando o amido em três estados: em suspensão, no qual a reação ocorre em meio aquoso e o material é obtido após filtração e secagem; em pasta, sendo o amido gelatinizado em uma pequena quantidade de água e seco ao ar após o término da reação; e no estado sólido, no qual o amido seco é misturado a reagentes químicos e reage a altas temperaturas (XIE; LIU; CUI, 2005). Entre os diversos métodos descritos para a modificação química de amidos, os processos de oxidação e esterificação são os mais comumente utilizados (BELLO-PÉREZ *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2012; BARRIOS *et al.*, 2013; CUMPSTEY, 2013; ABBA *et al.*, 2014).

Amidos oxidados são produzidos pela reação entre o amido e agentes oxidantes sob temperatura e pH controlados (ASHOGBON; AKINTAYO, 2014). Neste tipo de reação, as hidroxilas do amido são primeiramente oxidadas a grupamentos carbonila e, posteriormente, a grupos carboxila, podendo ocorrer também a despolimerização do amido (ALKÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; KORMA *et al.*, 2016). Estes produtos são preferencialmente utilizados na indústria de papel, pois produzem suspensões capazes de formar filmes uniformes, os quais selam os poros e proporcionam melhor impressão (ZHANG *et al.*, 2012; KORMA *et al.*, 2016). No setor alimentício, amidos oxidados são utilizados devido à sua baixa viscosidade e alta estabilidade à retrogradação (XIE; LIU; CUI, 2005; MATSUGUMA *et al.*, 2009; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014). Os agentes oxidantes mais utilizados para este tipo de reação são o hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio e ácido peracético (ABBA *et al.*, 2014; ALKÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; ZHU, 2015). Em escala industrial, a oxidação por hipoclorito de sódio é a mais comumente utilizada (ZHANG *et al.*, 2012). Para aplicação no setor alimentício, a reação de oxidação é realizada utilizando hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio (KORMA *et al.*, 2016). A utilização de diferentes processos de oxidação pode afetar a estrutura molecular, o grau de oxidação e, conseqüentemente, as propriedades do amido oxidado (CHEN *et al.*, 2015; ZHU, 2015).

A modificação química por reação de esterificação consiste na conversão de grupamentos hidroxila a grupos éster na molécula de amido. Alguns dos reagentes mais utilizados para esterificação de amidos são anidrido acético, acetato de vinila, anidrido succínico, tripolifosfato de sódio, ácido cítrico e cloretos de ácidos graxos. Dependendo do reagente utilizado, podem ser incluídos grupos carboxila, hidroxipropil, acetil, entre outros (NEELAM; VIJAY; LALIT, 2012; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014; ZHU, 2015). Quando os grupamentos hidroxila são substituídos por grupos acetil, tem-se a chamada reação de acetilação (ABBA *et al.*, 2014; ALKÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015). Este tipo de reação tem sido estudado há mais de duas décadas e promove um caráter mais hidrofóbico ao amido, pois previne a formação de ligações de hidrogênio entre as hidroxilas do amido e as moléculas de água. A substituição dos grupamentos também dificulta as associações intercadeias, resultando em materiais mais estáveis e com menor tendência à retrogradação (HAN *et al.*, 2012; NEELAM; VIJAY; LALIT, 2012; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014).

Existem vários métodos descritos para a formação do amido acetilado ou acetato de amido, e a escolha do método pode variar o grau de substituição (GS) do material (KORMA *et al.*, 2016). Sodhi & Singh (2005) investigaram a acetilação de amidos de arroz provenientes de diferentes meios de cultivo e encontraram que a fonte do amido pode alterar características dos acetatos, como a taxa de acetilação e o grau de substituição, mesmo tendo sido modificados pelo mesmo método.

O GS é definido como a extensão da modificação a partir da qual são introduzidos novos grupos substituintes, ou seja, determina o número médio de grupos hidroxila que foram modificados em uma unidade de glicose. O valor máximo de GS possível para o amido é 3, uma vez que cada unidade glicosídica do amido apresenta 3 hidroxilas disponíveis para a reação. A mudança nas condições de reação pode variar o GS, levando à obtenção de materiais com características e propriedades distintas. A origem botânica do amido utilizado também pode levar à variação do GS. (Mina *et al.*, 2011; SINGH, NATH; GUHA, 2011; NEELAM; VIJAY; LALIT, 2012). Bello-Pérez e colaboradores (2010) avaliaram as características físico-químicas de amidos de cevada acetilados com alta e baixa substituição (GS = 2,7 e 0,9). Os autores notaram uma diminuição na temperatura de gelatinização e na tendência a retrogradação do acetato com alto GS. No caso do acetato com baixo GS, estas características não foram alteradas. É possível avaliar o GS por várias técnicas, e a escolha do método varia de acordo com o agente que foi utilizado para a modificação do material. O GS do amido é mais comumente determinado por métodos como a espectroscopia no infravermelho (FTIR), ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H}$  RMN), hidrólise e retrotitulação (ELOMAA *et al.*, 2004).

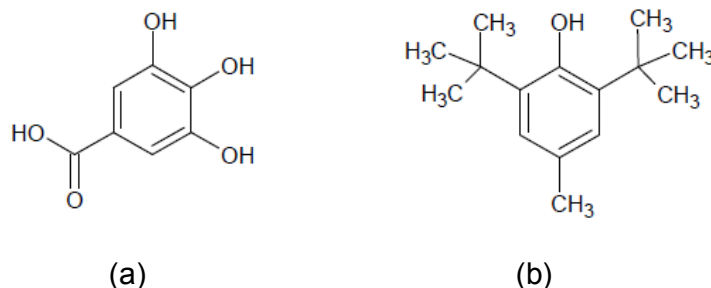
Amidos modificados são comumente utilizados para a formação de micro e nanomateriais. Uma aplicação interessante para nanopartículas obtidas a partir de amidos acetilados é a possibilidade de encapsulação de materiais hidrofóbicos como drogas e proteínas, aumentando assim sua solubilidade em água. Santander-Ortega e colaboradores (2010) obtiveram bons resultados ao promover a encapsulação de diferentes fármacos em nanopartículas hidrofóbicas de amido quimicamente modificado. Valodkar & Thakore (2011) avaliaram a utilização de nanopartículas de amido nativo e de amido modificado como agentes de reforço em biocompósitos, utilizando a borracha natural como matriz. Os autores notaram um aumento na força e na rigidez dos compósitos que continham nanopartículas

incorporadas. Além disso, a matriz incorporada com nanopartículas de amido modificado apresentou maior resistência em relação àquela incorporada com nanopartículas de amido nativo. Isto se deve ao fato de ocorrer uma melhor interação entre as nanopartículas de amido modificado e a borracha, uma vez que ambos os materiais apresentam característica hidrofóbica.

### 2.3 ANTIOXIDANTES

O processo de oxidação é um dos mecanismos de degradação mais comuns em alimentos, e pode provocar mudanças na cor diminuir a qualidade, aumentar a toxicidade. Antioxidantes são substâncias capazes de proteger alimentos e outros materiais contra processos de oxidação, independente do mecanismo de ação. Substâncias deste tipo podem aplicadas em filmes e embalagens, buscando melhorar a qualidade e o tempo de prateleira dos materiais. Compostos fenólicos como o Ácido Gálico e o Butilhidroxitolueno (BHT) são comumente utilizados para este fim. (JURINA *et al.*, 2011; PERAZZO *et al.*, 2014; SUN *et al.*, 2014). As estruturas destes antioxidantes são apresentadas na Figura 5.

O butilhidroxitolueno (BHT) é um antioxidante sintético bastante utilizado, especialmente no setor alimentício (JURINA *et al.*, 2011; EÇA; SARTORI; MENEGALLI, 2014). Já o ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico) é uma substância natural que vem sendo investigada devido às suas fortes propriedades antioxidantes e antitumorais, podendo ser utilizado tanto em aplicações farmacêuticas como industriais (BADHANI; SHARMA; KAKKAR, 2015). Porém, em solução aquosa o ácido gálico pode sofrer auto-oxidação, diminuindo seu tempo de vida. A utilização de nanopartículas incorporadas com ácido gálico tem sido avaliada, buscando aumentar a eficiência do antioxidante (HU *et al.*, 2013).

**Figura 5:** Estruturas dos antioxidantes (a) Ácido Gálico e (b) Butilhidroxitolueno

A incorporação de antioxidantes a nanopartículas tem forte relação com suas estruturas moleculares. Nanopartículas formadas a partir do amido apresentam estrutura hidrofílica e acabam limitando a incorporação de antioxidantes a substâncias que também apresentem característica hidrofílica, como o ácido gálico. Porém, a modificação química do amido, como a acetilação, promove mudanças em sua estrutura, permitindo que substâncias hidrofóbicas como o BHT sejam incorporadas (SANTANDER-ORTEGA et al., 2010; CHEN *et al.*, 2015; KIM; PARK; LIM, 2015).

## JUSTIFICATIVA

Atualmente, poucos estudos têm demonstrado preocupação com a relação entre a estrutura das nanopartículas (cristalinidade, morfologia, propriedades físicas, etc) e a capacidade de incorporação de substâncias. Este estudo teve como diferencial a preocupação em investigar a estrutura das NPs além de promover a incorporação de antioxidantes a estas matrizes. Conhecer a estrutura da matriz é importante, pois leva a um melhor entendimento da capacidade de incorporação de diferentes substâncias e sobre como se dá esta incorporação, dependendo do tipo de interação que ocorre entre a matriz e o material incorporado. Além disso, as NPs foram produzidas a partir do amido, um polímero biodegradável e proveniente de fontes renováveis, utilizando-se um método simples e que não envolve a utilização de grandes quantidades de solventes orgânicos nem de surfactantes para estabilização do sistema.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo do presente trabalho foi obter e avaliar as propriedades de nanopartículas de amido acetilado produzidas pelo método de nanoprecipitação e estudar a estrutura destas nanopartículas a partir da incorporação de antioxidantes com diferentes propriedades e estruturas moleculares.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Caracterizar os amidos de mandioca e oxidado por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), difração de raios-X de alto ângulo (WAXD) e análise termogravimétrica (TGA) e avaliar suas massas molares por viscosimetria.

Obter amido de mandioca acetilado e amido oxidado acetilado utilizando ácido acético glacial e anidrido acético e determinar o grau de substituição destes acetatos utilizando o método de retrotitulação.

Obter nanopartículas baseadas em amido de mandioca acetilado e amido oxidado acetilado pelo processo de nanoprecipitação.

Avaliar a incorporação dos antioxidantes Butilhidroxitolueno e Ácido Gálico às nanopartículas.

Quantificar os antioxidantes incorporados às nanopartículas por análise na região do UV e visível.

Caracterizar os materiais obtidos (amidos acetilados, nanopartículas puras e incorporadas) por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), difração de raios-X de alto ângulo (WAXD), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial exploratória (DSC).

Avaliar a interação entre os antioxidantes e as nanopartículas a partir da análise da energia de ativação do processo de degradação térmica dos antioxidantes, das nanopartículas puras e nanopartículas incorporadas com antioxidantes.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Os reagentes utilizados neste trabalho foram: Amido de Mandioca comercial (Yoki ®, Brasil), Amido Oxidado comercial (Amido Solúvel - Synth, Brasil) Ácido Acético Glacial (Cinetica, Brasil), Anidrido Acético (Cinetica, Brasil), Ácido Sulfúrico (FMaia, Brasil), Álcool Etílico Absoluto (FMaia, Brasil), Hidróxido de Sódio (FMaia, Brasil), Ácido Clorídrico (Biotec, Brasil), Acetona (Anidrol, Brasil), Butilhidroxitolueno (Biotec, Brasil) e Ácido Gálico anidro (Merck, Brasil). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e utilizados sem modificação.

### 4.2 METODOLOGIA

#### 4.2.1 Modificação Química do Amido (Acetilação)

A modificação química do amido de mandioca e do amido oxidado foi realizada pelo processo de acetilação seguindo o procedimento adaptado por Larotonda (2002).

Em um béquer de 250 mL, 7,5 g de amido seco foram adicionados a uma solução contendo 13,5 mL de ácido acético glacial e 13,8 mL de anidrido acético. A suspensão formada foi aquecida com agitação até 40°C. Ao atingir a temperatura desejada (40°C), a suspensão foi retirada do aquecimento e imediatamente transferida para banho de gelo, mantendo-se a agitação. Gradualmente, foi adicionada uma solução catalisadora contendo 0,1 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1,25 mL de ácido acético glacial, e a agitação em banho de gelo foi mantida por 10 min. Em seguida, a suspensão foi retirada do banho de gelo e novamente aquecida a 60°C por 2h, com agitação constante. Após este tempo, a suspensão foi adicionada a 400 mL de água destilada gelada (~4°C) para precipitação do acetato de amido. Após a decantação, o precipitado formado foi filtrado a vácuo em funil de Büchner, lavado várias vezes com água destilada e seco em estufa a 50°C por 24h. Foram obtidos, assim, o amido de mandioca acetilado (AAc) e amido oxidado acetilado (AoAc).

#### 4.2.1.1 Determinação do grau de substituição (GS)

Para avaliação do GS dos acetatos de amido formados, 1g do polímero produzido foi adicionado a 50 mL de solução alcoólica 75% (v/v) e aquecido a 50°C sob agitação constante por 30 min. Em seguida, os grupamentos acetato do polímero foram hidrolisados com 40 mL de solução NaOH 0,5M. Depois de frio, o excesso de NaOH presente na mistura foi titulado com HCl 0,5M utilizando-se fenolftaleína como indicador (WURZBURG, 1964).

A porcentagem de acetilação foi calculada pela Equação 1:

$$\% \text{ Acetilação} = \left[ (V_o - V_p) \cdot M(\text{HCl}) \cdot \frac{43}{m} \right] \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

Sendo:

$V_o$  = volume de HCl gasto na ausência de polímero

$V_p$  = volume de HCl gasto na presença de polímero

$M_{\text{HCl}}$  = concentração do HCl (mol/L)

43 = massa molar do grupo acetil

$m$  = massa do polímero (g)

O GS foi obtido a partir da % Acetilação pela Equação 2:

$$GS = (\% \text{ Acetilação} \cdot 3) / 100 \quad \text{Equação 2}$$

#### 4.2.2 Obtenção das Nanopartículas

As nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA) e de amido oxidado acetilado (NPAo) foram produzidas pelo método de nanoprecipitação descrito por Tan e colaboradores. (2009). Em um béquer de 150 mL, 0,1g de amido acetilado seco foram dissolvidos, sob agitação, em 20 mL de acetona. Em seguida, 50 mL de água destilada foram adicionados gota a gota à solução, e a agitação mantida por 24h para completa evaporação do solvente (acetona). Todo o processo foi realizado em temperatura ambiente. A suspensão obtida foi centrifugada a 4000

rpm por 20 min. O sólido obtido foi seco em estufa a 50°C por 24h, e o sobrenadante recolhido para posterior análise.

#### **4.2.3 Incorporação de Antioxidantes às Nanopartículas**

A incorporação dos antioxidantes (AOs) às NPs foi realizada *in situ*. Foi utilizada a mesma metodologia escolhida para o preparo das NPs puras, entretanto, uma quantidade previamente determinada do antioxidante (5mg) foi adicionada à acetona antes da adição do polímero. Os antioxidantes escolhidos para a incorporação às NP foram o Butilhidroxitolueno (BHT) e o ácido gálico (AG), sendo obtidas, assim, NPs de amido de mandioca acetilado e de amido oxidado acetilado incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e com BHT (NPA BHT e NPAo BHT). Os antioxidantes foram escolhidos para incorporação devido a suas características distintas, sendo o BHT uma espécie hidrofóbica e o AG, hidrofílico. A partir desta distinção, buscou-se investigar a estrutura das NPs a partir de testes de incorporação destes materiais. As estruturas dos antioxidantes são apresentadas na Figura 6.

##### **4.2.3.1 Quantificação de Antioxidantes Incorporados às NPs**

Os antioxidantes incorporados às NPs foram quantificados por espectroscopia nas regiões do UV e visível (UV-Vis) do sobrenadante recolhido após a centrifugação da solução contendo as NP. Uma curva analítica ( $R > 0,98$ ) foi obtida para cada antioxidante, utilizando o comprimento de onda 265nm para ambos os materiais. Para comparação, também foram analisados o sobrenadante da solução de NPs puras (branco) e uma solução referência (controle). A solução referência se trata de uma solução do AO obtida nas mesmas condições de preparo das NP, sem a adição do polímero. Todas as análises foram realizadas utilizando-se alíquotas de 3 mL.

As curvas de absorvância foram obtidas no intervalo de 200 a 700nm em equipamento da marca Perkin Elmer, modelo Lambda 25, utilizando cubetas de quartzo de caminho óptico 1cm. As análises foram realizadas no Departamento de Química DQ-UEL.

#### 4.2.4 Caracterização dos Materiais

Para caracterização dos amidos, amidos acetilados e NPs, foram realizadas análises de viscosimetria, espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), difração de raios-X de alto ângulo (WAXD), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial exploratória (DSC). A morfologia destes materiais foi verificada por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

##### 4.2.4.1 Viscosimetria

A massa molar viscosimétrica média dos amidos (amido de mandioca e amido oxidado) foi determinada por viscosimetria. As análises foram realizadas utilizando viscosímetro Cannon-Fenske para líquidos transparentes, número 150 da marca Paragon Scientific. Foram utilizadas soluções 2g L<sup>-1</sup> para o amido de mandioca e 60g L<sup>-1</sup> para o amido oxidado, utilizando NaOH 0,5M como solvente, sendo que as concentrações foram escolhidas analisando-se o tempo de escoamento pelo viscosímetro. É preferível que o tempo de escoamento das soluções ocorra na faixa entre 100 e 150 segundos para que sejam obtidos resultados mais confiáveis (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001). As soluções foram mantidas em agitação constante por 24h para garantir a dissolução total do polímero. O viscosímetro foi fixado em suporte universal em ambiente climatizado a 20±0,2°C e os tempos de escoamento das soluções foram determinados em triplicata.

Utilizando o método de ponto único descrito por Solomon & Ciutã (1962), foi determinada a viscosidade intrínseca. Neste método, a viscosidade intrínseca é determinada a partir das seguintes relações mostradas nas equações 3, 4 e 5:

$$[\eta] = \frac{\sqrt{2[\eta_{sp} - \ln(\eta_{rel})]}}{c} \quad \text{Equação 3}$$

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad \text{Equação 4}$$

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad \text{Equação 5}$$

Sendo:

$[\eta]$  = Viscosidade intrínseca

$\eta_{rel}$  = Viscosidade relativa

$\eta_{sp}$  = Viscosidade específica

c = Concentração da solução polimérica

t = Tempo de escoamento da solução polimérica

$t_0$  = Tempo de escoamento do solvente

O cálculo da massa molar média viscosimétrica foi realizado segundo a equação 6, denominada equação de Mark-Houwink-Sakurada.

$$[\eta] = K \cdot M_v^a \quad \text{Equação 6}$$

Nesta equação,  $M_v$  é a massa molar viscosimétrica e K e a são constantes relacionadas ao par polímero/solvente utilizado, a uma determinada temperatura.

#### 4.2.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises de MEV foram realizadas em microscópio Philips-FEI modelo Quanta 200. A amostra foi coberta por uma fina camada de ouro e a tensão de aceleração utilizada foi de 15,0 kV. O tamanho das NPs foi verificado pelo programa *Size Meter*, desenvolvido no Laboratório de Controle de Processos (LCP) do Departamento de Engenharia Química da UFSC. As análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia e Microanálise (Central Analítica-UEL).

#### 4.2.4.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros foram obtidos em espectrômetro de infravermelho Shimadzu, modelo 8400 FTIR. O material foi utilizado prensado com KBr na forma de discos, sendo executadas 100 acumulações na faixa espectral de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia (Laboratório Multiusuário - Espec) da UEL.

O grau de cristalinidade, ou cristalinidade relativa, pode ser definido como a razão entre a quantidade do componente cristalino e a quantidade total da amostra, sendo esta constituída pelas frações cristalinas e amorfas. A cristalinidade relativa ( $R_c$ ) das amostras foi determinada a partir dos espectros de FTIR usando-se a razão entre as áreas das bandas em  $1050\text{ cm}^{-1}$  (banda cristalina) e a soma das áreas das bandas em  $1050\text{ cm}^{-1}$  e  $1018\text{ cm}^{-1}$  (banda amorfa), obtidas pela deconvolução dos espectros na região de  $950\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ , como mostra a Equação 7 (SMITS *et al.*, 1998).

$$R_c = A_{1050}/(A_{1050} + A_{1018}) \quad \text{Equação 7}$$

Sendo:

$R_c$  = Cristalinidade relativa

$A_{1050}$  = Área da contribuição cristalina

$A_{1018}$  = Área da contribuição amorfa

#### 4.2.4.4 Difração de raios-X de alto ângulo (WAXD)

As medidas de Difração de Raios X de alto ângulo (WAXD) foram realizadas em difratômetro da marca PANalytical modelo X'Pert PRO MPD, com radiação  $\text{CuK}\alpha$ , na geometria Bragg-Brentano. Foi utilizado intervalo de varredura  $2\theta$  de  $5$  a  $50^\circ$  com passo angular de  $0,04^\circ$ . A tensão e a corrente usadas foram, respectivamente,  $40\text{ KV}$  e  $30\text{ mA}$ . O tempo de contagem por ponto foi de  $2,0\text{ s}$ . As análises foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X do LARX (Laboratório Multiusuário da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação) da UEL.

A difração de raios-X é comumente utilizada para avaliar o grau de cristalinidade de polímeros semi-cristalinos. O índice de cristalinidade ( $I_c$ ) dos amidos, acetatos e NPs foi verificado separando-se as contribuições das regiões cristalinas e amorfas através da deconvolução dos difratogramas obtidos e segundo a Equação 8:

$$I_c = A_c/(A_c + A_a) \quad \text{Equação 8}$$

Sendo:

$I_c$  = Índice de cristalinidade

$A_c$  = Área da contribuição cristalina

$A_a$  = Área da contribuição amorfa

#### **4.2.4.5 Análise termogravimétrica (TGA)**

Os termogramas foram obtidos em equipamento PerkinElmer, modelo TGA 4000, sob fluxo de nitrogênio de 20mL/min. A massa de cada amostra foi de aproximadamente 15mg, e as leituras foram realizadas com aquecimento de 30 a 800°C e variação de temperatura de 20, 15, 10 e 5°C/min. As análises foram realizadas no Departamento de Química DQ-UEL.

#### **4.2.4.6 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)**

A análise DSC foi realizada em equipamento Shimadzu DSC-60 sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50mL/min. A massa de cada amostra foi de aproximadamente 2mg e as leituras foram feitas na faixa de temperatura de 25 a 200°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min. As análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia (Laboratório Multiusuário - Espec) da UEL.

#### **4.2.4.7 Cinética de decomposição térmica**

A termogravimetria é uma técnica utilizada para avaliar a perda de massa de um material e verificar sua estabilidade térmica em função do tempo e da temperatura. Através de experimentos adequados, pode-se obter informações sobre a cinética de decomposição térmica do material e demonstrar a compatibilidade ou incompatibilidade química entre os componentes de uma formulação. Para isto, dados sobre a energia de ativação do processo de degradação dos materiais devem ser determinados e avaliados. Existem dois métodos que são normalmente utilizados para a obtenção de parâmetros cinéticos de uma reação de decomposição térmica: o método isotérmico e o método dinâmico (não-isotérmico) (BIANCHI *et al.*, 2010; TAGHIZADEH; ABDOLLAHI, 2015). Neste trabalho foi utilizado o método não-isotérmico.

Na metodologia não-isotérmica, a amostra é aquecida linearmente desde a temperatura ambiente até sua completa decomposição utilizando-se uma taxa de aquecimento fixa. Este método permite o cálculo da energia de ativação ( $E_a$ ) a partir de uma série de curvas TGA obtidas em diferentes razões de aquecimento e por meio de equações matemáticas que serão apresentadas a seguir (TAGHIZADEH; ABDOLLAHI, 2015).

Em uma degradação térmica no estado sólido, o grau de conversão de uma amostra no tempo  $t$  [ $\alpha(t)$ ] pode ser dado pela Equação 9 (BIANCHI *et al.*, 2010, TAGHIZADEH; ABDOLLAHI, 2015):

$$\alpha(t) = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_\infty} \quad \text{Equação 9}$$

Sendo:

$m_0$  = massa inicial da amostra

$m_t$  = massa no tempo  $t$

$m_\infty$  = massa ao final do experimento

A equação geral que descreve a taxa de conversão ( $\alpha$ ) em uma reação cinética no estado sólido é função linear da constante de velocidade, sendo representada pela Equação 10:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \quad \text{Equação 10}$$

Nesta equação,  $k(T)$  é a constante de velocidade do processo de degradação e  $f(\alpha)$  representa uma função que descreve a reação. A dependência da constante de velocidade com a energia de ativação pode ser expressa substituindo-se a equação de Arrhenius (Equação 11) na Equação 10, obtendo-se a Equação 12:

$$k(T) = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad \text{Equação 11}$$

$$\frac{d\alpha}{dt} = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) f(\alpha) \quad \text{Equação 12}$$

Na qual:

$E_a$  = energia de ativação

$A$  = fator pré-exponencial de Arrhenius

$R$  = constante geral dos gases

No caso de estudos cinéticos realizados pelo método não-isotérmico ou dinâmico, a temperatura da amostra pode ser controlada mediante determinada taxa de aquecimento constante ( $\beta = dT/dt$ ). Sendo assim, o grau de conversão torna-se dependente desta taxa de aquecimento, e este termo deve ser levado em consideração. Dessa forma, a equação geral que descreve o grau de conversão em um modelo não-isotérmico é expressa pela Equação 13 (OZAWA, 1992; GUINESI *et al.* 2006; TAGHIZADEH; ABDOLLAHI, 2015):

$$\frac{d\alpha}{dT} = \frac{A}{\beta} \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) f(\alpha) \quad \text{Equação 13}$$

Vários métodos já foram desenvolvidos para a estimativa da energia de ativação por meio de processos de degradação térmica. Entretanto, a resolução da equação geral geralmente é feita através de aproximações diferenciais e integrais. Entre os métodos não-isotérmicos mais utilizados, destaca-se o de Flynn-Wall-Ozawa. Neste método, o modelo que descreve a reação pode ser representado por uma função integral de conversão [ $g(\alpha)$ ], como mostram as Equações 14 e 15 (OZAWA, 1992; BIANCHI *et al.*, 2010):

$$g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{d\alpha}{f(\alpha)} \quad \text{Equação 14}$$

$$g(\alpha) = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^{T_f} \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) dT \quad \text{Equação 15}$$

Como a integral de Arrhenius não possui solução analítica, também são utilizadas aproximações numéricas para sua resolução. Neste trabalho, foram utilizadas as aproximações propostas por Flynn-Wall e Ozawa e por Horowitz e Metzger (HOROWITZ; METZGER, 1963; OZAWA, 1992).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS, AMIDOS ACETILADOS E NANOPARTÍCULAS PURAS

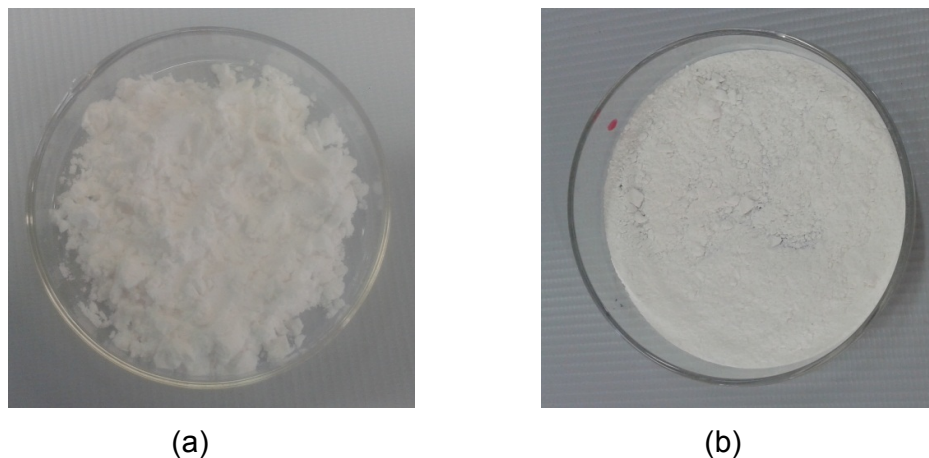
#### 5.1.1 Viscosimetria

Através das equações 3 a 6 (página 37), foi calculada a massa molar média viscosimétrica para ambos os amidos. As constantes  $K$  e  $a$  para o sistema amido/NaOH (0,5M) apresentam valores  $3,64 \times 10^{-5}$  mL/g e 0,85, respectivamente (MARK, 1999). Os valores de massa molar viscosimétrica obtidos foram  $M_v = 1,01 \times 10^8 \text{ g mol}^{-1}$  para o amido de mandioca e  $M_v = 2,52 \times 10^6 \text{ g mol}^{-1}$  para o amido oxidado, indicando que o amido oxidado apresenta massa molar 40 vezes menor que a do amido de mandioca. Isto se deve ao fato de que o processo de oxidação promove a clivagem das cadeias de amido pela quebra das ligações glicosídicas, podendo ocorrer despolimerização do material (AMIDOS... 2013).

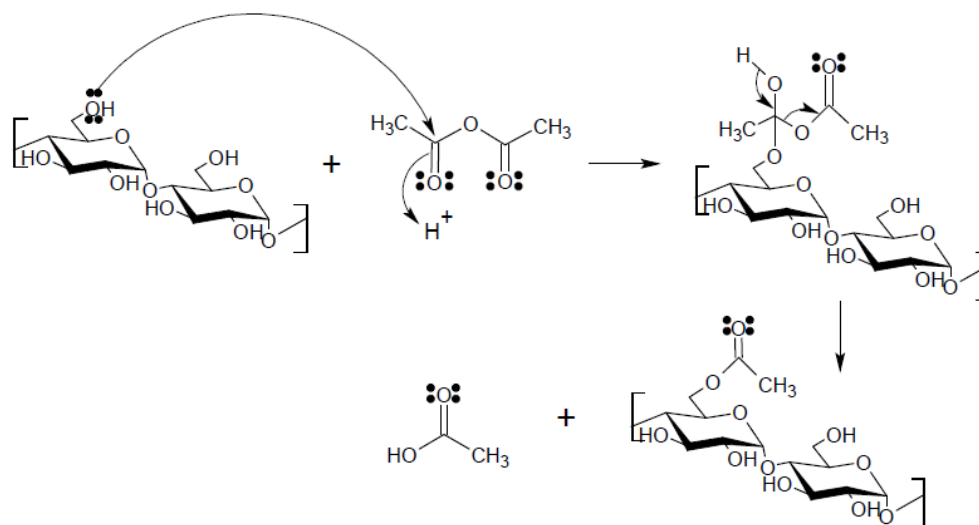
#### 5.1.2 Modificação Química e GS dos Amidos

Os amidos acetilados apresentaram-se como um pó branco, com grânulos menos agregados. Amostras do amido de mandioca nativo e acetilado são apresentadas na Figura 6. A acetilação do amido a partir da reação com anidrido acético ocorre por um mecanismo de adição-eliminação, no qual os grupamentos hidroxila são substituídos por grupamentos acetato (XU; MILADINOV; HANNA, 2004; ABBA *et al.*, 2014). Este mecanismo está representado na Figura 7.

**Figura 6:** Amido de mandioca (a) e amido de mandioca acetilado (b)



**Figura 7:** Mecanismo de acetilação do amido com anidrido acético



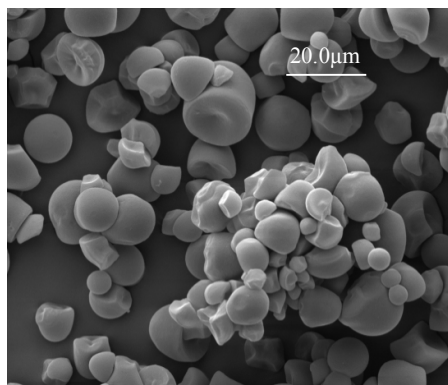
Foi obtido GS de 1,2 tanto para o amido de mandioca quanto para o amido oxidado, indicando que, em média, apenas uma das hidroxilas foi substituída em cada unidade de glicose da estrutura do amido. A biodegradabilidade de amidos acetilados diminui com o aumento do GS, entretanto, Narayan, Bloembergen & Lathia (1999) mostraram que amidos com GS entre 1,2 e 1,7 ainda mantêm sua completa biodegradabilidade

### 5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

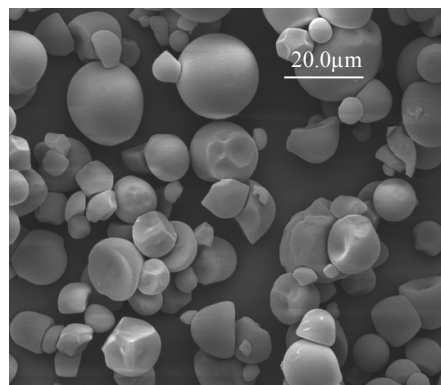
As análises de MEV foram realizadas para verificar a morfologia dos amidos, amidos acetilados e das NPs, buscando observar possíveis modificações após os processos de acetilação e nanoprecipitação. As micrografias do amido de mandioca e do amido oxidado apresentadas nas Figuras 8 (a) e (b), respectivamente, mostram que os amidos apresentam-se na forma de grãos. A morfologia dos amidos acetilados é apresentada nas Figuras 8 (c) e (d), e mostra que o processo de acetilação destrói a estrutura granular do amido (XU; MILADINOV; HANNA, 2004).

A formação das nanopartículas ocorre no momento em que a água é gotejada na solução do polímero. O aumento gradativo da quantidade de água no meio promove a lenta precipitação do amido acetilado, levando à formação uniforme das NPs (TAN *et al.*, 2009; SCHUBERT; DELANEY; SCHUBERT, 2011). A Figura 8 (e, f) mostra que as NPs foram obtidas na forma de esferas, com tamanho aproximado de 550 nm para as NPA (e) e 900 nm para as NPAo (f). O tamanho médio das NPs foi determinado medindo-se aleatoriamente um mínimo de 100 partículas por imagem pelo programa *Size Meter*. A distribuição de tamanho obtida é apresentada na Figura 9. Tan e colaboradores (2009) e Chin, Pang & Tay (2011) produziram NPs esféricas de amido com tamanho médio de 300 nm e 400 nm, respectivamente, utilizando o método de nanoprecipitação. Os autores mostraram em seus estudos que o tamanho das NPs pode ser controlado pela variação das condições de preparo como concentração da solução polimérica, proporção entre as fases aquosa e orgânica e utilização de surfactantes.

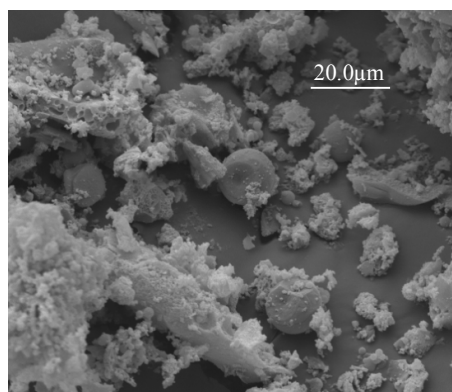
**Figura 8:** MEV do (a) amido de mandioca, (b) amido oxidado, (c) amido de mandioca acetilado, (d) amido oxidado acetilado, (e) nanopartículas de amido de mandioca acetilado e (f) nanopartículas de amido oxidado acetilado.



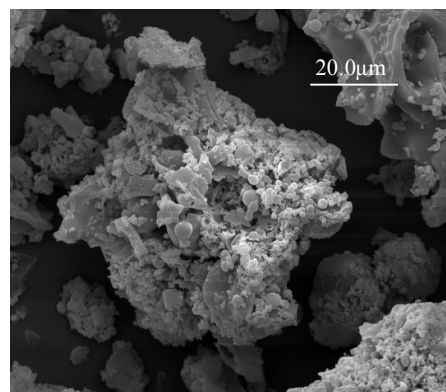
(a)



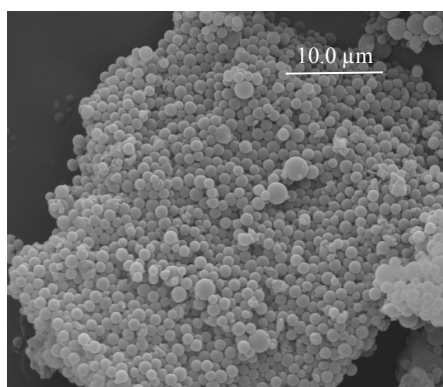
(b)



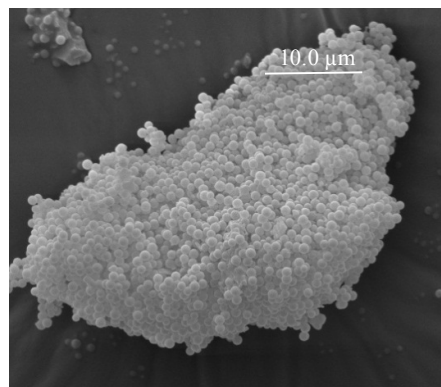
(c)



(d)

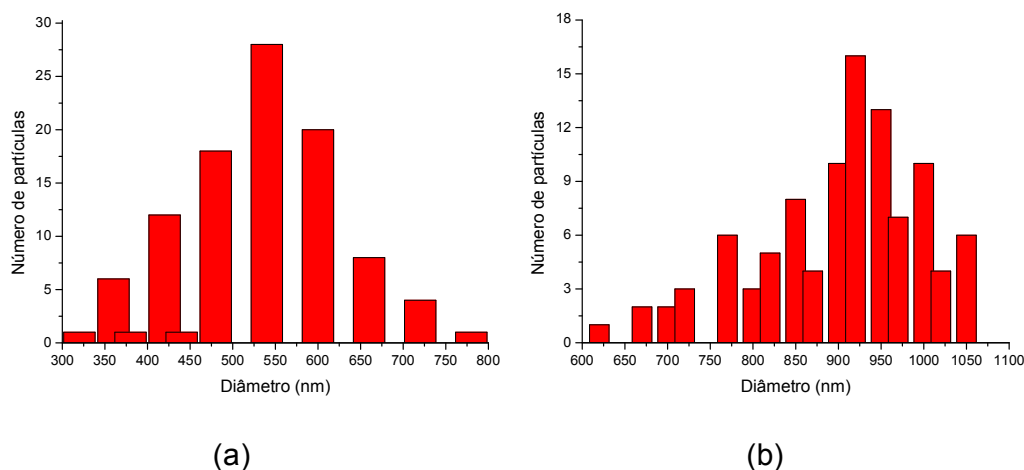


(e)



(f)

**Figura 9:** Distribuição de tamanho para as nanopartículas de amido de mandioca acetilado (a) e de amido oxidado acetilado (b)



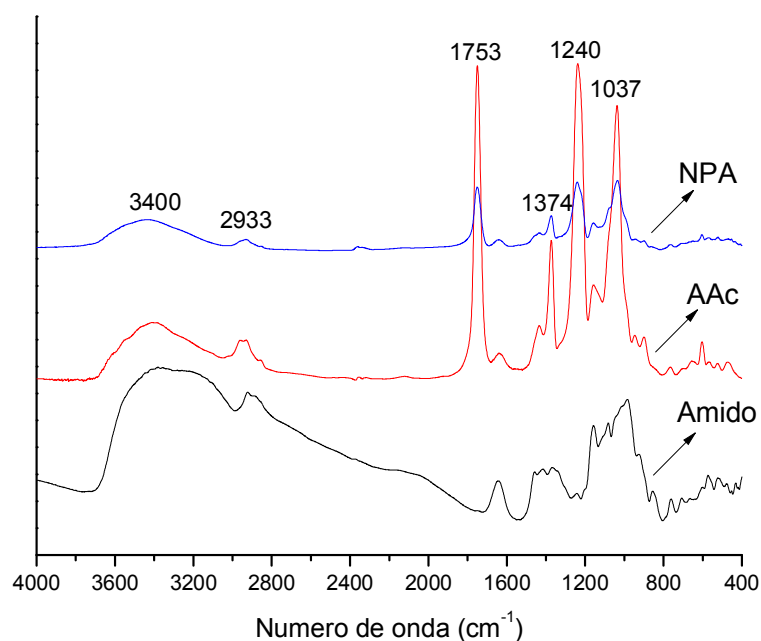
#### 5.1.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR)

A eficiência da acetilação dos amidos foi verificada por FTIR. Os espectros obtidos são apresentados nas Figuras 10 (a) e (b).

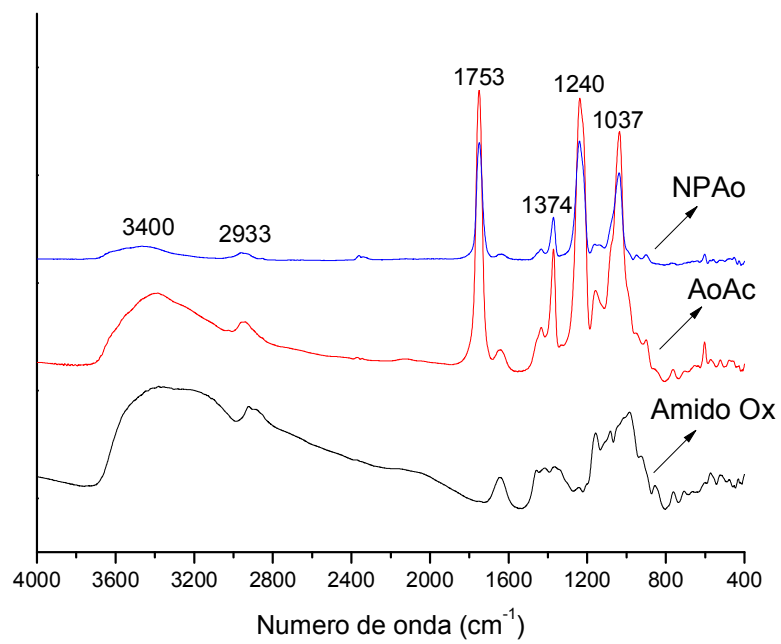
As bandas em  $2933\text{ cm}^{-1}$ ,  $1160\text{ cm}^{-1}$  e  $1037\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramentos assimétricos da ligação dos grupos C-H e C-O de éter e ao estiramento da ligação C-O de álcool, respectivamente, e a banda na região de  $3400\text{ cm}^{-1}$  é referente à deformação axial do grupamento hidroxila (O-H). Estas bandas são características da estrutura dos amidos, estando presentes também nos espectros do AAc e AoAc. Entretanto, pode-se observar um afinamento da banda em  $3400\text{ cm}^{-1}$  nos espectros do AAc e do AoAc quando comparados aos espectros dos amidos puros. Este afinamento pode indicar a substituição dos grupos hidroxila. Nota-se também o aparecimento de bandas em  $1753\text{ cm}^{-1}$  e em  $1240\text{ cm}^{-1}$  nos espectros dos amidos acetilados. Estas bandas não são observadas nos espectros dos amidos puros, sendo atribuídas aos estiramentos das ligações C=O e C-O do grupamento acetil, respectivamente. O aparecimento destas bandas indica que o processo de acetilação dos amidos foi eficiente, ou seja, parte dos grupamentos OH foi substituído por grupamentos acetil ( $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ). Também podem ser observadas bandas em  $1435\text{ cm}^{-1}$  e  $1374\text{ cm}^{-1}$ , referentes a deformações antissimétricas e simétricas, respectivamente, dos grupos  $\text{CH}_3$  do acetil. A banda em  $1640\text{ cm}^{-1}$  presente nos espectros é atribuída ao dobramento angular da molécula de água

(CHI *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2009; BELLO-PÉREZ *et al.* 2010). Os espectros relacionados às NP também são apresentados nas Figuras 10 (a) e (b). Pode-se notar que estes apresentam as mesmas bandas observadas nos espectros dos amidos acetilados, indicando que a estrutura química não é alterada após a formação das NPs.

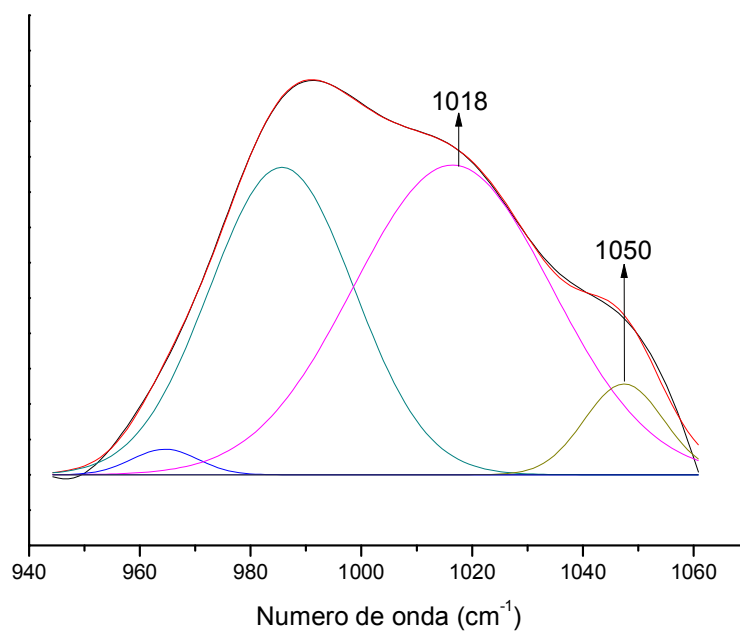
**Figura 10:** Espectro FTIR do (a) amido de mandioca (Amido), amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA), (b) Amido oxidado (Amido Ox), amido oxidado acetilado (AoAc) e nanopartículas de amido oxidado acetilado (NPAo), (c) Deconvolução da região 900-1100 do espectro FTIR do amido de mandioca.



(a)



(b)



(c)

Nota-se nos espectros de FTIR que a banda característica da fração cristalina dos amidos ( $1050\text{ cm}^{-1}$ ) não é observada nos espectros dos acetatos e das NPs, indicando que a cristalinidade do amido é diminuída no processo de acetilação. Entretanto, esta hipótese deve ser confirmada por outros métodos, pois a atribuição destas bandas é difícil devido à sobreposição e à baixa resolução dos espectros (VAN SOEST *et al.*, 1995). A separação e atribuição destas bandas podem ser realizadas por métodos matemáticos (deconvolução), permitindo obter informações sobre as mudanças na estrutura do material. Um exemplo da separação de bandas na região de  $900\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  por deconvolução é apresentado na Figura 10 (c). Para avaliar a possível variação na cristalinidade dos amidos, acetatos e NPs, foi determinada a  $R_c$  a partir da razão entre as áreas das bandas em  $1050\text{ cm}^{-1}$  e  $1013\text{ cm}^{-1}$ , segundo a Equação 7 (página 38). A Tabela 1 mostra os valores de  $R_c$  obtidos.

**Tabela 1:** Valores de  $R_c$  obtidos para o amido de mandioca, amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA), amido oxidado, amido oxidado acetilado (AoAc) e nanopartículas de amido oxidado acetilado (NPAo).

	$R_c / \text{FTIR}$
Amido de mandioca	0,22
AAc	0,14
NPA	0,12
Amido oxidado	0,23
AoAc	0,18
NPAo	0,18

Pelos valores de  $R_c$  obtidos verifica-se que tanto os amidos acetilados como as NPs apresentam menor cristalinidade do que o amido nativo e o amido oxidado. A modificação química do amido, em geral, leva a formação de um material menos cristalino devido à redução das ligações de hidrogênio inter e intramoleculares. Este fato pode ser observado pela diminuição da intensidade da banda em  $3400\text{ cm}^{-1}$ .

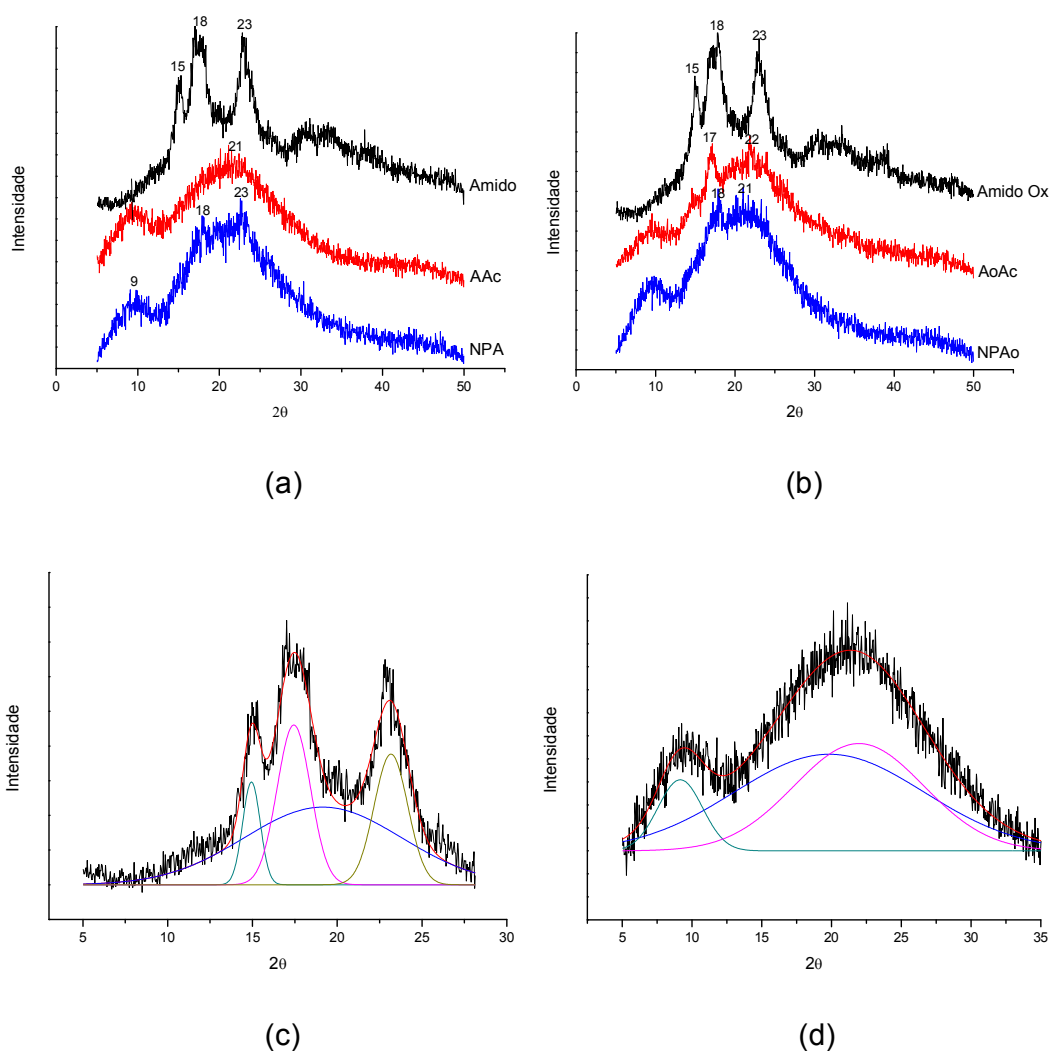
### 5.1.5 Difração de Raios-X de Alto Ângulo (WAXD)

A estrutura cristalina do amido pode ser avaliada por meio de padrões nas difrações de raios-x. As análises de WAXD foram realizadas para verificar se a modificação química e a formação das NPs alteram a cristalinidade do amido. Os difratogramas para os amidos nativo e oxidado, seus respectivos acetatos e NPs são apresentados na Figura 11.

Os amidos podem ser definidos em três tipos: A, B ou C, e esta definição depende do tipo de grânulo e estrutura cristalina que o amido apresenta. Amidos com grânulos do tipo A apresentam cadeias de amilopectina mais curtas e empacotamento mais compacto, enquanto cadeias mais extensas de amilopectina favorecem a formação de grânulos do tipo B, que exibe estrutura mais aberta (AMIDOS..., 2013; ZENG *et al.*, 2011). O amido tipo C é considerado uma mistura dos tipos A e B. Amidos com diferentes tipos de grânulos também apresentam propriedades físicas, químicas e funcionais distintas, podendo ser utilizados em diversas aplicações (ZENG *et al.* 2011).

Como pode ser observado nas Figuras 11 (a) e (b), os amidos estudados apresentaram ângulos de difração em 15°, 17°, 18°, 20° e 23° ( $2\theta$ ), padrão de difração típico de amidos tipo A (CHI *et al.*, 2008; RAMÍREZ *et al.*, 2010; ZENG *et al.*, 2011). Os acetatos de amido apresentam picos próximos a 9° e 21° ( $2\theta$ ). Este padrão de difração dos acetatos mostra que com o processo de acetilação a estrutura cristalina dos amidos foi destruída. Isto pode ser comprovado pelo cálculo do Índice de Cristalinidade ( $I_c$ ) a partir da deconvolução dos picos dos difratogramas e da Equação 8 (página 39). Exemplos de deconvolução são apresentados nas Figuras 12 (c) e (d).

**Figura 11:** WAXD para (a) amido de mandioca (Amido), amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartícula de amido de mandioca acetilado (NPA) e (b) amido oxidado (Amido Ox), amido oxidado acetilado (AoAc) e nanopartícula de amido oxidado acetilado (NPAo). Deconvolução dos difratogramas do (c) amido de mandioca e (d) amido de mandioca acetilado.



O cálculo realizado mostrou valores de  $l_c = 0,53$  para o amido de mandioca e  $0,63$  para o amido oxidado, valores superiores a seus respectivos acetatos, que apresentaram valor de  $l_c = 0,48$ , resultados condizentes com os difratogramas obtidos. Após a formação das NPs são observados tanto padrões de difração típicos dos amidos quanto dos acetatos nos difratogramas, entretanto, a cristalinidade não é restaurada. O  $l_c$  obtido para as NPs foi de  $0,43$ , indicando que o processo de nanoprecipitação promove a diminuição da cristalinidade do material e

as NPs apresentam menores valores de cristalinidade.

A estabilização da estrutura cristalina do amido é devido a interações de hidrogênio inter e intramoleculares. Quando os grupamentos hidroxila vão sendo substituídos por meio da reação de acetilação, a possibilidade de formação destas interações diminui, formando uma estrutura menos cristalina. (XU; MILADINOV; HANNA, 2004; CHI *et al.*, 2008). Esta situação é coerente com os resultados de  $I_c$  e  $R_c$  obtidos por WAXD e FTIR, respectivamente. Conhecer a cristalinidade das NPs é importante para avaliar sua utilização como carregador de outras substâncias, pois a incorporação ocorre preferencialmente na região amorfa do material (EL-FEKY *et al.*, 2015; TEODORO *et al.*, 2015).

### 5.1.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

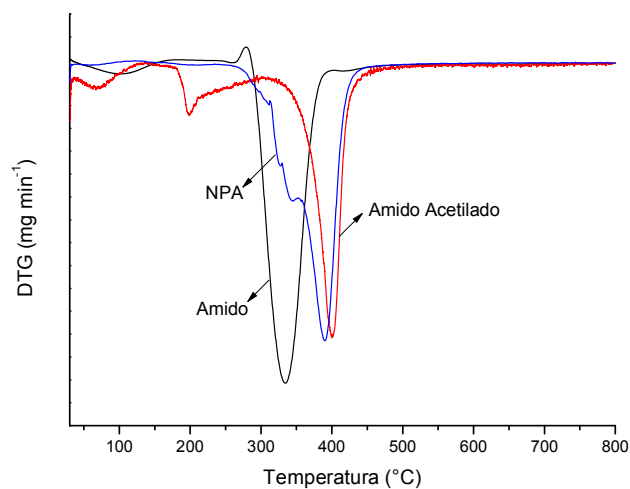
A estabilidade térmica dos amidos, acetatos e NPs foi verificada por TGA. Neste tipo de análises, duas temperaturas podem ser consideradas importantes: *Tonset* e *Tmáx*. A *Tonset* indica a menor temperatura em que se pode detectar uma variação de massa na amostra, enquanto a *Tmáx* indica a temperatura em que a velocidade de decomposição é máxima, também conhecida como taxa máxima de conversão. Estas temperaturas são obtidas a partir dos gráficos de TGA e DTG. Os valores de *Tonset* e *Tmáx* dos amidos, acetatos e NPs são apresentados na Tabela 2, e os gráficos de TGA e DTG destes materiais são apresentados na Figura 12.

A perda inicial de massa observada por volta de 100°C em todas as curvas é atribuída à perda de umidade do material. Pode-se observar na Tabela 2 que os acetatos apresentam menores valores de *Tonset* que os amidos puros. Isto mostra que a substituição parcial das hidroxilas diminui a estabilidade térmica dos amidos. (ELOMAA, *et al.*, 2004; XIE *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2009). As NP, por sua vez, apresentam maiores valores de *Tonset* e, conseqüentemente, maior estabilidade térmica. Isto indica que ocorre uma reorganização das moléculas de amido acetilado durante o processo de nanoprecipitação, promovendo novas interações inter e intramoleculares que contribuem para a estabilidade térmica do material.

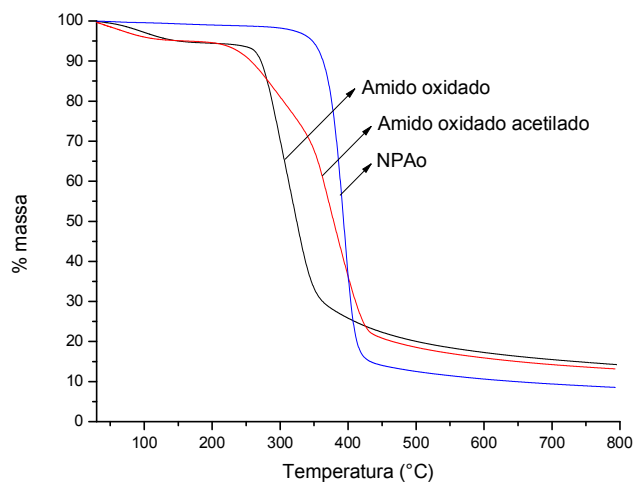
**Figura 12:** Curvas TGA (a) e DTG (b) do amido de mandioca, amido de mandioca acetilado, nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA). Curvas TGA (c) e DTG (d) amido oxidado, amido oxidado acetilado e nanopartículas de amido oxidado acetilado (NPAo).



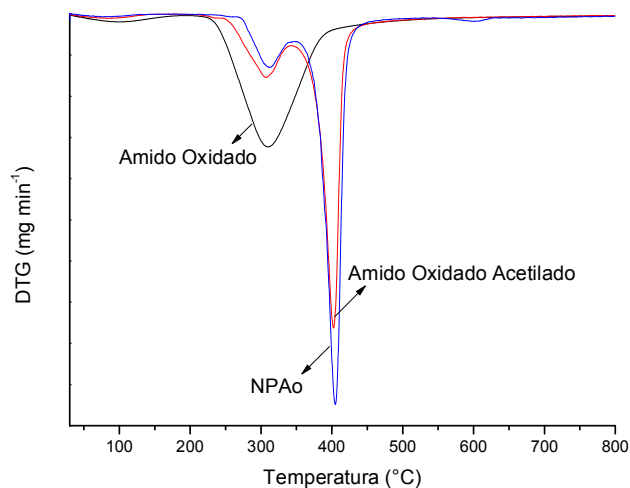
(a)



(b)



(c)



(d)

**Tabela 2:** Temperaturas de degradação para os amidos, acetato de amido de mandioca (AAc), acetato de amido oxidado (AoAc) e NPs de amido de mandioca acetilado e de amido oxidado acetilado (NPA e NPAo).

	<b>Tonset /°C</b>	<b>Tmáx /°C</b>
Amido de mandioca	310,9	327,9
AAc	185,1	400,5
NPA	312,7	389,5
Amido oxidado	269,8	309,4
AoAc	226,4	373,4
NPAo	363,8	393,9

O mecanismo de degradação do amido é resultante de desidratação por meio de reações inter e intramoleculares das moléculas de amido. Dessa forma, quanto menor o número de grupos hidroxila remanescentes, maior será a estabilidade térmica de amidos acetilados (XU; MILADINOV; HANNA, 2004; RUDNIK *et al.*, 2006). Zhang e colaboradores (2009) mostraram em seu estudo que amidos parcialmente substituídos apresentam menor estabilidade térmica que amidos nativos, e que a estabilidade aumenta para acetatos de amido com GS mais elevados.

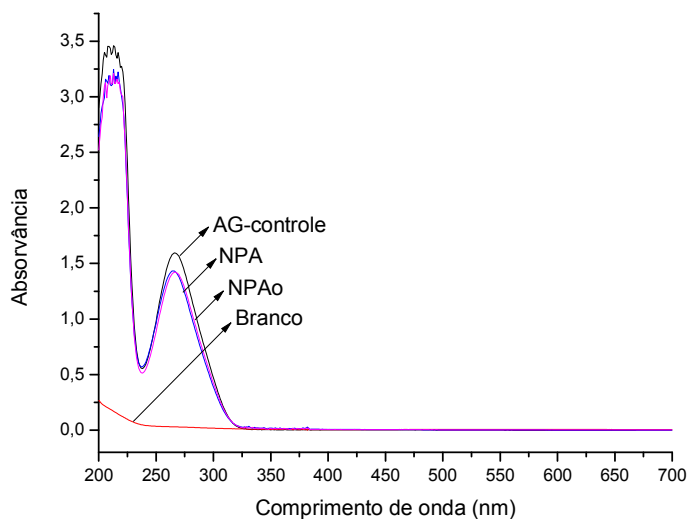
## **5.2 QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES INCORPORADOS ÀS NANOPARTÍCULAS**

### **5.2.1 Espectroscopia na Região do UV e Visível (UV-Vis)**

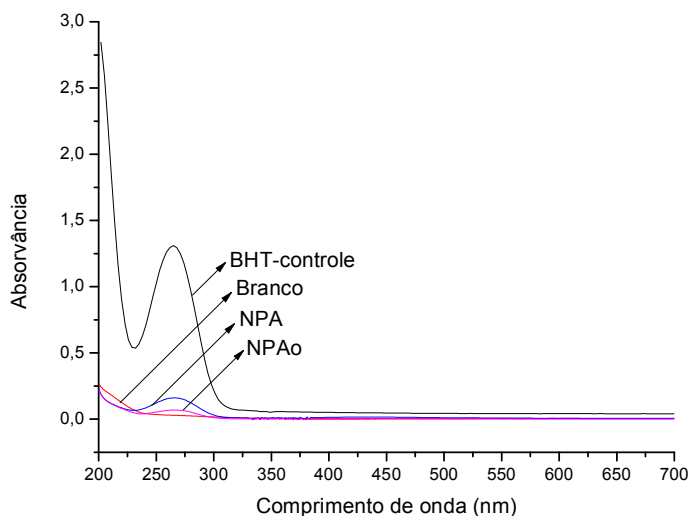
Análises de UV-Vis foram realizadas para a quantificação dos AOs incorporados às NPs. Os espectros apresentados na Figura 13 mostram as curvas para as soluções referência dos AOs (AG–controle e BHT–controle) e para o sobrenadante das NP puras (branco) e após incorporação com AG e BHT. Os picos referentes aos antioxidantes podem ser observados em torno de 265 nm.

A Figura 13 (a) apresenta os espectros UV-Vis das soluções utilizadas para quantificação da incorporação do AG às NPA e NPAo. Pode-se notar que houve uma pequena variação na intensidade dos picos em 265 nm das soluções referentes à incorporação do AG às NPs quando comparados ao pico da solução controle. Esta variação indica que parte do AO foi incorporado às NPs. Através de uma curva analítica, foi verificada incorporação em torno de 10% da quantidade inicial de AG tanto para as NPA quanto para as NPAo. No caso do BHT, observa-se uma maior diminuição na absorvância dos picos em 265 nm das soluções referentes à incorporação do AO às NPs quando comparados ao pico da solução controle (Figura 13 b). Isto significa que uma maior quantidade de AO foi incorporada às NPs. Pela curva analítica, foi verificada incorporação em torno de 88% às NPA e 95% para as NPAo. A maior incorporação do BHT leva a crer que os grupamentos  $\text{CH}_3$  do acetil estão mais disponíveis que os grupamentos OH na estrutura das NPs, facilitando a interação com o BHT.

**Figura 13:** Espectros UV-Vis do sobrenadante da solução de nanopartículas puras (branco), das soluções controle e das soluções utilizadas para quantificação dos antioxidantes AG (a) e BHT (b) incorporados às nanopartículas de amido de mandioca acetilado (NPA) e de amido oxidado acetilado (NPAo).



(a)



(b)

A diferença de polaridade entre os materiais também exerce influência na incorporação dos antioxidantes. O caráter polar do amido de mandioca e do amido oxidado se deve à presença de vários grupamentos hidroxila em sua estrutura. Este caráter polar pode ser diminuído pela acetilação devido à substituição

dos grupamentos hidroxilas por grupos acetil que ocorre neste processo. Sendo assim, a interação das cadeias de amido acetilado com o BHT seria facilitada em relação à interação com o AG, devido ao fato de que a molécula de BHT apresenta menor polaridade que a molécula de AG.

### **5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS INCORPORADAS COM ANTIOXIDANTE**

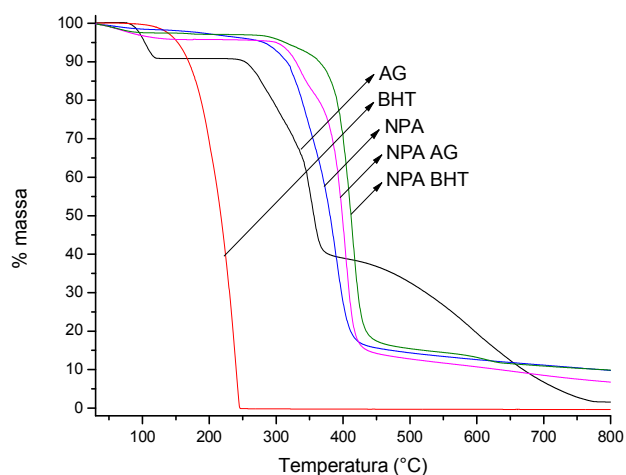
#### **5.3.1 Análise Termogravimétrica (TGA)**

A análise de TGA foi realizada para verificar se a presença de AOs promove alteração na estabilidade térmica das NPs. Os valores de *Tonset*, e *Tmáx* dos AOs, das NPs puras e incorporadas com AO são apresentados na Tabela 3, e os termogramas obtidos são apresentados na Figura 14.

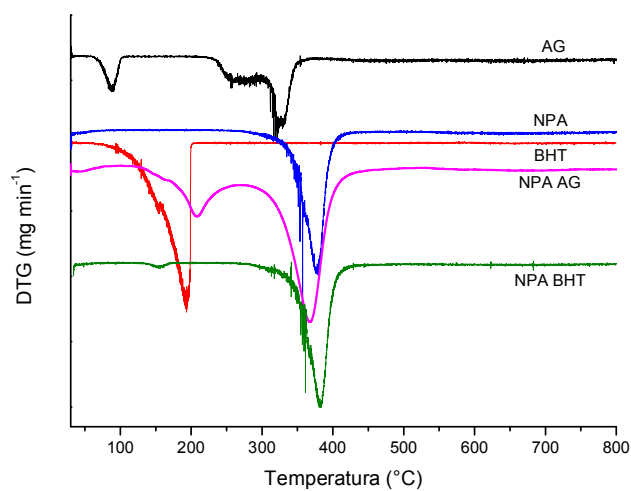
É possível notar que a presença do BHT promoveu um aumento na *Tonset* das NPs enquanto a presença do AG diminuiu sua estabilidade térmica. Com relação à *Tmáx*, observa-se que houve um aumento em seu valor após a incorporação tanto do BHT quanto do AG.

Através da análise dos intervalos de temperatura do processo de degradação é possível obter informações sobre a estabilidade térmica dos materiais. Na decomposição do BHT puro, observa-se um único evento, com degradação máxima a 240°C. Após 270°C, o BHT já foi completamente decomposto. As NPs puras iniciam seu processo de degradação a 310 e 364°C (NPA e NPAo, respectivamente), enquanto as NPA BHT e NPAo BHT têm sua degradação iniciada por volta de 380 e 371°C, respectivamente. Este fato mostra que a incorporação, além de aumentar a estabilidade térmica da matriz, também protege o BHT da degradação.

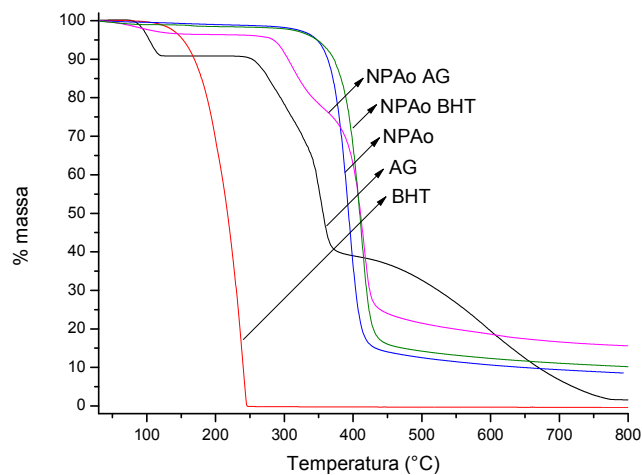
**Figura 14:** Curvas TGA (a) e DTG (b) dos antioxidantes ácido gálico (AG), butilhidroxitolueno (BHT) e das nanopartículas de amido de mandioca acetilado puras (NPA) e incorporadas com ácido gálico (NPA AG) e com BHT (NPA BHT). Curvas TGA (c) e DTG (d) dos antioxidantes AG, BHT e das nanopartículas de amido oxidado acetilado puras (NPAo) e incorporadas com ácido gálico (NPAo AG) e com BHT (NPAo BHT).



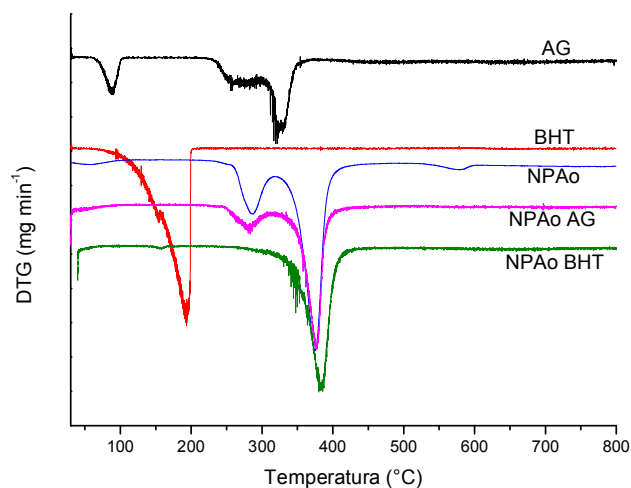
(a)



(b)



(c)



(d)

Para o AG, foram detectados três eventos de degradação (aproximadamente a 84, 225 e 320°C). A perda de massa a 84°C está relacionada à perda de umidade do material. De acordo com Garro-Galvez, Fechtal & Riedl (1996) em 225°C ocorre a decarboxilação do AG e formação do pirogalol e a perda dos grupamentos hidroxila se dá em 322°C. As NPs puras degradam no intervalo de temperatura de 310°C a 460°C, enquanto a degradação do AG ocorre entre 220°C e 410°C. As NPs incorporadas com AG apresentam eventos de degradação entre

240°C e 470°C. Sendo assim, a incorporação do AG também contribui para a estabilidade da matriz polimérica, mas com menor intensidade que o BHT.

**Tabela 3:** Temperaturas de degradação dos antioxidantes ácido gálico (AG) e butilhidroxitolueno (BHT) e das NPs de amido de mandioca acetilado e de amido oxidado acetilado puras (NPA e NPAo) e incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e com BHT (NPA BHT e NPAo BHT).

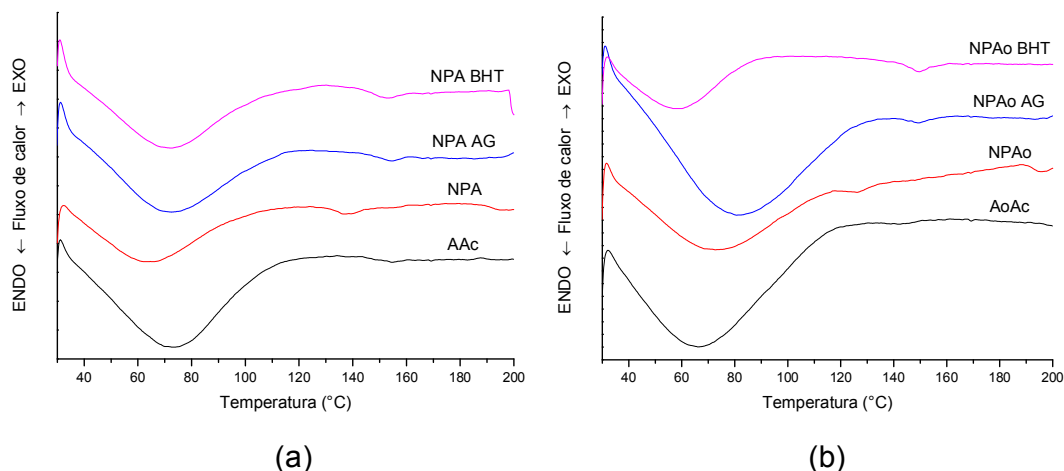
	<b>Tonset /°C</b>	<b>Tmáx /°C</b>
AG	84,1	350,5
BHT	169,4	239,7
NPA	312,7	389,5
NPA-AG	309,5	404,6
NPA-BHT	381,2	413,2
NPAo	363,8	393,9
NPAo-AG	286,5	416,3
NPAo-BHT	371,42	413,0

O aumento na  $T_{máx}$  dos materiais é característico de sistemas onde ocorre interação sinérgica entre os componentes. Buscando obter maiores informações acerca da estabilidade térmica e da interação entre as NPs e os AOs, foram realizados cálculos de energia de ativação para os materiais utilizando métodos de integração propostos por Flynn, Wall & Ozawa e Horowitz & Metzger, que serão apresentados posteriormente (HOROWITZ; METZGER, 1963; FLYNN; WALL, 1966 ; OZAWA, 1992).

### 5.3.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é definida como o valor médio de uma faixa de temperatura na qual as cadeias da fase amorfa de um polímero adquirem mobilidade, passando de um estado rígido (estado vítreo) para um estado “borrachoso”. Qualquer fator que promova uma alteração nas forças intermoleculares das cadeias resulta em uma variação na  $T_g$  (CANEVAROLO JR, 2006; ZHU, 2015). A análise de DSC foi realizada para verificar se a presença dos AOs promove alteração na  $T_g$  das NPs, ou seja, se ocorre algum tipo de interação entre estes materiais. A Figura 15 apresenta as curvas DSC e os valores de  $T_g$  obtidos para as NPs puras e incorporadas com AO.

**Figura 15:** (a) Curvas DSC para o amido de mandioca acetilado (AAc) e para as nanopartículas de amido de mandioca acetilado puras (NPA) e incorporadas com ácido gálico (NPA AG) e com BHT (NPA BHT). (b) Curvas DSC para o amido oxidado acetilado (AoAc) e para as nanopartículas de amido oxidado acetilado puras (NPAo) e incorporadas com ácido gálico (NPAo AG) e com BHT (NPAo BHT).



**Tabela 4:** Valores de temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) obtidos para os amidos acetilados (AAc e AoAc), nanopartículas puras (NPA e NPAo) e incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e BHT (NPA BHT e NPAo BHT).

	$T_g / ^\circ\text{C}$
AAc	154,7
NPA	138,3
NPA AG	154,5
NPA BHT	153,2
AoAc	142,4
NPAo	125,7
NPAo AG	149,4
NPAo BHT	149,7

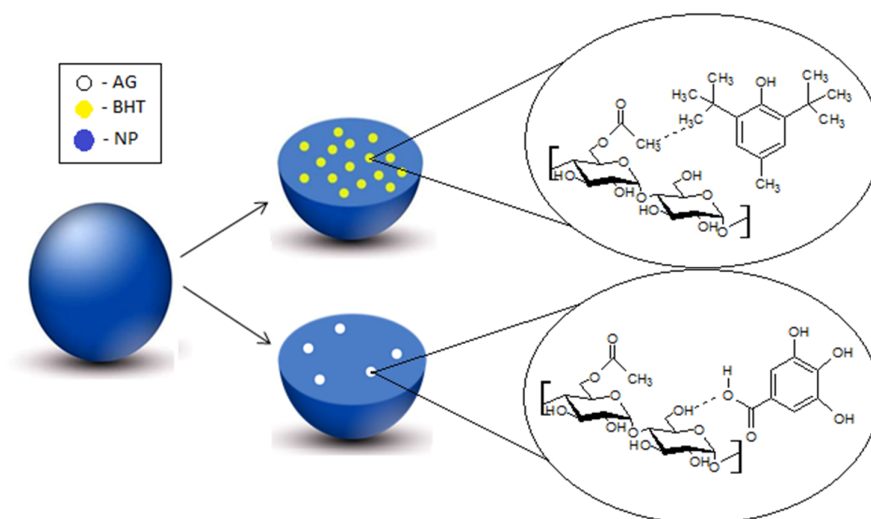
Na literatura podem ser encontrados valores de  $T_g$  entre  $120^\circ\text{C}$  e  $170^\circ\text{C}$  para acetatos de amido. Esta variação se deve aos diferentes GS e às diferentes fontes das quais os amidos são obtidos. Amidos provenientes de fontes distintas variam em teores de amilose (fração amorfa da cadeia) e amilopectina (fração cristalina) e em tamanho da cadeia, assumindo valores distintos de  $T_g$ . Os valores de  $T_g$  obtidos neste trabalho são próximos aos encontrados por Guan &

Hanna (2006), que obtiveram Tg de 158,3°C para acetato de amido com GS intermediário.

Pode-se observar que após a formação das NPs o valor de Tg diminui tanto para o amido de mandioca acetilado quanto para o amido oxidado acetilado. Esta diminuição indica maior mobilidade das cadeias, resultado coerente àqueles obtidos pelas análises de FTIR e WAXD, que mostraram que as NPs possuem menor cristalinidade e, conseqüentemente, maior quantidade de material amorfo que seus respectivos acetatos. Entretanto, quando a formação das NPs ocorre na presença dos AOs nota-se um aumento nos valores de Tg, indicando que a mobilidade das cadeias foi restringida. Este fato comprova que ocorre interação entre os AOs e as NPs, ou seja, que os AOs são incorporados no volume do material. Para o BHT, que apresenta características hidrofóbicas (Figura 6), a grande quantidade de material incorporado (90%) é suficiente para que as interações entre os grupos CH<sub>3</sub> do acetil e os grupos CH<sub>3</sub> do antioxidante sejam capazes de restringir os movimentos moleculares. No caso do AG, apesar de a quantidade incorporada às NPs ter sido menor, as interações de hidrogênio que ocorrem entre os grupos OH do antioxidante e os grupos OH do amido parcialmente modificado (GS=1,2) são mais fortes e mesmo em pequena quantidade colaboram para restringir a mobilidade das moléculas, aumentando o valor da Tg.

Após a avaliação destes resultados, foi proposta uma representação de como ocorre a incorporação dos antioxidantes às nanopartículas. Esta representação é apresentada na Figura 16, que mostra os antioxidantes incorporados ao volume das nanopartículas e os tipos de interação que ocorrem entre estes materiais.

**Figura 16:** Representação da incorporação dos antioxidantes ao volume da nanopartícula esférica e das interações entre as espécies.



### 5.3.3 Cinética de Decomposição Térmica

A cinética de decomposição térmica foi avaliada utilizando-se o método não isotérmico de análise, a partir das aproximações para a Equação de Arrhenius (Equação 15) propostas por Flynn, Wall & Ozawa (Equação 16) e por Horowitz & Metzger (Equação 17).

Flynn-Wall e Ozawa forneceram uma aproximação para a Equação, a partir da qual tem-se a chamada Equação de Flynn-Wall-Ozawa, representada na Equação 16 (FLYNN & WALL, 1966; OZAWA, 1992):

$$\log \beta = \log \left( \frac{AR}{Ea} \right) - \log g(\alpha) - 2,315 - 0,4567 \left( \frac{Ea}{RT} \right) \quad \text{Equação 16}$$

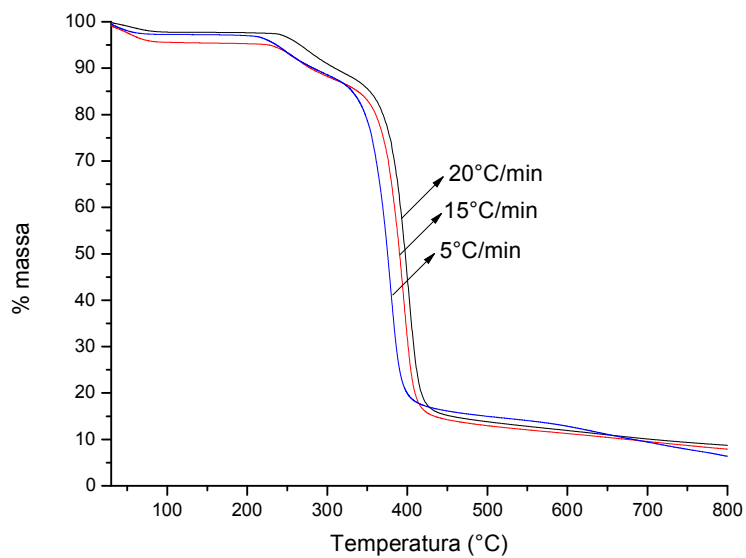
Para o cálculo da  $Ea$  por este método, não é necessário conhecer a função matemática  $[g(\alpha)]$  que descreve o mecanismo da reação. O termo  $\log(AR/Ea) - \log g(\alpha) - 2,315$  é tido como uma constante que pode ser obtida através do coeficiente linear dos gráficos de Arrhenius ( $\log$  da razão de aquecimento vs  $1/T$ ), e a  $Ea$  pode ser diretamente calculada pela relação com o coeficiente angular a partir do termo  $-0,4567(Ea/RT)$  (TAGHIZADEH; ABDOLLAHI, 2015).

Buscando verificar a compatibilidade entre as nanopartículas e os antioxidantes incorporados, parâmetros cinéticos foram calculados a partir de medidas termogravimétricas obtidas com taxa de aquecimento constante de 5, 10, 15 e 20°C/min, e a  $E_a$  foi calculada para conversões de 40 a 65% ( $\alpha$ ). A Figura 17 mostra um exemplo da aplicação do método Flynn-Wall-Ozawa para o amido de mandioca. Os gráficos obtidos para os demais materiais podem ser observados nos Apêndices C e D.

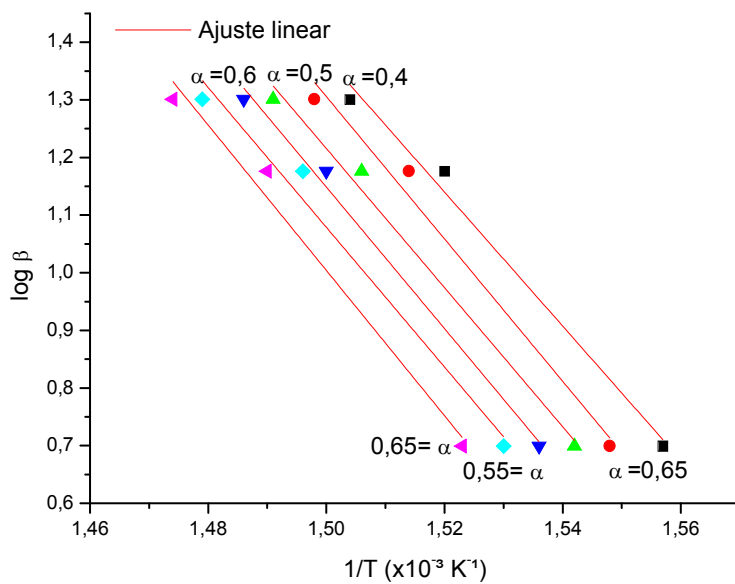
A dependência da  $E_a$  com o grau de conversão para os amidos, acetatos, NPs puras e NPs incorporadas com AO é mostrada na Figura 18. Dentre as NPs incorporadas com AO, pode-se observar que as NPs incorporadas com BHT apresentam  $E_a$  mais elevada do que aquelas incorporadas com AG, indicando que a interação entre o BHT e as cadeias de amido das NPs são mais fortes do que entre o amido e o AG. Isto se deve ao fato de a quantidade de BHT incorporada ter sido maior que para o AG, como foi verificado nas análises de UV-Vis (Figura 13). Entretanto, as NPs puras apresentaram  $E_a$  superior à das NPs incorporadas com AG e com BHT, resultado discrepante daqueles obtidos pelas análises de TGA. Os valores de  $E_a$  obtidos pelo método Flynn-Wall-Ozawa podem ser observados na Tabela 5.

O método de Flynn-Wall-Ozawa é limitado para decomposições de estágios simples e parte do pressuposto de que a reação é de primeira ordem, ou seja, que o mecanismo de degradação é o mesmo, independente da temperatura em que ocorra (FLYNN; WALL, 1966; PUCHALSKA; MUCHA, 2011). Pelos resultados obtidos, pode-se verificar a limitação do modelo para a degradação dos materiais obtidos neste trabalho, já que estes apresentam mais de um evento de degradação. A dificuldade em se notar a separação entre os eventos pode ser devido à taxa de aquecimento utilizada na análise, uma vez que taxas de aquecimento mais elevadas levam à maior sobreposição dos processos de perda de massa.

**Figura 17:** Exemplo da aplicação do método de Flynn-Wall-Ozawa para o amido de mandioca acetilado. (a) Curvas TGA obtidas a 5, 15 e 20°C e (b) gráfico de Arrhenius.

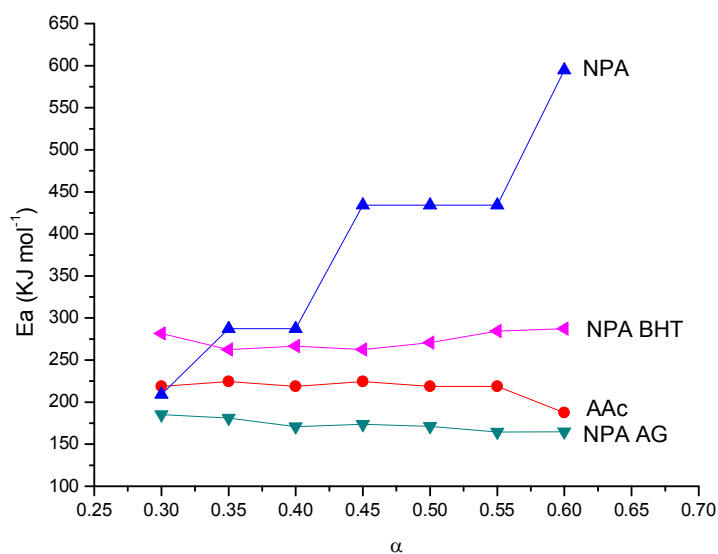


(a)

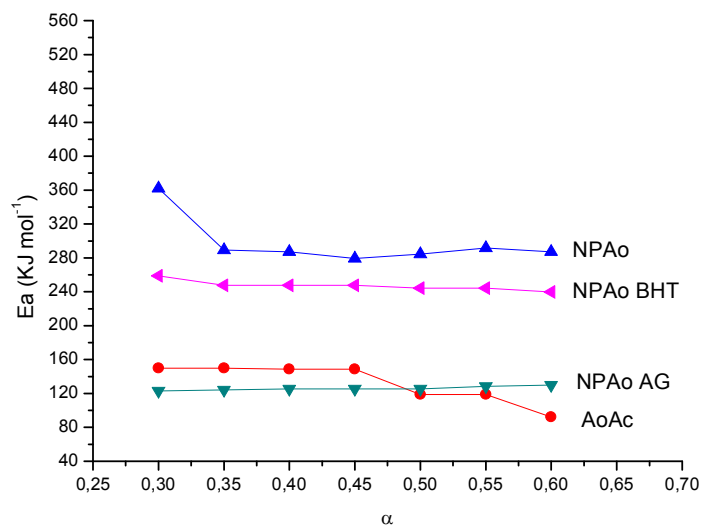


(b)

**Figura 18:** Dependência da energia de ativação com o grau de conversão para (a) amido de mandioca acetilado (AAc), nanopartículas de amido de mandioca acetilado puras (NPA) e incorporadas com AG (NPA AG) e BHT (NPA BHT) e (b) amido oxidado acetilado (AoAc), nanopartículas de amido oxidado acetilado puras (NPAo) e incorporadas com AG (NPAo AG) e BHT (NPAo BHT).



(a)



(b)

**Tabela 5:** Valores de energia de ativação para os antioxidantes (AG e BHT), acetatos de amido (AAc e AoAc), nanopartículas puras (NPA e NPAo) e nanopartículas incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e BHT (NPA BHT e NPAo BHT) obtidos pelo método Flynn-Wall-Ozawa a 5, 10, 15 e 20°C/min.

	<b>Tonset /°C</b>	<b>Tmáx /°C</b>	<b>Ea (KJ/mol)</b>
AG	84,1	350,5	214,8
BHT	169,4	239,7	60,0
AAc	185,1	400,5	221,7
NPA	312,7	389,5	412,0
NPA AG	309,5	404,6	171,7
NPA BHT	381,2	413,2	280,3
AoAc	226,4	373,4	129,5
NPAo	363,8	393,9	289,7
NPAo AG	286,5	416,3	126,7
NPAo BHT	371,4	413,0	245,2

Buscando melhor correlação com os dados de *Tonset* e *Tmáx* obtidos pelas análises de TGA, foi realizado o cálculo dos parâmetros cinéticos pelo método de Horowitz & Metzger. Neste método, o modelo que descreve a reação de decomposição é descrito por função integral da equação base para o cálculo de parâmetros cinéticos (Equação 13). A integração e aproximação propostas por Horowitz & Metzger são descritas pelas Equações 17 e 18 (HOROWITZ; METZGER, 1963; PUCHALSKA; MUCHA, 2011):

$$\ln \frac{W}{W_0} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^{T_f} \exp\left(\frac{-Ea}{RT}\right) dT \quad \text{Equação 17}$$

Sendo:

W = massa da amostra a uma certa temperatura

W<sub>0</sub> = massa inicial da amostra

$$\ln[\ln(1 - \alpha)^{-1}] = \frac{Ea\theta}{RT_{máx}^2} \quad \text{Equação 18}$$

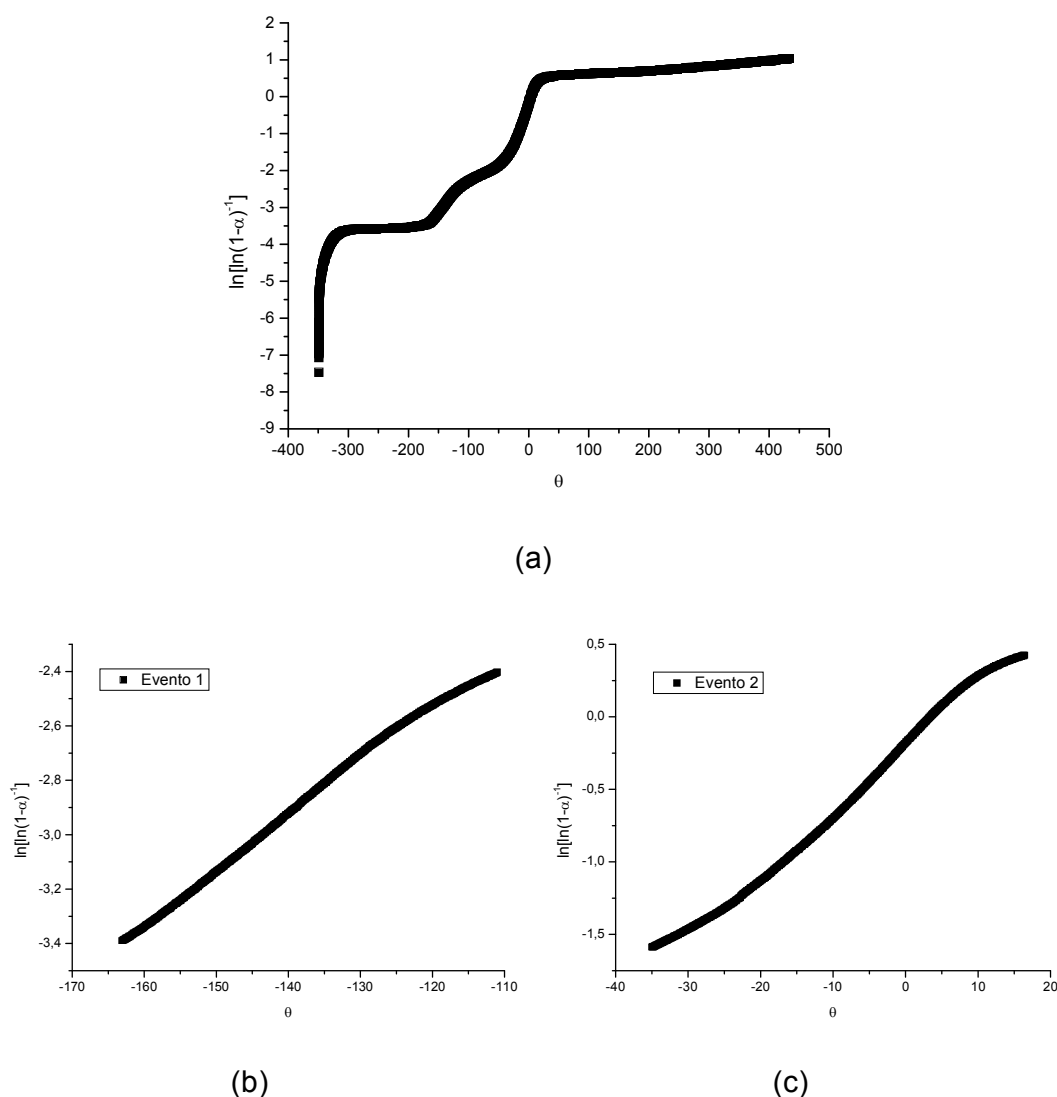
Sendo:

$\alpha$  = grau de decomposição do material

$\theta = T - T_{máx}$

Para esta análise, as curvas TGA dos materiais foram obtidas a uma única taxa de aquecimento ( $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ). Através de gráficos de Arrhenius ( $\ln[\ln(1 - \alpha)^{-1}]$  versus  $\theta$ ) para as curvas TGA, pode-se determinar a Energia de ativação pelo coeficiente angular da reta obtida para cada evento de degradação (HOROWITZ; METZGER, 1963). Um exemplo do gráfico para este método pode ser observado na Figura 19.

**Figura 19:** Exemplo da aplicação do método de Horowitz e Metzger para o amido de mandioca acetilado. (a) Gráfico de Arrhenius e (b, c) retas correspondentes a cada evento de degradação obtidos a partir de curvas TGA com taxa de aquecimento  $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .



É possível observar que a aplicação do método de Horowitz & Metzger levou a uma melhor separação dos eventos de degradação (Apêndice E). A  $E_a$  foi avaliada analisando-se o segundo evento, por ser este o evento principal de degradação. Os valores de  $E_a$  obtidos para cada evento são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Valores de energia de ativação obtidos para os eventos de degradação a 5°C/min dos antioxidantes puros (AG e BHT), amidos acetilados (AAc e AoAc), nanopartículas puras (NPA e NPAo) e incorporadas com AG (NPA AG e NPAo AG) e BHT (NPA BHT e NPAo BHT).

	<b>Tonset (°C)</b>	<b>Tmáx (°C)</b>	<b>Ea (KJ/mol)</b>
AG		326,5	84,9
BHT		192,7	81,9
AAc	217,7	378,8	152,6
NPA	344,5	377,7	189,8
NPA AG	346,4	377,5	195,7
NPA BHT	346,6	378,7	207,4
AoAc	248,6	376,7	147,8
NPAo	269,7	378,8	157,9
NPAo AG	257,9	377,0	155,0
NPAo BHT	335,6	373,9	166,7

Os valores de  $E_a$  obtidos apresentaram o mesmo comportamento para os dois tipos de NP estudados. Acetatos de amido apresentaram  $E_a$  inferior às das NPs puras, situação coerente com o que foi obtido pelas análises de TGA. Após a incorporação dos AOs, nota-se um aumento na  $E_a$  das NPs. A maior  $E_a$  adquirida para as NPs incorporadas com BHT em comparação com as NPs puras e incorporadas com AG confirma a maior afinidade entre as cadeias de amido acetilado e o BHT. Estes resultados se devem às interações intermoleculares entre as moléculas de AO e os amidos acetilados (Figura 16). Estas interações tornam as cadeias de amido mais rígidas, conseqüentemente, maior energia de ativação é encontrada para as NPs incorporadas com AO em relação às NPs puras devido à restrição do movimento das cadeias de amido acetilado nas NPs (Tabela 4).

Os valores de  $E_a$  encontrados para os materiais pelo método de Horowitz e Metzger é coerente com os resultados de estabilidade térmica e transição vítrea obtidos pelas análises de TGA e DSC, respectivamente.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Através das análises de FTIR foi possível verificar que o processo de acetilação foi efetivo para ambos os amidos.

Nanopartículas baseadas em amido de mandioca acetilado e amido oxidado acetilado foram obtidas pelo processo de nanoprecipitação e apresentaram forma esférica com tamanho médio entre 550 nm e 900 nm, respectivamente.

Valores de cristalinidade relativa ( $R_c$ ) e índice de cristalinidade ( $I_c$ ) obtidos por meio das análises de FTIR e WAXD mostraram que os amidos acetilados e as NPs apresentam menor cristalinidade que os amidos puros.

A maior quantidade de BHT incorporada às NPs (90%) comparada à quantidade de AG incorporada (10%) indica que os grupamentos acetil ( $\text{CH}_3$ ) estão mais disponíveis que os grupamentos hidroxila (OH) na estrutura das NPs. A polaridade dos amidos diminui após o processo de acetilação, facilitando, também, a incorporação do BHT, por este ser um antioxidante menos polar que o ácido gálico.

Análises térmicas (TGA e DTG) revelaram que os amidos puros apresentam maior estabilidade térmica que os acetatos. A estabilidade térmica do material é aumentada após a formação das NPs. O estudo revelou, também, que a incorporação dos antioxidantes AG e BHT promove um aumento na estabilidade térmica e na temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) das NPs. Isto se deve a interações intermoleculares que ocorrem entre os AOs e as cadeias de amido acetilado das NPs, restringindo a mobilidade molecular do material.

A análise de parâmetros cinéticos dos materiais obtidos mostraram que a incorporação dos AOs promove um aumento na  $E_a$  das NPs de amido acetilado. Isto comprova a ocorrência de interação entre os materiais e indica, também, que a presença dos AOs protege as NPs do processo de degradação.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Verificar a interferência de parâmetros como tipo e razão entre solvente e não-solvente e velocidade de agitação no tamanho das NPs.

Incorporar maiores quantidades de antioxidante às nanopartículas e avaliar a cinética de liberação dos antioxidantes.

Aplicar as NPs incorporadas em materiais como filmes e bandejas.  
Estudar as propriedades mecânicas e o efeito do antioxidante.

## REFERÊNCIAS

ABAM. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA (ABAM). Disponível em: [www.abam.com.br](http://www.abam.com.br)

ABBA, H.; IBRAHIM, A.; SHALLANGWA, G. A.; UBA, S.; DALLATU, Y. A. Effect of acetylation on stability to retrogradation of starch extracted from wild Polynesian arrowroot (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) for utilization as adhesive on paper. **Journal of Polymers**, 2014, ID 732174.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução CNNPA nº 12, de 24 de Julho de 1978. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12\\_78\\_amidos.htm](http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78_amidos.htm)

AKPA, J. G.; DAGDE, K. K. Modification of cassava starch for industrial uses. **International Journal of Engineering and Technology**, 2, 913, 2012.

ALCÁZAR-ALAY, S. C.; MEIRELES, M. A. M. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology**, 35, 215, 2015.

ALI, A.; WANI, T. A.; WANI, I. A.; MASOODI, F. A. Comparative study of the physico-chemical properties of rice and corn starches grown in Indian temperate climate. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 15, 75, 2016.

Amidos – fontes, tipos e propriedades. **Aditivos e Ingredientes**, 2013. Disponível em: <http://aditivosingredientes.com.br/artigos/ingredientes-funcionais/amido-fontes-tipos-e-propriedades>

ASHOGBON, A. O.; AKINTAYO, E. T. Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: A review. **Starch/Stärke**, 66, 41, 2014.

BADHANI, B.; SHARMA, N.; KAKKAR, R. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. **RSC Advances**, 5, 27540, 2015.  
DOI: 10.1039/C5RA01911G

BARRIOS, S. E.; GIAMMANCO, G.; CONTRERAS, J. M.; LAREDO, E.; LOPEZ-CARRASQUERO, F. Characterization of esterified cassava starch with long alkyl side chains and different substitution degrees. **International Journal of Biological Macromolecules**, 59, 384, 2013.

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

BERTOLINNI, A. C. *Starches: Characterization, Properties, and Applications*. Boca Raton: CRC Press, (2009).

BHATTACHARYYA, D.; SINGH, S.; SATNALIKA, N.; KHANDELWAL, A.; JEON, S. Nanotechnology, Big things from a Tiny World: a Review. **International Journal of u- and e-Service, Science and Technology**, 2, 29, 2009.

- BIANCHI, O.; DAL CASTEL, C.; OLIVEIRA, R. V. B.; BERTUOLI, P. T.; HILLIG, E. Avaliação da Degradação Não-Isotérmica de Madeira Através de Termogravimetria-TGA. **Polímeros**, 20, 395, 2010.
- BILATI, U.; ALLÉMANN, E.; DOELKER, E. Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 24, 67, 2005.
- BILATI, U.; ALLÉMANN, E.; DOELKER, E. Nanoprecipitation versus emulsion-based techniques for the encapsulation of proteins into biodegradable nanoparticles and process-related stability issues. **AAPS PharmSciTech**, 6, 594, 2005.
- BOSSIO, O.; GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, M.; VÁZQUEZ-LASA, B.; ROMÁN, J. S. Amphiphilic polysaccharide nanocarriers with antioxidant properties. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, 29, 589, 2014.
- BRASIL. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento (SEAB). Departamento de Economia Rural. **Mandiocultura – Análise da conjuntura agropecuária**. 2012, 15p.
- BRASIL. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento (SEAB). Departamento de Economia Rural. **Análise da Conjuntura Agropecuária – Mandioca safra 2014/2015**. Disponível em: [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/mandioca\\_2014\\_15.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/mandioca_2014_15.pdf)
- BUILDERS, P. F.; ARHEWOH, M. I. Pharmaceutical applications of native starch in conventional drug delivery **Starch/Stärke**, 68, 864, 2016.
- BUZEA, C.; BLANDINO, I. I. P.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. **Biointerphases**, 2, MR17, 2007.
- CANEVAROLO JR, S. V. (2002). *Ciência dos Polímeros: Um Texto Básico Para Tecnólogos e Engenheiros* (2a ed). São Paulo: Artliber, 2006.
- CHEN, Q.; YU, H.; WANG, L.; UL ABDIN, Z.; CHEN, Y.; WANG, J.; ZHOU, W.; YANG, X.; KHAN, R. U.; ZHANG, H.; CHEN, X. Recent progress in chemical modification of starch and its applications. **The Royal Society of Chemistry**, 5, 67459, 2015.
- CHI, H.; XU, K.; WU, X.; CHEN, Q.; XUE, D.; SONG, C.; ZHANG, W.; WANG, P. Effect of acetylation on the properties of corn starch. **Food Chemistry**, 106, 923, 2008.
- CHIN, S. F.; AZMAN, A.; PANG, S. C. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a microemulsion Method. **Journal of Nanomaterials**, 2014, ID 763736.
- CHIN, S. F.; PANG, S. C.; TAY, S. H. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. **Carbohydrate Polymers**, 86, 1817, 2011.
- CUMPSTEY, I. Chemical modification of polysaccharides. **ISRN Organic Chemistry**, 2013. doi: 10.1155/2013/417672.
- DEMIATE, I. M.; KOTOVICZ, V. Cassava starch in the Brazilian food industry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 31, 388, 2011.
- DORNIANI, D.; HUSSEIN, M. Z. B.; KURA, A. U.; FAKURAZI, S.; SHAARI, A. H.; AHMAD, Z. Preparation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles coated with gallic acid for drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, 7, 5745, 2012.

- EÇA, K. S.; SARTORI, T.; MENEGALLI, F. C. Films and edible coatings containing antioxidants – a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, 17, 98, 2014.
- EL-FEKY, G. S.; EL-RAFIE, M. H.; EL-SHEIKH, M. A.; EL-NAGGAR, M. E.; HEBEISH, A. Utilization of Crosslinked Starch Nanoparticles as a Carrier for Indomethacin and Acyclovir Drugs. **Journal of Nanomedicine and Nanotechnology**, 6, 254, 2015.
- ELOMAA, M.; ASPLUND, T.; SOININEN, P.; LAATIKAINEN, R.; PELTONEN, S.; HYVÄRINEN, S.; URTTI, A. Determination of the degree of substitution of acetylated starch by hydrolysis, <sup>1</sup>H NMR and TGA/IR. **Carbohydrate Polymers**, 57, 261, 2004.
- FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. PH.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, 55, R1, 1989.
- FLYNN, J. H.; WALL, L. A. A quick, direct method for the determination of activation energy from thermogravimetric data. **Polymer letters**, 4, 323, 1966.
- GARRO-GALVEZ, J. M.; FECHTAL, M.; RIEDL, B. Gallic acid as a model of tannins in condensation with formaldehyde. **Thermochimica Acta**, 274, 149, 1996.
- GRANZA, A. G.; TRAVALINI, A.; FARIAS, F. O.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E.; DEMIATE, I. M. Effects of acetylation and acetylation–hydroxypropylation (dual-modification) on the properties of starch from Carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 119, 769, 2015.
- GUAN, J.; HANNA, M. A. Selected morphological and functional properties of extruded acetylated starch–cellulose foams. **Bioresource Technology**, 97, 1716, 2006.
- GUINESI, L. S.; DA RÓZ, A. L.; CORRADINI, E.; MATTOSO, L. H. C.; TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S. Kinetics of thermal degradation applied to starches from different botanical origins by non-isothermal procedures. **Thermochimica Acta**, 447, 190, 2006.
- HAN, F.; LIU, M.; GONG, H.; LÜ, S.; NI, B.; ZHANG, B. Synthesis, characterization and functional properties of low substituted acetylated corn starch. **International Journal of Biological Macromolecules** 50, 1026, 2012.
- HOROWITZ, H. H.; METZGER, G. A new analysis of thermogravimetric traces. **Analytical Chemistry**, 35, 1465, 1963.
- HU, H.; NIE, L.; FENG, S.; SUO, J. Preparation, characterization and *in vitro* release study of gallic acid loaded silica nanoparticles for controlled release. **Die Pharmazie**, 68, 401, 2013. DOI: 10.1691/ph.2013.2205
- HUANG, J.; LI, X.; ZHOU, W. Safety assessment of nanocomposite for food packaging application. **Trends in Food Science & Technology**, 45, 187, 2015.
- JURINA, J.; AZIZAH, A. N.; SIAH, W. N.; NGADIMAN, K. Effects of butylated hydroxytoluene (BHT) impregnated film on storage of vegetable crackers. **Journal of Tropical Agriculture and Food Science (JTAFS)**, 39, 1, 2011.
- KASPRZAK, M. M.; LAERKE, H. N.; LARSEN, F. H.; KNUDSEN, K. E. B.; PEDERSEN, S.; JORGENSEN, A. S. Effect of enzymatic treatment of different starch sources on the *in vitro* rate and extent of starch digestion. **International Journal of Molecular Sciences**, 13, 929, 2012.

- KHOLOUD, M. M.; EL-NOUR, A.; EFTAIHA, A.; AL-WARTHAN, A.; AMMAR, R. A. A. Synthesis and applications of silver nanoparticles. **Arabian Journal of Chemistry**, 3, 135, 2010.
- KIM, H.; PARK, S. S.; LIM, S. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 126, 607, 2015.
- KORMA, S. A.; ALAHMAD, K.; NIAZI, S.; AMMAR, A.; ZAABOUL, F.; ZHANG, T. Chemically modified starch and utilization in food stuffs. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, 5, 264, 2016.
- KUMAR, D. A.; SINGH, D.; JHANSEE, M.; SHRIKANT, N.; SHIV, P. Development and characterization of chitosan nanoparticles loaded with amoxicillin. **International Research Journal of Pharmacy**, 2, 145, 2011.
- KUMARI, A.; YADAV, S. K.; PAKADE, Y. B.; SINGHC, B.; YADAV, S. C. Development of biodegradable nanoparticles for delivery of quercetin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 80, 184, 2010.
- LAROTONDA, F. D. S. **Desenvolvimento de biofilmes a partir da fécula de mandioca**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- LE CORRE, D.; ANGELLIER-COUSSY, H. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. **Reactive & Functional Polymers**, 85, 97, 2014.
- LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Starch nanoparticles: a review. **Biomacromolecules**, 11, 1139, 2010.
- LEBOUILLE, J. G. J. L.; STEPANYAN, R.; SLOT, J. J. M.; STUARTD, M. A. C.; TUINIERA, R. Nanoprecipitation of polymers in a bad solvent. **Colloids and Surfaces A**, 460, 225, 2014.
- LEE, H. Utilization of shape-controlled nanoparticles as catalysts with enhanced activity and selectivity. **Royal Society of Chemistry Advances**, 4, 41017, 2014.
- LI, X.; CUI, R.; SUN, L.; AIFANTIS, K. E.; FAN, Y.; FENG, Q.; CUI, F.; WATARI, F. 3D-Printed Biopolymers for Tissue Engineering Application. **International Journal of Polymer Science**, 2014, 2014.
- LIN, N.; HUANG, J.; DUFRESNE, A. Preparation, properties and applications of polysaccharide nanocrystals in advanced functional nanomaterials: a review. **Nanoscale**, 4, 3274, 2012.
- LIUN, J.; WILLFÖR, S; XU, C. A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. **Bioactive carbohydrates and dietary fibre**, 5, 31, 2015.
- LU, D. R.; XIAO, C. M.; XU, S. J. Starch-based completely biodegradable polymer materials. **eXPRESS Polymer Letters**, 3, 366, 2009.
- LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C. (2001). *Caracterização de Polímeros – Determinação de peso molecular e análise térmica*. Rio de Janeiro: E-papers, 2001.

LUO, Z. G.; SHI, Y. C. Preparation of acetylated waxy, normal and high-amylose maize starches with intermediate degrees of substitution in aqueous solution and their properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, 9468, 2012.

MA, X; JIAN, R; CHANG, P. R.; YU, J. Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. **Biomacromolecules**, 9, 3314, 2008.

MARK, J. E. (1999). *Polymer data handbook* (1<sup>a</sup> ed). Oxford University Press.

MATSUGUMA, L. S; LACERDA, L. G.; SCHNITZLER, E.; FILHO, M. A. S.; FRANCO, C. M. L.; DEMIATE, I. M. Characterization of native and oxidized starches of two varieties of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*, B.) from two production areas of Paraná state, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 52, 701, 2009.

METAK, A. M.; NABHANI, F.; CONNOLLY, S. N. Migration of engineered nanoparticles from packaging into food products. **LWT – Food Science and Technology**, 64, 781, 2015.

MINA, J.; VALADEZ-GONZÁLEZ, A.; HERRERA-FRANCO, P.; ZULUAGA, F.; DELVASTO, S. Physicochemical characterization of natural and acetylated thermoplastic cassava starch. **Dyna**, 78, 166, 2011.

NAGAVARMA, B. V. N.; YADAV, H. K. S.; AYAZ, A.; VASUDHA, L. S.; SHIVAKUMAR, H. G. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles – A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 5, 16, 2012.

NAMAZI, H.; FATHI, F.; HEYDARI, A. (2012). Nanoparticles Based on Modified Polysaccharides. In: Abbass A. Hashim (Ed.), *The delivery of nanoparticles* (p. 149 –184). InTech, ISBN: 978-953-51-0615-9.

NARAYAN, R.; BLOEMBERGEN, S.; LATHIA, A. Method of preparing biodegradable modified-starch moldable products and films. U. S. Patent, 5,869,647, February, 1999.

NEELAM, K; VIJAY, S; LALIT, S. Various techniques for the modification of starch 786 and the applications of its derivatives. **International Research Journal of Pharmacy**, 3, 787 25, 2012.

OCHUBIOJO, E. M.; RODRIGUES, A. (2012). Starch: From Food to Medicine. In: Dr. Benjamin Valdez (Ed.), *Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry* (p.355 – 380). InTech, ISBN: 978-953-307-916-5, DOI: 10.5772/38678.

OZAWA, T. Estimation of activation energy by isoconversion methods. **Termochimica Acta**, 203, 159, 1992.

PAL, S. L.; JANA, U.; MANNA, P. K.; MOHANTA, G. P.; MANAVALAN, R. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 1, 228, 2011.

PEPE L. S., MORAES J., ALBANO K. M., TELIS V. R., FRANCO C. M. Effect of heat-moisture treatment on the structural, physicochemical, and rheological characteristics of arrowroot starch. **Food Science and Technology International**, 22, 256, 2016.

PERAZZO, K. K. N. C. L.; CONCEIÇÃO, A. C. V.; dos SANTOS, J. C. P.; ASSIS, D. J.; SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. I. Properties and Antioxidant Action of Actives Cassava Starch Films Incorporated with Green Tea and Palm Oil Extracts. **Plos One**, 9, e105199, 2014. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0105199>

PUCHALSKA, A.; MARIA MUCHA, M. Thermogravimetry of chitosan with nanofillers. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*, 16, 31, 2011.

RAJAN, A.; SUDHA, J. D.; ABRAHAM, T. E. Enzymatic modification of cassava starch by fungal lipase. *Industrial Crops and Products*, 27, 50, 2008.

RAJPUT, N. Methods of preparation of nanoparticles – A review. *International Journal of Advances in Engineering & Technology*, 7, 1806, 2015.

RAMÍREZ, M. G. L.; DE MUNIZ, G. I. B.; SATYANARAYANA, K. G.; TANOBE, V.; IWAKIRI, S. Preparation and characterization of biodegradable composites based on Brazilian cassava starch, corn starch and green coconut fibers. *Revista Matéria*, 15, 330, 2010.

RIVARD, C.; MOENS, L.; ROBERTS, K.; BRIGHAM, J.; KELLEY, S. Starch esters as biodegradable plastics: effects of ester group chain length and degree of substitution on anaerobic biodegradation. *Enzyme and Microbial Technology*, 17, 848, 1995.

RUDNIK, E.; MATUSCHEK, G.; MILANOV, N.; KETTRUP, A. Thermal stability and 809 degradation of starch derivatives. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 85, 810 267, 2006.

SANTANDER-ORTEGA, M. J.; STAUNER, T.; LORETZ, B.; ORTEGA-VINUESA, J. L.; BASTOS-GONZÁLEZ, D.; WENZ, G.; SCHAEFER, U. F.; LEHR, C. M. Nanoparticles made from novel starch derivatives for transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 141, 85, 2010.

SATYAM, G.; SHIVANI, S.; SHIVAM, G.; SHOBHIT, J.; SANJEEV, V.; ARVIND, K. Starch as a material for drug delivery. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*, 1, 56, 2010.

SCHUBERT, S.; DELANEY, J. T.; SCHUBERT, U. S. Nanoprecipitation and nanoformulation of polymers: from history to powerful possibilities beyond poly(lactic acid). *Soft Matter*, 7, 1581, 2011.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). **Mandiocultura – farinha e fécula**. Estudos de mercado SEBRAE/ESPM, 2008.

SHI, A.; WANG, L.; LI, D.; ADHIKAR, B. Characterization of starch films containing starch nanoparticles Part 1: Physical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 96, 593, 2013.

SINGH, A. V.; NATH, L. K.; GUHA, M. Synthesis and characterization of highly acetylated sago starch. *Starch/Stärke*, 63, 523, 2011.

SMITS, A. L. M.; RUHNAU, F. C.; Vliegenthart, J. F. G.; VAN SOEST, J. J. G. Ageing of starch-based systems as observed with FT-IR and solid state NMR spectroscopy. *Starch/Stärke*, 50, 478, 1988.

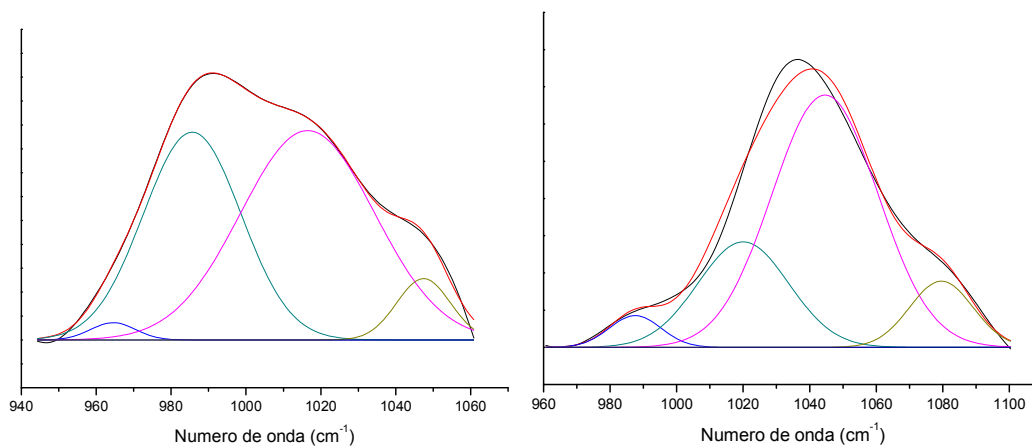
SODHI, N. S.; SINGH, N. Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *Journal of Food Engineering*, 70, 117, 2005.

SOLOMON, O.; CIUTĂ, Z. Anomalie de la viscositate des solutions de polyisoprene cis-1,4 a de faibles concentrations. *Journal of Applied Polymer Science*, 6, S59, 1962.

- SUN, X.; WANG, Z.; KADOUH, H.; ZHOU, K. The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films. **LWT - Food Science and Technology**, 57, 83, 2014.
- TAGHIZADEH, M. T.; ABDOLLAHI, R. A Kinetics Study on the Thermal Degradation of Starch/Poly (Vinyl Alcohol) Blend. **Chemical and Materials Engineering**, 3, 73, 2015.
- TAN, Y.; XU, K.; LI, L.; LIU, C.; SONG, C.; WANG, P. Fabrication of size- controlled starch-based nanospheres by nanoprecipitation. **Applied Materials & Interfaces**, 1, 956, 2009.
- TAY, S. H.; PANG, S. C.; CHIN, S, F. A facile approach for controlled synthesis of hydrophilic starch-based nanoparticles from native sago starch. **Starch/Stärke**, 64, 984, 2012.
- TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; DE CARVALHO; G. M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, 126, 9, 2015.
- UDENSI, O.; IKPEME, E. V.; UYOH, E. A.; EKPO, I. A.; BRISIBE, E. A.; ASIKONG, B. E. Effect of starch acetylation on bioplastics – degrading microorganisms: a pointer to assessing biodegradation. **International Journal of Current Research**, 7, 37, 2010.
- VALODKAR, M; THAKORE, S. Organically modified nanosized starch derivatives as excellent reinforcing agents for bionanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, 86, 1244, 2011.
- VAN SOEST, J. J. G.; TOURNOIS, H.; DE WIT, D.; Vliegenthart, J. F. G. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, 279, 201, 1995.
- VENKATESAN, J.; ANIL, S.; KIM, S.; SHIM, M. S. Seaweed polysaccharide-based nanoparticles: preparation and applications for drug delivery. **Polymers**, 8, 30, 2016.
- WURZBURG, O. B. (1964). In: Roy L. Whistler (Ed.), *Methods in carbohydrate chemistry* (p.286). Academic press, Vol 4, New York, 1964.
- XIE, S. X.; LIU, Q.; CUI, S. W. (2005). Starch Modification and Applications. In: Steve W. Cui (Ed.), *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications* (p.357 – 405). Boca Raton, Taylor & Francis Group, ISBN: 978-0-8493-1574-9.
- XU, Y.; MILADINOV, V.; HANNA, M. A. Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. **Cereal Chemistry**, 81, 735, 2004.
- ZENG, J.; LI, G.; GAO, H.; RU, Z. Comparison of A and B starch granules from three wheat varieties. **Molecules**, 16, 10570, 2011.
- ZHANG, Y.; WANG, X.; ZHAO, G.; WANG, Y. Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation. **Carbohydrate Polymers**, 87, 2554, 2012.
- ZHENG, Y.; MONTY, J.; LINHARDT, R. J. Polysaccharide-based nanocomposites and their applications. **Carbohydrate Research**, 405, 23, 2015.
- ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, 122, 456, 2015.

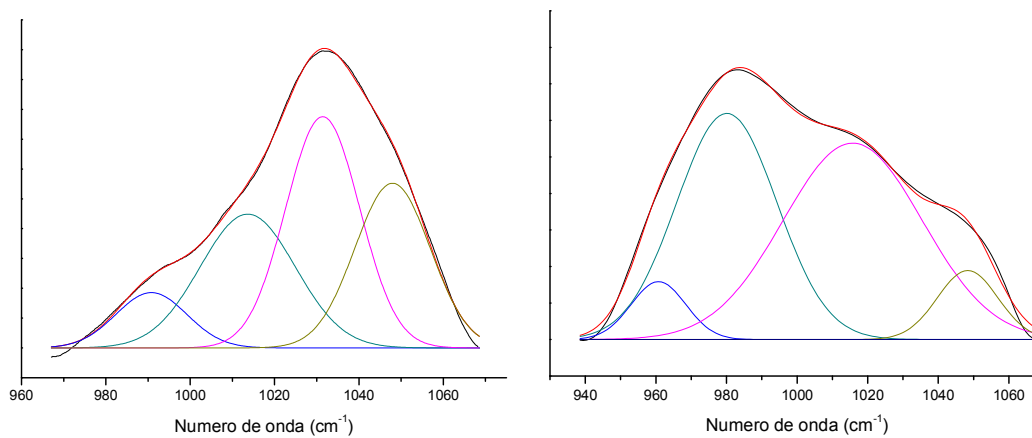
## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A

GRÁFICOS DE DECONVOLUÇÃO DA REGIÃO 900-1100 DO ESPECTRO FTIR  
PARA OS AMIDOS, ACETATOS E NANOPARTÍCULAS PURAS

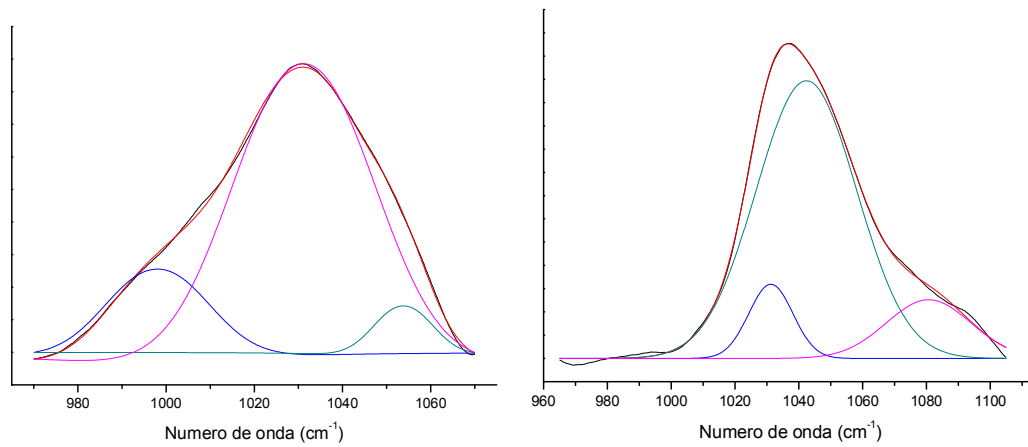
(a)

(b)



(c)

(d)



(e)

(f)

Amostra (a) – Amido de mandioca

Amostra (b) – Amido de mandioca acetilado

Amostra (c) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado

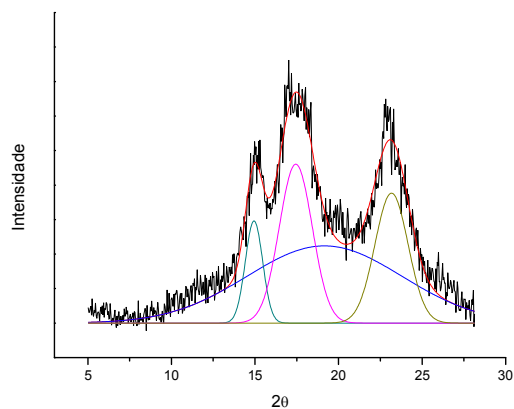
Amostra (d) – Amido oxidado

Amostra (e) – Amido oxidado acetilado

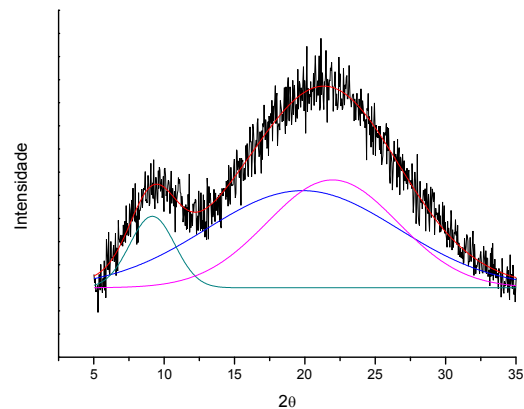
Amostra (f) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado

## APÊNDICE B

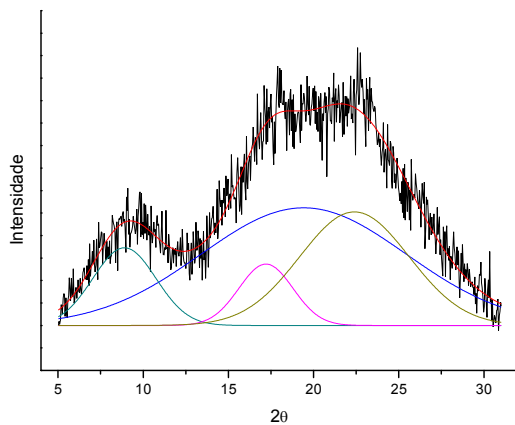
## GRÁFICOS DE DECONVOLUÇÃO DOS ESPECTROS WAXD PARA OS AMIDOS, ACETATOS E NANOPARTÍCULAS PURAS



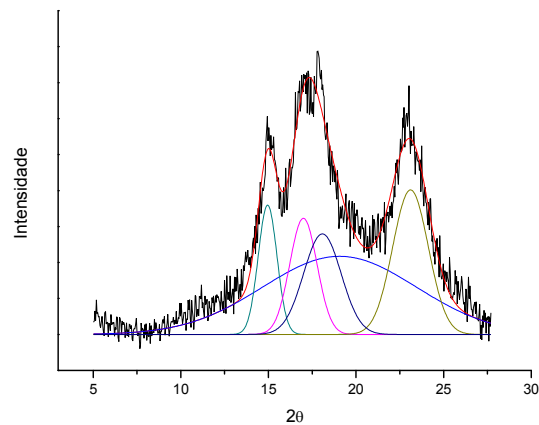
(a)



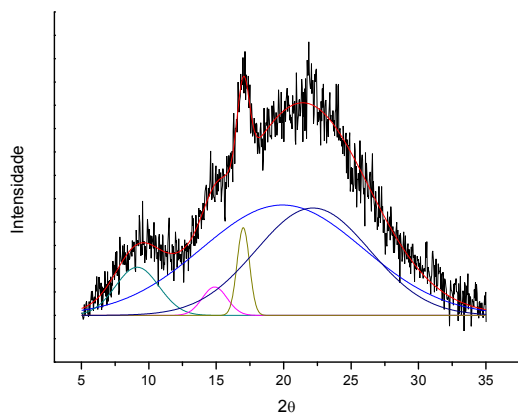
(b)



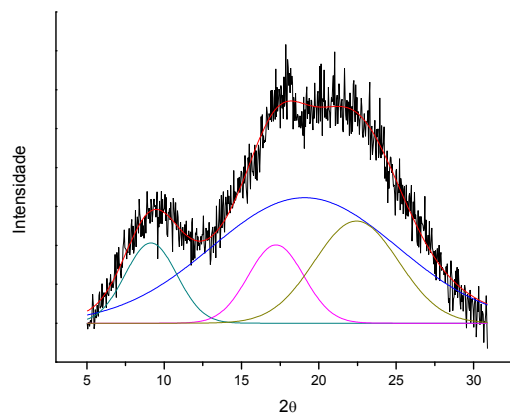
(c)



(d)



(e)



(f)

Amostra (a) – Amido de mandioca

Amostra (b) – Amido de mandioca acetilado

Amostra (c) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado

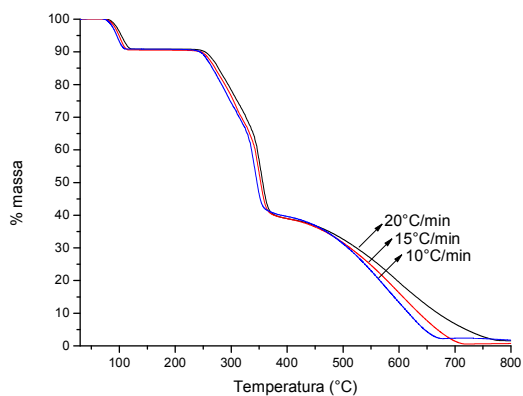
Amostra (d) – Amido oxidado

Amostra (e) – Amido oxidado acetilado

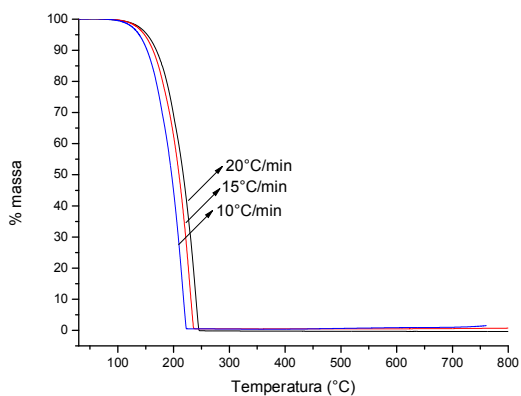
Amostra (f) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado

## APÊNDICE C

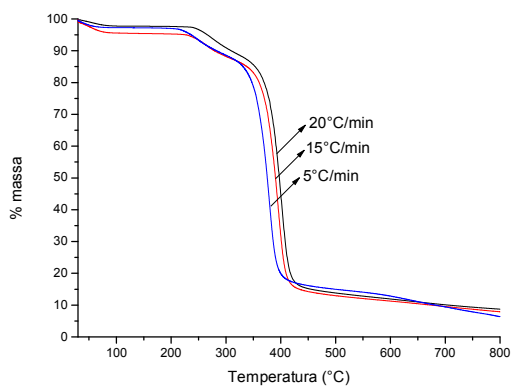
## GRÁFICOS DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA DOS MATERIAIS A DIFERENTES TAXAS DE AQUECIMENTO



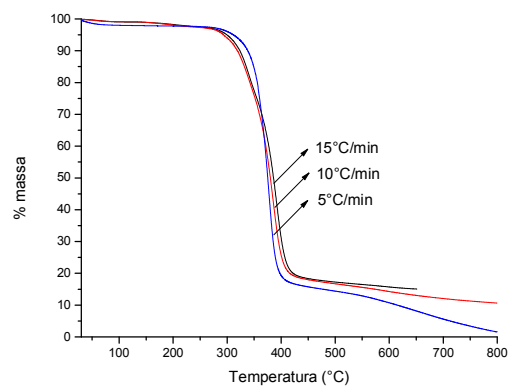
(a)



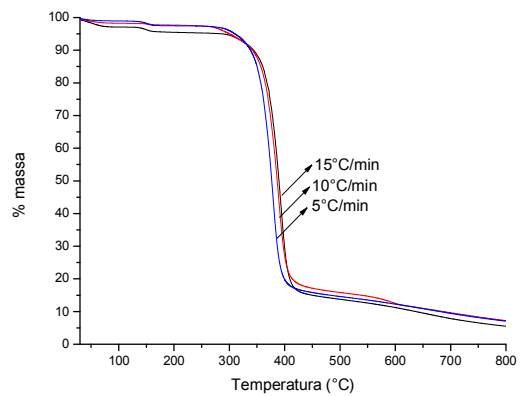
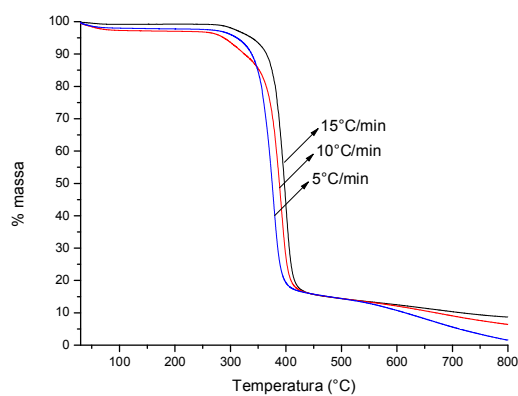
(b)

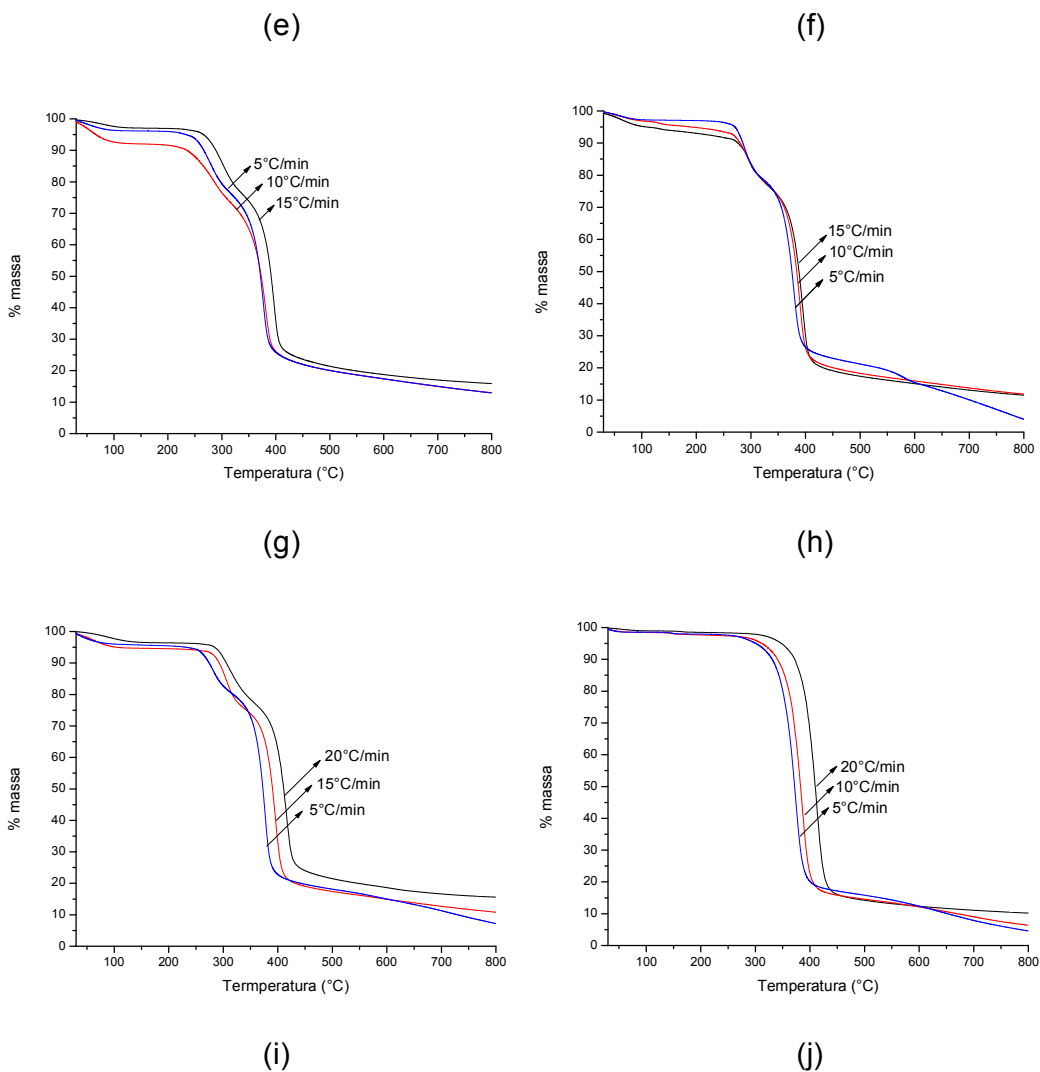


(c)



(d)





Amostra (a) – Ácido Gálico (AG)

Amostra (b) – Butilhidroxitolueno (BHT)

Amostra (c) – Amido de mandioca acetilado

Amostra (d) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado

Amostra (e) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado com AG

Amostra (f) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado com BHT

Amostra (g) – Amido oxidado acetilado

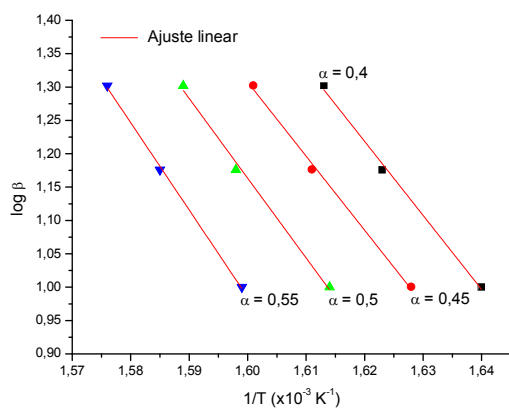
Amostra (h) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado

Amostra (i) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado com AG

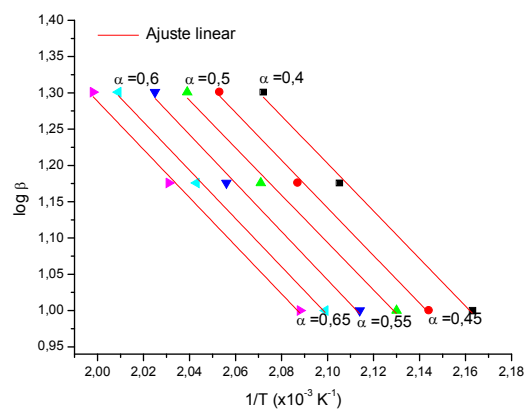
Amostra (j) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado com BHT

## APÊNDICE D

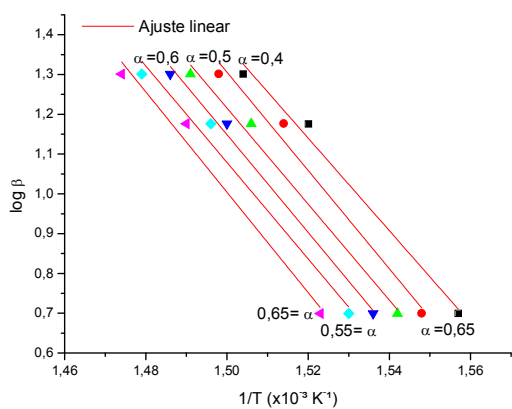
### GRÁFICOS DE ARRHENIUS PARA ANÁLISE DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO PELO MÉTODO FLYNN-WALL-OZAWA



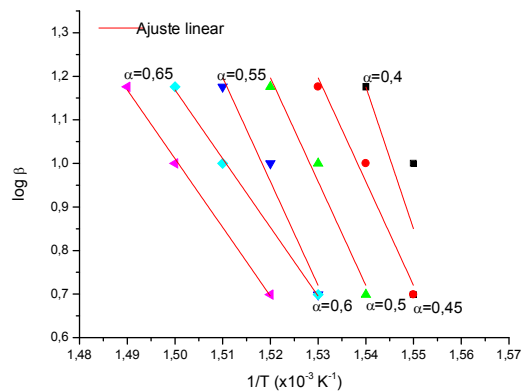
(a)



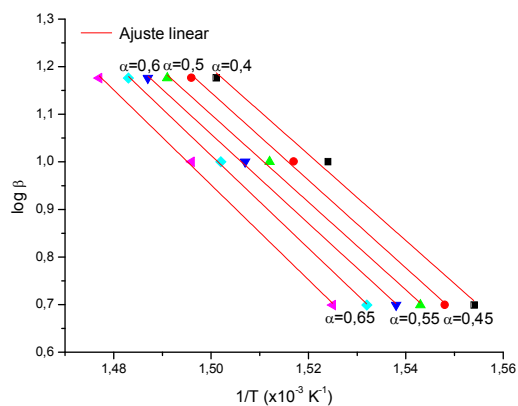
(b)



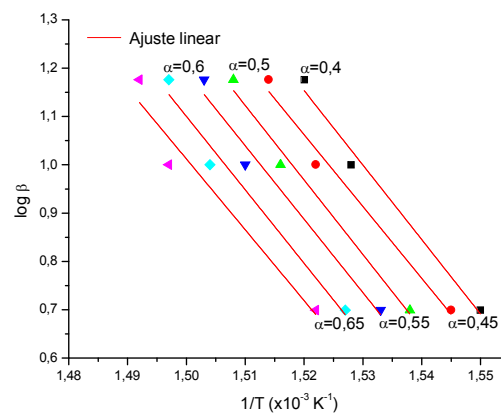
(c)



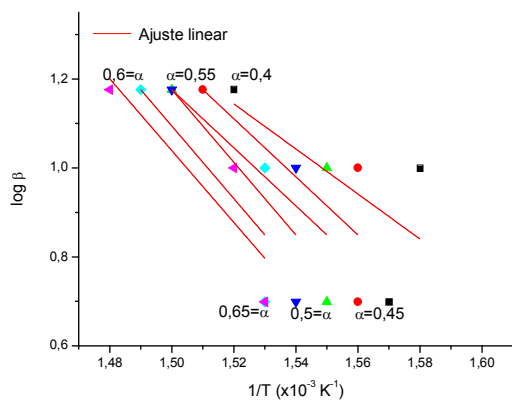
(d)



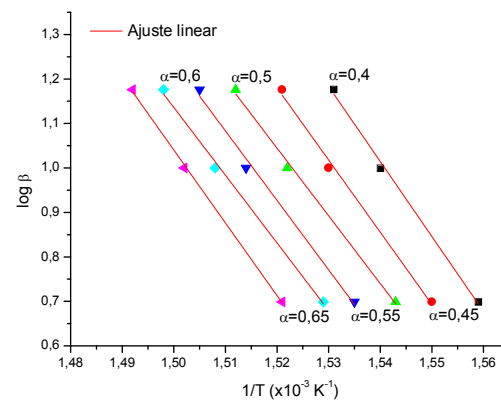
(e)



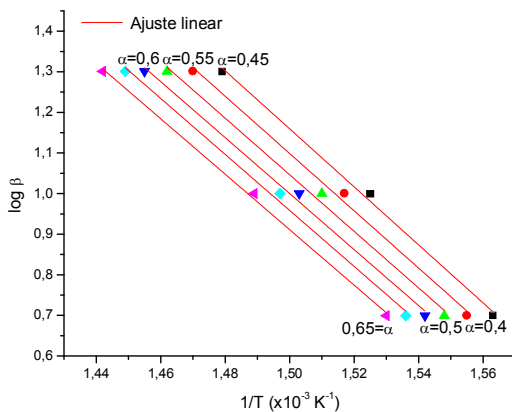
(f)



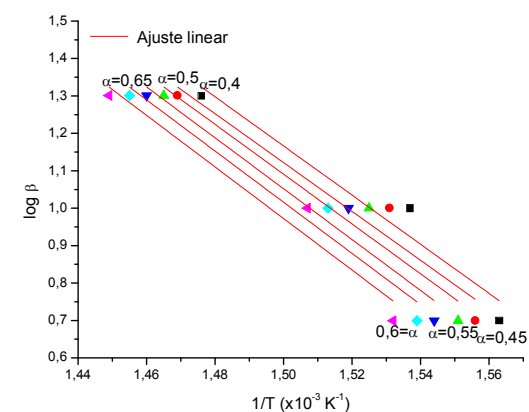
(g)



(h)



(i)



(j)

Amostra (a) – Ácido Gálico (AG)

Amostra (b) – Butilhidroxitolueno (BHT)

Amostra (c) – Amido de mandioca acetilado

Amostra (d) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado

Amostra (e) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado com AG

Amostra (f) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado com BHT

Amostra (g) – Amido oxidado acetilado

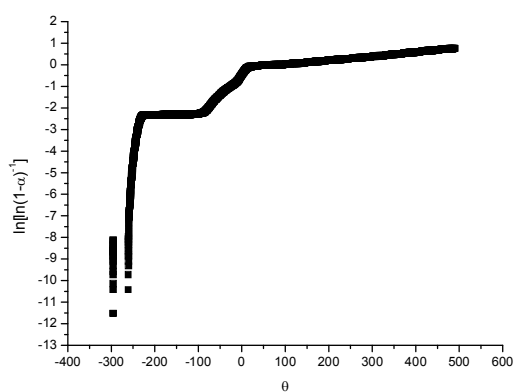
Amostra (h) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado

Amostra (i) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado com AG

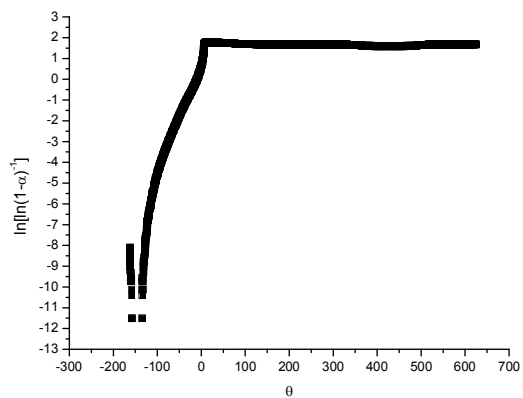
Amostra (j) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado com BHT

## APÊNDICE E

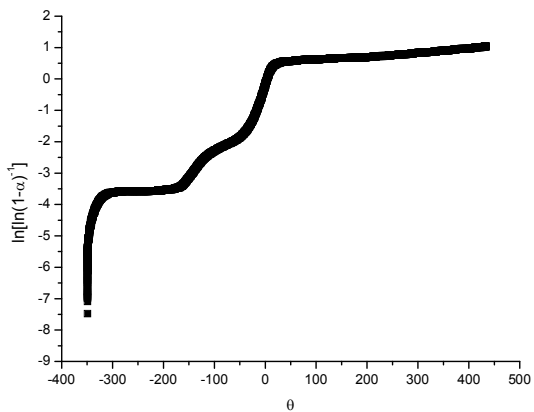
## GRÁFICOS PARA ANÁLISE DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO PELO MÉTODO DE HOROWITZ E METZGER



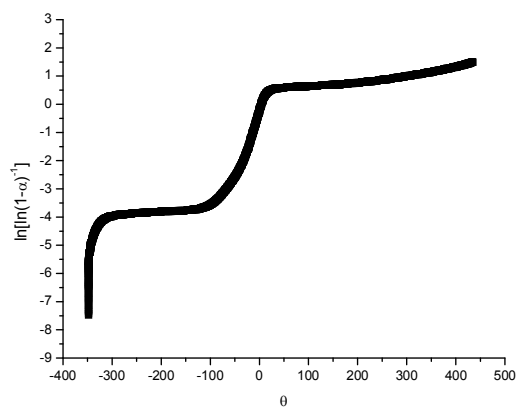
(a)



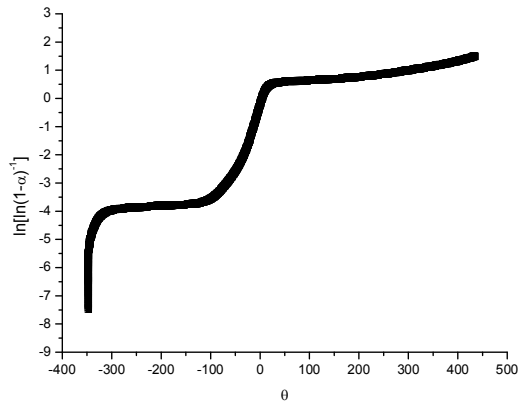
(b)



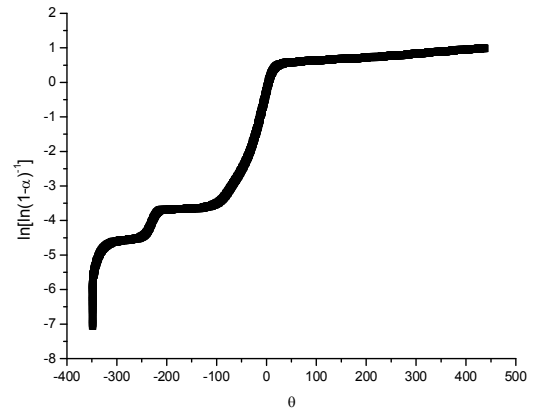
(c)



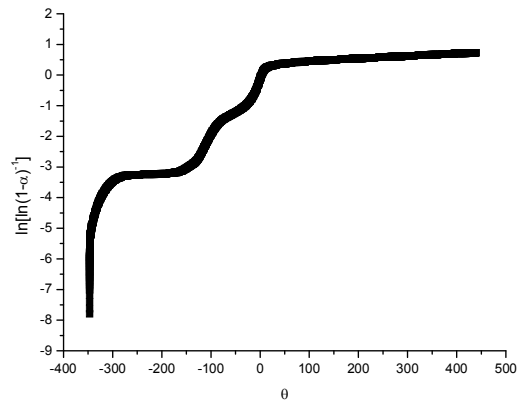
(d)



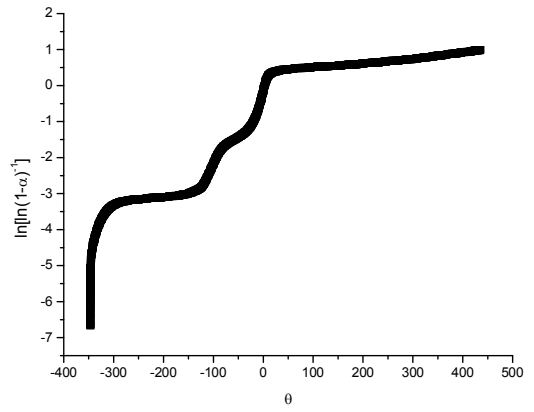
(e)



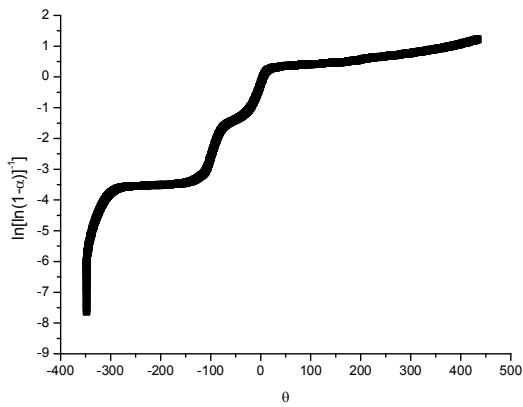
(f)



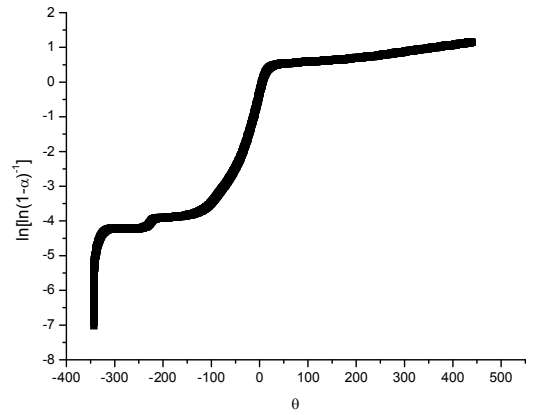
(g)



(h)



(i)



(j)

Amostra (a) – Ácido Gálico

Amostra (b) – BHT

Amostra (c) – Amido de mandioca acetilado

Amostra (d) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado

Amostra (e) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado com AG

Amostra (f) – Nanopartículas de amido de mandioca acetilado com BHT

Amostra (g) – Amido oxidado acetilado

Amostra (h) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado

Amostra (i) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado com AG

Amostra (j) – Nanopartículas de amido oxidado acetilado com BHT