



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**NANOPARTÍCULAS DE AMIDO DE FRUTA-PÃO (*Artocarpus altilis*
(PARKINSON) FOSBERG) PRODUZIDAS POR TRATAMENTO
ULTRASSÔNICO**

IVO HENRIQUE PINTO ANDRADE

Salvador-BA

2018

IVO HENRIQUE PINTO ANDRADE

**NANOPARTÍCULAS DE AMIDO DE FRUTA-PÃO (*Artocarpus altilis*
(PARKINSON) FOSBERG) PRODUZIDAS POR TRATAMENTO
ULTRASSÔNICO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Renato Souza Cruz

Co-orientadora: Prof. Geany Peruch Camilloto

Salvador-BA

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Pinto Andrade, Ivo Henrique
NANOPARTÍCULAS DE AMIDO DE FRUTA-PÃO (*Artocarpus*
altilis (PARKINSON) FOSBERG) PRODUZIDAS POR
TRATAMENTO ULTRASSÔNICO / Ivo Henrique Pinto Andrade. -
- Salvador, 2018.
85 f. : il

Orientador: Renato Souza Cruz.
Coorientadora: Geany Peruch Camilloto.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Ciência de Alimentos) -- Universidade Federal da
Bahia, Faculdade de Farmácia, 2018.

1. Nanotecnologia. 2. Mecanoquímica. 3. Nanoamido.
4. Ultrassom. I. Souza Cruz, Renato. II. Peruch
Camilloto, Geany. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

IVO HENRIQUE PINTO ANDRADE

NANOPARTÍCULAS DE AMIDO DE FRUTA-PÃO (*Artocarpus altilis* (PARKINSON) FOSBERG) PRODUZIDAS POR TRATAMENTO ULTRASSÔNICO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 26 de novembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Renato Souza Cruz
Universidade Estadual de Feira de Santana
Orientador

Dr^a. Cíntia Maria Ariani Fontes
Universidade Estadual de Feira de Santana

Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho
Universidade Estadual de Feira de Santana

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Getúlio e Solange, por todo incentivo, torcida e assistência durante todo o período do mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Renato Cruz, pela imensa contribuição nesse trabalho, pela confiança depositada, ensinamentos e também por ser sempre prestativo e disponível em todos os momentos. Fico muito grato e me sinto orgulhoso em ter sido seu aluno (tanto na graduação como no mestrado).

À minha co-orientadora, Prof. Geany Camilloto, também uma profissional que tomo como exemplo, por toda ajuda transmitida e por ser tão prestativa.

À Renata e seu Luciano (seu pai) por ajudarem não só a mim, mas também a Rita e Mara durante às idas à Salvador. Obrigado de coração!

À Thaís, colega de graduação e mestrado, uma das primeiras pessoas a me ajudar durante o percurso da pesquisa. Agradeço muito pela atenção e ajuda prestadas sempre.

À Jamille, pela imensa ajuda durante esse tempo. Sou muito grato principalmente por ter sido tão atenciosa comigo nos momentos de dificuldade.

À Antônio, um dos amigos que posso chamar de irmão e que foi minha segunda casa em Salvador. Sem você não estaria aqui hoje, muito obrigado por tudo “tio”!

À Keila, colega com quem convivi diversos momentos, agradeço pela convivência e principalmente por ter conhecido uma pessoa de coração tão bom, sempre disposta em auxiliar.

À Thâmilla, pela amizade construída e por sempre ser tão solícita comigo.

Aos meus colegas de turma do mestrado, agradeço pelo companheirismo e momentos de descontração, em especial nos momentos de sufoco, tornando-os mais leves.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

À Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia pela oportunidade do mestrado em Ciência de Alimentos.

Ao Prof. Ramon El-Bachá, por me conceder a utilização do sonificador para a realização deste trabalho, e por ter me recebido de braços abertos no Laboratório de Neuroquímica e Biologia Celular- LabNq.

À Valdinei, pelo auxílio nas análises de tamanho de partícula, potencial zeta e PDI.

Ao grupo responsável pela área de microscopia na FIOCRUZ, pelo suporte na realização das análises de Microscopia Eletrônica de Varredura e Transmissão.

À Caio Gomide, pela ajuda e possibilidade da realização das análises de Difração de raios-X e de espectroscopia.

Por fim, agradeço a todos aqueles que torceram e também aos demais que também ajudaram de alguma forma para que a realização deste trabalho fosse possível.

RESUMO

A utilização do amido na nanotecnologia proporciona a obtenção de nanopartículas com alta capacidade de absorção, baixa limitação de difusão, além de natureza atóxica e biodegradável, reduzindo ou eliminando a possibilidade de impactos ambientais. As principais fontes amiláceas utilizadas em nanotecnologia são as convencionais, como o milho, mandioca e a batata. Entretanto, por possuir um elevado teor de amido em sua composição, e por estudos com esta fonte botânica para produção de nanopartículas de amido (NPA) não terem sido encontrados, a fruta-pão também se apresenta como uma fonte amilácea que pode ser utilizada na produção de nanoestruturas, sendo esta possibilidade também uma forma de fomentar o cultivo do fruto. Entre os métodos de produção de NPA está a ultrasonicação, a qual proporciona a obtenção das nanoestruturas de maneira simples, sem a necessidade de agentes químicos e em curto período de tempo, se apresentando como um método alternativo quando comparado à tradicional hidrólise ácida. O objetivo deste trabalho foi a produção de nanopartículas de amido utilizando a fruta-pão (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) como fonte amilácea, através da ultrasonicação. Após 75 minutos de tratamento ultrassônico em suspensões de amido à 0,5%, as NPA de fruta-pão produzidas possuíam distribuição polimodal em relação ao seu tamanho, com faixas de 8,72-37,80 nm, 43,80-164,00 nm e entre 190,00-955,00 nm. O tamanho médio geral das NPA foi de $145,65 \pm 50,56$ nm. O índice de polidispersividade foi de $0,46 \pm 0,06$, indicando uma distribuição de tamanho ligeiramente homogênea. O potencial zeta das NPA foi de $-16,93 \pm 0,50$ mV, o que significa tendência à aglomeração. As NPA possuíam formatos arredondados e de bastonetes, com alguns aglomerados observados. Em 25 minutos de processo, as suspensões de NPA já se apresentavam com alta transparência e espalhamento de luz visível característico de partículas coloidais (efeito Tyndall) em nanoescala. A viscosidade das nanopartículas em suspensão foi menor quando comparada a do amido nativo. As nanopartículas se apresentaram menos estáveis termicamente. Os grupamentos C-O foram os mais enfraquecidos e possivelmente rompidos pelo tratamento ultrassônico. Foi observado pelos padrões de difração de raios-X que as ondas ultrassônicas causaram um colapso na região cristalina do amido, levando à obtenção de nanopartículas de caráter predominantemente amorfo. As NPA de fruta-pão produzidas por ultrassom podem ser potencialmente aplicadas como substitutas de gorduras e em revestimento de papéis, além de funções como emulsificantes ou com apelo funcional em alimentos, caso sejam modificadas quimicamente após sua obtenção.

Palavras-chave: Nanoamido, nanotecnologia, mecanoquímica, ultrassom.

ABSTRACT

The use of starch in nanotechnology provides the obtainment of nanoparticles with high absorption capacity, low diffusion limitation, as well as non-toxic and biodegradable nature, reducing or eliminating the possibility of environmental impacts. The main starches used in nanotechnology are conventional sources such as corn, cassava and potato. However, because its high content of starch in its composition, and studies with this botanical source for the production of starch nanoparticles (SNP) have not been found, breadfruit also presents as an amylaceous source that can be used in production of nanostructures, and this possibility is also a way to promote the cultivation of the fruit. Among the methods of production of SNP is the ultrasonication, which provides the obtaining of nanostructures in a simple way, without the need of chemical agents and in short time, presenting as an alternative method when compared to traditional acid hydrolysis. The objective of this work was the production of starch nanoparticles using breadfruit (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) as an amylaceous source, through ultrasonication. After 75 minutes of ultrasonic treatment in 0.5% starch suspensions, the breadfruit SNP produced had polymodal distribution in relation to their size, with bands of 8.72-37.80 nm, 43.80-164.00 nm and between 190.00-955.00 nm. The overall mean SNP size was 145.65 ± 50.56 nm. The polydispersity index was 0.46 ± 0.06 , indicating a slightly homogeneous size distribution. The zeta potential of the SNP was -16.93 ± 0.50 mV, which means tendency to agglomeration. The SNP had rounded and rod-shaped formations, with some observed clusters. In 25 minutes of processing, the suspensions of SNP already presented with high transparency and visible light scattering characteristic of colloidal particles (Tyndall effect) in nanoscale. The viscosity of suspended nanoparticles was lower when compared to native starch. The nanoparticles were less thermally stable. The C-O groupings were the most weakened and possibly ruptured by ultrasonic treatment. It was observed by the X-ray diffraction patterns that the ultrasonic waves caused a collapse in the crystalline region of the starch, leading to the obtaining of predominantly amorphous nanoparticles. The breadfruit SNP produced by ultrasound can be potentially applied as fat substitute and paper coating, as well as functions as emulsifiers or with functional appeal in foods, if they are chemically modified upon their production.

Keywords: Nanostarch, nanotechnology, mechanochemistry, ultrasound.

LISTA DE SIGLAS

ATR - Refletância total atenuada
DLS - Dynamic Light Scattering
DRX - Difração de raios-X
DTG - Curvas termogravimétricas derivativas
EXT - Extrusão
FDA - Food and Drug Administration
HA - Hidrólise ácida
HEZ - Hidrólise enzimática
IV - Infravermelho
LS - Light scattering
MET - Microscopia eletrônica de transmissão
MEV - Microscopia eletrônica de varredura
MQ - Modificação química
NP - Nanoprecipitação
NPA - Nanopartículas de amido
NPM - Nanopartículas metálicas
PDI - Índice de polidispersividade
RD - Radiação gama
RET - Reticulação
RT - Retrogradação
SNP - Starch nanoparticles
TG - Curvas termogravimétricas
ULT - Ultrassonicação

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fruta-pão tipo apyrena.....	18
Figura 2- Estrutura química da amilose.....	20
Figura 3- Estrutura química da amilopectina.	21
Figura 4- Estrutura das cadeias de amilopectina.	21
Figura 5-Representação do grânulo de amido.	22
Figura 6- Padrões de cristalinidade do amido dos tipos A e B.....	24
Figura 7- Padrões de difração de raios-X de amidos de cristalinidade V, B e A.	34
Figura 8- Curva de decomposição térmica de um material.	35
Figura 9- Distribuição do tamanho das nanopartículas obtidas do amido de fruta-pão.	40
Figura 10- Dispersões de amido de fruta-pão sob diferentes intervalos de sonicação.	43
Figura 11- Efeito Tyndall nas dispersões de NPA.	43
Figura 12- Curvas de transmitância das dispersões.....	44
Figura 13- Micrografias eletrônicas do amido nativo de fruta-pão.....	45
Figura 14- Micrografias eletrônicas das NPA de fruta-pão.....	46
Figura 15- TG e DTG do amido e das NPA de fruta-pão.	48
Figura 16- Espectros do amido nativo e das nanopartículas.	51
Figura 17- Difratoogramas de raios-X do amido nativo de fruta-pão e das nanopartículas.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Tamanho médio, teor de amilose e cristalinidade de fontes botânicas de amido.....	24
Tabela 2- Fontes de amido e tratamentos utilizados na produção de NPA.	27
Tabela 3- Tratamentos ultrassônicos utilizados na produção de NPA, condições de processo empregadas e tamanho médio das nanopartículas obtidas.	41
Tabela 4- Parâmetros de NPA obtidas por diferentes metodologias.	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. Objetivo Geral	17
2.2. Objetivos Específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1. Fruta-pão.....	18
3.2. Amido	19
3.2.1. Amilose	20
3.2.2. Amilopectina	20
3.2.3. Estrutura granular	22
3.2.4. Componentes minoritários	23
3.2.5. Cristalinidade.....	23
3.2.6. Gelatinização	24
3.3. Nanotecnologia	25
3.3.1. Nanopartículas de amido	27
3.4. Ultrasonicação	28
3.5. Exemplos de aplicações de nanopartículas de amido	29
3.5.1. Reforços de materiais	29
3.5.2. Substitutos de gorduras	30
3.5.3. Modificações químicas para outras aplicações	30
3.6. Parâmetros e Técnicas de caracterização de nanopartículas.....	31
3.6.1. Espalhamento dinâmico de luz.....	31
3.6.2. Microscopia eletrônica de varredura	32
3.6.3. Microscopia eletrônica de transmissão.....	33
3.6.4. Transparência	33
3.6.5. Difração de raios-X	33
3.6.6. Termogravimetria	34
3.6.7. Espectroscopia por refletância total atenuada	36
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1. Materiais	37
4.2. Métodos	37

4.2.1. Preparação das nanopartículas de amido de fruta-pão	37
4.2.2. Tamanho médio de partícula e índice de polidispersividade	38
4.2.3. Medição do potencial zeta	38
4.2.4. Transmissão de luz	38
4.2.5. Morfologia.....	38
4.2.6. Medição de viscosidade.....	39
4.2.7. Termogravimetria	39
4.2.8. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier por refletância total atenuada.....	39
4.2.9. Difração de raios-X	39
4.2.10. Planejamento experimental	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. Análise de tamanho de partícula.....	40
5.2. Estabilidade das partículas em suspensão.....	42
5.3. Transmissão de luz	42
5.4. Morfologia	45
5.5. Viscosidade.....	48
5.6. Caracterização térmica.....	48
5.7. Espectroscopia vibracional por refletância total atenuada.....	50
5.8. Análise de DRX.....	52
5.9. Comparação dos parâmetros obtidos com de outros estudos e tratamentos	53
6. CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE - PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA.....	71

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia consiste na manipulação de partículas com tamanho médio menor que 1000 nm (CHIN et al., 2014). Ampliando este conceito, a *Food and Drug Administration* (FDA) considera que os materiais nanométricos são aqueles com dimensões entre 1-1000 nm, possuindo propriedades físicas, químicas ou efeitos biológicos que são atribuíveis as suas dimensões, sendo o nanômetro uma unidade que representa um bilionésimo do metro (DISNER; CESTARI, 2016).

O pequeno tamanho e, conseqüentemente, a grande área de superfície por massa das nanopartículas, conferem a elas propriedades específicas como por exemplo, atividade antioxidante, capacidade de carreamento de fármacos e penetração de barreiras celulares (DISNER; CESTARI, 2016). Do ponto de vista científico, o conceito de nanotecnologia é relativamente novo e o avanço na área tem sido gradual, estendendo-se até o presente com significativa participação da biotecnologia (ALMEIDA et al., 2015).

Entretanto, a depender da fonte selecionada para a obtenção de materiais em nanoescala, dúvidas relacionadas à toxicidade dos mesmos são preocupações que podem limitar determinadas aplicações. Em embalagens alimentícias, por exemplo, partículas podem migrar para o alimento acondicionado e com isso causar possíveis malefícios à saúde dos consumidores e ao meio ambiente, no caso da utilização de materiais sintéticos em nanoescala (ALMEIDA et al., 2015).

Devido a este fator, a utilização de materiais biopoliméricos como o amido na obtenção de nanopartículas tem atraído atenção devido à sua atoxicidade, além das partículas nanométricas em questão possuírem características como biodegradabilidade e boa biocompatibilidade em diversos meios. Outra vantagem na utilização do amido é a sua ampla disponibilidade na natureza, presente nas mais diversas fontes vegetais (IP et al., 2014; GONZÁLEZ; IGARZABAL, 2015; ZHANG et al., 2018).

Diferentes fontes amiláceas são utilizadas na produção de nanopartículas, sendo as fontes comerciais as mais utilizadas (KIM; PARK; LIM, 2015). Pode-se citar o milho, a mandioca, batata, trigo e o arroz como as principais fontes comerciais de amido (LIU et al., 2009; WATERSCHOOT et al., 2015). O interesse em se trabalhar com várias fontes botânicas de amido em nanotecnologia se dá, possivelmente, devido às diferentes proporções de amilose e amilopectina que cada fonte possui, influenciando diretamente o teor de cristalinidade do

amido nativo e conseqüentemente das nanopartículas obtidas (OATES, 1997; JIMÉNEZ et al., 2012).

A fruta-pão é um exemplo de fonte não-convencional de amido, com alguns estudos feitos em relação à sua caracterização (AKANBI; NAZAMID; ADEBOWALE, 2009; WANG et al., 2011; CAVALLINI, 2015). Ela encontra-se presente em regiões de clima tropical como o Brasil, e possui alto teor de carboidratos, dentre os quais o amido (CALZAVARA, 1987; WANG et al., 2011).

Devido ao seu alto teor amiláceo, a fruta-pão pode ser uma fonte utilizada na produção de nanopartículas de amido (NPA), com esta possibilidade também podendo acarretar no fomento do cultivo do fruto. Outro ponto importante, é que nenhum estudo sobre produção e caracterização de NPA utilizando esta fonte amilácea foi encontrado, podendo ser este o primeiro trabalho à respeito

A hidrólise ácida é a metodologia mais aplicada na obtenção de NPA. Porém ela possui algumas desvantagens, como baixos rendimentos de processo e longa duração do mesmo (KIM; PARK; LIM, 2015). Assim, tratamentos alternativos têm sido atualmente abordados, como no caso do ultrassom. A ultrassonicação possibilita a obtenção de NPA sem a necessidade de modificações químicas para a obtenção das mesmas, além de apresentar vantagens como tempo de processo consideravelmente menor quando em comparação com a hidrólise ácida, altos rendimentos e ser um tratamento de fácil aplicação (HAAJ et al., 2013, 2016).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi obter e caracterizar nanopartículas de amido oriundo da fruta-pão, produzidas através de tratamento ultrassônico.

2.2. Objetivos Específicos

- Obter nanopartículas de amido de fruta-pão utilizando sonicador de ponteira.
- Caracterizar as nanopartículas de amido em relação ao seu tamanho e índice de polidispersividade, potencial zeta, transmissão de luz, viscosidade em suspensão, morfologia, estabilidade térmica, estrutura molecular e padrão de difração de raios-X.
- Comparar e estudar os parâmetros das nanopartículas obtidas em relação ao amido nativo (sem processo de sonicação).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Fruta-pão

Conhecida cientificamente como *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, a fruta-pão é um fruto tropical, originário da região da Indonésia-Malásia, com cultivo favorecido em regiões quentes e úmidas (CALZAVARA, 1987). Possui formato arredondado, coloração verde e polpa branca, dividindo-se em duas variedades: a apyrena, conhecida por fruta-pão de massa, caracterizada por não possuir sementes, e a seminífera, conhecida por fruta-pão de caroço, apresentando sementes nos frutos. A variedade apyrena (Figura 1) é a mais utilizada como alimento, por ser rica em água e nutrientes (MOREIRA; CARVALHO; VASCONCELOS, 2006).

Figura 1- Fruta-pão tipo apyrena.



Fonte: Google imagens.

No Brasil, a fruta-pão é cultivada principalmente na região nordeste, além da região norte e em São Paulo. No Nordeste em específico, é comumente utilizada nas mesas em substituição ao pão devido à sua abundância e baixo custo, além dos altos preços e escassez do trigo (CALZAVARA, 1987; SOUZA et al., 2012). É também uma fonte alimentícia de extrema importância para os povos do Pacífico, Caribe e África, reduzindo a fome destes povos, além de trazer benefícios para saúde por possuir um alto valor nutricional, e com isso auxiliar em dietas e tratamentos de doenças (TURI et al., 2015; FAO, 2017).

Na composição da fruta-pão estão presentes diversos antioxidantes, antifúngicos, antimicrobianos, além de compostos que previnem a hipertensão e a tuberculose (SIKARWAR

et al., 2014). O fruto contém sódio, potássio, magnésio e vitaminas A, B6, C, D em sua composição, além de ser rico em carboidratos, vitaminas B1 e B2, cálcio, fósforo, ferro, e possuir baixo teor de lipídeos (EPSTEIN, 2000; FAO, 2017).

Além do consumo *in natura*, sua polpa pode ser cozida, assada, transformada em purê ou cortada em fatias fritas. Suas sementes também são aproveitadas para alimentação, podendo ser cozidas ou fritas em água e sal, sendo uma alternativa a outros alimentos como feijão e farinha de trigo (RAGONE, 1997; EPSTEIN, 2000). O fruto rapidamente amadurece em apenas 1-3 dias após a colheita, e sua vida de prateleira pode ser estendida por uma colheita cuidadosa e refrigeração com gelo durante o transporte. Os principais problemas no cultivo da fruta-pão são sua alta perecibilidade, produção sazonal, e suporte limitado para pesquisa, desenvolvimento e comercialização de produtos (RAGONE, 2011).

A fruta-pão é também aproveitada industrialmente, possuindo 27,82 g de carboidratos a cada 100 g de fruto (WANG et al., 2011), sendo utilizada como matriz energética para produção de bioetanol (FARIDA; SYAMSU; RAHAYUNINGSIH, 2015), produção de farinhas, frutas secas, batatas chips (RAGONE, 1997; EPSTEIN, 2000). Possui um conteúdo de amido entre 53-76%, com respectivo rendimento de extração na faixa de 14,30-18,50%, e teor de amilose variando entre 18,20-27,68% (NWOKOCHA; WILLIAMS, 2011).

3.2. Amido

O amido é um polissacarídeo de natureza semicristalina, com diâmetro variando entre 1-100 μm (TESTER; KARKALAS; QI, 2004) e sintetizado em forma de grânulos, a partir da fotossíntese dos vegetais (KIM et al., 2013a). É formado por cadeias de amilose (geradas por unidades de anidroglicose ligadas por ligações α -(1 \rightarrow 4) e poucas ligações α -(1 \rightarrow 6)) e cadeias de amilopectina (geradas por unidades de anidroglicose ligadas por ligações α -(1 \rightarrow 4) e ramificações por α -(1 \rightarrow 6)), com sua razão amilose/amilopectina variando a depender da fonte botânica. O amido geralmente possui de 20 a 25% de amilose e 75 a 80% de amilopectina (JIMÉNEZ et al., 2012).

É um dos mais abundantes polissacarídeos presentes na natureza, sendo um carboidrato de reserva alimentar de importância na dieta humana encontrado em cereais, leguminosas, tubérculos e frutas, com o mesmo sendo responsável por valores entre 20 e 50% da energia obtida em uma dieta balanceada (LIMA et al., 2012; GONÇALVES, 2013). Além do consumo, o amido é também aplicado nas indústrias de cosméticos, farmacêutica, têxtil e na área de

embalagens, podendo por exemplo possuir função de estabilizante, emulsificante, modificador de textura de alimentos e matriz formadora de bioplásticos (ANWAR et al., 2016; CAZÓN et al., 2017; KIM; PARK; KIM, 2017).

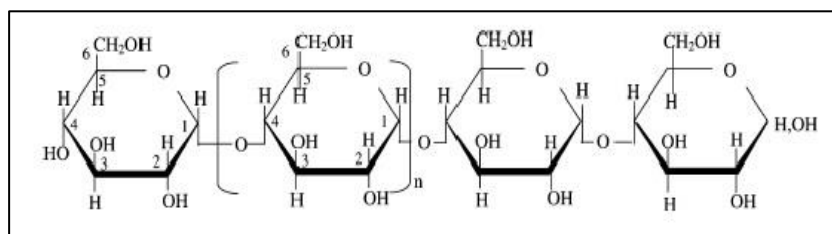
3.2.1. Amilose

As cadeias de amilose possuem natureza linear, geralmente sendo a fração predominante da região amorfa (desorganizada) do amido. Considera-se que as frações de amilose estão no grânulo como frações individuais, intercaladas aleatoriamente entre as frações de amilopectina e com proximidade entre si nas regiões cristalinas e amorfas (OATES, 1997; LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014).

O teor de amilose influencia diversas características do amido, como a capacidade de gelificação, podendo gerar filmes resistentes, além também da suscetibilidade à hidrólises e ao processo de retrogradação (PÉREZ, BERTROFT, 2010). Em sua composição, o amido pode possuir teores baixos de amilose, sendo denominados de amidos cerosos, praticamente livres de amilose e presente geralmente em grãos, ou elevados teores de amilose, como em grãos de milho com 50% a 85% e grãos de arroz com teor entre 35% a 40% de amilose (VANDEPUTTE, DELCOUR, 2004).

As frações de amilose podem estar presentes em forma de complexos com lipídeos (lisofosfolídeos ou ácidos graxos livres) como em amidos de cereais, ou simplesmente associadas entre si. Elas interagem com o iodo e álcoois, dando origem a complexos quando em soluções aquosas neutras (TESTER; KARKALAS; QI, 2004; VANDEPUTTE, DELCOUR, 2004). A estrutura da amilose está demonstrada na Figura 2.

Figura 2- Estrutura química da amilose.

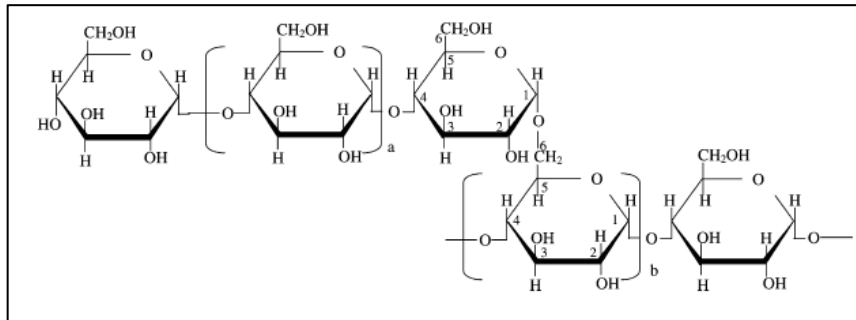


Fonte: Adaptado de Tester, Karkalas e Qi (2004).

3.2.2. Amilopectina

A amilopectina representa a fração ramificada do amido, arranjada em hélices duplas, as quais formam a estrutura cristalina (ou ordenada) devido ao seu empacotamento (ŠÁRKA; DVOŘÁČEK, 2017). Quando dispersa em água, é mais estável do que a amilose (PÉREZ, BERTROFT, 2010). A estrutura química da amilopectina é mostrada na Figura 3.

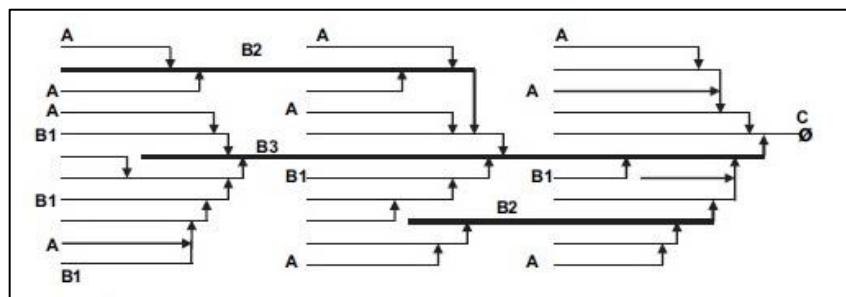
Figura 3- Estrutura química da amilopectina.



Fonte: Adaptado de Tester, Karkalas e Qi (2004).

A estrutura molecular da amilopectina é comumente representada através do modelo de *clusters* (ou cachos) de cadeias compactas com distribuição polimodal, com as quais sendo: cadeias A e B (ambas frações ramificadas), sendo estas frações curtas que formam os *clusters* (cachos), e a cadeia C (cadeia principal), arranjada em duplas hélices compactas que geram as regiões cristalinas, as quais possuem resistência às hidrólises ácida e enzimática (CORDENUNSI; LAJOLO; MENEZES, 2006; LAOHAPHATANALEART et al., 2010). A estrutura das cadeias de amilopectina em *clusters* está demonstrada na Figura 4.

Figura 4- Estrutura das cadeias de amilopectina.



Fonte: Gomand et al (2010).

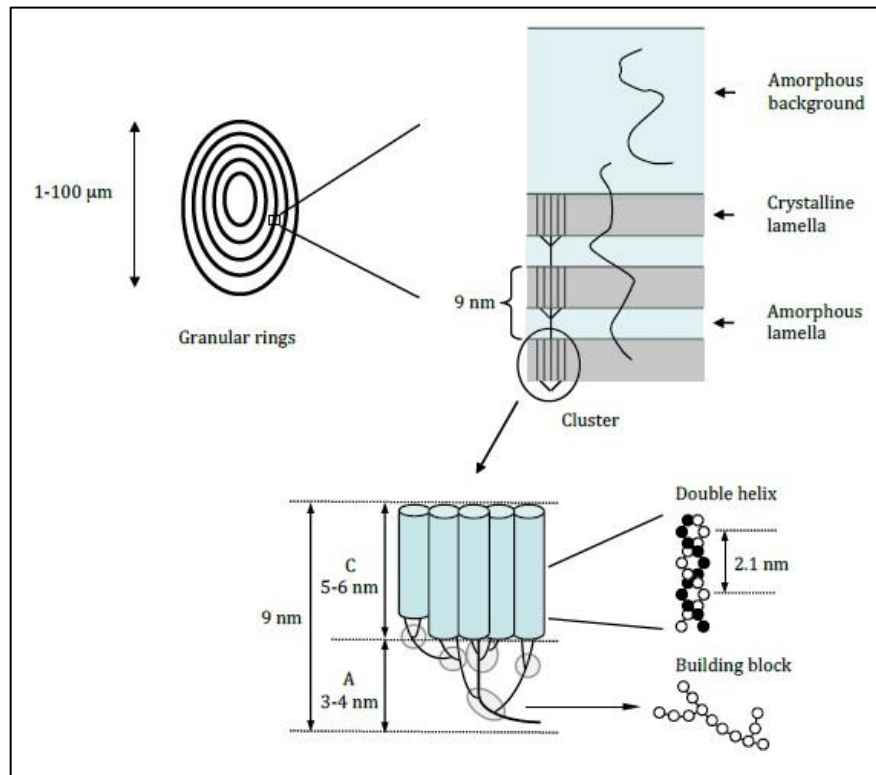
As cadeias A são aquelas ligadas diretamente às cadeias B por ligações α -(1 \rightarrow 6); as cadeias B são ligadas à outras cadeias B ou diretamente à cadeia C, levando as cadeias A nos pontos de ramificação. As cadeias demonstradas pelas linhas sólidas, representam monômeros

de glicose ligados por ligações α -(1 \rightarrow 4) (TESTER; KARKALAS; QI, 2004; GOMAND et al., 2010). A depender da fonte botânica do amido, a extensão e quantidade das cadeias B presentes podem ser classificadas de B1 a B3, localizadas nos *clusters* 1, 2 e 3, respectivamente (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

3.2.3. Estrutura granular

Os grânulos semicristalinos de amido possuem dimensões relacionadas diretamente à sua fonte botânica (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2011). São formados pela alternância das regiões amorfas e cristalinas dando origem aos chamados anéis de crescimento (com dimensões entre 120-500 nm), que são compostos por lamelas amorfas e cristalinas (9 nm) contendo cadeias de amilose e amilopectina (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010, 2011; LE CORRE, ANGELLIER-COUSSY, 2014). Como representados na Figura 5, os *clusters* formam a lamela amorfa. Já as cadeias externas ou principais, caracterizadas pelas duplas hélices, formam a lamela cristalina (LAOHAPHATANALEART et al., 2010).

Figura 5- Representação do grânulo de amido.



Fonte: Adaptada de Vamadevan (2013).

3.2.4. Componentes minoritários

O amido possui pequenos e diferentes teores de minerais em sua constituição a depender da fonte botânica, como fósforo, potássio, cálcio, magnésio e sódio, com apenas o fósforo possuindo importância funcional, além de pequenas quantidades de lipídeos e proteínas também fazendo parte da composição (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

O fósforo pode estar presente na forma de fosfolipídeos (encontrados geralmente em amidos de cereais) ou fosfatos monoésteres (normalmente presentes em amidos de tubérculos), que proporcionam diferentes propriedades em pastas de amido. Pastas ricas em monoésteres são mais viscosas e claras (PÉREZ, BERTROFT, 2010). O amido de batata se destaca entre outras fontes pelo alto teor de fosfato monoéster, podendo chegar a 0,1% (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

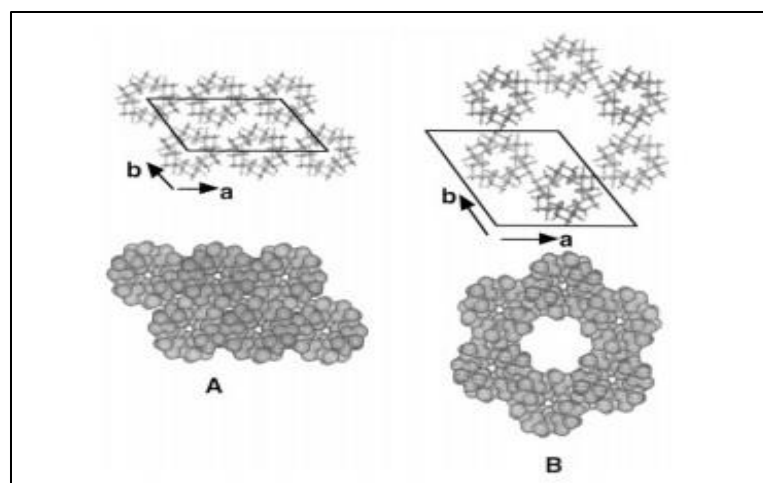
O teor de proteínas dos amidos é entre 0,1-0,7%, já os lipídeos podem chegar a 1,5%. Os lipídeos estão presentes, principalmente, em amidos de cereais, associados à amilose em forma de lisofosfolipídeos ou ácidos graxos livres (PÉREZ, BERTROFT, 2010).

3.2.5. Cristalinidade

Os amidos são matrizes com cristalinidade entre 15 a 45% a depender da relação amilose/amilopectina e são normalmente classificados em três tipos em relação a seu padrão de cristalinidade, sendo elas: A, B e C (OATES, 1997). Os amidos com padrão tipo A são caracterizados por possuir alto grau de empacotamento das cadeias, porém possuindo uma estrutura cristalina com poros superficiais, o que os torna vulneráveis a ataques de ácidos e enzimas. Amidos de cereais são os principais representantes da cristalinidade tipo A (DENARDIN; SILVA, 2008; KIM; PARK; LIM, 2015; COSTA, 2017).

Os amidos de cristalinidade do tipo B são caracterizados por arranjo hexagonal, com estruturas mais abertas, possuindo menor grau de empacotamento quando comparados aos amidos do tipo A, porém possuindo blocos cristalinos que funcionam como uma espécie de proteção aos grânulos, sendo assim mais resistentes a hidrólises. Os amidos do tipo B são os de tubérculos e amidos com alto teor de amilose (DENARDIN; SILVA, 2008; LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010; KIM; PARK; LIM, 2015). Os padrões de cristalinidade A e B dos amidos são representados na Figura 6.

Figura 6- Padrões de cristalinidade do amido dos tipos A e B com projeção no plano (a, b).



Fonte: Buléon et al (1998).

Já amidos de cristalinidade do tipo C são intermediários dos tipos A e B, e são encontrados em leguminosas, raízes, e em alguns frutos e caules (KIM; PARK; LIM, 2015). A literatura relata ainda um quarto tipo de cristalinidade, a do tipo V. Ela é gerada pela associação da amilose com lipídeos, emulsificantes e agentes complexantes, os quais induzem à sua rápida cristalização, que é proporcional ao teor de amilose presente no grânulo (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010). Neste tipo de padrão cristalino, a cinética de cristalização da amilose é maior do que a da amilopectina (CORRADINI et al., 2005).

Na tabela 1 estão ilustrados alguns tipos de amidos e suas respectivas fontes botânicas, além do tamanho médio, teor de amilose e padrão de cristalinidade.

Tabela 1- Tamanho médio, teor de amilose e cristalinidade de fontes botânicas de amido.

Origem botânica do amido	Milho	Trigo	Arroz	Milho ceroso	Alto teor de amilose	Mandioca	Batata	Batata doce
Tamanho médio (μm)	30	30	2-7	15	5-25	3-30	40-100	3-27
Teor de amilose (%)	25-28	25-29	20-25	0,5	60-73	28	20-25	19-22
Padrão de cristalinidade	A	A	A	A	B	B	B	C

Fonte: Adaptado de Le Corre, Bras e Dufresne (2010).

3.2.6. Gelatinização

Quando em meios aquosos sob aquecimento, os grânulos de amido se hidratam e incham. As estruturas cristalinas sofrem ruptura por conta da fusão dos cristais, desenrolando as duplas hélices e quebrando as ligações de hidrogênio, processo este denominado de

gelatinização, o qual dá origem a uma pasta ou gel viscoso. Ao resfriarem, as cadeias de amido desagregadas retrogradam gradualmente em estruturas parcialmente ordenadas que diferem daquelas nos grânulos nativos (WANG et al., 2015).

A temperatura de gelatinização depende do tamanho do grânulo de amido, sendo que pequenos grânulos são mais resistentes à ruptura e perda de ordem molecular, portanto necessitando de energia fornecida para o processo de gelatinização. A absorção de água também depende do tamanho do grânulo de amido, sendo quanto menor o tamanho dos grânulos, maior a capacidade de absorção. Após a gelatinização, a viscosidade do amido aumenta acentuadamente devido à falta de água, que atua como lubrificante entre os grânulos inchados (RINCÓN; PADILLA, 2004).

À medida em que ocorre o resfriamento da pasta, as cadeias de amilose e amilopectina se reassociam novamente, passando de um estado inicialmente amorfo para um estado de estruturas ordenadas ou cristalinas, processo este denominado de retrogradação (WANG et al., 2015). Os géis de amido retrogradados possuem diferentes propriedades, como menor susceptibilidade a hidrólise enzimática e ácida e menor solubilidade (TIAN et al., 2011).

3.3. Nanotecnologia

A nanotecnologia está presente na história da humanidade desde os tempos mais remotos, sendo utilizada pelos antigos sem que estes se dessem conta do que isto significava. Há aproximadamente 4000 anos A.C., os alquimistas egípcios utilizavam o “elixir de ouro”, feito por nanopartículas de ouro em suspensão, para restaurar a juventude. Os chineses produziam e aplicavam nanopartículas de carvão para produção de tintas. Na Europa medieval, nanopartículas de ouro eram utilizadas para formulação de vitrais de igrejas. A famosa Taça de Licurgo (século IV d.C) exibe uma cor verde quando a luz é refletida, mas é vermelha sob luz transmitida, e é constituída de nanopartículas de ouro e prata (FERREIRA; RANGEL, 2009).

O nascimento da ciência e tecnologia de nanomateriais se deu em 1959, quando o físico Richard Feynman propôs a ideia da manipulação de materiais a nível atômico para a produção de materiais que não existem de forma natural, desde que tais conceitos não violem as leis da natureza. Devido à visão à frente de seu tempo, hoje é considerado o “Pai da Nanotecnologia”. Entretanto o termo “nanotecnologia” só veio a surgir em 1974, criado por Norio Taniguchi, que o denominou como o conjunto de estudos e aplicações referentes aos objetos e processos na escala nanométrica (CADIOLI; SALLA, 2015).

As técnicas utilizadas na produção de nanopartículas são classificadas como *top-down* (“de cima para baixo”) e *bottom-up* (“de baixo para cima”). Nos processos *top-down*, as estruturas originais são decompostas em estruturas pequenas. Já nos processos *Bottom-up*, as nanopartículas são formadas por agrupamentos de átomos por átomos, moléculas por moléculas (BALASOORIYA et al., 2017). Partículas nanométricas apresentam grande área superficial por massa e, frequentemente, exibem propriedades mecânicas, ópticas, magnéticas ou químicas distintas de partículas e superfícies macroscópicas (QUINA, 2004).

Na natureza existem materiais naturalmente nanoparticulados, como o fulereno e pigmentos responsáveis por cores das asas de borboletas e em vegetais. Já as nanopartículas produzidas, são aquelas em contraste com as que existem na natureza ou são subprodutos de outras atividades. Exemplos são os nanotubos, óxidos metálicos (como TiO₂ e ZnO), outros nanomateriais metálicos (ouro e prata), semicondutores e nanomateriais orgânicos poliméricos (DISNER; CESTARI, 2016).

O interesse na produção das nanopartículas metálicas (NPM) se dá pelas suas propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas e catalíticas, sendo aplicadas nas áreas de construção de sensores, microeletrônica, catálise, células fotovoltaicas, além de possuir ação antimicrobiana (MELO JR et al., 2012). Entretanto para que seja possível a extração das NPM, tradicionalmente se emprega a utilização de solventes tóxicos, trazendo como consequência a geração de resíduos nocivos para a saúde e o meio ambiente. Outros problemas são o alto consumo de energia em processos geralmente complexos e com diversos passos a seguir, além da utilização de alguns metais pesados (SILVA et al., 2017a).

Os pontos negativos envolvidos na produção das nanopartículas metálicas podem ser amenizados ou eliminados através da utilização de biopolímeros na produção de nanoestruturas, já que estes materiais possuem caráter biodegradável e natureza atóxica, como no caso dos polissacarídeos (BENABID; ZOUAI, 2016; EVANGELINE et al., 2017).

De acordo com a empresa de pesquisa de mercado BCC Research (2018), o mercado global de produtos nanotecnológicos totalizou US \$ 2,0 bilhões em 2017 e estima-se que atinja US \$ 7,3 bilhões até 2022, crescendo a uma taxa de crescimento anual composta de 29,5% no período de 2017-2022, englobando as áreas de embalagens, automotiva, eletrônica, revestimento, produtos de consumo, têxtil, dentre outras. Alguns produtos em escala nanométrica já são comercializados, tais como dióxido de titânio, ouro, prata e cobre que, adicionados à plásticos e tintas, melhoraram o seu desempenho (FERREIRA; RANGEL, 2009).

3.3.1. Nanopartículas de amido

As nanopartículas de amido são biodegradáveis, possuem biocompatibilidade com diversos materiais e possuem maior área de superfície por massa do que o grânulo original (AMINI; RAZAVI, 2016; HAAJ et al., 2016). Elas podem ser aplicadas em diversos segmentos, como no setor farmacêutico (EL-FEKY et al., 2015), odontológico (JONES et al., 2017), na área de embalagens (CONDÉS et al., 2015; JIANG et al., 2016), além de utilização como substituto de gorduras (KAUR, 2016), matriz encapsulante (WINARTI et al., 2014) e emulsificante (TAN et al., 2014).

A Tabela 2 ilustra diversas metodologias abordadas na produção de nanopartículas de amido, com a hidrólise ácida e o amido de milho, em especial o ceroso, sendo o método de preparo e a fonte de amido mais utilizados, respectivamente, como também observado por Kim, Park e Lim (2015). De maneira geral, os tratamentos mais comuns na produção de NPA são os *top-down* (métodos de modificação por hidrólises (ácida ou enzimática) e métodos físicos). Em alguns estudos, combinações de diferentes metodologias são também empregadas.

Tabela 2- Fontes de amido e tratamentos utilizados na produção de NPA.

Fonte botânica de amido	Tratamento	Referências
Milho ceroso	Hidrólise ácida	Le Corre et al. 2013; Condés et al. 2015; Li et al. 2015
Milho ceroso	Hidrólise ácida	Romdhane et al. 2015; Dai et al. 2018
Milho ceroso	Hidrólise ácida	de la Concha et al. 2018; Jeong; Shin, 2018; Jo et al. 2018; Dai; Zhang; Cheng, 2019
Milho ceroso	Nanoprecipitação-ultrassom	Boufi et al. 2018
Milho ceroso	Hidrólise ácida-ultrassom	Kim et al. 2013b
Milho ceroso	Hidrólise enzimática-recristalização	Sun et al. 2014
Milho nativo	Hidrólise ácida	Utrilla-Coello et al. 2014; Condés et al. 2015
Milho nativo	Hidrólise ácida	Park et al. 2016
Milho nativo	Hidrólise ácida-ultrassom	Amini; Razavi, 2016
Milho nativo	Extrusão	Song; Thio; Deng, 2011

Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 2- Conclusão.

Fonte botânica de amido	Tratamento	Referências
Milho com alto teor de amilose	Formação de complexo-hidrólise enzimática	Kim; Lim, 2009
Milho com alto teor de amilose	Homogeneização a alta pressão	Liu et al. 2009
Mandioca	Ultrassom	Bravo et al. 2016
Mandioca	Hidrólise ácida	Costa et al. 2017
Mandioca	Radiação gama	Lamanna et al. 2013
Mandioca	Nanoprecipitação	Qin et al. 2016
Batata	Hidrólise enzimática	Jiang et al. 2016
Batata	Hidrólise ácida	Rajisha et al. 2014; Martinez et al. 2016
Batata	Ultrassom-nanoprecipitação	Chang et al. 2017
Arroz ceroso	Hidrólise enzimática	Kim; Park; Lim, 2008
Ervilha	Hidrólise ácida	Yu et al. 2008

As frações de amido remanescentes após os tratamentos *top-down* ou *Bottom-up* podem ser chamadas de nanopartículas ou nanocristais de amido, entretanto ainda não se tem um total consenso da diferenciação entre estes termos (KIM; PARK; LIM, 2015). Geralmente atribui-se a denominação de nanocristais para plaquetas cristalinas de pequenas dimensões específicas, obtidas pela ruptura da estrutura semicristalina do amido por hidrólise ácida ou enzimática (LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014; LIU et al., 2016). Le Corre, Bras e Dufresne (2012) denominam de nanocristais, plaquetas cristalinas com cerca de 10 nm de espessura e equivalentes de 50-100 nm. Já Haaj e colaboradores (2013), plaquetas com 5-7 nm de espessura, 20-40 nm de comprimento e 15-30 nm de largura, a depender da fonte botânica.

3.4. Ultrasonicação

O ultrassom é uma forma de energia transportada pelo som com frequência acima do limiar auditivo humano (acima de 20 kHz), sendo as ondas ultrassônicas capazes de causar transformações físico-químicas através da cavitação acústica (OGUTU et al., 2015). A cavitação consiste na geração, crescimento e eventual colapso de bolhas dentro de um líquido. À medida que as ondas ultrassônicas se propagam, as bolhas oscilam e colapsam, causando

efeitos térmicos, mecânicos e químicos (MAJID; NAYIK; NANDA, 2015). As ondas podem ser classificadas de acordo com sua frequência e intensidade, podendo ser de alta frequência (2 a 20 MHz) e baixa intensidade ($<1 \text{ Wcm}^{-2}$) ou baixa frequência (20 a 100 kHz) e intensidade alta (10 a 1000 Wcm^{-2}), com energia suficiente para romper ligações intermoleculares e capazes de modificar propriedades físicas (BERNARDO; ASCHERI; CARVALHO, 2016).

A ultrasonicação é empregada para diferentes fins em processos na indústria de alimentos, tais como: cristalização de gorduras e açúcares, degaseificação, homogeneização, extração de aromas, além de ação bactericida e utilização em tratamento de efluentes. Outra aplicação desta tecnologia é na modificação de carboidratos poliméricos como pectina, quitosana, gomas e o amido. Estes podem ser utilizados como agentes estabilizadores, emulsionantes, espessantes na indústria de alimentos. As reduções do tamanho desses colóides proporcionam a obtenção de partículas em escala micro e nanométrica, obtendo melhor absorção, capacidade de estabilização e solubilidade (OGUTU et al., 2015). Dois tipos de tratamento ultrassônico podem ser empregados, com as ondas podendo ser propagadas por meio de banho ultrassônico ou por uma sonda. No primeiro caso, o material é colocado em recipiente, o qual é imerso no banho. Já no segundo caso, o material entra em contato direto com uma sonda, a qual produz as ondas ultrassônicas que se propagam diretamente pela amostra (MASON, 1998).

No caso de dispersões de amido, o tratamento por ultrassom facilita a desintegração dos grânulos em nanopartículas, rompendo a estrutura granulométrica original do amido (HAAJ et al., 2016). A obtenção das nanopartículas de amido pelo processo ultrassônico se dá através da geração de ondas ultrassônicas emitidas em solução, formando bolhas de ar que entram em colapso e geram forças de cisalhamento. Essa energia é transferida aos grânulos de amido, causando o rompimento das suas cadeias poliméricas (mantidas por ligações covalentes) e originando partículas fragmentadas em menor escala (podendo ser nanométricas), as quais são de menor dimensão e mais dispersas em relação aos grânulos nativos (KIM; PARK; LIM, 2015; CHANG et al., 2017).

3.5. Exemplos de aplicações de nanopartículas de amido

3.5.1. Reforços de materiais

Uma possível aplicação para NPA seria em revestimentos de papéis, devido às nanopartículas funcionarem como melhor aglutinante do que o amido nativo por conta da absorção limitada deste por substratos de celulose. Outro problema na utilização do amido nativo como aglutinante seria sua maior viscosidade, que pode causar problemas operacionais (KIM; PARK; LIM, 2015). Assim, as NPA produzidas por ultrassom se tornam uma alternativa, evitando também possíveis diluições em processos industriais para redução da viscosidade.

Outro exemplo de possível aplicação em reforço de materiais pelas NPA seria em filmes poliméricos. Existem alguns estudos documentados na literatura que comprovam que filmes reforçados com NPA tiveram aumento de sua rigidez e resistência (HAAJ et al., 2016), além de redução da permeabilidade ao vapor de água e da absorção de água (SILVA et al., 2017b).

3.5.2. Substitutos de gorduras

As nanopartículas de amido de fruta-pão podem também ser aplicadas como substitutos de gorduras, sendo denominados de miméticos. Os miméticos de gordura são substâncias que imitam as propriedades organolépticas ou físicas dos triglicerídeos, mas que não podem substituir a gordura totalmente, grama-por-grama. Geralmente são constituintes alimentares comuns à base de proteínas ou carboidratos como o amido e a celulose, mas que podem ser quimicamente ou fisicamente modificados para imitar a função da gordura (AKOH, 1998).

Kaur (2016) desenvolveu um molho de salada em três diferentes formulações: Uma formulação controle utilizando 75% de óleo, outra utilizando amido nativo de milho e 55% de óleo, e uma última formulação, utilizando nanopartículas de amido de milho obtidas por ultrassonicação e 30% de óleo. Foi observado que a amostra com NPA de milho teve maior aceitabilidade por provadores que a avaliaram, possuindo melhor sabor e consistência do que as amostras, o que demonstrou que o tamanho das nanopartículas acabou por modificar estas propriedades. A combinação de NPA com outros componentes forma uma mistura semelhante a um creme, que possui propriedades semelhantes às das gorduras. Um outro ponto positivo na utilização das NPA como gorduras miméticas é a redução de calorias do alimento a que são submetidas, substituindo a gordura de alta caloria com carboidrato (KIM; PARK; LIM, 2015).

3.5.3. Modificações químicas para outras aplicações

Após a sua extração, as nanopartículas de amido podem passar por algum tipo de tratamento químico, a depender da potencial aplicação. Um exemplo, é em relação ao apelo funcional. As NPA podem passar por reação de reticulação para obter a função de amido resistente, que consiste na junção do amido e seus produtos de degradação que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos, funcionando como fibra dietética (JEONG; SHIN, 2018). Estes autores submeteram suas NPA à modificação química citada anteriormente, e obtiveram nanopartículas resistentes, com possível aplicação em alimentos em estado líquido.

Uma possível aplicação como emulsificante também gera a necessidade de modificação química das NPA. Wei e colaboradores (2016) modificaram quimicamente nanocristais de amido de milho por sililação, promovendo uma modificação superficial hidrofóbica e com isso aumentando o caráter hidrofóbico dos cristais. Como consequência, os nanocristais modificados hidrofobicamente apresentaram grande compatibilidade com solventes apolares.

3.6. Parâmetros e Técnicas de caracterização de nanopartículas

3.6.1. Espalhamento dinâmico de luz

Light scattering (LS) ou espalhamento de luz, é um método não destrutivo para o estudo de fluídos complexos incluindo suspensões coloidais, dispersões de polímeros e biopolímeros, sistemas de micelas e nanopartículas de uma forma geral. Trata-se de uma metodologia que utiliza a luz visível como fonte de energia e ângulos de observação facilmente obtidos para detecção da luz espalhada (SCHMITZ; PERES; SILVEIRA, 2011). O movimento browniano das partículas em suspensão, que consiste no movimento aleatório de partículas microscópicas imersas em fluido, faz com que a luz seja espalhada com intensidades diferentes (IFUSP, 2011; MALVERN, 2017).

O LS é classificado como estático (que determina o raio de giro e a massa molar das partículas) ou dinâmico (determinando o raio hidrodinâmico e o índice de polidispersividade) (SCHMITZ; PERES; SILVEIRA, 2011). O *Dynamic Light Scattering* (DLS) ou espalhamento de luz dinâmico, é uma técnica versátil e utilizada para a medição de tamanho de nanopartículas em suspensão (CHEN et al., 2013).

3.6.1.1. Potencial Zeta

A maioria das partículas dispersas em sistema aquoso adquire carga na superfície, principalmente por ionização ou adsorção de espécies carregadas. As cargas da superfície modificam a distribuição dos íons na interface, resultando em uma camada ao redor da partícula. Esta camada, denominada de potencial zeta, consiste no potencial elétrico que existe entre partículas em suspensão, e é um parâmetro de extrema importância no estudo de nanopartículas por ser um importante indicador de estabilidade das mesmas (BENITEZ; LOZANO, 2006).

3.6.2. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica possibilita a visualização de detalhes que não são detectados em microscópios ópticos, utilizando feixes de elétrons refratados por meio de lentes em substituição aos fótons, propiciando imagens com maior resolução (RAMOS, 2013). O microscópio eletrônico pode produzir aumentos úteis de imagem de 200.000 a 400.000 vezes, permitindo obter informações relacionadas à morfologia do objeto de estudo, como em relação à sua estruturação e composição de amostras biológicas, polímeros, metais, entre outros (GALLETI, 2003; USP, 2017).

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma das mais versáteis para o estudo de características microestruturais. Possui como ponto positivo a alta resolução, possibilitando a geração de imagens tridimensionais (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007). A MEV proporciona uma análise superficial da amostra, em contraste à microscopia eletrônica de transmissão (MET), que permite uma varredura mais interna, gerando detalhes mais finos e sendo assim mais indicada para estudos a nível molecular (GALLETI, 2003). De maneira geral, o princípio de atuação da MEV consiste na utilização dos feixes de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, onde os sinais elétricos produzidos pela interação dos feixes com a superfície da amostra, são traduzidos na forma de imagens (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007; USP, 2017).

Amostras que não conduzem corrente elétrica devem ser previamente revestidas de superfície condutora para o procedimento de análise de MEV, com o objetivo de evitar sobreaquecimentos e otimizar os níveis de emissão de elétrons na amostra, assim melhorando a qualidade das amostras obtidas. Este procedimento é denominado de metalização (RAMOS, 2013). Para estudos de morfologia em amidos nativos, a MEV é um procedimento comumente aplicado (SUN et al., 2014; UTRILLA-COELLO et al., 2014; MUKURUMBIRA; MELLEM; AMONSOU, 2017).

3.6.3. Microscopia eletrônica de transmissão

Para análises de imagens de materiais biológicos como pequenas partículas em suspensão como macromoléculas ou estruturas a nível celular, a microscopia eletrônica de transmissão é aconselhável. Nesta técnica, o feixe de elétrons interage com a amostra à medida que a atravessa, com a amostra disposta entre a fonte de elétrons e um anteparo, onde a imagem é formada devido ao impacto dos elétrons transmitidos e difratados. A imagem gerada é uma projeção bidimensional da amostra (USP, 2017).

Entretanto, em caso de partículas muito pequenas, é necessário um preparo da amostra visando uma representação tridimensional. A técnica denominada de contrastação negativa consiste no envolvimento das partículas em soluções contrastantes de metais pesados, o que faz as imagens geradas se comportarem como um negativo, com o elemento de estudo se tornando claro (BARTH, 2007). Os contrastantes de acetato de uranila são utilizados no tratamento de amostras de nanopartículas de amido nas análises de MET, com seu uso documentado em vários estudos (KIM; LIM, 2009; LAMANNA et al., 2013; AMINI; RAZAVI, 2016; WEI et al., 2016).

3.6.4. Transparência

Como mencionado anteriormente, suspensões aquosas de amido nativo apresentam normalmente coloração branca, possuindo aspecto leitoso. A solubilidade do amido é relacionada diretamente com a clareza da suspensão, assim quanto mais solúvel o amido, mais transparente é a suspensão (GONÇALVES et al., 2014).

Uma suspensão de amido transparente é definida como aquela que proporciona uma visualização nítida de um objeto visto através dela. A transparência de dispersões de amido pode ser determinada através da sua capacidade de dispersão ou transmissão de luz, mensurada em função do comprimento de onda de duplo-feixes de radiação aplicados por espectrofotômetro (CRAIG et al., 1989).

3.6.5. Difração de raios-X

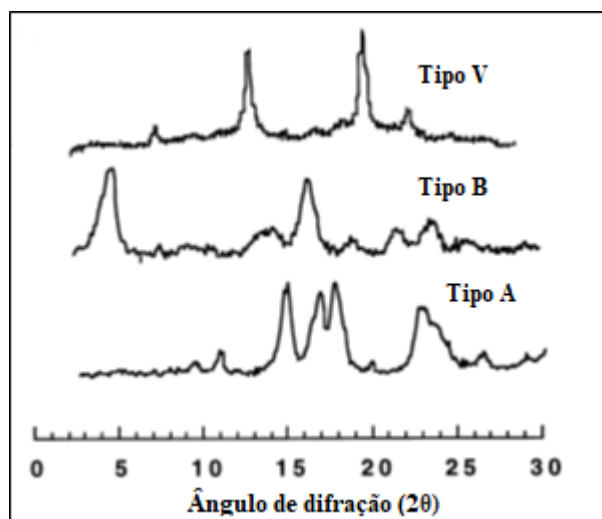
Os raios-X são radiações eletromagnéticas semelhantes à luz, porém de comprimento de onda muito menor. São produzidos pela rápida desaceleração de partículas eletricamente

carregadas de energia cinética, e mensurados comumente pela unidade de medida denominada de angstrom (\AA), que equivale à 10^{-10} m. O nanômetro é a unidade padronizada no sistema internacional para comprimentos de onda na região de raios-X, em que 1 nm equivale à 10\AA (CULLITY; STOCK, 2014).

Feixes de raios-X quando incididos em sólidos, acabam por interagir com os elétrons dos átomos do objeto de estudo, provocando o fenômeno da difração de raios-X (DRX), que segundo a lei de Bragg, ocorre quando feixes monocromáticos de determinado comprimento de onda (λ) incidem sobre a amostra à um ângulo (θ), resultando em feixes difratados. Os feixes difratados são geralmente obtidos em função de ângulo de espalhamento 2θ (ângulo entre a onda incidente e onda espalhada) e expressos em picos, dando origem a um gráfico denominado difratograma (GOBBO, 2009).

Cada composto apresenta um perfil difratométrico único. Dessa forma, é possível obter informações relacionadas à composição dos materiais, revelando detalhes de sua estrutura interna e conseqüentemente permitindo sua identificação através das posições angulares e intensidade dos picos (GOBBO, 2009; CULLITY; STOCK, 2014), como ilustrado na Figura 7. Em relação ao amido, a análise do seu perfil difratométrico permite a identificação de seu respectivo padrão de cristalinidade através dos picos, os quais são relacionados à região cristalina, além da possibilidade do cálculo da sua cristalinidade relativa.

Figura 7- Padrões de difração de raios-X de amidos de cristalinidade V, B e A.



Fonte: Adaptado de Buléon et al (1998).

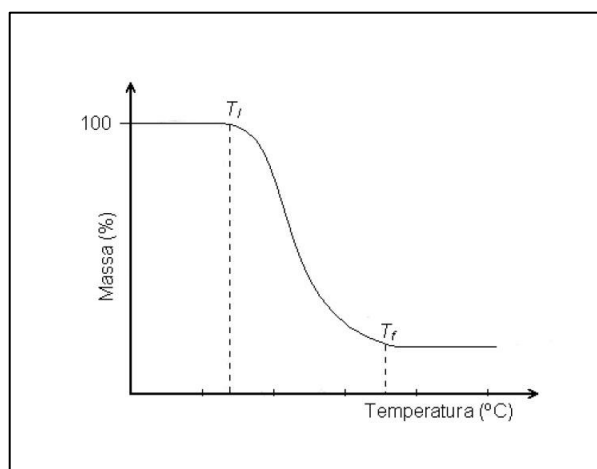
3.6.6. Termogravimetria

A termogravimetria é uma técnica empregada na caracterização do perfil de degradação de polímeros, e consiste na medida da variação da massa de uma amostra em função da temperatura ou do tempo. Determinados materiais quando expostos à altas temperaturas podem sofrer mudanças em sua estrutura, modificando suas propriedades físico-químicas (RIBEIRO, 2009). O procedimento é realizado através de uma termobalança, que permite a pesagem da amostra em função da temperatura (DENARI, CAVALHEIRO, 2012).

A amostra estudada pode ser resfriada ou aquecida, ou mantida em uma temperatura fixa, em uma velocidade pré-estabelecida. No caso de amostras poliméricas como o amido, geralmente adota-se o programa de aquecimento a velocidades de 5 a 10 °C/min. As análises são feitas sob queima de fluxo de gases, em geral nitrogênio devido a este ser inerte, proporcionando a amostra estar em condições térmicas mais estáveis (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

À medida em que sofre degradação, o material perde massa sob forma de voláteis, com um sensor presente no equipamento registrando esta perda em uma curva de decomposição térmica do material, a qual é representada na Figura 8. T_i e T_f correspondem, respectivamente, à menor temperatura que coincide ao início da variação da massa, e à menor temperatura relacionada ao fim da variação. Como é possível observar, os resultados são expressos em % de massa perdida (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001). As curvas de decomposição também permitem obter informações sobre a composição de determinado composto intermediário que pode ter sido formado (RIBEIRO, 2009).

Figura 8- Curva de decomposição térmica de um material.



Fonte: Lucas, Soares e Monteiro (2001).

A partir das curvas geradas pode-se obter suas derivadas, conhecidas como DTG (curvas termogravimétricas derivativas), que avaliam com maior clareza a variação da massa em função da temperatura (dm/dT). As DTG são úteis em casos de sobreposições de picos nas análises termogravimétricas, permitindo também a visualização do ponto da maior taxa de mudança das curvas de % de perda de massa, isto é, o ponto de inflexão, indicado por um pico, facilitando a identificação dos eventos e a extração dos dados das curvas (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001; AKAY, 2012).

3.6.7. Espectroscopia por refletância total atenuada

Os métodos espectroscópicos de análise são baseados na medida da quantidade de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas. A radiação eletromagnética pode ser descrita como uma onda com propriedades como comprimento de onda, frequência, velocidade e amplitude, podendo estar nas regiões do ultravioleta/visível e algumas vezes no infravermelho (IV) (SKOOG et al., 2006). A radiação da região do infravermelho é tratada em números de onda (cm^{-1}), unidade proporcional à energia, indo de 4000 a 400 cm^{-1} (UFJF, 2018).

Para que uma determinada molécula apresente absorção no IV, suas vibrações moleculares devem resultar numa alteração do momento dipolar. As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais e deformações angulares. As deformações axiais são as alterações da distância internuclear dos átomos envolvidos, ou seja, aumento e diminuição dessa distância, alternadamente. Já as deformações angulares podem consistir de uma mudança no ângulo de ligação com um grupo de átomos ou o movimento de um grupo de átomos em relação ao restante da molécula (FORATO et al., 2010).

Cada ligação química possui uma frequência natural de vibração característica, porém, em diferentes compostos, a mesma ligação estará em diferentes condições. Consequentemente, seus padrões de absorção (ou espectro infravermelho) serão distintos. As absorções de cada tipo de ligação são encontradas em pequenas regiões do IV, com cada região de absorção sendo específica para tipo de cada ligação química. Com isso, é possível se obter informações a respeito da estrutura molecular do objeto de estudo (UFJF, 2018).

Assim, a espectroscopia na região do IV é uma técnica muito importante em análises orgânicas, sendo amplamente utilizada na identificação e avaliação estrutural de compostos orgânicos nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas (LOPES; FASCIO, 2004). Dois tipos de espectrômetros são empregados na espectroscopia IV:

os do tipo dispersivo e os de transformada de Fourier, sendo este último vantajoso por poder detectar todos os comprimentos de onda ao mesmo tempo e pela maior sensibilidade do equipamento e aproveitamento da potência, portanto sendo mais preciso (SKOOG et al., 2006).

O acessório de refletância total atenuada (ATR) proporciona a passagem de um feixe de radiação de um meio mais denso para um meio menos denso utilizando cristais, ocorrendo o fenômeno da reflexão. A radiação penetra à uma pequena distância dentro da amostra, sendo esta penetração chamada de onda evanescente. A amostra interage com a onda evanescente, resultando na absorção da radiação pela amostra, que corresponde ao seu espectro de transmissão. Uma das vantagens do acessório de ATR é a obtenção de espectros de absorção de uma ampla variedade de tipos de amostras, como pós, pastas ou suspensões (SAMPAIO, 2012).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para os experimentos foi utilizado amido de fruta-pão (50% de amilose), obtido por Amorim (2017). Os frutos utilizados para a extração do amido foram da variedade apyrena.

4.2. Métodos

4.2.1. Preparação das nanopartículas de amido de fruta-pão

As NPA foram preparadas da maneira documentada por Haaj e colaboradores (2013), com algumas modificações. Foram preparados 40 mL de suspensão aquosa de amido de fruta-pão à concentração de 0,5%, em seguida passando por tratamento ultrassônico utilizando sonificador QSonica modelo Q55 (potência de 50 W) por 75 minutos à 100% de potência. Após o término do tratamento ultrassônico, parte da suspensão foi congelada à -80 °C e liofilizada a vácuo durante 48h utilizando liofilizador Liotop modelo L108, que opera estabilizado a temperaturas < -45 °C e pressão de vácuo < 500 µHg. As NPA foram liofilizadas para realização da termogravimetria, avaliação do padrão de difração de raios-X (DRX) e da estrutura molecular por Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier por refletância total atenuada.

4.2.2. Tamanho médio de partícula e índice de polidispersividade

Como efetuado por Condés e colaboradores (2015), os parâmetros em questão das nanopartículas foram obtidos através do equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., UK) à 25 °C e ângulo de dispersão de luz de 173°, sendo feitos em triplicatas.

4.2.3. Medição do potencial zeta

O potencial zeta também foi mensurado sob equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., UK) à 25 °C e ângulo de dispersão de luz de 173°, obtido em triplicatas.

4.2.4. Transmissão de luz

Seguindo a metodologia de Haaj e colaboradores (2013), com modificações, as transmitâncias das dispersões das nanopartículas (sob diferentes intervalos de sonicação) foram mensuradas no intervalo de 350-550 nm utilizando espectrofotômetro ultravioleta-visível (Biospectro SP-220), 24 horas após o preparo e manutenção das dispersões à temperatura ambiente.

4.2.5. Morfologia

As análises morfológicas do amido nativo e das NPA de fruta-pão foram feitas baseadas em Sun e colaboradores (2014) e Amini e Razavi (2016), respectivamente, com modificações. O amido nativo foi previamente metalizado por aproximadamente 2 minutos, utilizando o metalizador DENTON VACUUM (modelo DESK V) e analisado por MEV, utilizando microscópio eletrônico de varredura JEOL (modelo JSM-6610LV à 30 kV).

A análise morfológica das NPA foi feita através da MET, utilizando microscópio de transmissão JEOL (modelo JEM-1230 operando a 80 KV). Para isso, previamente a amostra foi diluída na proporção de (1:500) em água destilada. Em seguida, uma gota da suspensão diluída das NPA foi colocada em grade de cobre, a qual foi em seguida corada com solução aquosa a 2% de acetato de uranila e por fim seca à temperatura ambiente por 24h para a obtenção das imagens.

4.2.6. Medição de viscosidade

As viscosidades aparentes do amido nativo e das NPA de fruta-pão em suspensão foram determinadas com base em Chang e colaboradores (2017), com modificações. Foi utilizado o viscosímetro Brookfield DV-II+ Pro, na rotação de 150 rpm em spindle N° 61. As medidas foram obtidas em quintuplicatas.

4.2.7. Termogravimetria

O método foi executado com modificações conforme Le Corre, Bras e Dusfrene (2012), utilizando analisador termogravimétrico (Modelo Pyris 1 TGA da Perkin Elmer). Amostras de aproximadamente 5 mg de amido nativo e das nanopartículas foram pesadas em porta-amostra, e aquecidas de 25 a 600 °C a uma razão de 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio (20 mL/min).

4.2.8. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier por refletância total atenuada

Os espectros do amido e das nanopartículas foram obtidos em espectrômetro vibracional (Paragon 1000 Perkin-Elmer Spectrum), na região do infravermelho, com transformada de Fourier equipado com acessório de ATR na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} , 128 scans e resolução de 2 cm^{-1} . Os parâmetros para a análise foram estabelecidos de acordo com Jivan, Madadlou e Yarmand (2013), com modificações.

4.2.9. Difração de raios-X

As estruturas cristalinas do amido nativo e das nanopartículas foram determinadas por difratômetro de raios-X como proposto por Wei e colaboradores (2016), no intervalo de 4-35° (2 θ), a 2,0°/min.

4.2.10. Planejamento experimental

As suspensões das NPA foram obtidas em 3 repetições. Os valores médios e desvios padrão do tamanho médio das partículas, potencial zeta, índice de polidispersividade e

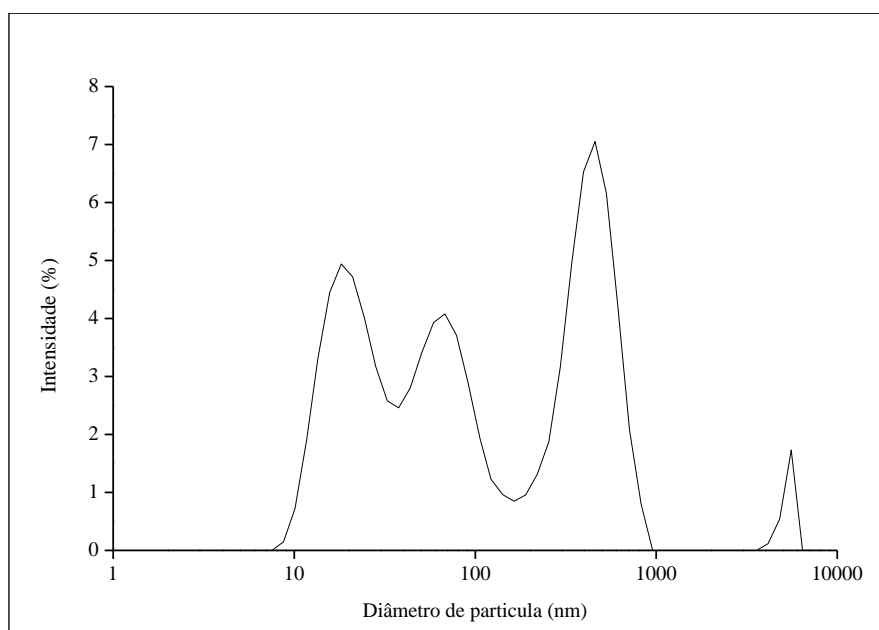
viscosidade foram relatados. Foi utilizado o software Origin 8.0 (OriginLab, Massachusetts, U.S.A.) para o tratamento dos dados obtidos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise de tamanho de partícula

As NPA obtidas apresentam distribuição polimodal como mostrado na Figura 9.

Figura 9- Distribuição do tamanho das nanopartículas obtidas do amido de fruta-pão.



Fonte: Autoria própria (2018).

A primeira população de partículas (da esquerda para direita), apresenta faixa de distribuição de tamanho de 8,72-37,80 nm e corresponde à 35,20% da população total. A segunda população corresponde a um intervalo de 43,80-164,00 nm e 23,30%, e por fim a terceira população, com faixa de 190,00-955,00 nm e 38,10% das partículas, sendo este o intervalo em maior intensidade. Observou-se a presença de uma quarta população com tamanho médio de 4836,67 nm, representando 3,40% do total. Hebeish e colaboradores (2014) destacam que pode existir uma tendência das nanopartículas se aglomerarem em meio aquoso durante a determinação do seu tamanho, e dessa forma o tamanho medido será das nanopartículas agrupadas ao invés das partículas individuais, o que justificaria o valor encontrado nesse

trabalho para quarta população. No entanto, de maneira geral, as nanopartículas obtidas nesse estudo possuíram tamanho médio de $145,65 \pm 50,56$ nm.

Em relação ao índice de polidispersividade, o valor obtido foi de $0,46 \pm 0,06$. O PDI consiste na medida da distribuição de tamanhos das cadeias poliméricas, variando em uma faixa de 0,0 a 1,0. Valores próximos de zero indicam uma distribuição homogênea e boa qualidade da suspensão coloidal, já aqueles maiores que 0,5 indicam alta heterogeneidade (AVADI et al., 2010; SCHMITZ; PERES; SILVEIRA, 2011; HEBEISH et al., 2014). O valor médio obtido, portanto, indica que as nanopartículas possuem uma distribuição homogênea.

Haaj e colaboradores (2013) pontuam que acima de 80% de potência (W), a forte atividade da cavitação tende a aumentar a coalescência entre as bolhas, o que diminui a eficiência dos efeitos químicos e físicos proporcionados pelo tratamento ultrassônico. Como ilustrado na Tabela 3, em outros trabalhos já documentados na literatura apenas uma parte da potência total foi utilizada. Entretanto, neste estudo foram utilizados 100% de potência, pois apenas à potência máxima foi possível observar a diminuição da turbidez das suspensões, o que significa que o processo de fragmentação dos grânulos estava de fato acontecendo.

Tabela 3- Tratamentos ultrassônicos utilizados na produção de NPA, condições de processo empregadas e tamanho médio das nanopartículas obtidas.

Condições de processo	Dimensões ou Tamanho médio (nm)	Referência do estudo
75 min, 80% de potência (136 W)	30-100 (milho)	Haaj et al., 2013
30 min, 100% de potência (100 W)	453 (pinhão)	Gonçalves et al., 2014
75 min, 80% de potência (40 W)	> 400 (milho); 60 (mandioca)	Bravo et al., 2016
75 min, 80% de potência (136 W)	37 (milho ceroso)	Haaj et al., 2016
75 min, 70% de potência (35 W)	75 (mandioca)	Santana et al., 2016
75 min, 80% de potência (40 W)	<100 (mandioca)	Silva et al., 2017b
75 min, 100% de potência (50 W)	145,65 (fruta-pão)	Andrade et al., 2018
75 min, 70% de potência (35 W)	51,76-377,12 (mandioca)	Santana et al., 2019

Fonte: Autoria própria (2018).

Alguns dos parâmetros que podem interferir no tamanho das nanopartículas geradas pela ultrassonicação são o tempo de exposição ao tratamento, sendo que com o aumento do tempo de sonicação é possível reduzir ainda mais o tamanho dos grânulos (BERNARDO; ASCHERI; CARVALHO, 2016), o tamanho do grânulo do amido nativo, que é dependente de sua origem botânica (LE CORRE, BRAS, & DUFRESNE, 2010) e a potência utilizada.

Como ilustrado na Tabela 3, Haaj e colaboradores (2016) e Bravo e colaboradores (2016) produziram nanopartículas de amido de milho, respectivamente, de diâmetro médio de

37 nm à 136 W (primeiro estudo) e maior que 400 nm à 40 W (segundo estudo), indicando que maiores potências empregadas e o tamanho das partículas obtidas são diretamente proporcionais.

Bravo e colaboradores (2016) produziram nanopartículas de amido de milho com tamanho superior à 400 nm. Já Silva e colaboradores (2017b) obtiveram nanopartículas de amido de mandioca com 93,1% das partículas tendo diâmetro médio de 77,51 nm. Em ambos os trabalhos, o sonicador e as condições de tempo de sonicação e potência utilizados foram idênticos aos empregados no presente estudo (75 minutos e 40 W).

5.2. Estabilidade das partículas em suspensão

O valor médio do potencial zeta das NPA foi de $-16,93 \pm 0,50$ mV. Quanto maior, em módulo, o valor zeta, mais estável um sistema estará devido a repulsão entre as cargas, evitando a aglomeração de partículas. Valores maiores que +30 mV ou menores que -30 mV são referentes à sistemas estáveis (BENITEZ; LOZANO, 2006), sendo o sinal das cargas relacionado com a natureza das partículas (SOPPIMATH et al., 2001). A carga superficial negativa das nanopartículas de amido se dá pela presença dos grupamentos aniônicos em meio aquoso e o valor obtido do potencial zeta indica, portanto, tendência de agregação das nanopartículas. Esta tendência se dá pela insuficiência de cargas negativas (HAAJ et al., 2016). Esse resultado contribui para explicar a possível aglomeração das partículas apresentada na distribuição de tamanho.

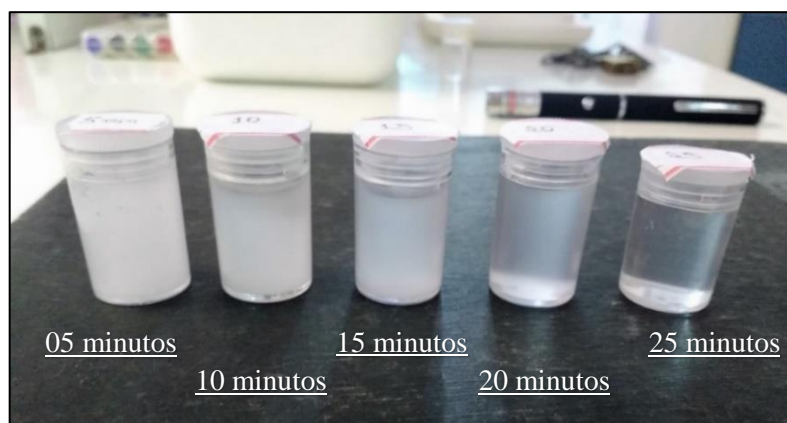
Em outros estudos sobre produção de NPA apenas utilizando a ultrasonicação, comportamento semelhante em relação à instabilidade das nanopartículas também foi observado. Bravo e colaboradores (2016) produziram NPA utilizando amidos de mandioca e de milho, com potencial zeta de valores iguais a -8,70 mV e -1,90 mV respectivamente. Silva e colaboradores (2017b) obtiveram NPA de amido de mandioca com potencial zeta igual a -8,67 mV.

5.3. Transmissão de luz

Entre 15 e 25 minutos de sonicação mudanças na turbidez da suspensão das nanopartículas foram visivelmente perceptíveis, com a mesma tornando-se totalmente transparente ao fim deste intervalo. Em 25 minutos de sonicação o diâmetro médio das NPA

foi de $228,40 \pm 70,70$ nm, o que indica que houve redução de tamanho até o tempo final do processo (75 minutos) já que o diâmetro médio foi de 145,65 nm, como apresentado no tópico 5.1. Com o objetivo de avaliar a influência do tempo de sonicação sob a transparência, diferentes intervalos de sonicação foram também avaliados (Figura 10).

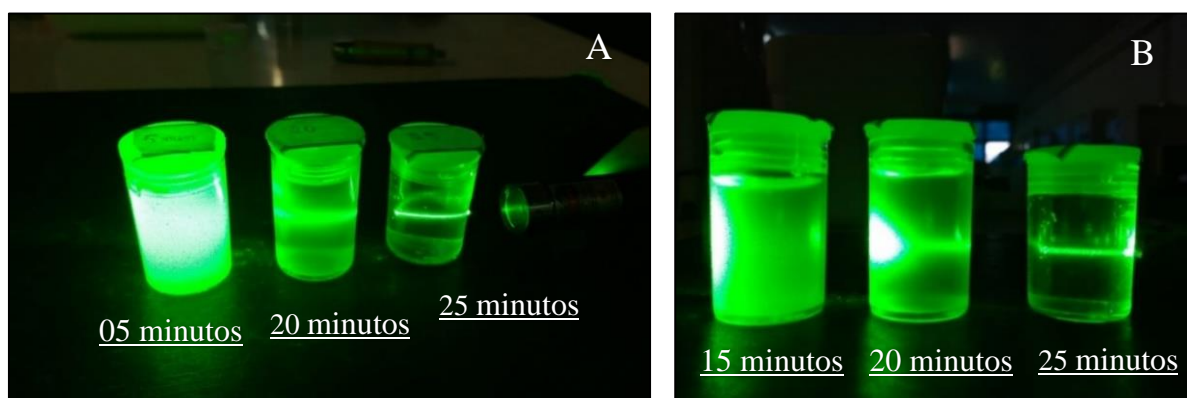
Figura 10- Dispersões de amido de fruta-pão sob diferentes intervalos de sonicação.

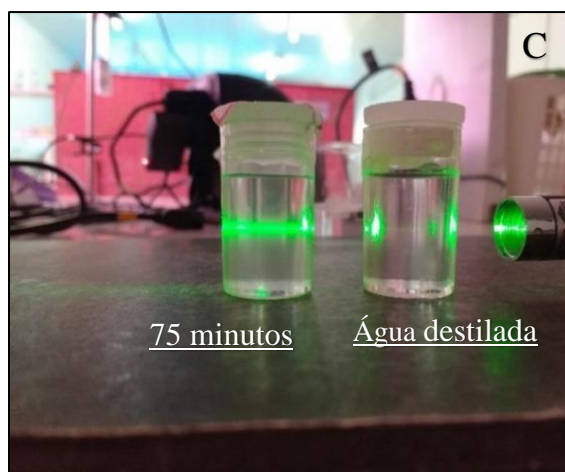


Fonte: A autoria própria (2018).

A dispersão da luz é diretamente relacionada com o tamanho de partículas em suspensão. Ao se direcionar feixes de luz diretamente sob suspensões coloidais, partículas muito pequenas (como no caso deste estudo) são comparadas aos comprimentos de onda da luz incidente, ocorrendo o processo de difração, em que cada partícula no caminho da luz se comporta como se fosse uma fonte de luz secundária (CRAIG et al., 1989; HAAJ et al., 2013). Como as partículas de dimensão coloidal espalham a radiação visível, o caminho do feixe que atravessa a dispersão pode ser visto a olho nu, sendo esse fenômeno denominado de efeito Tyndall (SKOOG, 2006). O fenômeno em questão foi observado, como registrado na Figura 11.

Figura 11- Efeito Tyndall nas dispersões de NPA.



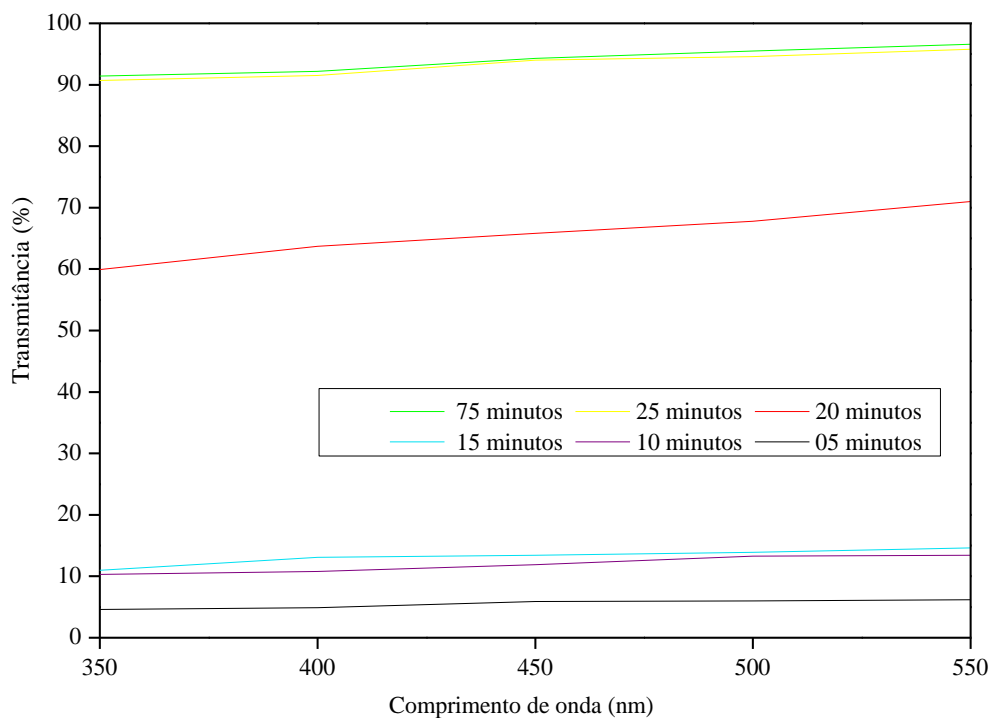


Fonte: Autoria própria (2018).

As dispersões sob menores tempos de sonicação tiveram menor transparência e maior intensidade de luz dispersa (Figuras 11A e 11B). Segundo Craig e colaboradores (1989), partículas de maior diâmetro dispersam mais radiação luminosa, assim, pode-se estabelecer uma relação direta entre tempo de sonicação, diâmetro de partícula e transmissão de luz. A transparência das dispersões é, portanto, um parâmetro que confirma a fragmentação das partículas em escala nanométrica, algo também observado por Boufi e colaboradores (2018) em seu estudo. A difração da luz pelas nanopartículas também foi observada ao se direcionar o feixe de luz na dispersão de 75 minutos e de água destilada (Figura 11C), sendo, que no caso da água, o fenômeno não foi observado devido à ausência de partículas coloidais em suspensão.

As curvas de transmitância (Figura 12) corroboram claramente a observação da relação do aumento da transparência das dispersões com o aumento do tempo de sonicação, com a dispersão sonicada por 75 minutos possuindo 96,6% de transmitância à 550 nm. Também notou-se nas curvas grande mudança na transparência das dispersões entre 15 e 25 minutos de sonicação, com 14,6% de transmitância em 15 minutos, 71,0% a 20 minutos, e 95,8% em 25 minutos (valores correspondentes à 550 nm). Em seus estudos, Haaj e colaboradores (2013, 2016) obtiveram suspensões de NPA excedendo 80% de transmitância à 800 nm.

Figura 12- Curvas de transmitância das dispersões sob diferentes intervalos de sonicação e comprimentos de onda.

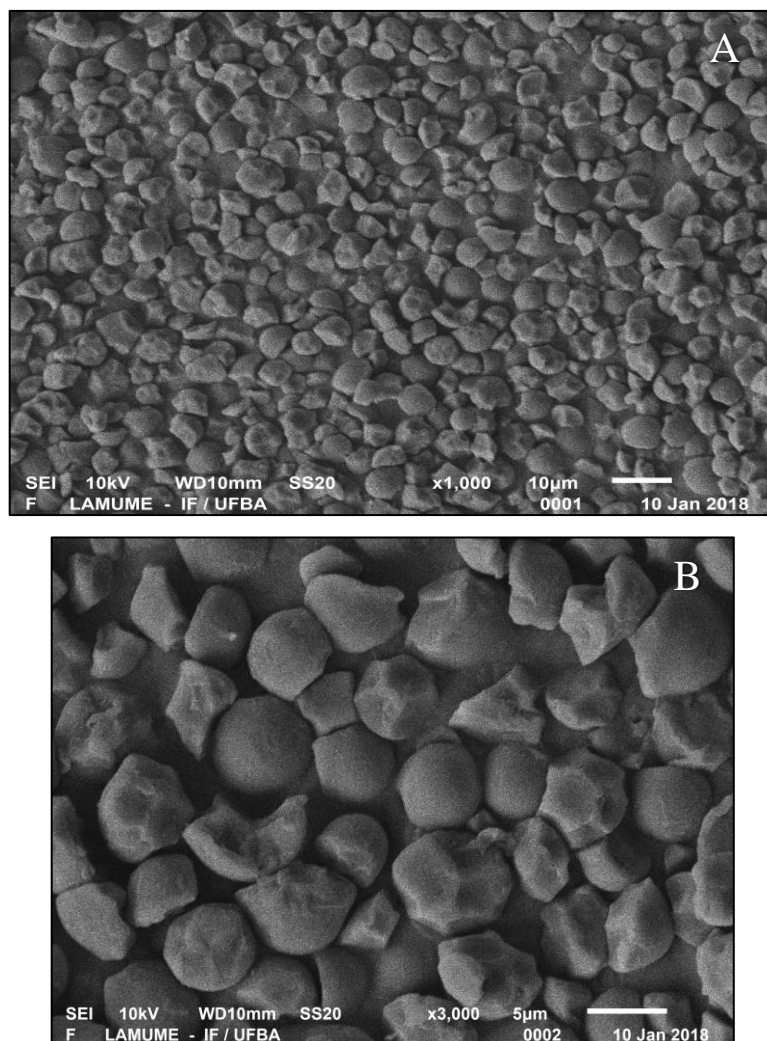


Fonte: Autoria própria (2018).

5.4. Morfologia

As imagens do amido nativo (MEV) e das nanopartículas de amido de fruta-pão (MET) estão registradas nas Figuras 13 e 14, respectivamente. O amido nativo possui tamanho médio de $5,45 \pm 0,65 \mu\text{m}$, formato arredondado em sua maioria (além de formas poliédricas também sendo visualizadas), e algumas irregularidades na superfície de alguns grânulos (Figuras 13A e 13B). Rincón e Padilla (2004) também encontraram estas características em grânulos de amido de fruta-pão e atribuíram estas irregularidades à possíveis indentações causadas por compressão de pequenos grânulos de amido durante o processo de desenvolvimento dos mesmos, e também ao processo de extração. A indentação consiste no processo de redução do volume do endosperma durante o processo de maturação do vegetal. Essa redução de volume provoca o enrugamento do endosperma (BENEDETTI, 2009).

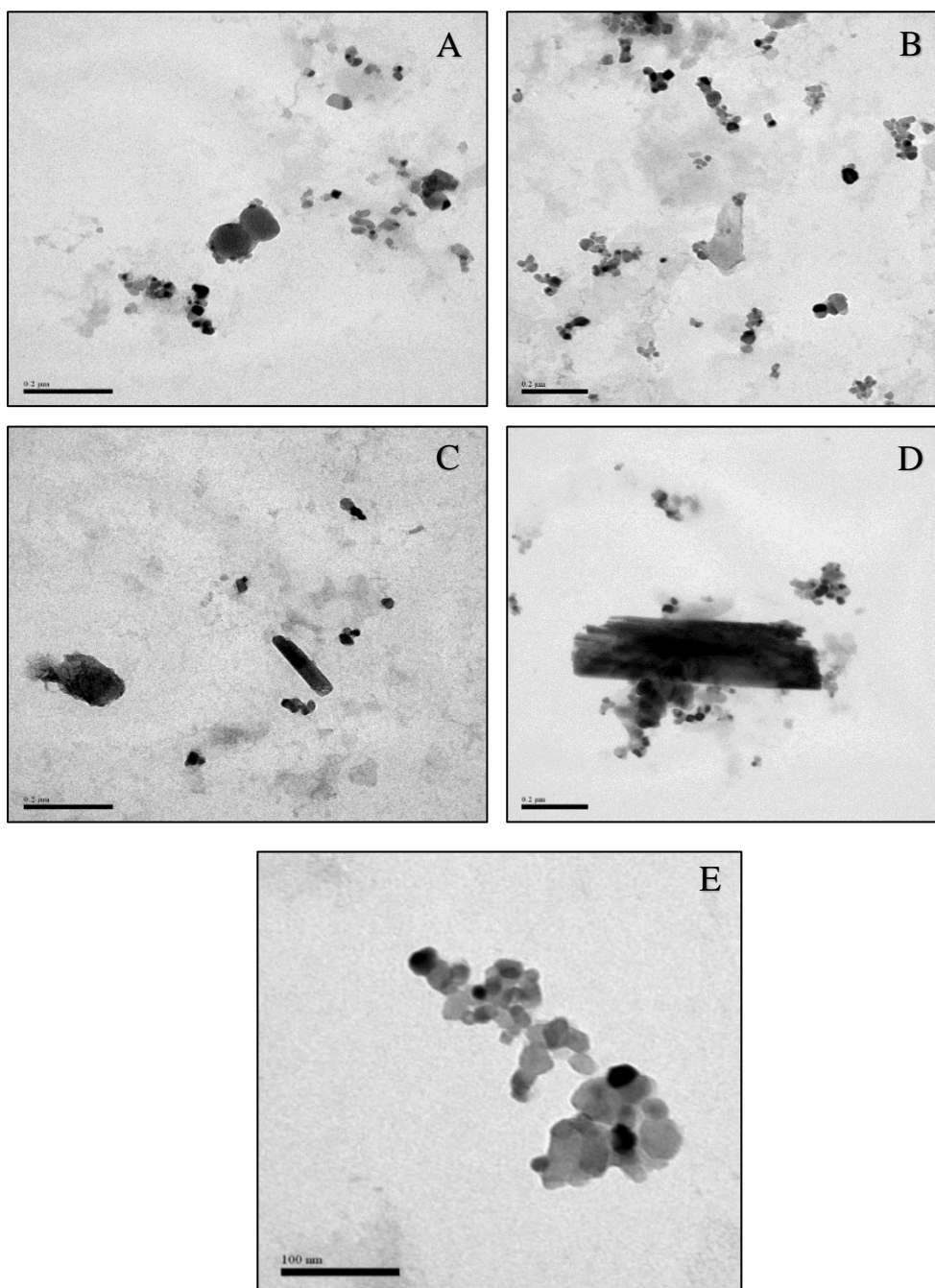
Figura 13- Micrografias eletrônicas do amido nativo de fruta-pão.



Fonte: Autoria própria (2018).

Em relação às NPA de fruta-pão (Figura 14), observou-se que em geral elas apresentaram formato arredondado (Figura 14A e 14B), como também presente no amido nativo. Algumas partículas também apresentaram formatos próximos ao cilíndrico (Figura 14C e 14D), estruturas similares às obtidas por Wei e colaboradores (2014). A existência de aglomerados de nanopartículas (como na Figura 14E) corrobora com a tendência da formação de agrupamentos apontada pelo baixo potencial zeta.

Figura 14- Micrografias eletrônicas das NPA de fruta-pão (Figuras 14A, 14B, 14C, 14D e 14E).



Barras de escala: 200 nm (Figuras 14A, 14B, 14C e 14D) e 100 nm (Figura 14E). Fonte: Autoria própria (2018).

García e colaboradores (2009) e Lamanna e colaboradores (2013) obtiveram estruturas aglomeradas semelhantes e sugerem que grupamentos hidroxílicos (OH) presentes em grande proporção na superfície das nanopartículas individualmente se associam fortemente por pontes de hidrogênio, dando origem a estas estruturas. A baixa carga superficial das partículas (potencial zeta), portanto, favorece a associação entre as NPA através destas ligações.

Algumas NPA com tonalidade de cor mais escura foram visualizadas nas imagens e sua formação pode ser devido à sobreposição das partículas durante o processo de fragmentação, como sugerido por Hebeish e colaboradores (2014) em seu estudo.

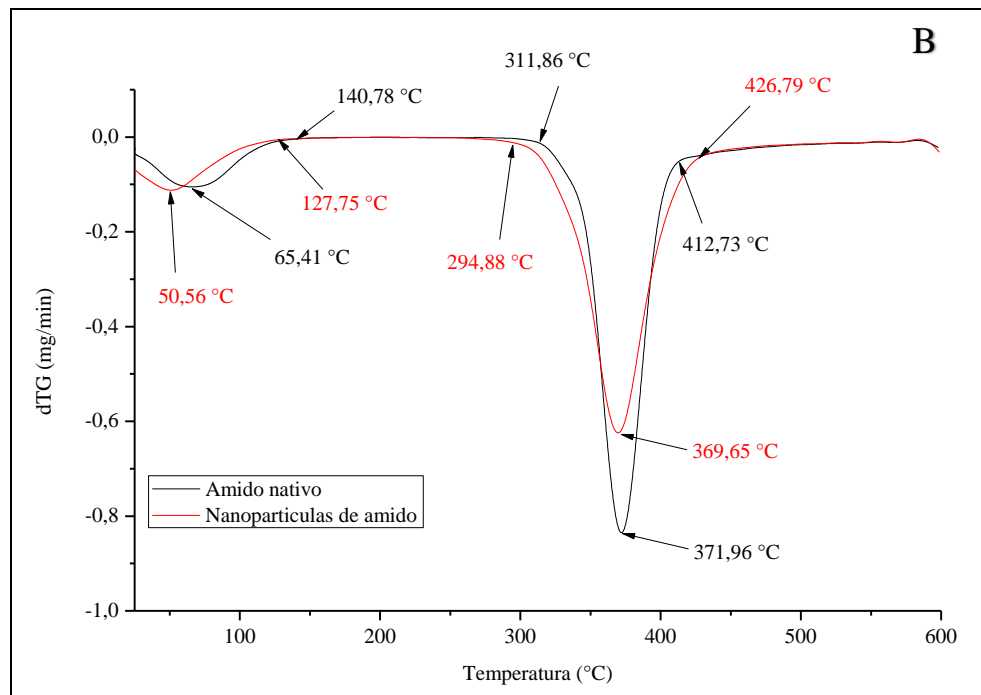
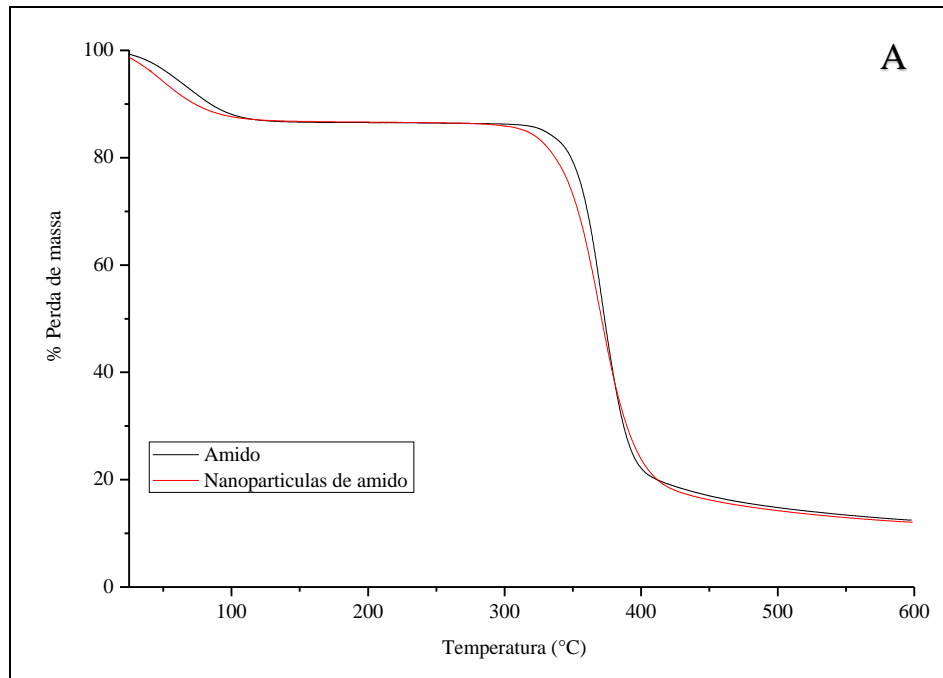
5.5. Viscosidade

A viscosidade aparente do amido nativo de fruta-pão em suspensão foi de $4,23 \pm 0,33$ mPa.s, enquanto que o mesmo parâmetro nas NPA foi de $2,74 \pm 0,12$ mPa.s. A menor viscosidade das nanopartículas é causada pela redução do peso molecular da amilose e da amilopectina, redução esta que acontece pela quebra das ligações glicosídicas durante o rompimento dos grânulos pelas ondas ultrassônicas (ZUO et al., 2009). A redução de tamanho das partículas significa menor capacidade de retenção de água dos grânulos inchados, o que acarreta em menor viscosidade do sistema polimérico (KAUR et al., 2007; ZUO et al., 2009). Outros estudos também relatam a diminuição da viscosidade de suspensões de amido através do ultrassom (OGUTU et al., 2015; BERNARDO; ASCHERI; CARVALHO, 2016).

5.6. Caracterização térmica

As curvas termogravimétricas (TG) do amido nativo de fruta-pão e das nanopartículas, e suas respectivas derivadas, estão representadas na Figura 15. As TG (Figura 15A) para o amido nativo e as partículas nanométricas possuíram o mesmo padrão, apresentando dois estágios de perda de massa, comportamento o qual também ocorreu nos estudos de Le Corre e colaboradores (2012), Lamanna e colaboradores (2013) e Bravo e colaboradores (2016). De acordo com Hornung e colaboradores (2017), a primeira perda de massa está relacionada à evaporação da água e devido à liberação de compostos voláteis. Já a segunda perda é associada à degradação da matéria orgânica.

Figura 15- TG e DTG do amido e das NPA de fruta-pão.



Fonte: Autoria própria (2018).

As derivadas das TG, denominadas DTG, (Figura 15B) permitem melhor visualização dos eventos de perda de massa através da sua taxa de decomposição em função da temperatura, com o primeiro evento ocorrendo no amido nativo com pico máximo de perda de massa na temperatura de 65,41 °C, e indo até 140,78 °C. Já as nanopartículas tiveram taxa máxima de

perda a 50,56 °C, com o processo indo até 127,75 °C. O segundo evento foi observado no amido nativo entre 311,86-412,73 °C (com taxa de decomposição máxima ocorrendo a 371,96 °C) e com faixa de 294,88-426,79 °C (taxa máxima de perda a 369,65 °C) para as nanopartículas.

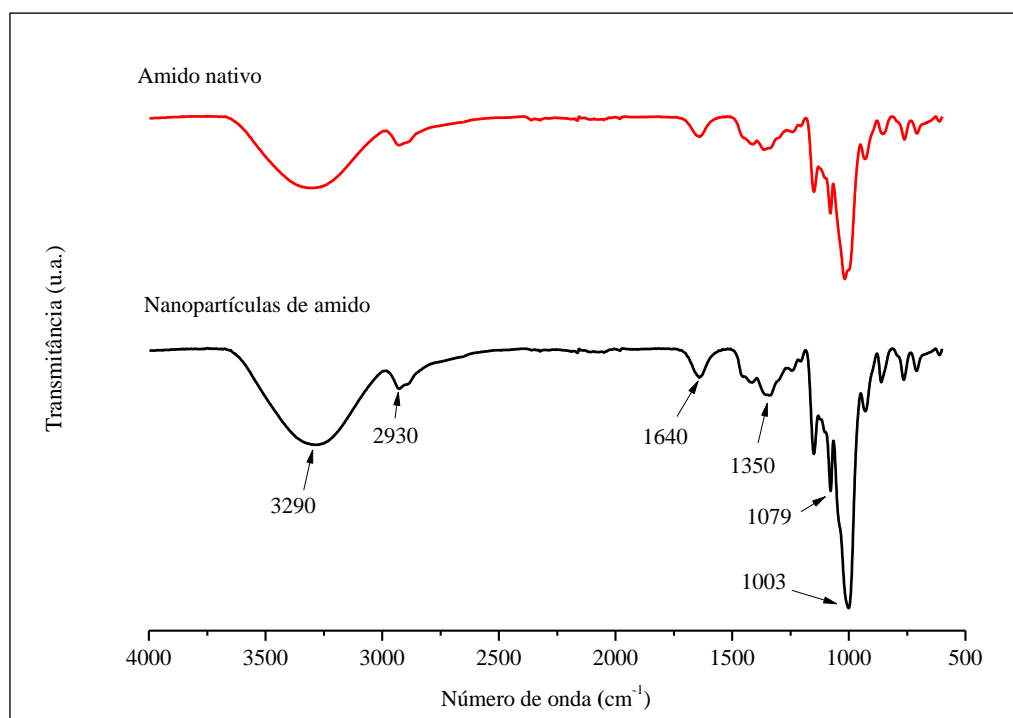
Pôde-se concluir que o amido nativo possuiu maior estabilidade térmica do que as nanopartículas, com a taxa máxima de perda de voláteis e o processo de degradação ocorrendo em maiores temperaturas. Comportamento semelhante foi observado em outros estudos de produção e caracterização de NPA (LAMANNA et al., 2013; COSTA et al., 2017; SILVA et al., 2017b). O amido tem uma estrutura superficial e interna mais compacta do que as nanopartículas derivadas do mesmo, o que exige mais energia para a transição de fases e destruição da estrutura (SUN et al., 2014). Devido ao menor grau de compactação, as nanopartículas de amido possuem um alto número de grupamentos OH presentes em sua superfície, sendo que através deles a degradação térmica ocorre antecipadamente devido a sua maior hidrofiliçidade. Portanto, a perda de massa ocorre de modo geral mais cedo quando comparado ao amido nativo (GARCÍA et al., 2012; LAMANNA et al., 2013).

A maior estabilidade térmica do amido em relação às NPA pode ser também observada comparando suas taxas de decomposição térmica máxima entre si, com o amido possuindo taxa (em módulo) igual à 0,83 mg/min, e a das NPA sendo de 0,62 mg/min. Devido à maior compactação da estrutura molecular do amido nativo e por consequência disso maior quantidade de energia necessária para que ocorra sua degradação máxima, durante o processo em questão ocorrerá maior perda de massa por minuto quando comparado com as NPA, o que também foi observado no estudo de Sun e colaboradores (2014).

5.7. Espectroscopia vibracional por refletância total atenuada

Os espectros do amido nativo e das NPA estão apresentados na Figura 16. Observou-se que o perfil do espectro das NPA foi similar ao do amido nativo, sendo este comportamento também documentado em outros estudos relacionados a produção de nanoamidos (EL-SHEIKH, 2017; ACEVEDO-GUEVARA et al., 2018). Algumas bandas apresentaram diferenças de intensidade em relação ao amido nativo, em especial as da região de “impressão digital” (abaixo de 800 cm^{-1} e entre 800-1500 cm^{-1}), onde são observados os picos característicos do amido (ESTRADA-LEON et al., 2016).

Figura 16- Espectros do amido nativo e das nanopartículas.



Fonte: Autoria própria (2018).

A banda de 1003 cm^{-1} se mostrou a mais acentuada para as nanopartículas, sendo correspondente às vibrações de estiramento dos grupamentos C-O juntamente com a banda de 1079 cm^{-1} (ZHOU; LUO; FU, 2014). Pela banda 1003 cm^{-1} ter sido a mais acentuada das NPA, os grupamentos C-O foram os mais afetados pelas ondas ultrassônicas, as quais provocaram o enfraquecimento e ruptura das ligações químicas.

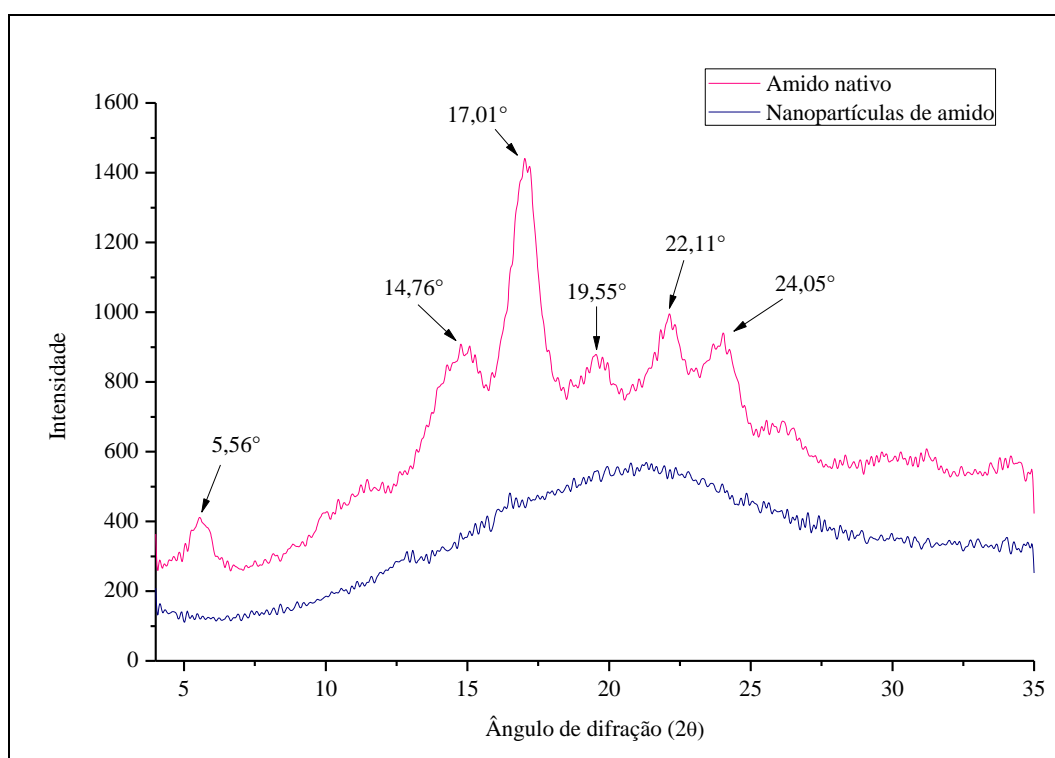
A banda de 3290 cm^{-1} das nanopartículas também apresentou acentuamento em relação ao amido nativo, porém em baixa intensidade. Esta banda é relacionada ao estiramento das ligações de hidrogênio O-H, região caracterizada pelo intervalo entre 3000 e 3600 cm^{-1} (JOSHI et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2018). O acentuamento da banda em questão está relacionado ao enfraquecimento das ligações O-H, provavelmente devido à possível diminuição da estrutura cristalina do amido provocada pelo tratamento ultrassônico (SUN; FAN; XIONG, 2014).

Ainda em relação às bandas das NPA, a banda de 1350 cm^{-1} sofreu um leve acentuamento em relação à mesma banda no amido nativo. Segundo Pavlovic e Brandão (2003), ela está relacionada com deformações nos grupamentos C-O-H. Algumas bandas específicas que não sofreram alterações pelo tratamento ultrassônico foram observadas em ambos os espectros, como a banda 1640 cm^{-1} , atribuída a moléculas de água adsorvidas pelo amido e a banda 2930 cm^{-1} , relacionada a vibrações das ligações C-H (CHI et al., 2007; ESTRADA-LEÓN et al., 2016).

5.8. Análise de DRX

Os padrões de DRX do amido nativo e das nanopartículas são apresentados na Figura 17. Observou-se que o amido nativo apresentou os picos característicos (2θ) do padrão de cristalinidade do tipo B, com ângulos próximos à $5,6^\circ$, 15° , 17° , 22° e 24° (LIMA et al., 2012; ZHU et al., 2012). Também se notou a presença de um pico característico do tipo V, próximo à $20,6^\circ$, associado a complexos formados por hélices simples de amilose com lipídeos (CORRADINI et al., 2005).

Figura 17- Difratomogramas de raios-X do amido nativo de fruta-pão e das nanopartículas.



Fonte: Autoria própria (2018).

Como já abordado no tópico 3.2.5, o padrão cristalino do tipo B é marcante em amidos com elevados teores de amilose, como no caso do amido de fruta-pão estudado. Os resultados estão em concordância com estudos recentes de caracterização do amido de fruta-pão, em que os padrões de cristalinidade obtidos pelos autores também foram do tipo B (NWOKOCHA; WILLIAMS, 2011; CAVALLINI, 2015).

Em relação ao difratograma das SNP, foi observado o desaparecimento completo dos picos de difração após os 75 minutos de sonicação. Pôde-se concluir que a energia promovida pelas ondas ultrassônicas acarretou no rompimento do arranjo cristalino do amido, e

consequentemente na redução da cristalinidade das nanopartículas. Portanto, as nanopartículas de amido estudadas se apresentaram com caráter de baixa cristalinidade ou fortemente amorfo. Liu e colaboradores (2009) pontuaram que o desarranjo cristalino do amido pode ser atribuído à redução do tamanho de suas partículas, o que acarreta na conversão da estrutura ordenada em cristais extremamente pequenos. A deformação da região cristalina de amidos por ultrassom e a obtenção das respectivas nanopartículas de caráter amorfo também foram observados em outros estudos (HAAJ et al., 2013, 2016; KIM et al., 2013a; SILVA et al., 2017b; BOUFI et al., 2018).

5.9. Comparação dos parâmetros obtidos com de outros estudos e tratamentos

Como evidenciado na Tabela 4, o potencial zeta de NPA obtidas por hidrólise ácida é influenciado pelo tipo de ácido utilizado, sendo que em geral, a utilização do ácido sulfúrico (H₂SO₄) proporciona a produção de nanopartículas mais estáveis em suspensão devido à presença de grupamentos sulfato na superfície das NPA, que por repulsão eletrostática entre as partículas provocam a estabilidade coloidal. Em relação à cristalinidade, os métodos de hidrólise (ácida ou enzimática) geram nanopartículas com maior cristalinidade do que o amido nativo. Isso ocorre devido a erosão da região amorfa durante o processo de fragmentação do amido em NPA, região a qual possui maior suscetibilidade à ação de ácidos e enzimas devido ao menor grau de ramificação e compactação quando comparada à região cristalina (CORDENUNSI; LAJOLO; MENEZES, 2006). Entretanto o baixo rendimento dos processos, a necessidade de sucessivas lavagens e de longos períodos de tratamento (que variam conforme a natureza do ácido utilizada) são fatores que podem limitar a produção das NPA em escala industrial quando se utiliza unicamente hidrólises como metodologias.

Tabela 4- Parâmetros de NPA obtidas por diferentes metodologias.

Método	Fonte botânica	Condições de processo	Dimensões ou Tamanho médio (nm)	Cristalinidade	Potencial zeta (mV)	Rendimento (%)	Referência
HA	Milho ceroso	5 dias de hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M	-	Aumento	-	15	Angellier et al. 2004
HA	Milho ceroso ou trigo	7 dias de hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M	-	Aumento	-	-	Aldao et al. 2018

Sendo: HA = Hidrólise ácida. Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 4- Continuação.

Método	Fonte botânica	Condições de processo	Dimensões ou Tamanho médio (nm)	Cristalinidade	Potencial zeta (mV)	Rendimento (%)	Referência
HA	Milho ceroso	5 dias de hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M	58	-	-32	-	Haaj et al. 2014
HA	Milho ceroso	14 dias de hidrólise em HCl a 2M	51	-	-2	-	Haaj et al. 2014
HA	Mandioca	5 dias de hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M	45-178	Aumento	-4,3	30	Costa et al. 2017
HA	Aveia, batata, cevada e trigo	6 dias de hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M	50-226	Aumento	Entre -24 e -32	-	Herrera et al. 2017
HEZ	Arroz ceroso	3 h de hidrólise por α -amilase	500	Aumento	-	-	Kim, Park e Lim, 2008
RD	Mandioca, milho ceroso	Radiação gama à 20 kGy	31 (mandioca), 41 (milho)	Diminuição	-	-	Lamanna et al. 2013
NP	Sagu	Precipitação em nano escala de dispersão de amido gelatinizada em etanol	300-400	-	-	-	Chin; Pang; Tay, 2011
NP	Batata doce, mandioca e milho	Precipitação em nano escala de dispersão de amido gelatinizada em etanol	184,5-227,7	-	Entre -17,4 e -14,5	-	Ge et al., 2017
EXT	Milho normal	Pré-mistura de amido em água e glicerol, seguido de extrusão em extrusora reativa	160	Diminuição	-	-	Song; Thio; Deng, 2011

Sendo: HEZ = Hidrólise enzimática; RD = Radiação gama; NP = Nanoprecipitação; EXT = Extrusão.

Tabela 4- Conclusão.

Método	Fonte botânica	Condições de processo	Dimensões ou Tamanho médio (nm)	Cristalinidade	Potencial zeta (mV)	Rendimento (%)	Referência
HA-ULT	Milho ceroso	2-4 dias de hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M seguido de 3 min de sonicação à 60% de potencia (750W)	50-90	Aumento	-	78	Kim et al. 2013b
HA-ULT	Milho normal	Hidrólise em H ₂ SO ₄ a 3.16 M sob 45 min de sonicação à 100% de potência (350W)	< 100	Aumento	-31,4	21,6	Amini; Razavi, 2016
NP-ULT	Batata	Precipitação em nano escala de dispersão de amido gelatinizada em etanol, seguido de sonicação (100W)	75	Aumento	-	-	Chang et al. 2017
MQ-HEZ	Milho	Formação de complexo amido-butanol seguida de hidrólise enzimática	10-20 nm	Cristalinidade tipo V	-	-	Kim; Lim, 2009
HA-RET	Milho ceroso	10 dias de hidrólise em HCl a 2,2 N seguida de reticulação	200	Aumento	-40	-	Jeong; Shin, 2018
HEZ-RT	Painço	8h de hidrólise por pululanase seguido de retrogradação por 12h	10-30 nm	Aumento	-	-	Gong et al. 2016

Sendo: Ultrassonicação; MQ = Modificação química; RET = Reticulação; RT = Retrogradação.

Em relação às NPA obtidas por tratamentos físicos, de maneira geral ocorre a ruptura da região cristalina do amido utilizado, o que trás como consequência nanopartículas obtidas com pouca cristalinidade ou totalmente amorfas. A cristalinidade é um parâmetro que influencia diretamente a forma como as nanopartículas podem ser aplicadas.

Quando utilizadas em reforços para filmes poliméricos por exemplo, nanopartículas e nanocristais se comportam de maneiras distintas. Partículas cristalinas por apresentarem cadeias poliméricas organizadas em arranjos ordenados (formando uma rede cristalina), dificultam com maior efetividade a difusão da água e melhoram a rigidez da matriz polimérica quando comparadas à NPA amorfas, sendo assim melhores agentes de reforço (HAAJ et al., 2016). Portanto, as NPA produzidas neste estudo não são indicadas como reforço de filmes, devido ao seu caráter amorfo.

A tendência ao agrupamento, que causa o surgimento de aglomerados, e o caráter amorfo provocados pela ultrasonicação acabam por limitar a aplicação das NPA de fruta-pão em alguns sistemas nanocompósitos, pois alguns aglomerados formados podem não possuir as mesmas propriedades das partículas em nanoescala devido ao maior tamanho. Porém, a depender da sua futura aplicação, as NPA produzidas por método ultrassônico podem ser utilizadas.

As menores dimensões e viscosidade médias das NPA de fruta-pão as tornam potenciais candidatas como aglutinantes na fabricação de papeis, aumentando a capacidade de ligação do amido com a celulose. Por seu pequeno tamanho e por terem sido produzidas por um método inteiramente físico, as NPA de fruta-pão também têm a possibilidade de utilização como gorduras miméticas, podendo assim entrar em contato direto com alimentos. Como já discutido, a mistura de nanopartículas de amido com outros componentes pode formar misturas que podem possuir propriedades semelhantes à gorduras (KAUR, 2016).

6. CONCLUSÃO

Através do processo ultrassônico em suspensões de amido de fruta-pão foi possível a obtenção de nanopartículas. Em apenas 25 minutos de sonicação as partículas já se apresentavam em escala nanométrica, com tamanho médio de 228,40 nm, e com o tempo final de processo, 75 minutos, o tamanho médio das NPA foi de 145,65 nm. Através do efeito Tyndall pôde se observar à olho nu a redução do amido nativo em nanopartículas em suspensão através da redução da turbidez da solução, a qual teve alta transparência e menor intensidade no espalhamento de luz no tempo final de sonicação.

O baixo potencial zeta das nanopartículas indicou tendência das mesmas à aglomeração, o que foi corroborado pelas micrografias obtidas pela MET. As NPA tiveram formatos arredondados e de bastonete, em diversas estaturas. As nanopartículas em suspensão possuíram menor viscosidade quando comparadas ao amido nativo, devido à menor capacidade de retenção de água das mesmas.

A termogravimetria indicou menor estabilidade térmica das NPA frente ao amido nativo, possuindo pico máximo de perda de voláteis e degradação de matéria orgânica a menores temperaturas. Diversas ligações químicas do amido foram afetadas durante o processo ultrassônico, em especial os grupamentos C-O, com a banda mais acentuada e provavelmente foram as ligações químicas mais enfraquecidas pelas ondas ultrassônicas. A análise de DRX indicou ruptura da região cristalina das nanopartículas provocada pelo tratamento ultrassônico e que levou à formação de partículas de caráter amorfo.

Pensando-se em futuras aplicações, as NPA de fruta-pão podem ser utilizadas como substitutos de gorduras em formulações, aglutinantes, além de emulsificantes.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-GUEVARA, L.; NIETO-SUAZA, L.; SANCHEZ, L. T.; PINZON, M. I.; VILLA, C. C. Development of native and modified banana starch nanoparticles as vehicles for curcumin. **International journal of biological macromolecules**, v. 111, p. 498-504, 2018.
- AKANBI, T. O.; NAZAMID, S.; ADEBOWALE, A. A. Functional and pasting properties of a tropical breadfruit (*Artocarpus altilis*) starch from Ile-Ife, Osun State, Nigeria. **International Food Research Journal**, v. 16, n. 2, p. 151-157, 2009.
- AKAY, M. **Introduction to Polymer Science and Technology**. Bookboon, 2012.
- AKOH, C. C. Fat replacers. **Food technology (USA)**, 1998.
- ALMEIDA, A. C. S.; FRANCO, E. A. N.; PEIXOTO, F. M.; PESSANHA, K. L. F.; MELO, N. R. Application of nanotechnology in food packaging. **Polímeros**, v. 25, n. SPE, p. 89-97, 2015.
- AMINI, A. M.; RAZAVI, S. M. A. A fast and efficient approach to prepare starch nanocrystals from normal corn starch. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 132-138, 2016.
- AMORIM, T. S. **Extração, reticulação e caracterização físico-química, térmica e funcional do amido de fruta-pão (*Artocarpus altilis*)**. 85 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 2017.
- ANGELLIER, H.; CHOISNARD, L.; MOLINA-BOISSEAU, S.; OZIL, P.; DUFRESNE, A. Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 4, p. 1545-1551, 2004.
- ANWAR, S. H.; RAHMAH, M.; SAFRIANI, N.; HASNI, D.; ROHAYA, S.; WINARTI, C. Exploration of Breadfruit, Jicama, and Rice Starches as Stabilizer in Food Emulsion. **International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology**, v. 6, n. 2, p. 141-145, 2016.
- ALDAO, D. C.; ŠÁRKA, E.; ULBRICH, P.; MENŠÍKOVÁ, E. Starch Nanoparticles-Two Ways of their Preparation. **Czech J. Food Sci**, v. 36, n. 2, p. 00-6, 2018.
- AVADI, M. R.; SADEGHI, A. M. M.; MOHAMMADPOUR, N.; ABEDIN, S.; ATYABI, F.; DINARVAND, R.; RAFIEE-TEHRANI, M. Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 58-63, 2010.
- BALASOORIYA, E. R.; JAYASINGHE, C. D.; JAYAWARDENA, U. A.; RUWANTHIKA, R. W. D.; SILVA, R. M.; UDAGAMA, P. V. Honey mediated green synthesis of nanoparticles: new era of safe nanotechnology. **Journal of Nanomaterials**, v. 2017, 2017.

BARTH, O. M.; SOUZA, W. D. Contrastação negativa. **Técnicas Básicas de Microscopia Eletrônica Aplicadas às Ciências Biológicas**, Sociedade Brasileira de Microscopia, Rio de Janeiro, p. 45-56, 1998.

BCCRESEARCH - **Nanocomposites, Nanoparticles, Nanoclays and Nanotubes: Global Markets to 2022**. Disponível em: <<https://www.bccresearch.com/market-research/nanotechnology/nanocomposites-nanoparticles-nanoclays-and-nanotubes-global-markets-to-2022-nan021h.html>>. Acesso em: 04/05/2018.

BENABID, F. Z.; ZOUAI, F. Natural polymers: Cellulose, chitin, chitosan, gelatin, starch, carrageenan, xylan and dextran. **Algerian Journal of Natural Products**, v. 4, p. 348-357, 2016.

BENEDETTI, M. P. **Granulometria do milho de textura dentada ou dura em rações para frangos de corte**. 54 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2009.

BENITEZ, E. I.; LOZANO, J. E. Influence of the soluble solids on the zeta potential of a cloudy apple juice. **Latin American applied research**, v. 36, n. 3, p. 163-168, 2006.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais-DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BERNARDO, C. O.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. D. Effect of ultrasound on the extraction and modification of starches. **Ciência Rural**, v. 46, n. 4, p. 739-746, 2016.

BOUFI, S.; HAAJ, S. B.; MAGNIN, A.; PIGNON, F.; IMPÉROTOR-CLERC, M.; MORTHA, G. Ultrasonic assisted production of starch nanoparticles: Structural characterization and mechanism of disintegration. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 41, p. 327-336, 2018.

BRAVO, A. M. J.; SILVA, N. M. C.; FIALHO, R. L.; ALBUQUERQUE, E. C. M. Caracterização de nanopartículas de amido de mandioca e milho pela técnica de ultrassom. In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 2016.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International journal of biological macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85-112, 1998.

CADIOLI, L. P.; SALLA, L. D. Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia. **Revista de Ciências Exatas e Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 98-105, 2015.

CALZAVARA, B. B. G. Fruticultura tropical: a fruta-pão (*Artocarpus altilis* (PARK) Fosberg). **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E)**, 1987.

CAVALLINI, O. F. **Caracterização físico-química do amido de da farinha da fruta-pão (*Artocarpus altilis*) e aplicação em pão de forma**. 109p. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, Espírito Santo, 2015.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

CHANG, Y.; YAN, X.; WANG, Q.; REN, L.; TONG, J.; ZHOU, J. High efficiency and low cost preparation of size controlled starch nanoparticles through ultrasonic treatment and precipitation. **Food chemistry**, v. 227, p. 369-375, 2017.

CHEN, Z.; HU, P.; MENG, Q.; DONG, X. Novel optical fiber dynamic light scattering measurement system for nanometer particle size. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2013, 2013.

CHI, H.; XU, K.; XUE, D.; SONG, C.; ZHANG, W.; WANG, P. Synthesis of dodecanyl succinic anhydride (DDSA) corn starch. **Food research international**, v. 40, n. 2, p. 232-238, 2007.

CHIN, S. F.; PANG, S. C.; TAY, S. H. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 4, p. 1817-1819, 2011.

CHIN, S. F.; YAZID, M.; AKMAR, S. N.; PANG, S. C. Preparation and characterization of starch nanoparticles for controlled release of curcumin. **International Journal of Polymer Science**, v. 2014, 2014.

CONDÉS, M. C.; AÑÓN, M. C.; MAURI, A. N.; DUFRESNE, A. Amaranth protein films reinforced with maize starch nanocrystals. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 146-157, 2015.

CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Utilização de novas técnicas de microscopia na caracterização do amido. **Carboidratos em Alimentos Regionales Iberoamericanos**. Editora da USP, São Paulo, p.646, 2006.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S. D.; CARVALHO, A. J.; CURVELO, A. A.; MATTOSO, L. H. Comparative studies of corn thermoplastic starches with different amylose content. **Polímeros**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

COSTA, É. K. D. C.; SOUZA, D. C. O.; SILVA, D. J. B. A.; DRUZIAN, J. I. Hydrolysis of part of cassava starch into nanocrystals leads to increased reinforcement of nanocomposite films. **Journal of Applied Polymer Science**, p. 1-9, 2017.

COSTA, M. S. **Produção e caracterização estrutural, molecular e morfológica de nanocristais a partir de diferentes amidos e sua aplicação em biofilmes**. 166p. Tese. (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, São Paulo, 2017.

CRAIG, S. A.; MANINGAT, C. C.; SEIB, P. A.; HOSENEY, R. C. Starch paste clarity. **Cereal chemistry (USA)**, v. 66, n. 3, p. 173-182, 1989.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X-ray Diffraction**. 2014.

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

DAI, L.; ZHANG, J.; CHENG, F. Succeeded starch nanocrystals preparation combining heat-moisture treatment with acid hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 278, p. 350-356, 2019.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. EdIPUCRS, 2007.

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

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. D. Starch granules structure and its regards with physicochemical properties. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2008.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Princípios e aplicações de análise térmica. **Material de Apoio, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo**, 2012.

DISNER, G. R.; CESTARI, Marta Margarete. Nanociência & Nanotecnologia. **Evidência-Ciência e Biotecnologia**, v. 16, n. 1, p. 71-76, 2016.

EL-FEKY, G. S.; EL-RAFIE, M. H.; EL-SHEIKH, M. A.; EL-NAGGAR, M. E.; HEBEISH, A. V. Utilization of crosslinked starch nanoparticles as a carrier for indomethacin and acyclovir drugs. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1, 2015.

EL-SHEIKH, M. A. New technique in starch nanoparticles synthesis. **Carbohydrate polymers**, v. 176, p. 214-219, 2017.

EPSTEIN, L. Carambola e Fruta Pão. **Bahia Agricultura**, v. 4, n. 1, p. 16-18, 2000.

ESTRADA-LEÓN, R. J.; MOO-HUCHIN, V. M.; RÍOS-SOBERANIS, C. R.; BETANCUR-ANCONA, D.; MAY-HERNÁNDEZ, L. H.; CARRILLO-SÁNCHEZ, F. A.; CERVANTES-UC, J. M. PÉREZ-PACHECO, E. The effect of isolation method on properties of parota (*Enterolobium cyclocarpum*) starch. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 1-9, 2016.

EVANGELINE, S.; SUNDARAM, V.; MANIAN, R. P.; BALASUNDARAM, S. Evolving trends in biopolymer based drug delivery systems: An overview. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 42, n. 37, p. 221-225, 2017.

FARIDA, I.; SYAMSU, K.; RAHAYUNINGSIH, M. Direct ethanol production from breadfruit starch (*Artocarpus communis* Forst.) by Engineered simultaneous saccharification and fermentation (ESSF) using Microbes Consortium. **International Journal of Renewable Energy Development**, v. 4, n. 1, p. 25, 2015.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – Regulatory Information. **Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology**. 2014. Disponível em: <<https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm257698.htm>>. Acesso em: 07/05/2018.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. do C. R. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **As regiões florestais da Bacia do Congo**, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/sao-tome-e-principe/programas-e-projetos/historias-de-sucesso/congo/en/>>. Acessado em: 03/11/2017.

FORATO, L. A.; BERNARDES FILHO, R.; OSIRO, D.; BICUDO, T. D. C.; COLNAGO, L. A Espectroscopia na região do Infravermelho e algumas aplicações. **Embrapa Instrumentação-Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.

GALLETI, S. R. Introdução à microscopia eletrônica. **Biológico**, São Paulo, v. 65, n. 1/2, p. 33-35, 2003.

GARCÍA, N. L.; LAMANNA, M.; D'ACCORSO, N.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; GOYANES, S. Biodegradable materials from grafting of modified PLA onto starch nanocrystals. **Polymer degradation and stability**, v. 97, n. 10, p. 2021-2026, 2012.

GARCÍA, N. L.; RIBBA, L.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M. I.; GOYANES, S. Physico-Mechanical Properties of Biodegradable Starch Nanocomposites. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 294, n. 3, p. 169-177, 2009.

GE, S.; XIONG, L.; LI, M.; LIU, J.; YANG, J.; CHANG, R.; LIANG, C.; SUN, Q. Characterizations of Pickering emulsions stabilized by starch nanoparticles: Influence of starch variety and particle size. **Food chemistry**, v. 234, p. 339-347, 2017.

GOBBO, L. D. A. **Aplicação da difração de raios-X e Método de Rietveld no estudo de cimento Portland**. 273p. Tese (Doutorado em Recursos Minerais e Hidrogeologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

GOMAND, S. V.; LAMBERTS, L.; DERDE, L. J.; GOESAERT, H.; VANDEPUTTE, G. E.; GODERIS, B.; VISSER, R. G. F.; DELCOUR, J. A. Structural properties and gelatinisation characteristics of potato and cassava starches and mutants thereof. **Food hydrocolloids**, v. 24, n. 4, p. 307-317, 2010.

GONÇALVES, P. M. **Obtenção de nanoamido de pinhão através de hidrólise ácida e Ultrassom para incorporação da nisina**. 103p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

GONÇALVES, P. M.; NOREÑA, C. P. Z.; DA SILVEIRA, N. P.; BRANDELLI, A. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 21-27, 2014.

GONG, M.; LI, X.; XIONG, L.; SUN, Q. Retrogradation property of starch nanoparticles prepared by pullulanase and recrystallization. **Starch-Stärke**, v. 68, n. 3-4, p. 230-238, 2016.

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

HAAJ, S. B.; THIELEMANS, W.; MAGNIN, A.; BOUFI, S. Starch nanocrystal stabilized pickering emulsion polymerization for nanocomposites with improved performance. **ACS applied materials & interfaces**, v. 6, n. 11, p. 8263-8273, 2014.

HAAJ, S. B.; THIELEMANS, W.; MAGNIN, A.; BOUFI, S. Starch nanocrystals and starch nanoparticles from waxy maize as nanoreinforcement: A comparative study. **Carbohydrate polymers**, v. 143, p. 310-317, 2016.

HEBEISH, A.; EL-RAFIE, M. H.; EL-SHEIKH, M. A.; EL-NAGGAR, M. E. Ultra-fine characteristics of starch nanoparticles prepared using native starch with and without surfactant. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 24, n. 3, p. 515-524, 2014.

HERRERA, M. P.; VASANTHAN, T.; CHEN, L. Rheology of starch nanoparticles as influenced by particle size, concentration and temperature. **Food hydrocolloids**, v. 66, p. 237-245, 2017.

HORNUNG, P. S. et al. Enhancement of the functional properties of Dioscoreaceas native starches: Mixture as a green modification process. **Thermochimica Acta**, v. 649, p. 31-40, 2017.

IFUSP. **Movimento Browniano**. Instituto de Física, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.

IP, A. C. F.; TSAI, T. H.; KHIMJI, I.; HUANG, P. J. J.; LIU, J. Degradable starch nanoparticle assisted ethanol precipitation of DNA. **Carbohydrate polymers**, v. 110, p. 354-359, 2014.

JEONG, O.; SHIN, M. Preparation and stability of resistant starch nanoparticles, using acid hydrolysis and cross-linking of waxy rice starch. **Food Chemistry**, v. 256, p. 77-84, 2018.

JIANG, S.; LIU, C.; WANG, X.; XIONG, L.; SUN, Q. Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles. **LWT-Food Science and Technology**, v. 69, p. 251-257, 2016.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012.

JIVAN, M. J.; MADADLOU, A.; YARMAND, M. An attempt to cast light into starch nanocrystals preparation and cross-linking. **Food chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1661-1666, 2013.

JO, M.; BAN, C.; GOH, K. K.; CHOI, Y. J. Gastrointestinal digestion and stability of submicron-sized emulsions stabilized using waxy maize starch crystals. **Food Hydrocolloids**, 2018.

JONES, N. A.; CHANG, S. R.; TROSKE, W. J.; CLARKSON, B. H.; LAHANN, J. Nanoparticle-Based Targeting and Detection of Microcavities. **Advanced healthcare materials**, v. 6, n. 1, p. 1600883, 2017.

JOSHI, M.; ALDRED, P.; MCKNIGHT, S.; PANOZZO, J. F.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and functional characteristics of lentil starch. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 2, p. 1484-1496, 2013.

KAUR, J. **Cereal Starch Nanoparticles: Preparation, Characterization and Utilization**. 71p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Punjab Agricultural University, Ludhiana, Índia, 2016.

KAUR, L.; SINGH, J.; MCCARTHY, O. J.; SINGH, H. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. **Journal of food engineering**, v. 82, n. 3, p. 383-394, 2007.

KIM, H. Y.; HAN, J. A.; KWEON, D. K.; PARK, J. D.; LIM, S. T. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 2, p. 582-588, 2013a.

KIM, J. H.; PARK, D. H.; KIM, J. Y. Effect of heat-moisture treatment under mildly acidic condition on fragmentation of waxy maize starch granules into nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 59-66, 2017.

KIM, J. Y.; PARK, D. J.; LIM, S. T. Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis. **Cereal Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 182-187, 2008.

KIM, J-Y.; LIM, S-T. Preparation of nano-sized starch particles by complex formation with n-butanol. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 110-116, 2009.

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

KIM, H-Y.; PARK, S. S.; LIM, S-T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p. 607-620, 2015.

LAMANNA, M.; MORALES, N. J.; GARCÍA, N. L.; GOYANES, S. Development and characterization of starch nanoparticles by gamma radiation: Potential application as starch matrix filler. **Carbohydrate polymers**, v. 97, n. 1, p. 90-97, 2013.

LAOHAPHATANALEART, K.; PIYACHOMKWAN, K.; SRIROTH, K.; BERTOFT, E. The fine structure of cassava starch amylopectin: Part 1: Organization of clusters. **International journal of biological macromolecules**, v. 47, n. 3, p. 317-324, 2010.

LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Starch nanoparticles: a review. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 5, p. 1139-1153, 2010.

LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Influence of botanic origin and amylose content on the morphology of starch nanocrystals. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, n. 12, p. 7193-7208, 2011.

LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties. **Carbohydrate polymers**, v. 87, n. 1, p. 658-666, 2012.

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

LE CORRE, D.; HOHENTHAL, C.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Comparative sustainability assessment of starch nanocrystals. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 21, n. 1, p. 71-80, 2013.

LI, X.; QIU, C.; JI, N.; SUN, C.; XIONG, L., SUN, Q. Mechanical, barrier and morphological properties of starch nanocrystals-reinforced pea starch films. **Carbohydrate polymers**, v. 121, p. 155-162, 2015.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; PIERUCCI, A. P. T. Characterization of commercial edible starch flours. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 486-490, 2012.

LIU, C.; JIANG, S.; HAN, Z.; XIONG, L.; SUN, Q. In vitro digestion of nanoscale starch particles and evolution of thermal, morphological, and structural characteristics. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 344-350, 2016.

LIU, D.; WU, Q.; CHEN, H.; CHANG, P. R. Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro-to nanometer. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 339, n. 1, p. 117-124, 2009.

LOPES, W. A., FASCIO, M. Flow chart for infrared spectra interpretation of organic compounds. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros. **e-papers, Rio de Janeiro**, v. 217, 2001.

MAJID, I.; NAYIK, G. A.; NANDA, V. Ultrasonication and food technology: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1071022, 2015.

MALVERN. **Espalhamento de luz dinâmico (DLS)**, 2017. Disponível em: <<https://www.malvern.com/br/products/technology/dynamic-light-scattering>>. Acesso em: 10/11/2017.

MARTINEZ, S.; RIVON, C.; TRONCOSO, O. P.; TORRES, F. G. Botanical origin as a determinant for the mechanical properties of starch films with nanoparticle reinforcements. **Starch-Stärke**, v. 68, n. 9-10, p. 935-942, 2016.

MASON, T. Power ultrasound in food processing—the way. **Ultrasound in food processing**, v. 105, 1998.

MELO JR, M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. D. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, 2012.

MOREIRA, D.; CARVALHO, A.; de VASCONCELOS, M. A. M. Aproveitamento tecnológico da farinha de fruta-pão. **Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

MUKURUMBIRA, A. R.; MELLEM, J. J.; AMONSOU, E. O. Effects of amadumbe starch nanocrystals on the physicochemical properties of starch biocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 142-148, 2017.

NWOKOCHA, L. M.; WILLIAMS, P. A. Comparative study of physicochemical properties of breadfruit (*Artocarpus altilis*) and white yam starches. **Carbohydrate polymers**, v. 85, n. 2, p. 294-302, 2011.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 11, p. 375-382, 1997.

OGUTU, F. O.; MU, T. H.; ELAHI, R.; ZHANG, M.; SUN, H. N. Ultrasonic Modification of Selected Polysaccharides-Review. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 6, n. 5, p. 1, 2015.

PARK, E. Y.; KIM, M. J.; CHO, M.; LEE, J. H.; KIM, J. Y. Production of starch nanoparticles using normal maize starch via heat-moisture treatment under mildly acidic conditions and homogenization. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 274-282, 2016.

PAVLOVIC, S.; BRANDÃO, P. R. G. Adsorption of starch, amylose, amylopectin and glucose monomer and their effect on the flotation of hematite and quartz. **Minerals Engineering**, v. 16, n. 11, p. 1117-1122, 2003.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch-Stärke**, v. 62, n. 8, p. 389-420, 2010.

QIN, Y.; LIU, C.; JIANG, S.; XIONG, L.; SUN, Q. Characterization of starch nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Influence of amylose content and starch type. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 182-190, 2016.

QUINA, F. H. Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1028-1029, 2004.

RAGONE, D. Breadfruit: *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg. **Breadfruit: Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg**, 1997.

RAGONE, D. Farm and forestry production and marketing profile for breadfruit (*Artocarpus altilis*). **Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry**; Elevitch, CR, Ed.; Permanent Agriculture Resources (PAR): Holualoa, HI, USA, 2011.

RAJISHA, K. R.; MARIA, H. J.; POTHAN, L. A.; AHMAD, Z.; THOMAS, S. Preparation and characterization of potato starch nanocrystal reinforced natural rubber nanocomposites. **International journal of biological macromolecules**, v. 67, p. 147-153, 2014.

RAMOS, T. M. **Potencialidades da microscopia eletrônica (transmissão e varredura) e microscopia confocal como ferramentas pra análises de amostras biológicas**. 49p. Trabalho de Conclusão de Curso. (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

ROMDHANE, A.; AUROUSSEAU, M.; GUILLET, A.; MAURET, E. Effect of pH and ionic strength on the electrical charge and particle size distribution of starch nanocrystal suspensions. **Starch-Stärke**, v. 67, n. 3-4, p. 319-327, 2015.

RIBEIRO, M. P. **Aplicação de termogravimetria acoplada à espectrometria de massas para caracterização de petróleo e determinação da curva de evolução de gás sulfídrico**. 110p. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Engenharia de Petróleo) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

RINCÓN, A. M.; PADILLA, F. C. Physicochemical properties of breadfruit (*Artocarpus altilis*) starch from Margarita island, Venezuela. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 54, n. 4, p. 449-456, 2004.

SAMPAIO, G. M. M. **Atividade antimicrobiana e espectroscopia vibracional de 5-[(4H-1,2,4-triazol-4-ilamino)metileno]-2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona monohidratada**. 91p. Dissertação (Mestrado em Bioprospeção Molecular) - Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, 2012.

SANTANA, J. S.; CARVALHO, C. É. K.; RODRIGUES, P. R.; CORREIA, P. R. C.; CRUZ, R. S.; DRUZIAN, J. I. Morphological, barrier, and mechanical properties of cassava starch films reinforced with cellulose and starch nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, p. 47001, 2019.

SANTANA, J. S.; COSTA, É.K. C.; SILVA, N. M. C.; DRUZIAN, J. I. Influência do método de obtenção de nanopartículas de amido nas propriedades resultantes. In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 2016.

ŠÁRKA, E.; DVOŘÁČEK, V. New processing and applications of waxy starch (a review). **Journal of Food Engineering**, v. 206, p. 77-87, 2017.

SCHMITZ, D. C.; PERES, G. L.; SILVEIRA, N. P. **Controle da cadeia polimérica do amido através da técnica de espalhamento de luz**. Universidade Federal do Rio do Grande do Sul, UFRGS. Resumo publicado em evento. Porto Alegre, 2011.

SIKARWAR, M. S.; HUI, B. J.; SUBRAMANIAM, K.; VALEISAMY, B. D.; YEAN, L. K.; KAVETI, B. A Review on *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (breadfruit). 2014. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 4, n. 8, p. 91-97, 2014.

SILVA, L. P.; BONATTO, C. C.; PEREIRA, F. D. E. S.; SILVA, L. D.; ALBERNAZ, V. L.; POLEZ, V. L. P.; "Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas", p. 967 - 1012. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4**. São Paulo: Blucher, 2017a.

SILVA, N. M. C. D.; CORREIA, P. R. C.; DRUZIAN, J. I.; FAKHOURI, F. M.; FIALHO, R. L. L.; ALBUQUERQUE, E. C. M. C. D. PBAT/TPS Composite Films Reinforced with Starch Nanoparticles Produced by Ultrasound. **International Journal of Polymer Science**, v. 2017, 2017b.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006. **Skoog, DA**, p. 1-1026.

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

SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M.; KULKARNI, A. R.; RUDZINSKI, W. E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, v. 70, p.1-20, 2001.

SOUZA, D. S.; SOUZA, J. D. R. P.; COUTINHO, J. P.; FERRÃO, S. P. B.; SOUZA, T. S. A. D.; SILVA, A. A. L. D. Preparation of instant flour from the pulp of breadfruit (*Artocarpus altilis*). **Ciência Rural**, v. 42, n. 6, p. 1123-1129, 2012.

SUN, Q.; FAN, H.; XIONG, L. Preparation and characterization of starch nanoparticles through ultrasonic-assisted oxidation methods. **Carbohydrate polymers**, v. 106, p. 359-364, 2014.

SUN, Q.; LI, G.; DAI, L.; JI, N.; XIONG, L. Green preparation and characterisation of waxy maize starch nanoparticles through enzymolysis and recrystallisation. **Food chemistry**, v. 162, p. 223-228, 2014.

TAN, Y.; XU, K.; NIU, C.; LIU, C.; LI, Y.; WANG, P.; BINKS, B. P. Triglyceride-water emulsions stabilised by starch-based nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 70-75, 2014.

TEIXEIRA, B. S.; GARCIA, R. H.; TAKINAMI, P. Y.; DEL MASTRO, N. L. Comparison of gamma radiation effects on natural corn and potato starches and modified cassava starch. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 142, p. 44-49, 2018.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151-165, 2004.

TIAN, Y.; XU, X.; XIE, Z.; ZHAO, J.; JIN, Z. Starch retrogradation determined by differential thermal analysis (DTA). **Food hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1637-1639, 2011.

TURI, C. E.; LIU, Y.; RAGONE, D.; MURCH, S. J. Breadfruit (*Artocarpus altilis* and hybrids): A traditional crop with the potential to prevent hunger and mitigate diabetes in Oceania. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 264-272, 2015.

UFJF – Universidade Federal de Juiz de Fora. - **Espectroscopia no Infravermelho**. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/quimicaead/files/2013/05/ESPECTROSCOPIA-NO-INFRAVERMELHO-PARTE1.pdf>>. Acesso em: fev. 2018.

USP - Universidade de São Paulo. **Microscopia eletrônica: varredura e transmissão - MEV e MET**. Instituto de Química, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://ca.iq.usp.br/novo/paginas_view.php?idPagina=16>. Acesso em: 18/11/2017.

UTRILLA-COELLO, R. G.; HERNÁNDEZ-JAIMES, C.; CARRILLO-NAVAS, H.; GONZÁLEZ, F.; RODRÍGUEZ, E.; BELLO-PÉREZ, L. A.; VERNON-CARTER, E. J.; ALVAREZ-RAMÍREZ, J. Acid hydrolysis of native corn starch: morphology, crystallinity, rheological and thermal properties. **Carbohydrate polymers**, v. 103, p. 596-602, 2014.

VAMADEVAN, V. **Organization of Glucan Chains in Starch Granules as Revealed by Hydrothermal Treatment**. 182p. Tese. (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade de Guelph, Guelph, Ontário, Canadá 2013.

VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. **Carbohydrate polymers**, v. 58, n. 3, p. 245-266, 2004.

WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch retrogradation: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568-585, 2015.

WANG, X.; CHEN, L.; LI, X.; XIE, F.; LIU, H.; YU, L. Thermal and rheological properties of breadfruit starch. **Journal of food science**, v. 76, n. 1, 2011.

WATERSCHOOT, J.; GOMAND, S. V.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch-Stärke**, v. 67, n. 1-2, p. 14-29, 2015.

WEI, B.; SUN, B.; ZHANG, B.; LONG, J.; CHEN, L.; TIAN, Y. Synthesis, characterization and hydrophobicity of silylated starch nanocrystal. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 1203-1208, 2016.

WEI, B.; XU, X.; JIN, Z.; TIAN, Y. Surface chemical compositions and dispersity of starch nanocrystals formed by sulfuric and hydrochloric acid hydrolysis. **PLoS one**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 2014.

WINARTI, C.; SUNARTI, T. C.; MANGUNWIDJAJA, D.; RICHANA, N. Preparation of arrowroot starch nanoparticles by butanol-complex precipitation, and its application as bioactive encapsulation matrix. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 6, p. 2207, 2014.

YU, J.; AI, F.; DUFRESNE, A.; GAO, S.; HUANG, J.; CHANG, P. R. Structure and Mechanical Properties of Poly (lactic acid) Filled with (Starch nanocrystal)-graft-poly (ϵ -caprolactone). **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 293, n. 9, p. 763-770, 2008.

ZHANG, Y.; CUNNINGHAM, M. F.; SMEETS, N. M.; DUBÉ, M. A. Starch nanoparticle incorporation in latex-based adhesives. **European Polymer Journal**, v. 106, p. 128-138, 2018.

ZHOU, G.; LUO, Z.; FU, X. Preparation of starch nanoparticles in a water-in-ionic liquid microemulsion system and their drug loading and releasing properties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 32, p. 8214-8220, 2014.

ZHU, J.; LI, L.; CHEN, L.; LI, X. Study on supramolecular structural changes of ultrasonic treated potato starch granules. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 1, p. 116-122, 2012.

ZUO, J. Y., KNOERZER, K.; MAWSON, R., KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 16, n. 4, p. 462-468, 2009.

APÊNDICE - PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

ESTUDO DE DOCUMENTOS DE PATENTES SOBRE NANOPARTÍCULAS DE AMIDO

RESUMO

A nanotecnologia proporciona a produção dos nanomateriais, os quais possuem características únicas quando comparados aos materiais originais. As nanopartículas de amido além de atóxicas e biodegradáveis como o amido nativo, possuem propriedades como maior superfície de contato e biocompatibilidade além de alta capacidade de absorção, tornando-as interessantes para diversas aplicações. O objetivo da prospecção em questão foi avaliar o atual panorama em relação às nanopartículas de amido através do mapeamento de documentos de patentes, utilizando a base de dados *Espacenet*. A China foi o principal país depositante, possuindo também os principais inventores e universidades depositantes, demonstrando o interesse do país no tema. A presença de Estados Unidos, Coreia do Sul e Brasil ilustra a tendência de países desenvolvidos e emergentes à investirem em pesquisas sobre o assunto. A hidrólise ácida foi o principal método de produção citado e a área de reforço de materiais, onde as nanopartículas foram mais aplicadas.

Palavras-chave: Nanopartículas de Amido. Polissacarídeos. Prospecção Tecnológica.

ABSTRACT

Nanotechnology provides the production of nanomaterials, which have unique characteristics when compared to the original materials. The starch nanoparticles besides non-toxic and biodegradable as the native starch, have properties like greater surface of contact and biocompatibility besides high capacity of absorption, making them interesting for diverse applications. The aim of this prospect was to evaluate the current scenario regarding starch nanoparticles through the mapping of patent documents using the *Espacenet* database. China was the main depositor country, also possessing the main inventors and depository universities, demonstrating the country's interest in the subject. The presence of the United States, South Korea and Brazil illustrates the tendency of developed and emerging countries to invest in research on the subject. Acid hydrolysis was the main production method cited and the material reinforcement area where the nanoparticles were most applied.

Keywords: Starch Nanoparticles. Polysaccharides. Technological Prospecting.

Área tecnológica: Nanotecnologia. Ciência e Tecnologia de Alimentos.

INTRODUÇÃO

O amido é definido como uma mistura de duas frações polissacarídicas distintas - amilose (fração linear) e amilopectina (fração ramificada) (OATES, 1997). Entre os polímeros de carboidratos, o amido é um polissacarídeo abundante, barato, naturalmente renovável e

biodegradável, sendo que nos últimos anos, grânulos ou partículas de amido de pequeno porte têm atraído a atenção devido às suas novas propriedades físicas, por exemplo, a capacidade de reter vários materiais sensíveis, como compostos organolépticos (SUN et al., 2014a, 2014b). Esta série de características gera um constante crescimento no mercado de amidos constantemente, levando a pesquisas contínuas por produtos com recursos específicos que atendam requisitos das indústrias (GONÇALVES et al., 2014).

As nanopartículas de amido (NPA) tem atraído atenção considerável nos últimos anos devido a seu baixo custo de produção, biocompatibilidade, biodegradabilidade e por serem atóxicas (THIELEMANS; BELGACEM; DUFRESNE, 2006). Na nanoescala, frequentemente definida como a faixa até 1000 nm (CHANG et al., 2017), as propriedades das partículas como a capacidade de absorção são significativamente diferentes do grânulo nativo, devido à maior área de superfície por massa (EL-SHEIKH, 2017; JEONG; SHIN, 2018). Entre as diversas aplicações das NPA estão a melhoria de propriedades mecânicas e/ou de barreira em matrizes poliméricas (LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014; GONZÁLEZ; IGARZABAL, 2015) e transporte/liberação de fármacos (YANG et al., 2014; EL-NAGGAR et al., 2015; EL-SHEIKH, 2017).

As NPA podem ser produzidas através de dois conceitos, o “*top-down*” (produção através de quebra de partículas maiores) ou “*bottom-up*” (produção por acúmulo de átomos ou moléculas de maneira controlada). A maioria dos pesquisadores produz NPA utilizando os métodos “*top-down*” como as hidrólises ácida e enzimática, ou métodos físicos como a ultrasonicação, radiação, extrusão, entre outros (KIM; PARK; LIM, 2015).

A prospecção em questão tem por objetivo avaliar o cenário atual em relação às nanopartículas de amido, através do mapeamento de documentos de patentes.

METODOLOGIA

O estudo prospectivo foi realizado entre os meses de abril e junho de 2018 consultando a base de dados *European Patent Office (Espacenet®)*, a qual contempla o livre acesso a 100 milhões de documentos de patentes depositadas em mais de 100 países. Os documentos de patentes foram obtidos por combinações de palavras-chave e códigos de Classificação Internacional de Patentes (CIP) no campo de pesquisa avançada. O resumo das combinações em questão está ilustrado na tabela 1.

A combinação selecionada contemplou palavras-chave e IPCs (starch* and (nanocrystal* or nanoparticle*) and (C08B30 or C08B31 or C08J3 or C08L3 or B82B or B82Y)) e correspondeu a um total de 130 patentes encontrados, das quais 107 estavam disponíveis para download. 15 patentes foram excluídas por não estarem no escopo da área de nanotecnologia, assim, um total de 92 documentos de patentes foram analisados neste estudo. As patentes foram exportadas para o programa *CSVed 2.5* para a extração das suas informações, as quais foram tratadas no *Microsoft Office Excel 2013* para as análises.

Tabela 1- Pesquisa de documentos de patente depositados por palavras-chave ou por combinações com códigos de classificação internacional na Espacenet.

Palavras chave e/ ou códigos de classificação internacional (IPC)	Nº de patentes depositadas
(nanocrystal* or nanoparticle*)	>10000
(nanocrystal* or nanoparticle*) and C08J3	1266
starch* and (nanocrystal* or nanoparticle*)	279
starch* and nanoparticle*	223
starch* and (nanocrystal* or nanoparticle*) and (C08B30 or C08B31 or C08J3 or C08L3 or B82B or B82Y)	130
(nanocrystal* or nanoparticle*) and C08L3	108
starch* and B82Y	90
starch* and nanocrystal*	54
starch* and B82B	29

Fonte: Autoria própria (2018).

Os códigos IPC utilizados se referem a: Preparação de amido, amido degradado ou não modificado quimicamente, amilose ou amilopectina (C08B30); Preparação de derivados de amido (C08B31); Processos de tratamento ou composição de substâncias macromoleculares (C08J3); Composições de amido, amilose ou amilopectina ou dos seus derivados ou produtos de degradação (C08L3); Nanoestruturas formadas pela manipulação de átomos ou moléculas (B82B); e usos específicos ou aplicações de nanoestruturas; medição ou análise de nanoestruturas; fabricação ou tratamento de nanoestruturas (B82Y).

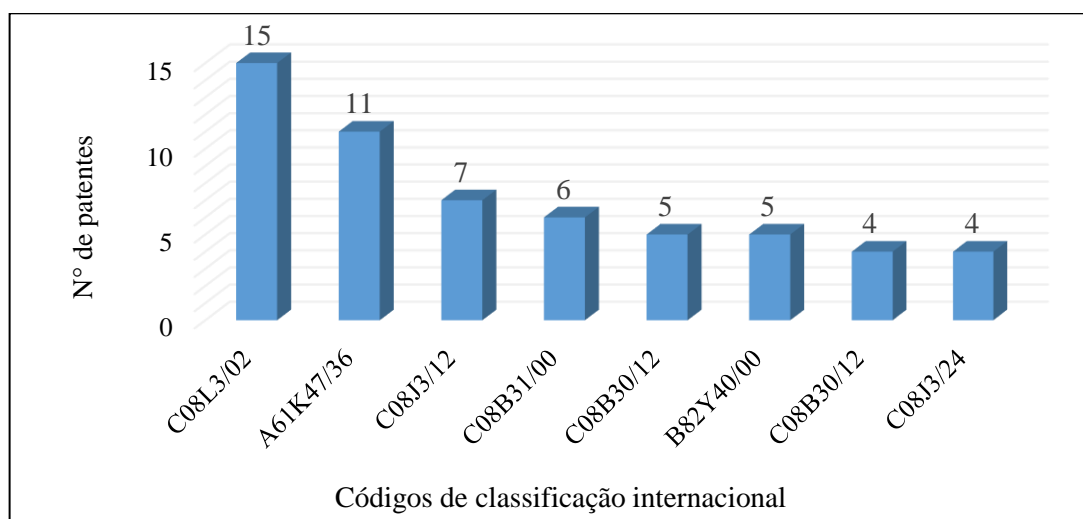
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 92 documentos de patentes estudados, 29 tratam de nanopartículas utilizando materiais metálicos ou biopolímeros como celulose e quitosana, os quais foram analisados à

parte. Portanto, os resultados a seguir referem-se às 63 patentes restantes, relacionadas ao escopo do estudo (nanopartículas de amido).

A figura 1 apresenta os principais códigos de classificação internacional (CIP) mais presentes nas patentes sobre nanopartículas de amido. O código mais encontrado foi o C08L3/02 (amido e seus produtos de degradação), com 15 citações. Ele é constituído pela seção C (área química), classe C08 (compostos macromoleculares orgânicos), subclasse C08L (composições de compostos macromoleculares). A61K47/36, relacionado a preparações medicinais, foi o segundo código mais encontrado com 11 citações e o único dos encontrados que não foi derivado dos códigos utilizados no escopo do estudo. Ele é formado pela seção A (necessidades humanas), classe A61 (ciência médica ou veterinária; higiene) e subclasse A61K (preparações para uso médico, odontológico ou para banheiro).

Figura 1- Distribuição de patentes por Código de Classificação Internacional.



Fonte: Autoria própria (2018).

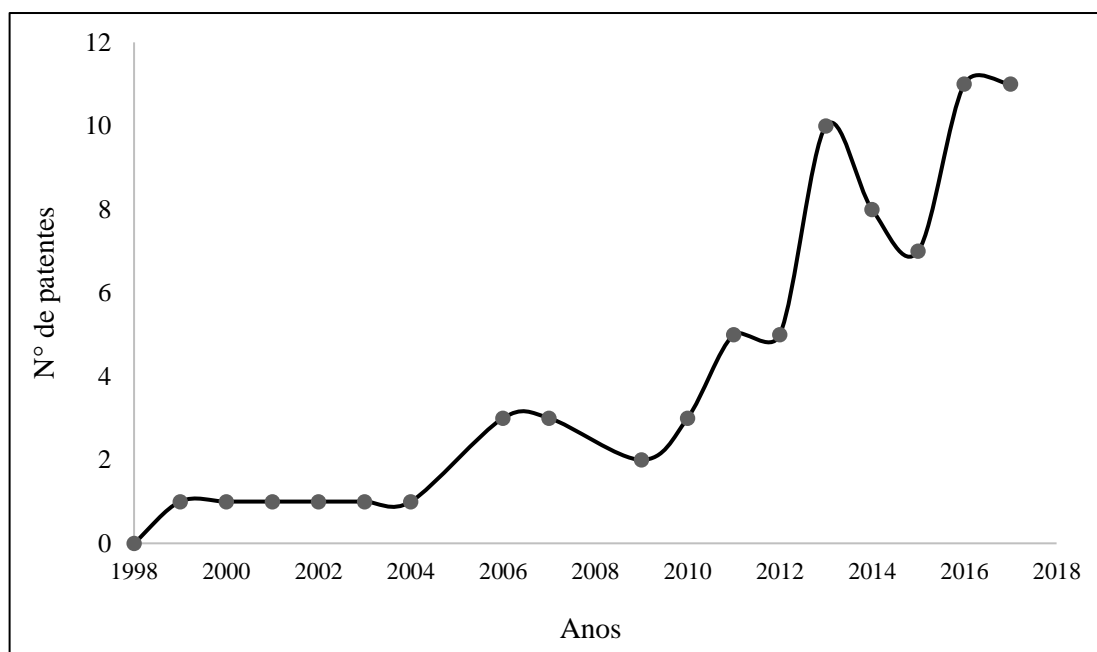
Outros códigos de destaque são: C08J3/12 (processos de pulverização ou granulação (preparação de ingredientes ativos)), C08B31/00 (preparação de derivados de amido), C08B30/12 (amido degradado, desestruturado ou não modificado quimicamente) e B82Y40/00 (fabricação ou tratamento de nanoestruturas).

Em relação ao número de patentes depositadas por ano (relação mostrada na figura 2), o primeiro documento foi depositado em 1999 pela Organização Europeia de Patentes e por inventores holandeses, de número de depósito KR20010108128. Percebeu-se a partir de 2010 um grande aumento no depósito das patentes, demonstrando um interesse recente em relação às NPA. A atual inclinação sobre o assunto pode talvez ser explicada devido às discussões sobre

processos e produtos sustentáveis durante os últimos anos, contexto em que as NPA se encaixam integralmente devido à sua natureza biodegradável.

Em 2014 e 2015 houve um ligeiro decréscimo no depósito de patentes, com respectivamente, 8 e 7 documentos depositados, enquanto que em 2013 este número era de 10 depósitos. Isso pode ser explicado provavelmente por um período de pesquisas que estavam sendo realizadas sobre as NPA para o posterior depósito dos documentos, já que no ano de 2016 o número de patentes depositadas chegou ao número máximo (11). No ano seguinte (2017) esta quantidade se manteve, demonstrando a continuidade do interesse na área. O presente ano (2018) não apareceu com patentes depositadas certamente por estarem em período de sigilo, o qual consiste em um período de 18 meses após o depósito de patentes para que estas possam ser divulgadas.

Figura 2- Depósitos de documentos de patentes feitos entre 1999 e 2017.

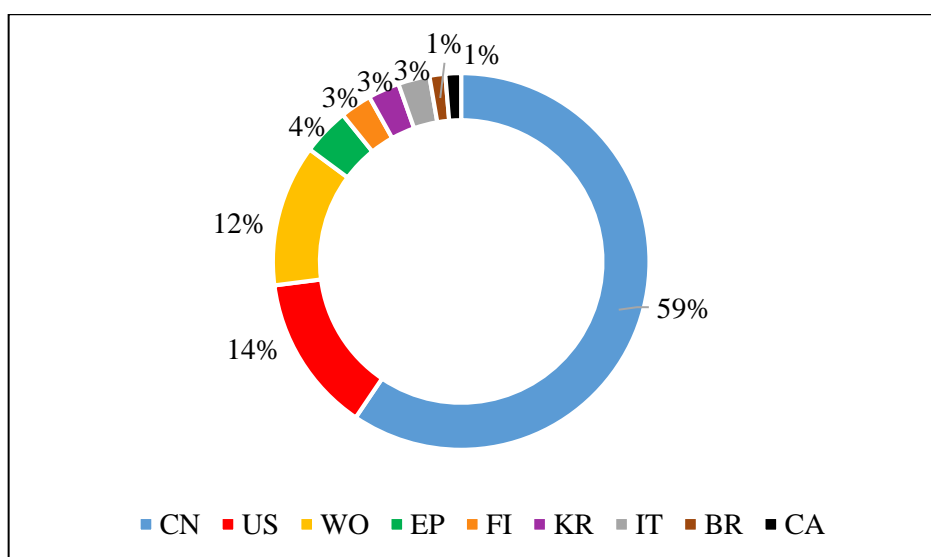


Fonte: Autoria própria (2018).

Em relação aos principais países depositantes de patentes sobre nanopartículas de amido, a China, com ampla vantagem, é o principal neste aspecto, correspondendo à 59% dos depósitos (figura 3). A primeira patente depositada pela China se deu em 2003, de número CN1462763, relacionada à área médica e trata sobre a produção de nanocompósitos de amido aniônico nanométrico e polilisina catiônica, utilizados como transportadores de genes. O segundo maior depositante de patentes são os Estados Unidos, com 14% das patentes, seguidos pela Organização Mundial da Propriedade Intelectual, com 12%.

Percebe-se também a presença de países como a Coreia do Sul, Finlândia, Itália, além do Brasil, demonstrando o interesse de maneira geral de países desenvolvidos e em desenvolvimento no estudo das nanopartículas de amido. O Brasil aparece com uma patente, de número BR102016021512 depositada pela Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e Nufarm Indústria Química e Farmacêutica, referente à formulação de pesticida à base de nanocompósito de amido-abamectina.

Figura 3- Principais países depositantes de patentes.



Fonte: Autoria própria (2018). Sendo: CN: China; US: Estados Unidos; WO: Organização Mundial da Propriedade Intelectual; EP: Organização Europeia de Patentes; FI: Finlândia; KR: Coreia do Sul; IT: Itália; BR: Brasil; CA: Canadá.

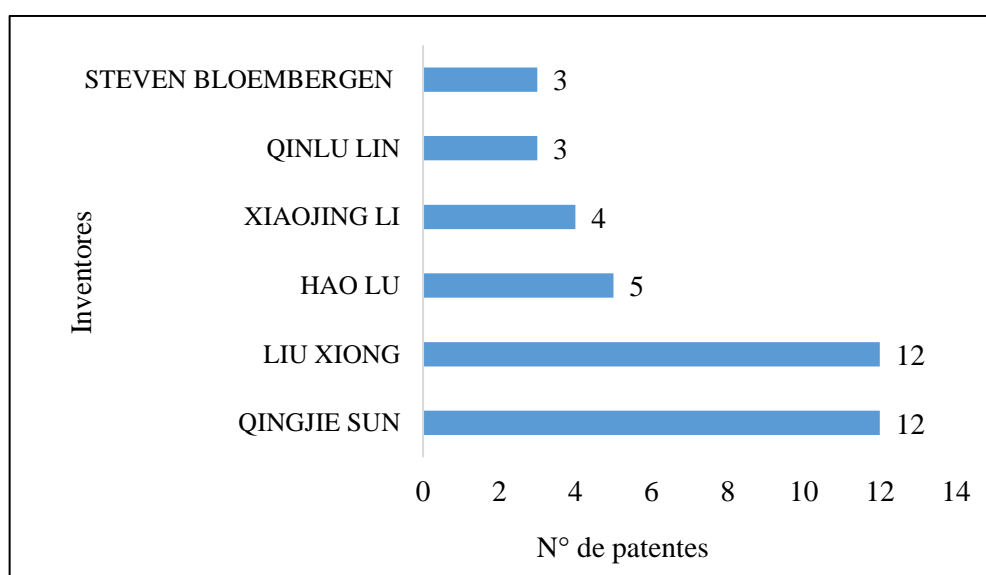
Estes resultados corroboram com o cenário abordado pelo estudo de Gao e colaboradores (2016), que mostra a China e Estados Unidos como os países mais envolvidos na pesquisa e desenvolvimento na nanotecnologia, investindo por exemplo na área da saúde, em que os nanomateriais se provaram ser importantes em tratamentos contra o câncer. Os norte-americanos são pioneiros no segmento da nanotecnologia, incentivando projetos desde o início dos anos 90 e, no começo dos anos 2000, iniciaram o primeiro programa nacional de nanotecnologia do mundo, o U.S. National Nanotechnology Initiative (NNI). Em outros estudos, os EUA também são citados como país de destaque em depósito de patentes em nanomateriais (BORSCHIVER et al., 2005; TOMIOKA; LOURENÇO; FACÓ, 2010; RESCH; FARINA, 2015).

A China, entretanto, fez avanços significativos no início dos anos 2000 e atualmente possui as publicações de nanotecnologia que mais crescem em números, além da

industrialização relacionada às mesmas (DONG et al., 2016). O investimento da China em processos sustentáveis e produtos biodegradáveis como os bioplásticos (LEE, 2016; PYE, 2017) provavelmente fomentou o interesse em pesquisas pela produção/aplicação das nanopartículas de amido, com posterior depósito de documentos de patentes.

Em relação aos principais inventores (figura 4), Qingjie Sun e Liu Xiong destacam-se como os maiores depositantes, com 12 documentos. Segundo o *ResearchGate*, Qingjie Sun é um pesquisador chinês da Qingdao Agricultural University, com vários projetos e artigos publicados na área de síntese de nanomateriais como as NPA (SUN et al., 2014a, 2014b). Observou-se que as patentes depositadas por Liu Xiong, Hao Lu e Xiaojing Li são as mesmas depositadas por Qingjie Sun, levando a conclusão de que estes pesquisadores foram além de inventores, colaboradores das invenções do primeiro depositante. Isso é reforçado pelo fato de Liu Xiong ser conectado a Qingjie Sun pelo *ResearchGate* como seu colaborador em vários projetos. Já Qinlu Lin é um pesquisador chinês da Central South University of Forestry and Technology, porém maiores informações não foram encontradas.

Figura 4- Principais inventores depositantes de patentes.



Fonte: A autoria própria (2018).

Portanto, entre os principais inventores a grande maioria é composta de chineses, ou seja, do mesmo país de origem que mais deposita patentes sobre NPA, à exceção de Steven Bloembergen (americano), inventor responsável por 25 patentes relacionadas à biomateriais. O mesmo é cofundador da EcoSynthetix e da GreenMark Biomedical, as quais atuam no desenvolvimento e comercialização de biomateriais como as nanopartículas de amido. Segundo

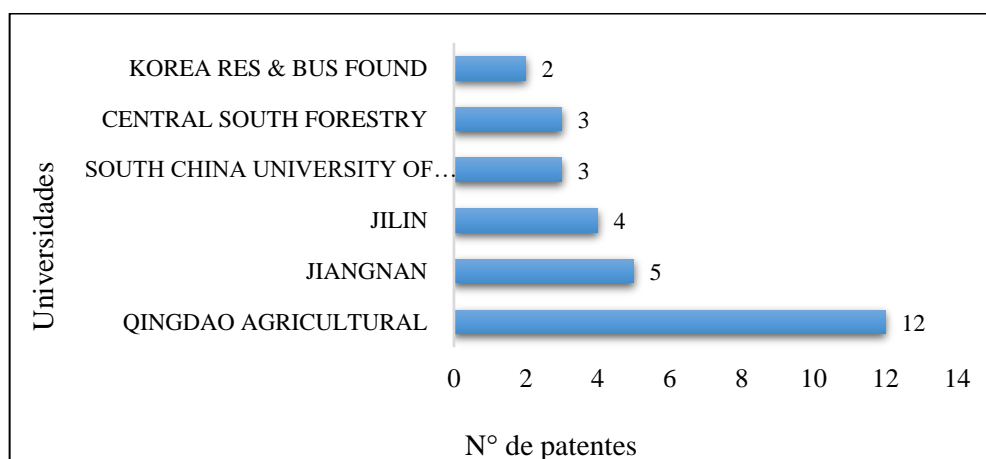
a GreenMark Biomedical (2016), Bloembergen colaborou diretamente na tecnologia de base com linhas-piloto e instalações de produção da empresa nos EUA e na Europa, com capacidade de produção de nanopartículas de amido em excesso de 200 milhões de libras/ano para as áreas médica e odontológica.

Em relação às universidades depositantes, a universidade chinesa Qingdao Agricultural aparece como a maior depositante (12 documentos de patente). Através do site da instituição, observou-se a existência de departamentos ligados a áreas afins à nanotecnologia como engenharia química e ciências farmacêuticas, o que pode explicar o interesse da instituição nesse segmento. Sobre a segunda maior depositante, Jiangnan University, através de buscas em seu site constatou-se a presença dos cursos de mestrado (Ciência e Engenharia Ambiental; Farmacologia) e doutorado (Ciência e Tecnologia de Alimentos; Engenharia e Tecnologia Farmacêutica).

O mesmo se aplica a universidade de Jilin, com faculdades de Ciência e Engenharia de Alimentos, Ciência e Engenharia de Materiais. A universidade em questão também aparece em estudo feito por Gao e colaboradores (2016) e Dong e colaboradores (2016), como referência em pesquisas relacionadas à nanotecnologia. A South China University of Technology também aparece com áreas correlacionadas à nanomateriais, como os cursos de Engenharia de materiais poliméricos e Ciência e Engenharia de Alimentos.

As figuras 5 e 6 apresentam as principais universidades e institutos, respectivamente, que mais depositam patentes sobre nanopartículas de amido. Em relação às universidades percebe-se uma clara dominância das chinesas como depositantes, demonstrando um claro interesse da China no assunto do ponto de vista acadêmico, o qual é o maior país depositante e também possuindo os principais inventores.

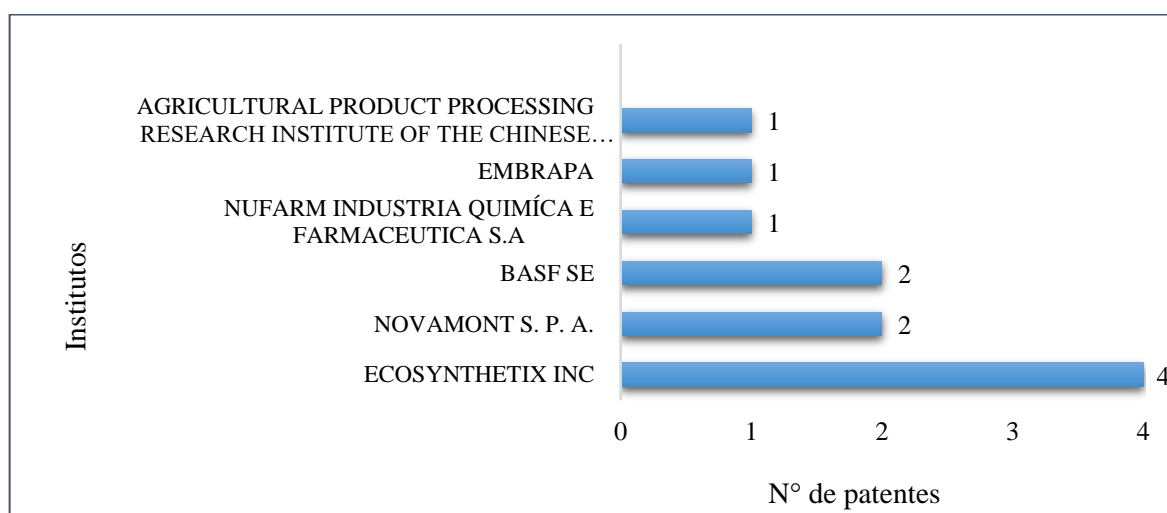
Figura 5- Principais universidades depositantes de patentes.



Fonte: Aatoria própria (2018).

Sobre os institutos depositantes, não existiu um grande predomínio de alguma instituição em relação à outra. A EcoSynthetix, indústria canadense, foi a que mais possuiu depósitos com um total de 4 patentes. Como abordado anteriormente, a empresa atua na produção de biomateriais, sendo a vencedora do Prêmio de Inovação Química do Ano de 2017 de acordo o site da mesma. Os outros institutos que aparecem com mais de uma patente depositada foram a Novamont (Itália) e a Basf (Dinamarca). A Novamont foca na produção de plásticos biodegradáveis, já a Basf é uma indústria química que atua focando em processos sustentáveis.

Figura 6- Principais institutos depositantes de patentes.



Fonte: Aatoria própria (2018).

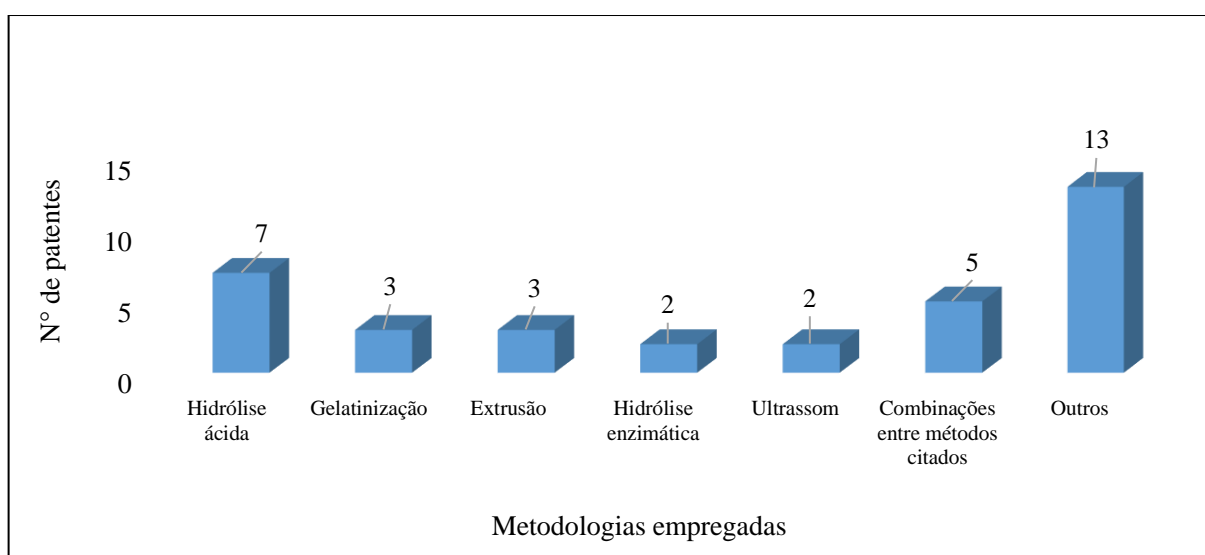
Segundo Le Corre e Angellier-Coussy (2014), os principais produtos comerciais com nanopartículas de amido são o Eco-Sphere da Ecosynthetix e o Mater-Bi da Novamont. O Eco-Sphere consiste em um substituto de bio-látex à base de amido para o látex à base de óleo, fornecendo aplicações adesivas como o revestimento de papeis e complexação de tecidos. Já o Mater-Bi é um amido complexado desestruturado e modificado, misturado com pelo menos um polímero hidrofóbico, sendo comercializado como *pellet* (fonte de energia renovável).

Se tratando dos métodos de produção das NPA (figura 7), pouco mais da metade das patentes (35) apresentou o método utilizado para a produção das mesmas. Algo semelhante foi relatado por Le Corre e Angellier-Coussy (2014), que também observaram que poucas patentes costumam descrever um método de preparo de nanopartículas. A metodologia mais presente

foi a hidrólise ácida, seguida pela gelatinização (sem especificar por qual procedimento), extrusão e por fim hidrólise enzimática e a ultrasonicação. Todas as metodologias encontradas nos documentos são comumente utilizadas para produção de nanopartículas de amido e documentadas em diversos estudos (ANGELLIER et al., 2005; SONG; THIO; DENG, 2011; HAAJ et al., 2013; JIANG et al., 2016; YANG et al., 2017). A hidrólise ácida é o método mais utilizado na produção de nanopartículas devido à estas possuírem alta cristalinidade em suas partes remanescentes do amido nativo, sendo chamadas de nanocristais quando geradas através desse processo (KIM; PARK; LIM, 2015).

Cinco documentos correspondem a combinações entre as metodologias anteriormente citadas e 13 documentos detalham metodologias com outro tipo de tratamento como a esterificação (além de outros tratamentos químicos não especificados), nanoprecipitação, radiação e combinações de tratamentos tradicionais com alternativos (não colocados de forma clara). A união de vários tipos de tratamentos visa suprir algum ponto negativo que um destes possa ter na geração das NPA, como a combinação da hidrólise ácida e ultrassom proposta por Kim e colaboradores (2013) e presente também na patente KR20140107792, com registros de maior rendimento das nanopartículas quando em comparação com apenas a utilização da hidrólise ácida.

Figura 7- Principais métodos na produção de nanopartículas de amido.



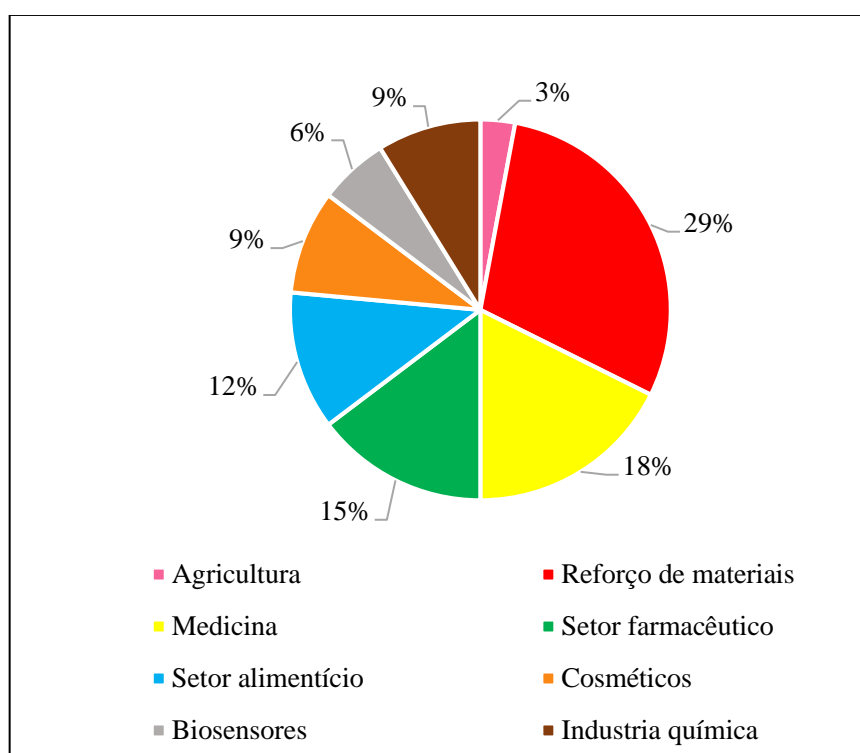
Fonte: Autoria própria (2018).

Apenas 10 documentos de patentes revelaram as fontes botânicas das nanopartículas produzidas, sendo estas as patentes: CN106387851 (palha de diversos vegetais), CN106832435

(semente de lótus), CN105777918, CN105601758 e CN105601757 (arroz), CN104194064 e CN103435705 (milho), CN104211819 (taro), CN103496151 (milho/mandioca) e CN102617797 (mandioca). Possivelmente a grande maioria dos inventores não quis limitar à proteção de suas invenções às fontes botânicas de amido e assim optaram por omitir esta informação em suas patentes.

34 documentos de patente tiveram algum tipo de aplicação das nanopartículas de amido descrita ou pelo menos citada. Não houve um grande predomínio de nenhuma área, com diversos segmentos sendo citados nas patentes (figura 8). A principal aplicação foi no setor de reforço de materiais (representando 29%). A área em questão foi caracterizada por patentes relacionadas a melhorias de propriedades em filmes plásticos (como a patente CN105273210, sobre otimização das propriedades mecânicas e barreira à umidade), ou em revestimentos em materiais como papéis (patente CN103496151).

Figura 8- Setores de aplicação das nanopartículas de amido.



Fonte: Autoria própria (2018).

As citações de aplicação nos setores médico (18%), farmacêutico (15%) e alimentício (12%) também tiveram destaque. Patentes como a CN106387851 (produção de amido nanométrico enriquecido com germânio e selênio, para fins de nutrição humana), WO2010084060 (nanopartículas para liberação de fármacos), CA2819240 (nanocompósitos de

amido e aptâmeros para tratamento contra o câncer), CN105061608 (produção de nanocristais de amido fluorescentes para preparação de biossensores) e CN106832350 (nanopartículas de amido com função emulsificante) demonstram a diversidade das aplicações das NPA.

Por fim, dos 29 documentos de patentes que não são relacionados à nanopartículas de amido, 22 são referentes à nanopartículas metálicas como prata, ouro e ferro. A utilização de metais na produção de nanomateriais ocorre devido às suas boas propriedades ópticas e elétricas (como no caso do ouro) e sua natureza antimicrobiana (prata), podendo ser como usados como nanosensores, transportadores de fármacos e reforço de embalagens. Entretanto, sua toxicidade é um fator limitante em determinadas situações que possam causar riscos à saúde (CUMBERLAND; LEAD, 2009; ANGEL et al., 2013; LIN et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015). As outras 7 patentes são relacionadas à nanopartículas de biomateriais como celulose e quitosana.

CONCLUSÃO

A prospecção em questão mostra que a maioria dos documentos de patentes sobre nanopartículas de amido é depositada pela China, a qual também possui os principais inventores e universidades depositantes, demonstrando grande interesse do país em relação ao tema. Além da China, a presença de países como Estados Unidos, Coréia do Sul, Itália e Brasil como depositantes mostra o interesse de maneira geral de países desenvolvidos e emergentes em relação às nanopartículas de amido. 2016 e 2017 foram os anos com maior número de patentes depositadas. A hidrólise ácida foi o tratamento na produção das NPA mais presente nas patentes, sendo as áreas médica, farmacêutica e alimentícia as mais citadas no campo de aplicações.

PERSPECTIVAS

Por ser um segmento relativamente recente e pelas diversas possibilidades de utilizações, o campo de produção e utilização de nanopartículas de amido possui um grande potencial a ser explorado, permitindo posteriores depósitos de patentes. A ascensão da China e a presença do Brasil entre os países depositantes pode ser o início da demonstração dos países emergentes em proteger suas tecnologias e processos, podendo fomentar a mesma iniciativa em diversas nações que, por mais que possam investir em pesquisas sobre as NPA, ainda não protegem suficientemente suas invenções.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. S. et al. Application of nanotechnology in food packaging. **Polímeros**, v. 25, n. SPE, p. 89-97, 2015.
- ANGEL, B. et al. The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. **Chemosphere**, v. 93, n. 2, p. 359-365, 2013.
- ANGELLIER, H.; MOLINA-BOISSEAU, S.; DUFRESNE, A. Mechanical properties of waxy maize starch nanocrystal reinforced natural rubber. **Macromolecules**, v. 38, n. 22, p. 9161-9170, 2005.
- BASF SE. Masayuki, H. et al. **Starch copolymers and nanoparticles thereof for drug delivery systems**. WO n. 2010084060, 29. jul. 2010.
- BEIJING TECHNOLOGY AND BUSINESS UNIVERSITY. Huafeng, T. et al. **High-barrier composite film and preparation method therefor**. CN n. 105273210, 27. jan. 2016.
- BORSCHIVER, S. et al. Patenting in nanotechnology: study of nanostructured polymeric materials sector. **Polímeros**, v. 15, n. 4, p. 245-248, 2005.
- CENTRAL SOUTH UNIVERSITY FORESTRY AND TECHNOLOGY. Huaxi, X. et al. **Preparation method of esterified rice starch nanocrystalline**. CN n. 105601758, 25. mai. 2016.
- CENTRAL SOUTH UNIVERSITY FORESTRY AND TECHNOLOGY. Huaxi, X. et al. **Preparation method of drug carrier crosslinking-modified rice starch nanocrystals**. CN n. 105601757, 25. mai. 2016.
- CENTRAL SOUTH UNIVERSITY FORESTRY AND TECHNOLOGY. Qinlu et al. **Method for preparing oxidized modified starch nanocrystal**. CN n. 105777918, 20. set. 2016.
- CHANG, Y. et al. High efficiency and low cost preparation of size controlled starch nanoparticles through ultrasonic treatment and precipitation. **Food chemistry**, v. 227, p. 369-375, 2017.
- CHANGSHA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY. Qijie, C.; Yongxiang, Y.; Ping, W. **Preparation method of nano starch for papermaking coating**. CN n. 103496151, 08. jan. 2014.
- CUMBERLAND, S. A.; LEAD, J. R. Particle size distributions of silver nanoparticles at environmentally relevant conditions. **Journal of chromatography A**, v. 1216, n. 52, p. 9099-9105, 2009.
- DONG, H. et al. The nanotechnology race between China and the United States. **Nano Today**, v. 11, n. 1, p. 7-12, 2016.
- ECOSYNTHETIX INC. **About us**. Disponível em: <<http://ecosynthetix.com/about-us>>. Acesso em: 17/05/2018.

ECOSYNTHEIX INC. Giezen, F. E. et al. **Biopolymer nanoparticles**. KR n. 20010108128, 12. jan. 2007.

ECOSYNTHEIX LTD. Bloembergen, S. et al. **Aptamer bioconjugate drug delivery device**. CA n. 2819240, 07. jun. 2012.

EL-NAGGAR, M. E. et al. Synthesis, characterization, release kinetics and toxicity profile of drug-loaded starch nanoparticles. **International journal of biological macromolecules**, v. 81, p. 718-729, 2015.

EL-SHEIKH, M. A. New technique in starch nanoparticles synthesis. **Carbohydrate polymers**, v. 176, p. 214-219, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Pastre, A. D. C.; Giroto, A. S. **Nanoparticle, method for producing a pesticide formulation, pesticide formulation, method for controlling pests, use of the nanoparticle and use of the pesticide formulation**. BR n. 102016021512, 03. abr. 2018.

FUJIAN AGRICULTURE AND FORESTRY UNIVERSITY. Bingyan, C. et al. **Processing method of lotus seed starch-lipid compound nanoparticles**. CN n. 106832435, 13. jun. 2017.

GAO, Y. et al. China and the United States-global partners, competitors and collaborators in nanotechnology development. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 12, n. 1, p. 13-19, 2016.

GONÇALVES, P. M. et al. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 21-27, 2014.

GONZÁLEZ, A.; IGARZABAL, C. I. A. Nanocrystal-reinforced soy protein films and their application as active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 777-784, 2015.

GREENMARK. **The GreenMark Team**. 2016. Disponível em: <<http://greenmark.bio/greenmark-team/>>. Acesso em: 16/05/2018.

HAAJ, S. B. et al. Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 2, p. 1625-1632, 2013.

HUNAN UNIVERSITY. **Nano granule of polylysine amyllum and its preparation method as well as application gene carrier**. CN n. 1462763, 24. dez. 2003.

JEONG, O.; SHIN, M. Preparation and stability of resistant starch nanoparticles, using acid hydrolysis and cross-linking of waxy rice starch. **Food Chemistry**, v. 256, p. 77-84, 2018.

JIANG, S. et al. Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles. **LWT-Food Science and Technology**, v. 69, p. 251-257, 2016.

JIANGNAN UNIVERSITY. **Programs & Courses**. Acesso em: <[http://www.studyinjiangsu.org/lxjxsmgl/staticPage/school/Jiangnan%20University/Programs & Courses.html](http://www.studyinjiangsu.org/lxjxsmgl/staticPage/school/Jiangnan%20University/Programs%20and%20Courses.html)>. Acesso em: 17/05/2018.

JIANGNAN UNIVERSITY. Zhengyu, J. et al. **Method for preparing starch nanocrystal**. CN103435705, 11. dez. 2013.

JIANGNAN UNIVERSITY. Yaoqi, T. et al. **Fluorescent starch nanocrystal and preparation method and application thereof**. CN n. 105061608, 18. nov. 2015.

JIANGXI BODA CHEMICAL. Yang, J. **Preparation method of nano grafting starch**. CN. 102617797, 01. ago. 2012.

JILIN UNIVERSITY. **Faculties**.

Disponível em: <<http://global.jlu.edu.cn/User/Index/college?id=55>>. Acesso em: 17/05/2018.

KOREA UNIVERSITY. Lim, S. T.; Kim, H. Y. **Crystalline starch nanoparticle and its preparation process using hydrolysis and ultrasonic treatment**. KR. 20140107792, 05. set. 2014.

KIM, H-Y. et al. Preparation of crystalline starch nanoparticles using cold acid hydrolysis and ultrasonication. **Carbohydrate polymers**, v. 98, n. 1, p. 295-301, 2013.

KIM, H-Y.; PARK, S. S.; LIM, S-T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p. 607-620, 2015.

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

LEE, D.-H. Bio-based economies in Asia: Economic analysis of development of bio-based industry in China, India, Japan, Korea, Malaysia and Taiwan. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 7, p. 4333-4346, 2016.

LIN, M. et al. Applications of gold nanoparticles in the detection and identification of infectious diseases and biothreats. **Advanced Materials**, v. 25, n. 25, p. 3490-3496, 2013.

NANTONG SNAKEBITE THERAPY INSTITUTE. Jinxue, C.; Gang, C. **Technology for producing selenium-enriched germanium-enriched nanometer starch from straw**. CN n. 106387851, 15. fev. 2017.

NOVAMONT. Disponível em: <<http://www.novamont.com/>>. Acesso em: 17/05/2018.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 11, p. 375-382, 1997.

PYE, A. China's green revolution: biodegradable plastics. **Environmental Engineering**, v. 30, n. 5, p. 15-16, 2017.

QINGDAO AGRICULTURAL UNIVERSITY. Sun, Q. et al. **Corn starch composite membrane as well as preparation method and applications thereof**. CN104194064, 10. dez. 2014.

QINGDAO AGRICULTURAL UNIVERSITY. Sun, Q. et al. **Preparation method and modification method of taro starch nanoparticles as well as application of taro starch nanoparticles**. CN. 104211819, 17. dez. 2017.

QINGDAO AGRICULTURAL UNIVERSITY. Sun, Q. et al. **Preparation method of Pickering emulsion with stable starch nanoparticles**. CN106832350, 13. jun. 2017.

QINGDAO AGRICULTURAL UNIVERSITY. **Welcome to Qingdao Agricultural University**. Disponível em: <<http://www.at0086.cn/QDAU/>>. Acesso em: 17/05/2018.

RESCH, S.; FARINA, M. C. Mapa do conhecimento em nanotecnologia no setor agroalimentar. **Revista de Administração Mackenzie**, v. 16, n. 3, p. 51, 2015.

RESEARCHGATE. **Liu Xiong**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Liu_Xiong8>. Acesso em: 16/05/2018.

RESEARCHGATE. **Qingjie Sun**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Qingjie_Sun2>. Acesso em: 16/05/2018.

RESEARCHGATE. **Qinlu Lin**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/scientific-contributions/69730467_Qinlu_Lin>. Acesso em: 16/05/2018.

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

SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY. **Full-time Undergraduate Programs**. Disponível em: <<https://en.scut.edu.cn/teaching/undergraduateTrainingPlan.jsp>>. Acesso em: 17/05/2018.

SUN, Q. et al. Effect of retrogradation time on preparation and characterization of proso millet starch nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 111, p. 133-138, 2014a.

SUN, Q. et al. Green preparation and characterisation of waxy maize starch nanoparticles through enzymolysis and recrystallisation. **Food chemistry**, v. 162, p. 223-228, 2014b.

THIELEMANS, W.; BELGACEM, M. N.; DUFRESNE, A. Starch nanocrystals with large chain surface modifications. **Langmuir**, v. 22, n. 10, p. 4804-4810, 2006

TOMIOKA, J.; LOURENÇO, S. R.; FACÓ, J. F. B. Patentes em nanotecnologia: prospecção tecnológica para tomada de decisão. **INGEPRO-Inovação, Gestão e Produção**, v. 2, n. 10, p. 001-012, 2010.

YANG, J. et al. Fabrication and characterization of hollow starch nanoparticles by gelation process for drug delivery application. **Carbohydrate polymers**, v. 173, p. 223-232, 2017.

YANG, J. et al. Fabrication and evaluation of the novel reduction-sensitive starch nanoparticles for controlled drug release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 115, p. 368-376, 2014.