

ÂNGELA MORAES TEIXEIRA

**Nanocompósitos de argila montmorilonita, amido,
gelatina, isolado protéico de soja e quitosana**

Campinas

2011



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**



**NANOCOMPÓSITOS DE ARGILA MONTMORILONITA, AMIDO,
GELATINA, ISOLADO PROTÉICO DE SOJA E QUITOSANA**

Ângela Moraes Teixeira

Engenheira de Alimentos

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Profª Drª Fernanda Paula Collares Queiroz

Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos, da Universidade
Estadual de Campinas, para a obtenção do Título
de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

Campinas - SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

T235n Teixeira, Ângela Moraes
Nanocompósitos de argila montmorilonita, amido, gelatina, isolado
protéico de soja e quitosana / Ângela Moraes Teixeira. -- Campinas,
SP: [s.n], 2011.

Orientador: Fernanda Paula Collares-Queiroz
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Engenharia de Alimentos.

1. Nanocompósitos. 2. Amido. 3. Gelatina. 4. Isolado
protéico de soja. 5. Quitosana. I. Collares-Queiroz, Fernanda Paula
II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de
Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Nanocomposites of montmorillonite clay, thermoplastic starch, gelatin, soy
protein isolate and chitosan

Palavras-chave em inglês (Keywords): Nanocomposites, Thermoplastic starch, Gelatin, Soy
protein isolate, Chitosan

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Fernanda Paula Collares-Queiroz

Cristina Yoshie Takeiti

Leila Peres

Lucia Helena Innocentini Mei

Luciana Cristina Brigatto Fontes

Data da defesa: 28/02/2011

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

**Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida em
28/02/2011 por Ângela Moraes Teixeira aprovado pela comissão
julgadora em 28/02/2011.**

Prof^a Dr^a. Fernanda Paula Collares Queiroz
Faculdade de Engenharia Química UNICAMP
(Orientadora)

Dr^a Cristina Yoshie Takeiti
Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Membro)

Prof^a Dr^a. Leila Peres
Faculdade de Engenharia Química UNICAMP
(Membro)

Prof^a Dr^a. Lucia Innocentini Mei
Faculdade de Engenharia Química UNICAMP
(Membro)

Dr^a Luciana Cristina Brigatto Fontes

USP

(Membro)

Dr^a Patricia Sayuri Tanada Palmu

Roasted Potato

(Membro)

Prof^a Dr^a. Florência Cecília Menegalli

Faculdade de Engenharia de Alimentos UNICAMP

(Membro)

Prof^a Dr^a. Cristiana Maria Pedroso Yoshida

UNIFESP

(Membro)

Dedico

este trabalho ao meu companheiro Fábio, pelo apoio irrestrito desde o início desta pesquisa. À minha filha Luiza, que é puro amor. Aos meus pais sem os quais nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Fernanda, pela acolhida, orientação, amizade e pelo exemplo de força e coragem.

Aos Professores do Departamento de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual do Centro Oeste, pelo apoio para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Theo pela acolhida em seu laboratório onde foi desenvolvida a maior parte desta pesquisa.

Ao Prof. Lisandro Pavie pelas orientações nas análises de DRX.

Às técnicas Antônio e Adriane pela disposição e ajuda de grande valia para realização das análises de microscopia eletrônica de transmissão.

Aos técnicos Alfredo e Rogério pelas análises de difração de raio-x.

Aos técnicos Renata e Diego pela ajuda nas análises de cor, opacidade e resistência mecânica dos filmes.

Ao André por sua contribuição como aluno estagiário FAPESP neste trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão dos recursos do Auxílio-Pesquisa (Processo nº 07/59029-7).

A Andréia, Farayde e Mariana pela ajuda no laboratório e idéias trocadas sobre filmes biodegradáveis.

À Sueli Ohata, Daniela, Cristina, Maristela e Luciana pela amizade.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE FIGURAS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS	xxiii
RESUMO GERAL	xxvi
GENERAL SUMMARY	xxviii
INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências bibliográficas	5
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
1. Polímeros de fontes renováveis.....	9
2. Amido de milho ceroso	10
3. Gelatina	11
4. Isolado protéico de soja (IPS)	13
5. Quitosana	14
6. Nanocompósitos	16
7. Referências bibliográficas	22
CAPÍTULO 2. Nanocomposites of thermoplastic starch, gelatin and montmorillonite clay and their characteristics	29
Abstract	31
1. Introduction	32
2. Experimental	33
2.1. Materials	33
2.2. Preparation of starch and gelatin films	34
2.3. Preparation of nanocomposites of starch, gelatin and clay	34
2.4. Visual aspect	35
2.5. Film thickness	36
2.6. Haze and luminous transmittance of the films	36

2.7. Water solubility	37
2.8. Water vapor permeability	37
2.9. Mechanical properties	37
2.10. X-ray diffraction	38
2.11. Transmission electron microscopy	39
2.12. Statistical analysis	39
3. Results and discussion	40
3.1. Haze and luminous transmittance	41
3.2. Thickness, water vapor permeability and water solubility of the films	43
3.3. Mechanical properties	45
3.4. X-ray diffraction	48
3.5. Transmission Electron Microscopy	50
4. Conclusions	53
References	53
CAPÍTULO 3. Avaliação do efeito da incorporação de isolado protéico de soja nas propriedades de nanocompósitos de amido, gelatina e argila montmorilonita sódica	59
Resumo	61
1. Introdução	62
2. Material e Métodos	63
2.1. Material	63
2.2. Filme de amido e isolado protéico de soja (IPS).....	63
2.3. Filme de amido, IPS e argila montmorillonita (MMT)	65
2.4. Filme de gelatina e IPS	65
2.5. Filme de gelatina, IPS e MMT	66
2.6. Filme de amido, gelatina e IPS	67
2.7. Filme de amido, gelatina, IPS e MMT	67
2.8. Aspecto visual	68
2.9. Espessura do filme	68
2.10. Opacidade e transmitância luminosa dos filmes	69

2.11. Solubilidade em água	69
2.12. Permeabilidade ao vapor de água	70
2.13. Propriedades mecânicas	70
2.14. Difração de raios-X	70
2.15. Microscopia eletrônica de transmissão	71
2.16. Análise estatística	72
3. Resultados e Discussão	72
3.1. Aspecto visual, opacidade e cor dos filmes	73
3.2. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes	77
3.3. Propriedades mecânicas	78
3.4. Difração de raio X	80
3.5. Microscopia eletrônica de transmissão	82
4. Conclusões	84
5. Referências bibliográficas	85
CAPÍTULO 4. Efeito da concentração de isolado protéico de soja e montmorilonita nas propriedades de nanocompósitos de amido de milho e gelatina	89
Resumo	91
1. Introdução	92
2. Material e métodos	95
2.1. Materiais	95
2.2. Filmes de amido, gelatina, IPS e MMT	95
2.3. Planejamento experimental	96
2.4. Espessura	97
2.5. Propriedades mecânicas	98
2.6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	98
2.7. Solubilidade em água (SOL)	98
2.8. Difração de raios-X	99
2.9. Microscopia óptica	99

2.10. Microscopia eletrônica de transmissão	99
3. Resultados e discussão	100
3.1. Resistência à tração	101
3.2. Alongamento na ruptura	104
3.3. Permeabilidade ao vapor de água	107
3.4. Solubilidade em água	109
3.5. Difração de raios-X	112
3.6. Microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão	115
4. Conclusões	119
5. Referências bibliográficas	119
CAPÍTULO 5. Estudo do efeito da incorporação de quitosana nas	
propriedades de nanocompósitos de amido, gelatina, isolado protéico de	
soja e argila montmorilonita sódica	
	125
Resumo	127
1. Introdução	128
2. Material e Métodos	130
2.1. Material	130
2.2. Filme de amido, gelatina e quitosana	130
2.3. Filme de amido, gelatina, quitosana e MMT	131
2.4. Filmes de amido, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana e MMT .	132
2.5. Aspecto visual	133
2.6. Espessura do filme	133
2.7. Opacidade e transmitância luminosa dos filmes	134
2.8. Solubilidade em água	135
2.9. Permeabilidade ao vapor de água	135
2.10 Propriedades mecânicas	135
2.11. Difração de raios-X	136
2.12. Microscopia eletrônica de transmissão	136
2.13. Análise estatística	137
3. Resultados e discussão	138
3.1. Aspecto visual, opacidade e cor dos filmes	138

3.2. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes.....	142
3.3. Propriedades mecânicas	144
3.4. Dispersão das camadas de sílica	145
4. Conclusões	148
5. Referências bibliográficas	149
CAPÍTULO 6. Efeito da concentração de quitosana e montmorilonita nas propriedades de nanocompósitos de amido de milho e gelatina	153
Resumo	155
1. Introdução	156
2. Material e Métodos	158
2.1. Material	158
2.2. Filme de amido, gelatina, quitosana e MMTS	158
2.3. Planejamento experimental	160
2.4. Espessura do filme	161
2.5. Propriedades mecânicas	161
2.6. Permeabilidade ao vapor de água	162
2.7. Solubilidade em água	162
2.8. Difração de raios-X	163
2.10. Microscopia óptica	163
2.11. Microscopia eletrônica de transmissão	163
3. Resultados e discussão	164
3.1. Resistência à tração	165
3.2. Alongamento na ruptura	169
3.3. Permeabilidade ao vapor de água	172
3.4. Solubilidade em água	175
3.5. Dispersão das camadas de argila	178
4. Conclusões	185
5. Referências bibliográficas	186
Conclusão geral	189

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Efeito do ácido ferúlico na resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento de quebra (A) em filmes de IPS, plastificados com glicerol	14
Tabela 1.2. Fórmula química e parâmetros característicos dos filisilicatos 2:1 (RAY e Bousmina, 2005).....	17
Table 2.1. Materials obtained through different stirring speeds tested	40
Table 2.2. Values of haze, thickness, luminosity L, color parameters a*, b*, Chroma and ΔE of starch and gelatin films and nanocomposites of starch, gelatin and clay.....	42
Table 2.3. Thickness, water vapor permeability and solubility films made of starch and gelatin and nanocompósitos of starch, gelatin and clay	44
Table 2.4. Mechanical properties of starch and gelatin films and nanocomposites of starch, gelatin and clay	47
Table 2.5. Diffraction angles and interlayer distance of clay levels (001). Δd is the difference between values of d for nanocomposites and sodium clay	49
Table 2.6. Estimation of the crystal sizes (nm)	50
Tabela 3.1. Nomenclatura adotada para os filmes elaborados a partir de amido, gelatina, IPS e argila Montmorilonita	72
Tabela 3.2. Valores de opacidade, espessura, luminosidade L, parâmetros de cor a* e b*, chroma e hue dos filmes de amido, gelatina, IPS e nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e argila	76
Tabela 3.3. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos filmes amido, gelatina, IPS e MMT	77
Tabela 3.4. Propriedades mecânicas dos filmes de amido, gelatina, isolado protéico de soja e MMT	78

Tabela 3.5. Resistência a tração de filmes formulados com polímeros orgânicos	80
Tabela 3.6. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila sódica .	82
Tabela 4.1. Níveis das variáveis independentes IPS e MMT no planejamento experimental da formulação dos nanocompósitos, contendo amido e gelatina na proporção 2:1	96
Tabela 4.2. Planejamento fatorial, valores codificados e reais das variáveis independentes (IPS e MMT) e as variáveis dependentes (propriedades mecânicas, PVA e SOL) dos filmes	101
Tabela 4.3. Efeitos das variáveis independentes sobre a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2=0,87$)	102
Tabela 4.4. Análise de variância (ANOVA) para a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p\leq 0,05$; $R^2=0,84$)	102
Tabela 4.5. Efeitos das variáveis independentes sobre o alongamento dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2=0,90$)	105
Tabela 4.6. Análise de variância (ANOVA) para o Alo dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p\leq 0,05$; $R^2= 0,84$)	105
Tabela 4.7. Efeitos das variáveis independentes sobre a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2 = 0,84$)	107
Tabela 4.8. Análise de variância (ANOVA) para a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p\leq 0,05$; $R^2= 0,82$)	108
Tabela 4.9. Efeitos das variáveis independentes sobre a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2=0,97$)	110
Tabela 4.10. Análise de variância (ANOVA) para a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p\leq 0,05$; $R^2= 0,95$)	113
Tabela 4.11. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e a diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila	114
Tabela 5.1. Nomenclatura adotada para os filmes elaborados a partir de amido, gelatina, quitosana e argila Montmorilonita	138

Tabela 5.2. Valores de opacidade, espessura, luminosidade L, parâmetros de cor a* e b* e Chroma dos filmes de amido, gelatina, quitosana e nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila	142
Tabela 5.3. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos filmes amido, gelatina, quitosana e MMT	143
Tabela 5.4. Propriedades mecânicas dos filmes de amido, gelatina, quitosana e MMT	145
Tabela 5.5. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e a diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila sódica	147
Tabela 6.1. Níveis das variáveis independentes, concentração de quitosana e MMT, no planejamento experimental da formulação dos nanocompósitos, contendo amido e gelatina	160
Tabela 6.2. Planejamento fatorial, valores codificados e reais das variáveis independentes (Quitosana e MMT) e as variáveis dependentes (propriedades mecânicas, PVA e SOL) dos filmes	165
Tabela 6.3. Efeitos das variáveis independentes sobre a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,96$)	166
Tabela 6.4. Análise de variância (ANOVA) para a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,86$) .	167
Tabela 6.5. Efeitos das variáveis independentes sobre o alongamento dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,94$)	169
Tabela 6.6. Análise de variância (ANOVA) para o Alo dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,89$) .	170
Tabela 6.7. Efeitos das variáveis independentes sobre a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,84$)	172
Tabela 6.8. Análise de variância (ANOVA) para a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,79$) .	174

Tabela 6.9. Efeitos das variáveis independentes sobre a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,95$)	176
Tabela 6.10. Análise de variância (ANOVA) para a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,95$) .	176
Tabela 6.11. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e a diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila sódica	180

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Estrutura dos filissilicatos 2:1 (http://www.wwnorton.com/College/chemistry/chemconnections/Rain/moviepages/montmorillonite_layers.htm) citado por RAY e BOUSMINA, 2005).....	16
Figura 1.2. Estrutura dos micro e nanocompósitos	18
Figura 2.1. Haze of the films and nanocomposites of starch, gelatin and MMT. The values of 1, 2 and 3 correspond to 500rpm, 5000rpm and 10.000rpm, respectively	41
Figura 2.2. X-ray diffractograms of films of starch and gelatin, nanocomposites of starch, gelatin and clay compared with pure MMT clay ..	48
Figura 2.3. Transmission electron microscopy (TEM) micrographs of starch 6308 with gelatin films under stirring at (a)500rpm, (b)5000rpm, (c)10000rpm	51
Figura 2.4. TEM micrographs of starch 6308, gelatin and clay nanocomposites under stirring at (a)500 rpm, (b)5000 rpm, (c)10000 rpm ...	52
Figura 3.1. a) Filme de amido e isolado protéico de soja (5%), plastificado com glicerol. b) Filme de amido e isolado protéico de soja (10%), plastificado com glicerol	73
Figura 3.2. a) Filme de amido e isolado protéico de soja (5%), plastificado com glicerol. b) Filme de amido e isolado protéico de soja (10%), plastificado com glicerol	74
Figura 3.3. a) Espalhamento da solução de amido, isolado protéico de soja (5%), argila (5%) e glicerol, nas placas de petri. b) Filme de amido, isolado protéico de soja (5%), argila (5%) e glicerol	74
Figura 3.4. Opacidade dos filmes compostos de amido de milho SS e IPS (SSIPS5%), gelatina e IPS nas concentrações de 5% e 10% (GIPS5% e GIPS10%), gelatina, IPS e MMT (GIPSC), amido, gelatina e IPS nas concentrações de 5% e 10% (SSGIPS 5% e SSGIPS 10%) e amido, gelatina, IPS e MMT (SSGIPSC)	75

Figura 3.5. Difratoograma de raios X dos filmes de gelatina e IPS (GIPS5%); de amido, gelatina e IPS (SSGIPS5%); dos nanocompósitos de gelatina, IPS e argila (GIPSC) e amido, gelatina e IPS (SSGIPSC) comparados com o da argila (Cloisite Na ⁺)	81
Figura 3.6. TEM micrografias de (a) Nanocompósito de gelatina, IPS e argila (GIPSC), (b) Nanocompósito de amido, gelatina, IPS e argila (SSGIPSC)	83
Figura 4.1. Curvas de contorno da resistência à tração em função da concentração de IPS e MMT	104
Figura 4.2. Curvas de contorno do Alo em função da concentração de IPS e MMT	106
Figura 4.3. Curvas de contorno da PVA em função da concentração de IPS e MMT	109
Figura 4.4. Curvas de contorno da SOL em função da concentração de IPS e MMT	112
Figura 4.5. Difratoograma de raios-X dos filmes de amido, gelatina, IPS e argila obtidos segundo delineamento experimental, comparados com o da argila MMT	113
Figura 4.6. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT, respectivamente: (a) 1,5%; 1,5%; (b) 8,5%; 1,5%; (c) 1,5%; 8,5%; (d) 8,5%; 8,5% e (e) 0% e 5%	116
Figura 4.7. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT, respectivamente: (a) 10%; 5%; (b) 5%; 0%; (c) 5%; 10%; (d) 5%; 5% e (e) 5%; 5%	117
Figura 4.8. MET-micrografias em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT respectivamente: a) 1,5%; 1,5%; b) 8,5%; 1,5%; c) 1,5%; 8,5%; d) 8,5%; 8,5% e e) 0% e 5%	118

Figura 4.9. TEM micrografias em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT respectivamente: a) 10%; 5%; b) 5%; 0%; c) 5%; 10%; d) 5%; 5% e e) 5%; 5%	119
Figura 5.1. Filmes a) SSGC3,75%; b) SSGC5% c) SSGC7,5% d) SSGC10%; e) SSGCMH5%; f) SSGCMH10%, g) SSGCC5%, h) SSGCC10%	139
Figura 5.2. Opacidade dos filmes compostos de amido de milho SS, gelatina e quitosana de baixa massa molecular nas concentrações de 3,75%, 5%, 7,5%, 10% (SSGC3,75%, SSGC5%, SSGC7,5%, SSGC10%), amido de milho SS, gelatina, quitosana de baixo peso molecular nas concentrações de 3,75% e 7,5% e MMT nas concentrações de 5% e 10% (SSGCC5% e SSGCC10%), amido de milho SS, gelatina e quitosana de média massa molecular nas concentrações de 5% e 10% (SSGCMH5%, SSGCMH10%), e filmes de amido e gelatina (SSG)	141
Figura 5.3. Difratoograma de raios-X dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila (SSGCC5% e SSGCC10%), comparados com o da argila MMT pura	146
Figura 5.4. TEM micrografias de (a) Filme de amido de milho modificado 6308 com gelatina, quitosana e argila SSGCC5%, (b) Filme de amido de milho modificado 6308 com gelatina, quitosana e argila SSGCC10%, (c) Filme de amido de milho modificado 6308 com gelatina e quitosana SSGC3,75%	148
Figura 6.1. Curvas de contorno da resistência à tração em função da concentração de quitosana e MMT	168
Figura 6.2. Curvas de contorno do Alo em função da concentração de quitosana e MMT	171
Figura 6.3. Curvas de contorno da PVA em função da concentração de quitosana e MMT	173

Figura 6.4. Curvas de contorno da SOL em função da concentração de quitosana e MMT	177
Figura 6.5. Padrões de raios-X de MMT, filmes e nanocompósitos de amido e gelatina com diferentes concentrações de quitosana / MMT	179
Figura 6.6. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de quitosana e MMT, respectivamente: a) 1,09%; 1,5%; b) 1,09%; 8,5%; c) 0%; 5%	181
Figura 6.7. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de quitosana e MMT, respectivamente: a) 3,75%; 0%; b) 3,75%; 10%; c) 3,75%; 5%	182
Figura 6.8. TEM micrografias de filmes e Nanocompósito de gelatina, amido de milho com quitosana e MMT nas seguintes concentrações: a Ensaio_1 (1,09%/1,5%); Ensaio_3 (1,09%/8,5%) e Ensaio_5 (0%/5%)	183
Figura 6.9. TEM micrografias de filmes e Nanocompósito de gelatina, amido de milho com quitosana e MMT nas seguintes concentrações: Ensaio _7 (3,75%/0%), Ensaio _8(3,75%/10%) e Ensaio _11(3,75%/5%)	184

LISTA DE ABREVIATURAS

10A – Argila cloisite 10A

15A – Argila cloisite 15A

30B - Argila cloisite 30B

Alo – Alongamento

DRX – Difração de raio-x

Elo - Elongation

IPS - Isolado protéico de soja

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

MMT - Argila montmorilonita sódica

PE – Polietileno

PP – Polipropileno

PS – Poliestireno

PET – Politereftalato de etileno

PVC – Policloreto de vinila

PVA - Permeabilidade ao vapor de água

RT – Resistência à tração

SOL – Solubilidade em água

UR – Umidade relativa

WPV – Water vapor permeability

XRD – X-ray diffraction

SG - Filme de amido de milho nativo e gelatina preparado com velocidade de agitação de 500rpm

SG5000 - Filme de amido de milho nativo e gelatina preparado com velocidade de agitação de 5000rpm

SG10000 - Filme de amido de milho nativo e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 10000rpm.

SFG - Filme de amido de milho modificado FSS - 22 e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 500rpm.

SFG5000 - Filme de amido de milho modificado FSS - 22 e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 5000rpm.

SFG10000 - Filme de amido de milho modificado FSS - 22 e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 10000rpm.

SSG - Filme de amido de milho modificado 6308 e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 500rpm.

SSG5000 - Filme de amido de milho modificado 6308 e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 5000rpm.

SSG10000 - Filme de amido de milho modificado 6308 e gelatina, preparado com velocidade de agitação de 10000rpm.

SSGC - Nanocompósitos de amido de milho modificado 6308, gelatina e argila, preparados com velocidades de agitação de 500rpm.

SSGC5000 - Nanocompósitos de amido de milho modificado 6308, gelatina e argila, preparados com velocidades de agitação de 5000rpm.

SSGC10000 - Nanocompósitos de amido de milho modificado 6308, gelatina e argila, preparados com velocidades de agitação de 10000rpm.

SSIPS5% - Filme de amido de milho com 5% de isolado protéico de soja.

SSIPS10%- Filme de amido de milho com 10% de isolado protéico de soja.

SSIPSC – Filme de amido de milho com 5% de isolado protéico de soja e 5% de argila montmorilonita.

GIPS5% - Filme de gelatina com 5% de isolado protéico de soja.

GIPS10% - Filme de gelatina com 10% de isolado protéico de soja.

GIPSC - Filme de gelatina com 5% de isolado protéico de soja e 5% de argila montmorillonita.

SSGIPS5% - Filmes de amido e gelatina na proporção de 2:1, com 5% de IPS.

SSGIPS10% - Filmes de amido e gelatina na proporção de 2:1, com 10% de IPS.

SGIPSC - Filmes de amido e gelatina na proporção de 2:1, com 5% de IPS e 5% de argila montmorillonita.

SSGC3,75% - Filme de amido, gelatina (proporção 1:2) e quitosana de baixa massa molecular na concentração de 3,75%.

SSGC5% - Filme de amido, gelatina (proporção 1:2) e quitosana de baixa massa molecular na concentração de 5%.

SSGC7,5% - Filme de amido, gelatina (proporção 1:2) e quitosana de baixa massa molecular na concentração de 7,5%.

SSGC10% - Filme de amido, gelatina (proporção 1:2) e quitosana de baixa massa molecular na concentração de 10%.

SSGCMH5% - Filme de amido, gelatina (proporção 1:2) e quitosana de média massa molecular na concentração de 5%

SSGCMH10% - Filme de amido, gelatina (proporção 1:2) e quitosana de média massa molecular na concentração de 10%

SSGCC5% - Filme de amido, gelatina, quitosana de baixa massa molecular na concentração de 3,75% e argila montmorillonita na concentração de 5%.

SSGCC10% - Filme de amido, gelatina, quitosana de baixa massa molecular na concentração de 7,5% e argila montmorillonita na concentração de 10%.

RESUMO GERAL

Neste trabalho foram desenvolvidos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana e argila montmorilonita para aplicação em embalagens alimentícias. Para avaliar o efeito da concentração de argila montmorilonita sódica (MMT) e isolado protéico de soja (IPS) nas propriedades mecânicas e de barreira de nanocompósitos de amido de milho e gelatina foi adotado um delineamento composto central rotacional 2^2 , incluindo os quatro pontos axiais e quatro pontos centrais, resultando em 12 experimentos, aplicável à metodologia de superfície de resposta. O único parâmetro que exerceu influência aumentando a resistência à tração dos nanocompósitos, foi a concentração de MMT (L), cuja resistência média à tração foi de 70,63 MPa. O alongamento dos filmes, por sua vez, foi influenciado pela concentração de IPS, atingindo valor médio de 6,64%. A permeabilidade ao vapor de água, encontrada para os nanocompósitos, foi de 9,92 gmm/m²dkPa, enquanto que o parâmetro que exerceu maior influência na solubilidade (18,61%) dos mesmos foi à concentração de MMT. Com relação à opacidade os filmes apresentaram valores entre 4,81 e 28,98%. Pelas técnicas de difração de raios-X e microscopia eletrônica de transmissão, foi verificada a formação de estrutura intercalada e esfoliada dos nanocompósitos. Ensaio preliminares mostraram que pelo método utilizado na elaboração dos filmes, não foi possível obter nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS, quitosana e MMT. Desta forma, foram elaborados nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e argila montmorilonita sódica, avaliando-se diferentes concentrações dos dois últimos componentes pelo uso de um delineamento composto central rotacional 2^2 , incluindo os quatro pontos axiais e quatro pontos centrais, resultando em 12 experimentos. Verificou-se que com o aumento da concentração de MMT houve uma diminuição na resistência mecânica e alongamento dos filmes. A formulação que apresentou maior resistência à tração (78,27 MPa) e alongamento (5,83%) continha 1,09% de quitosana e 1,5% de MMT, em relação à massa total de gelatina e amido. O valor médio da

permeabilidade ao vapor de água dos nanocompósitos investigados foi de 10,85 gmm/m²dkPa. Com o aumento da concentração de quitosana e MMT houve uma diminuição na solubilidade dos filmes, sendo o valor médio encontrado de 15,04%. Pela técnica de difração de raios-X, observou-se que, com o aumento da concentração de argila, a estrutura dos filmes tornou-se amorfa. As micrografias obtidas pela microscopia eletrônica de transmissão confirmaram a formação de estrutura intercalada/esfoliada da argila. Este estudo mostrou que as propriedades funcionais dos nanocompósitos de amido de milho e gelatina podem ser modificadas pela variação na concentração de MMT, IPS e quitosana, tornando promissora a utilização destes materiais para embalagem.

Palavras-chave: amido, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana, nanocompósitos.

GENERAL SUMMARY

Nanocomposites of maize starch, gelatin, soy protein isolate, chitosan and montmorillonite clay were developed for application in food packaging. To evaluate the effect of the sodium montmorillonite clay (MMT) and soy protein isolate (IPS) concentration in the mechanical properties and in the barrier of nanocomposites of maize starch and gelatin, it was adopted a rotational central composed delineation 2^2 , including the four axial points and four central points, resulting in 12 experiments, applicable to the response surface methodology. The only parameter that exerted influence increasing the tensile strength of the nanocomposites, was the MMT (L) concentration, which average resistance to the traction was 70,63 MPa. The films elongation was influenced by the IPS concentration, having reached average value of 6,64%. The water vapor permeability, found for the nanocomposites, was 9,92 gmm/m²dkPa, while the parameter that exerted greater influence in the solubility (18.61%) of the same ones was the MMT concentration. Regarding to the haze, the films presented values between 4,81 and 28,98%. By the X-ray diffraction techniques and electronic microscopy of transmission, it was verified the formation of intercalated and exfoliated structure of the nanocomposites. Preliminary analyzes had shown that by the method used in the elaboration of the films, it was not possible to get nanocomposites of maize starch, gelatin, IPS, chitosan and MMT. Therefore, nanocomposites of starch of maize, gelatin, chitosan and montmorillonite sodium clay had been elaborated, evaluating different concentrations of the last two components through the use of a rotational central composite design 2^2 , including the four axial points and four central points, resulting in 12 experiments. It was verified that with the increase of the MMT concentration there was a reduction in the mechanical resistance and elongation of the films. The formularization that presented a greater tensile strength (78,27 MPa) and elongation (5.83%) contained 1.09% of chitosan and 1.5% of MMT, in relation to the total mass of gelatin and starch. The average value of the water vapor permeability of the investigated nanocomposites was 10,85 gmm/m²dkPa. With the increase of the chitosan and MMT concentration there was a reduction in the

solubility of the films, resulting in a average value of 15,04%. By the X-ray diffraction techniques, it was observed that, with the increase of the clay concentration, the structure of the films became amorphous. The micrographs obtained by the electronic microscopy of transmission confirmed the formation of intercalated/exfoliated structure of the clay. This study showed that the functional properties of the nanocomposites of maize starch and gelatin can be modified by the variation in the concentration of MMT, IPS and chitosan, becoming promising the use of these materials for packing.

Keywords: starch, gelatin, soy protein isolate, chitosan, nanocomposites.

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

Ainda que o petróleo seja importante como fonte de energia, seu uso mais valioso é como matéria-prima industrial. Para as empresas que fabricam plásticos, isso gera um enorme desafio de assegurar a sustentabilidade de um setor cujos produtos, uma vez descartados, levam mais de 300 anos para se degradar. Diante desse contexto, vários pesquisadores têm questionado quais serão as ações estratégicas adotadas pelos agentes do setor de plásticos, de forma a garantir seu desenvolvimento sustentável (WRIGHT e GIOVINAZZO, 2005).

Os plásticos mais utilizados no cotidiano, desde 1940, têm sido o polietileno (PE), o polipropileno (PP), o poliestireno (PS) e o politereftalato de etileno (PET) que, apesar do avanço no processo de fabricação, geram dois grandes problemas: o uso de fonte não renovável (como o petróleo) para obtenção de sua matéria-prima e a grande quantidade de resíduos gerada para descarte (AMASS apud FRANCHETTI, 2006).

Incineração, reciclagem, aterros sanitários e biodegradação são as formas de tratar resíduos plásticos. A incineração de resíduos plásticos sempre produz uma grande quantidade de dióxido de carbono, gerando gases de efeito estufa que contribuem para o aquecimento global e, algumas vezes, produzindo gases tóxicos que contribuem para a poluição do meio ambiente (RAY e BOUSIMA, 2005). Por outro lado, a reciclagem é uma alternativa para resolver o problema, mas envolve um grande trabalho prévio de separação de acordo com o tipo de plástico, identificação, limpeza dos recipientes, lavagem, secagem e moagem. O material obtido, então, será processado para obtenção do plástico reciclado. Conseqüentemente, este processo torna a embalagem reciclada mais cara e, além disso, possui qualidade inferior ao polímero virgem, o que conduz a um valor comercial baixo.

Há, portanto, uma necessidade urgente de desenvolvimento de materiais poliméricos verdes sem componentes tóxicos e que possam ser degradados como um produto natural do meio ambiente. Por esta razão, o desenvolvimento de

materiais biodegradáveis com propriedades controladas tem sido um grande desafio para a comunidade científica mundial (RAY e BOUSIMA, 2005).

Segundo Queiroz e Collares Queiroz, 2009, a demanda por bioplásticos é um nicho de mercado que representará um volume médio em torno de 2% da produção global de termoplástico hoje estimado em 250 milhões de toneladas anuais. Grandes petroquímicas, químicas e empresas agroindustriais de polissacarídeos estão investindo em fábricas para a produção de bioplástico, paralelamente a criação de empresas e parcerias de pesquisa e desenvolvimento para desenvolver a próxima geração de bioplástico. Além de investimentos em bio-poliiolefinas, bio-poliéster, nylon-bio, desenvolvidos para substituir seus equivalentes petroquímicos, avanços tecnológicos significativos estão sendo realizados no desenvolvimento de processos e produtos de bioplásticos promissores, tais como (i) PLA, tecnologia de novas aplicações e escalas nos processos de produção, (ii) SBA, tecnologia de nanocompósitos para atingir propriedades de aplicação competitivas, (iii) PHA, avanços no processo de produção e suas propriedades de aplicação, e (iv) CEL interesse na biomassa mais abundante e facilmente disponível na natureza.

A aplicação da nanotecnologia para polímeros de fontes renováveis pode abrir novas possibilidades para melhorar não somente as propriedades destes materiais, como também ao mesmo tempo melhorar o custo-preço-eficiência (SORRENTINO et al., 2007). O cultivo das matérias-primas e a produção industrial de nanocompósitos de polímeros naturais poderão apresentar grande potencial de geração de empregos, promovendo desta forma a inclusão social, especialmente quando se considera o amplo potencial produtivo da agricultura familiar.

Este trabalho, cujo objetivo foi o desenvolvimento de nanocompósitos de argila montmorilonita, amido, gelatina, isolado protéico de soja e quitosana para aplicação em embalagens alimentícias, será apresentado na forma de capítulos que serão descritos resumidamente a seguir:

O Capítulo 1, intitulado: “**Revisão bibliográfica**”, apresenta uma revisão de bio-nanocompósitos, de polímeros de fontes renováveis para sua elaboração, como amido, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana e argila.

O Capítulo 2, intitulado: **“Nanocomposites of thermoplastic starch, gelatin and montmorillonite clay and their characteristics”** mostra o desenvolvimento e caracterização de bio-nanocompósitos de amido e gelatina com variação do tipo de amido, verificando-se o efeito de diferentes velocidades de agitação nas propriedades mecânicas, de barreira e estrutural dos filmes.

O Capítulo 3, intitulado: **“Avaliação do efeito da incorporação de isolado protéico de soja nas propriedades de nanocompósitos de amido, gelatina e argila montmorilonita sódica”** apresenta o desenvolvimento e caracterização de bio-nanocompósitos produzidos pelo método de solução, com objetivo de determinar a concentração máxima de isolado protéico de soja que poderia ser substituída nas formulações para a aplicação no delineamento experimental apresentado no próximo capítulo, bem como verificar a formação de nanoestruturas.

O Capítulo 4, intitulado: **“Efeito da concentração de isolado protéico de soja e montmorilonita nas propriedades de nanocompósitos de amido de milho e gelatina”** aborda através de um delineamento experimental o efeito das concentrações de isolado protéico de soja e argila nas propriedades mecânicas (resistência a tração e alongamento), permeabilidade ao vapor de água e solubilidade.

O Capítulo 5, intitulado: **“Estudo do efeito da incorporação de quitosana nas propriedades de nanocompósitos de amido, gelatina, isolado protéico de soja e argila montmorilonita sódica”** apresenta o desenvolvimento e caracterização de bio-nanocompósitos produzidos pelo método de solução, com objetivo de determinar a concentração máxima de quitosana que poderia ser substituída nas formulações para a aplicação no delineamento experimental apresentado no próximo capítulo, bem como verificar a formação de nanoestruturas.

O Capítulo 6, intitulado: **“Efeito da concentração de quitosana e montmorilonita nas propriedades de nanocompósitos de amido de milho e gelatina”** aborda através de um delineamento experimental o efeito das

concentrações de quitosana e argila nas propriedades mecânicas (resistência a tração e alongamento), permeabilidade ao vapor de água e solubilidade.

Referências bibliográficas

FRANCHETTI, S.M.M., MARCONATO, J.C. Polímeros Biodegradáveis – Uma solução parcial, para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

QUEIROZ, A. U. B., COLLARES-QUEIROZ, F.P. Innovation and Industrial Trends in Bioplastics. **Journal of Macromolecular Science** v.49, p.65–78, 2009.

RAY, S.S., BOUSMINA M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21 st century materials world. **Progress in Materials Science**. v. 50, p. 962-1079, 2005.

SORRENTINO, A., GORRASI, G., VITTORIA, V. Potencial perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p. 84-95, 2007.

WRIGHT J. T. C., GIOVINAZZO, R. A. Crescimento sustentável da indústria de plásticos: Criando estratégias de ação. **Revista de Administração Mackenzie**, n.1, p. 145-164, 2005.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPITULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Polímeros de fontes renováveis

O termo “materiais biodegradáveis” é usado para descrever aqueles materiais que podem ser degradados por ação enzimática de organismos vivos, tais como bactérias, leveduras e fungos, apresentando como produtos finais do processo de degradação: CO₂, H₂O e biomassa, sob condições aeróbicas, e hidrocarbonetos, metano e biomassa, sob condições anaeróbicas (DOI e FUKUDA, 1994).

Biopolímeros tem sido propostos para formulação de filmes comestíveis. Polissacarídeos, proteínas e lípidios tem sido utilizados em várias formas: materiais simples ou compostos e filmes com uma ou múltiplas camadas (GUILBERT e GONTARD 2005).

Coberturas são finas camadas de material aplicadas e formadas diretamente na superfície do produto, enquanto que filmes são estruturas fabricadas separadamente e então utilizadas no produto (KROCHTA e DE MULDER-JOHNSTON, 1997). Eles podem ser classificados em comestíveis e/ou biodegradáveis, dependendo dos constituintes utilizados para sua produção e da quantidade das substâncias empregadas (SHIN, 1996). Seus propósitos são: (i) inibir a migração de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas, lipídios, etc; (ii) transportar ingredientes para os alimentos (antioxidantes, antimicrobianos e aromatizantes) e/ou (iii) melhorar as características de manuseio e integridade do alimento. Em alguns casos, o próprio filme comestível com boas propriedades mecânicas pode substituir embalagens de filmes sintéticos (KROCHTA e DE MULDER-JOHNSTON, 1997).

As propriedades de resistência mecânica são dependentes do tipo de polímero e dos aditivos utilizados. Para muitos poliésteres biodegradáveis, a resistência à tração é freqüentemente semelhante a do polietileno ou PET, mas o alongamento é freqüentemente muito menor (sem a utilização de um agente plastificante). Os hidrocolóides, geralmente, requerem a utilização de plastificante

(por exemplo, utilizando moléculas hidrofílicas com baixa massa molecular, tais como o glicerol) que conferem menor resistência à tração, mas sua alongação é principalmente dependente do conteúdo deste material (GUILBERT e GONTARD, 2005).

2. Amido de milho ceroso

Amido é um polímero semicristalino armazenado nos grânulos como reserva da maioria das plantas. É composto essencialmente de amilose e amilopectina. As quantidades de amilose e amilopectina dependem da fonte. Os grânulos de amido de milho ceroso, por exemplo, contém aproximadamente 100% de amilopectina (LAMBERT e PONCELET, 1997).

A amilopectina é uma molécula altamente ramificada formada por unidades de D-glicose ligadas em $\alpha(1\rightarrow4)$ e com 5 a 6% de ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ nos pontos de ramificação. Apresenta um grau de polimerização de cerca de 10^4 - 10^5 , peso molecular da ordem de $(50-500)\times 10^6$ e o comprimento das ramificações é variável, sendo comum apresentarem entre 20 e 30 unidades de glicose. Em presença de iodo a amilopectina dá coloração avermelhada e é estável em soluções aquosas diluídas (CEREDA, 2001a).

O aquecimento de suspensões de amido em excesso de água (>60%) causa uma transição irreversível denominada gelatinização, que pode ser caracterizada por um perfil endotérmico obtido através de calorimetria diferencial de varredura (DSC), pela perda de birrefringência, observada usando-se microscopia de luz polarizada (perda da cruz de malta) ou pelo desaparecimento da cristalinidade evidenciada pela difração de raio X (CEREDA, 2001b).

No setor de embalagens para alimentos, materiais à base de amido têm recebido grande atenção devido a sua biodegradabilidade, ampla disponibilidade e baixo custo. Diversos estudos estão concentrados no desenvolvimento de materiais à base de amido pelos motivos acima citados (KOCH, et al., 2010, MATHEW e ABRAHAM, 2008, TALJA et al., 2007, RODRÍGUEZ et al. 2006, AVELLA et al., 2005).

Um dos maiores problemas da composição granular do amido é a sua limitação de processabilidade, devido ao tamanho (5-100 µm). Portanto, é difícil elaborar filmes com baixa espessura a partir de amido para aplicação em embalagens. Por esta razão, o amido termoplástico pode ser desenvolvido pela gelatinização do amido granular com 6-10% de umidade na presença de calor e pressão (GEORGE et al., 1994, ZHANG et al. 1997).

Desafortunadamente, o amido apresenta algumas desvantagens, tais como: comportamento hidrofílico forte (baixa barreira à umidade) e propriedades mecânicas piores quando comparados aos filmes plásticos convencionais usados pela indústria de embalagens de alimentos (AVELLA et al., 2005).

Ray e Bousmina (2005) descreveram a preparação de nanocompósitos de argila com amido termoplástico por diferentes técnicas. Segundo estes pesquisadores, as propriedades mecânicas deste polímero podem ser melhoradas com a adição de Montmorilonita.

A argila montmorilonita apresenta boa capacidade de delaminação somada à alta resistência a solventes e estabilidade térmica necessárias aos processos de polimerização e extrusão, fatores que levaram a sua popularização como carga para nanocompósitos com eficácia comprovada (PAIVA et al., 2006). A estrutura da argila é apresentada no item 6.

3. Gelatina

A gelatina é preparada pela desnaturação térmica do colágeno, isolado de osso e pele de animais, com ácido diluído. Também pode ser extraída de pele de peixes. A gelatina contém um grande número de glicina (aproximadamente um aminoácido a cada três resíduos), prolina e 4-hidroxiprolina. Uma típica estrutura é –Ala-Gli-Pro-Arg-Gli-Glu-4Hip-Gli-Pro (RAY e BOUSMINA, 2005).

Há dois tipos de gelatina dependendo se a preparação envolve pré-tratamento alcalino ou não, o qual converte asparagina e glutamina para seus respectivos ácidos e resulta em maior viscosidade. O pré-tratamento ácido (Gelatina Tipo A) utiliza pele de suíno, enquanto o pré-tratamento básico (Gelatina tipo B) faz uso de pele e osso de gado. A gelatina é usada primariamente como

agente geleificante formando géis transparentes, elásticos e termo reversíveis sob resfriamento abaixo de 35°C, o qual dissolve a baixas temperaturas para que ocorra a fusão do produto na boca e a liberação de sabor (RAY e BOUSMINA, 2005).

A ausência de água na gelatina produz uma distorção na conformação molecular e aumenta o número de ligações de hidrogênio intra-moleculares. A desidratação do material não mantém, contudo, a sua estrutura nativa (MOGILNER et al., 2002). Segundo Ray e Bousmina (2005), devido a estas características, a gelatina pode ser utilizada para formação de filmes.

Na literatura, existem vários trabalhos relatando propriedades de filmes elaborados à base de gelatina. SOBRAL et al. (2001) estudou a permeabilidade ao vapor de água e as propriedades mecânicas e térmicas de filmes à base de gelatina bovina e suína em função do conteúdo de sorbitol. A permeabilidade ao vapor de água aumentou linearmente com a concentração de sorbitol. A origem da gelatina teve um efeito nos valores de permeabilidade ao vapor de água, acima de 25g de sorbitol por 100g de gelatina os filmes de gelatina bovina foram mais permeáveis do que os filmes de gelatina suína.

A origem das duas amostras de gelatina não apresentou influência em função de efeito do plastificante na força de ruptura, contudo, na força de deformação os filmes de gelatina bovina apresentaram um aumento, entre a concentração de 35 e 45 g de sorbitol por 100 g de gelatina.

Bertan et al.(2005), verificaram a influência da adição do ácido láurico nas propriedades funcionais de filmes de gelatina, triacetina e ácidos esteárico e palmítico. O aumento da concentração de ácido láurico nos filmes levou a diminuição na permeabilidade ao vapor de água e resistência a tração, mas a um aumento para outros parâmetros como a permeabilidade ao oxigênio, alongamento, solubilidade em água e opacidade.

As propriedades físicas de filmes de gelatina suína plastificados com misturas de glicerol e sorbitol foram estudadas por THOMAZINE et al. (2005). Os filmes plastificados pela mistura de glicerol e sorbitol mostraram propriedades de

barreira e mecânicas intermediárias aos filmes plastificados somente com glicerol ou com sorbitol.

O efeito de plastificantes hidrofóbicos derivados de ácido cítrico e lecitina de soja como emulsificante, nas propriedades funcionais de filmes de gelatina suína foi investigado por Andreuccetti et al. (2009). O uso de derivados de éster de citrato nas formulações filmogênicas de gelatina foi viável, gerando materiais flexíveis. O aumento da adição de plastificantes hidrofóbicos teve diminuição significativa na tensão de ruptura dos filmes. A adição de lecitina de soja produziu melhor incorporação do plastificante apolar nas soluções filmogênicas hidrofílicas.

4. Isolado protéico de soja (IPS)

O IPS é produzido a partir de farinha de soja desengordurada por extração alcalina seguida por precipitação ácida (pH 4,5). Apresenta um maior conteúdo de proteína (> 90%) do que o concentrado protéico de soja (aproximadamente 80%) (MOUNTS et al., 1987) e têm sido investigado para produção de filmes por ser barato, abundante e biodegradável.

Em geral filmes de proteína são eficientes barreiras a gordura, oxigênio e aroma em condições de baixa umidade relativa do ar ou intermediária (KROCHTA e DE MULDER-JOHNSON, 1997).

Porém, filmes à base de IPS possuem propriedades mecânicas ou de barreira ao vapor de água insatisfatórias para aplicações práticas, sendo que estas propriedades tornam-se ainda piores sob condições de alta umidade (GONTARD et al., 1993). É relatado que a adição de agentes de intercruzamento ("cross linking") nas soluções formadoras de filme ou outros métodos físicos podem melhorar as propriedades mecânicas e/ou a permeabilidade ao vapor de água de filmes à base de proteínas (MARQUIE et al., 1995).

Shiyi Ou et al. (2005) elaboraram filmes com 5,0 g de IPS, 3,0 g de glicerol e diferentes quantidades (0, 50, 100, 150, 200 mg) de ácido ferúlico, em dois níveis de pH (igual a 8,0 e 9,0). Em pH 9, os filmes de IPS apresentaram alongamento de 156,3% (Tabela 1.1.) superior aos filmes de polipropileno comerciais BSW

(100%), BPR (95%), BPS (95%) produzidos pela Polo Indústria e Comércio Ltda (POLO BSW, 2010).

Cao et al. (2007) estudaram as propriedades físicas de filmes compostos de proteína isolada de soja e gelatina. Soluções formadoras de filmes com 10% de proteína e 0,1% de glicerol foram preparadas pela mistura de diferentes proporções de soluções de IPS e gelatina (10:0; 8:2; 6:4; 4:6; 2:8; 0:10). Os resultados mostraram que a resistência à tração dos filmes preparados aumentou com o conteúdo de gelatina. Com a adição de gelatina, o filme tornou-se mais transparente, homogêneo e mais fácil de manusear.

Tabela 1.1. Efeito do ácido ferúlico na resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento de quebra (A) em filmes de IPS, plastificados com glicerol.

Ác. Ferúlico (mg/100g)	RT (MPa)		A (%)		Espessura (µm)	
	pH=8,0	pH=9,0	pH=8,0	pH=9,0	pH=8,0	pH=9,0
0	1,47±0,044 ^a	1,60±0,056 ^a	61,7±7,8 ^a	156,3±7,1 ^a	70,3±0,4 ^a	70,8±1,6 ^a
50	1,69±0,139 ^b	2,07±0,138 ^b	94,7±3,9 ^a	167,0±3,5 ^b	72,4±3,2 ^a	72,8±1,5 ^b
100	1,62±0,057 ^b	2,60±0,073 ^d	85,1±10,9 ^b	165,3±7,2 ^b	71,0±1,2 ^a	70,2±1,0 ^a
150	1,64±0,098 ^b	2,44±0,059 ^c	93,0±12,4 ^b	166,5±5,3 ^b	71,4±1,8 ^a	71,8±1,3 ^a
200	1,48±0,062 ^a	2,17±0,175 ^b	86,4±7,6 ^b	155,4±8,5 ^a	71,4±0,7 ^a	72,2±1,3 ^{a,b}

^{a-h} Valores (médias±desvio padrão, n=5), com diferentes letras na mesma coluna, são significativamente diferentes ao nível de 5%.
Fonte: Shiyi Ou et al. (2005)

5. Quitosana

Os polímeros quitina e quitosana têm sido bastante estudados devido ao elevado potencial de aplicação em indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas e na agricultura. A utilização desses compostos em várias áreas justifica-se pelo baixo custo de produção, os quais são produzidos a partir de descartes do processamento de crustáceos, fonte abundante e renovável (REGE et al., 1999).

A quitina e a quitosana são aminoglicopirrananas compostas pelos monômeros N-acetil-D-glicosamina (GlcNac) e D-glicosamina (GlcN). Os polímeros podem ser distinguidos por suas solubilidades em solução aquosa de ácido acético 1% (v/v). Quitina, contendo um número maior ou igual a 40% de GlcNac é insolúvel, sendo que os polímeros solúveis são designados de quitosana (PETER, 2002). Quitosana é composta de três grupos funcionais reativos, um grupo amino e dois grupos hidroxilas primário e secundário nas posições dos carbonos C-2, C-3 e C-6, respectivamente (FURUSAKI et al., 1996). Processos químicos e biotecnológicos estão sendo, atualmente, investigados para a produção de quitosana. Industrialmente, quitosana é produzida a partir da desatilação alcalina da quitina (hidrólise alcalina), porém quitosana também pode ser obtida a partir da desacetilação enzimática de quitina, processo este investigado em pesquisas laboratoriais.

Quitosana comercial “ChitoClear®”, produzida pela Primex, é indicada pelo fabricante como produto antimicrobiano comestível usado como revestimento de frutas, cujo tempo de armazenamento é prolongado. O produto “ChitoClear®” também é indicado no tratamento de pré-colheita de plantas, atuando na indução de respostas de defesa das plantas e no tratamento de águas como floculante. Estudos de pré e pós-colheita de vegetais têm mostrado que o polímero quitosana apresenta efeito no tratamento destes, incluindo: controle de microrganismos patogênicos e aumento do tempo de armazenamento de vegetais frescos devido às propriedades filmogênicas da quitosana (JÚNIOR, 2006).

Pinotti et al. (2007) obtiveram filmes biodegradáveis de quitosana com metilcelulose por método de solução. Foram preparados filmes com as seguintes proporções entre quitosana e metilcelulose: 25:75; 50:50 e 75:25. Os filmes com maior teor de quitosana apresentaram maior rigidez. A flexibilidade dos filmes aumentou com o maior teor de metilcelulose.

Bangyekan et al. (2006) prepararam filmes de quitosana com amido de mandioca e verificaram que com o aumento da concentração de quitosana houve um aumento significativo da tensão de ruptura e diminuição da percentual de

alongamento e quebra, apresentando propriedades mecânicas superiores aos filmes preparados somente com amido.

6. Nanocompósitos

Nanocompósitos constituem uma classe de materiais formados por híbridos de materiais orgânicos e inorgânicos, onde a fase inorgânica está dispersa em nível nanométrico em uma matriz polimérica (YANG, et al., 1998, FORNES et al., 2001, KIM, et al., 2003).

Montmorilonita (MMT), hectorita e saponita são as argilas (filissilicatos 2:1) mais utilizadas na preparação de nanocompósitos poliméricos (NP). Detalhes da fórmula e estrutura química destas argilas são apresentados na Tabela 1.2. e na Figura 1.1. (RAY e BOUSMINA, 2005).

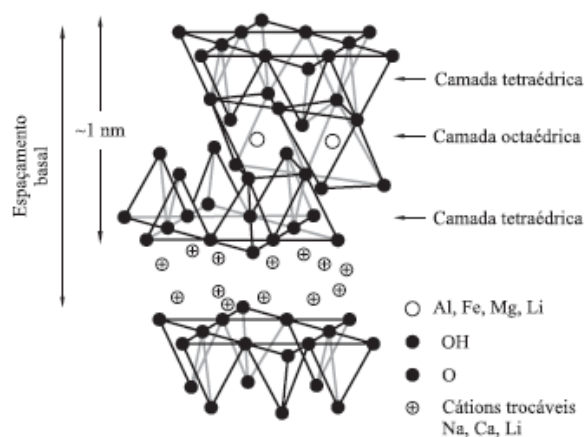


Figura 1.1. Estrutura dos filissilicatos 2:1 (http://www.wwnorton.com/College/chemistry/chemconnections/Rain/moviepages/montmorillonite_layers.htm) citado por RAY e BOUSMINA, 2005).

Tabela 1.2 Fórmula química e parâmetros característicos dos filisilicatos 2:1 (RAY e BOUSMINA, 2005).

Filisilicatos 2:1	Fórmula química ^a	CTC (meq/100g) ^b	Tamanho da partícula (nm)
Montmorilonita	$Mx(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$	110	100-150
Hectorita	$Mx(Mg_{6-x}Li_x)Si_8O_{20}(OH)_4$	120	200-300
Saponita	$MxMg_6(Si_{8-x}Al_x)Si_8O_{20}(OH)_4$	86,6	50-60

^aM=cátion monovalente; x=grau de substituição isomorfa (entre 0,5 e 1,3).

^bCTC= capacidade de troca catiônica

Três principais tipos de estruturas, que estão apresentadas na Figura 1.2., podem ser obtidas quando uma argila é dispersa em uma matriz polimérica: (i) estrutura de fase separada, onde as cadeias poliméricas não intercalam as camadas de argila, levando à obtenção de uma estrutura de propriedades similares às de um compósito convencional; (ii) estrutura intercalada, onde as cadeias poliméricas são intercaladas entre as camadas de argila, formando uma estrutura multicamada bem ordenada, que apresenta propriedades superiores às de um compósito convencional; e (iii) estrutura esfoliada, onde a argila é completa e uniformemente dispersa em uma matriz polimérica, maximizando as interações polímero-argila e levando à significativas melhorias nas propriedades físicas e mecânicas (ZHU e WOOL, 2006, RAY e BOUSMINA, 2005, KRISHNAMOORTI e YUREKLI, 2001, LEBARON e PINNAVAIA, 1999).

A produção de nanocompósitos de polímero/argila pode ser realizada basicamente de três formas: (i) polimerização *in situ*; (ii) preparo em solução e (iii) elaboração no estado fundido ou *melt blending* (SOUZA et al., 2006).

As estruturas dos nanocompósitos têm sido caracterizadas principalmente pelas técnicas de Difração de Raios X (DRX) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). A análise por MET dá informação qualitativa da amostra como um todo, permitindo uma compreensão qualitativa da estrutura interna, distribuição parcial de várias fases e uma visão do defeito estrutural através da visualização direta, enquanto que os picos de baixo ângulo em DRX permitem

uma qualificação de mudanças no espaçamento interlamelar (RAY e OKAMOTO, 2003).

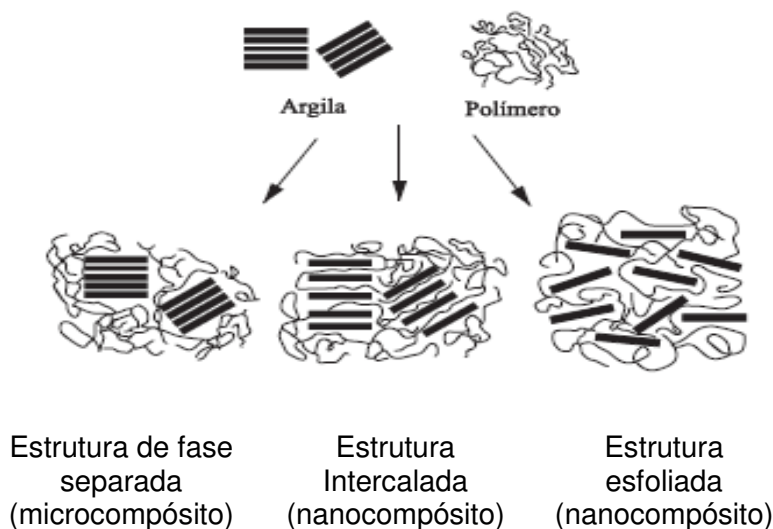


Figura 1.2. Estrutura dos micro e nanocompósitos. (RAY e OKAMOTO, 2003).

O efeito da incorporação de vários tipos de nanoargilas montmorilonita em amostras de amidos de trigo, batata, milho e milho ceroso foram examinadas por reologia e difração de raios X por Chiou et al. (2005). As argilas testadas incluíram a hidrofílica Cloisite Na⁺, assim como, as mais hidrofóbicas Cloisite 30B, 10A e 15A. As amostras foram preparadas pela adição de argila em concentrações de 2,5%; 5,0%; 7,5% e 10% (p/p) em relação aos teores de amido e misturadas manualmente em sacos plásticos. O conteúdo de umidade foi ajustado para 51% com água deionizada.

As amostras contendo a argila Cloisite Na⁺ apresentaram a melhor formação de gel do que as demais amostras. O amido de milho ceroso e amido de batata apresentaram maiores módulos de elasticidade do que os demais amidos testados. O mesmo comportamento foi observado após a gelatinização do amido, quando foi realizado um estudo do módulo de elasticidade variando a temperatura de aquecimento das amostras de 25 a 95°C. Os resultados da difração de raios X sugeriram uma melhor penetração das moléculas de amido nas camadas de sílica da Cloisite Na⁺ do que nas argilas hidrofóbicas, indicando maior intercalação.

Kampeeraappun et al. (2007) prepararam filmes compostos de amido de mandioca e argila MMT pelo método de solução. Uma solução de amido gelatinizado contendo partículas bem dispersas de argila MMT foi preparada da seguinte maneira: 5 gramas de amido de mandioca com pó de quitosana (variando de 1 a 15% com relação ao teor de amido) e argila MMT (variando de 0 a 15% em relação ao peso de amido) foram fisicamente misturados; água destilada e glicerol foram adicionados, para obter-se uma dispersão com 5% de amido e 1% de glicerol como plastificante. Na seqüência, a dispersão foi mecanicamente agitada a 1000 rpm seguida pela acidificação com ácido acético glacial a 1% (v/v) para dissolver a quitosana. A mistura foi, então, aquecida à temperatura de gelatinização do amido (70-80°C) e continuamente agitada por 1 hora. A solução foi colocada sobre uma placa de acrílico em uma espessura de 2 a 3mm. Os filmes foram secos por uma noite a temperatura ambiente. Após a água ter sido completamente evaporada, os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com as necessidades dos testes a serem realizados.

Difração de raio-X do filme seco após tratamento com quitosana revelou um leve aumento do espaço interlamelar da MMT de 14,78 Å para 15,80 Å. A preparação do filme composto de amido e MMT, resultou em um material com melhores propriedades físicas incluindo redução de molhabilidade superficial, uma diminuição na taxa de transmissão de vapor de água e absorção de umidade. Todas estas propriedades encontradas estão relacionadas com a presença de quitosana que geralmente é mais hidrofóbica que o amido. Esta hidrofobicidade do filme está associada aos grupos acetil hidrofóbicos presentes nas cadeias de quitosana (KAMPEERAPAPPUN et al. 2007).

Zheng et al. (2002) prepararam nanocompósitos de gelatina e MMT com a expectativa de melhorar as propriedades mecânicas dos filmes de gelatina. Nanocompósitos foram diretamente preparados com MMT sódica e gelatina em solução aquosa, como descrito a seguir: pesou-se 1 grama de gelatina, adicionou-se 50mL de água destilada e esta solução foi submetida ao aquecimento a 70°C. A seguir, esta solução foi adicionada lentamente em uma suspensão de MMT preparada em banho ultrassônico sob vigorosa agitação a 70°C, colocada em um

recipiente e seca a temperatura ambiente por diversos dias. Os resultados de difração de raio-X revelaram que uma estrutura intercalada ou levemente esfoliada foi obtida.

Li et al. (2002), investigaram o comportamento de intumescimento dos nanocompósitos obtidos por Zheng et al. (2003). Os resultados mostraram que o processo de intumescimento dos compósitos seguiu a cinética de segunda ordem idêntica a da gelatina. A taxa de intumescimento e o máximo de solvente absorvido foram suprimidos pela presença de MMT e foram dependentes da quantidade de MMT e pH da matriz de gelatina.

Para investigar a interação dos grupos funcionais da gelatina e MMT, Xu et al. (2006a) prepararam compósitos de laurato de sódio/MMT e compósitos de laurato de sódio/MMT dehidroxilada como simulação de baixo peso molecular. Através da análise de DRX verificaram que o laurato de sódio aparece nos compósitos preparados em meio alcalino e que há mais laurato de sódio em compósitos preparados em valores de pH mais altos, indicando que o ânion carboxílico ($-\text{COO}^-$), e não o grupo carboxílico (COOH), poderiam interagir fortemente com a MMT. Os compósitos de gelatina com MMT preparados em meio alcalino apresentaram melhores propriedades mecânicas devido à forte interação entre o ânion carboxílico com a MMT, causada pelas cadeias de gelatina contendo mais $-\text{COO}^-$ do que NH_3^+ .

Martucci et al. (2007), prepararam nanocompósitos de gelatina e MMT pelo método de solução. Verificaram que gelatina na concentração de 10g/100 mL, pH 7, conteúdo de MMT menor do que 10% em massa e tempo imersão em banho de ultrassom menor do que 20 minutos foram as melhores condições para obtenção de estrutura intercalada/esfoliada das camadas de sílica.

Bae et al. (2009) desenvolveram nanocompósitos de gelatina de peixe com MMT de sódio tratada previamente em um ultrassom de alta potência em uma solução de água e glicerol. Obtiveram filmes uniformes em espessura, relativamente transparentes e com melhor resistência a tração.

Wang et al. (2005) prepararam nanocompósitos de quitosana e MMT prístina dissolvendo quitosana (2% peso) em solução de ácido acético 2% (v/v) seguida

por centrifugação para separação de materiais insolúveis. A MMT foi primeiro dispersa em 50 mL de água destilada e, então, adicionada à solução de quitosana com MMT, variando nas seguintes quantidades: 2,5%; 5% e 10%, seguido por agitação a 60°C por 6 horas. Subsequentemente, alíquotas desta solução de acetato de quitosana com MMT (AQMMT) foram colocadas em placas de acrílico a 60°C por 48 horas. Filmes de quitosana com MMT (QMMT) foram preparados como descrito acima e, então, após secos foram mergulhados em solução de NaOH 1 M por 5 horas para neutralizar o ácido, seguido por lavagem com água destilada e secos a 60°C por uma noite. Pelas análises de MET e DRX, os pesquisadores verificaram que os filmes de QMMT com 2,5% de argila mostraram uma coexistência de estrutura intercalada e esfoliada. Com o aumento da concentração de MMT, ocorreu a formação de estrutura intercalada e com ocasional floculação.

Acredita-se que a formação da estrutura floculada em nanocompósitos de quitosana e MMT é devido à interação entre as hidroxilas da quitosana e das camadas de sílica (RAY et al., 2003). Uma vez que uma unidade de quitosana possui dois grupos funcionais de hidroxilas e um grupo amino, estes grupos podem formar pontes de hidrogênio com as hidroxilas das extremidades das camadas de sílica, as quais levam a uma forte interação entre a matriz polimérica e a MMT, ocorrendo a formação da estrutura floculada.

Xu et al. (2006) dissolveram 20 gramas de quitosana em 1000 mL de solução de ácido acético (1%, v/v), sendo a solução filtrada na seqüência para remoção de impurezas. Soluções das argilas Cloisite Na⁺ e Cloisite 30B (1%; 3% e 5% de cada argila em relação ao peso de quitosana) foram preparadas pela dispersão das quantidades adequadas em 10mL de ácido acético a 1% e vigorosamente agitadas por 24 horas. Após este período, 200mL de solução de quitosana foram adicionados lentamente nas soluções de argilas preparadas. As misturas foram agitadas por 4 horas e colocadas em placas de vidro revestidas com Teflon[®]. Após secagem a temperatura ambiente por 72 horas, os filmes foram retirados das placas e devidamente acondicionados para realização dos testes. Os filmes

preparados com Cloisite sódica apresentaram melhores características mecânicas do que os com Cloisite 30 B.

Plásticos biodegradáveis de proteína isolada de soja e MMT sódica com estrutura altamente esfoliada e intercalada foram obtidos com sucesso pelo método de solução por Chen et al. (2006). Para conteúdo de MMT menor que 12%, a estrutura foi predominantemente esfoliada, enquanto acima desta quantidade a estrutura intercalada foi predominante. Os pesquisadores verificaram que houve um aumento da força de ruptura aplicada nas folhas de plástico de 8,77MPa (0% MMT) para 16,43 MPa quando 16% de MMT foi incorporada no filme.

Referências bibliográficas

AVELLA, M., VLIEGER, J. J. DE, ERRICO, M.E., FISHER, S., VACCA, P., VOLPE, M. G. Biodegradable starch/clay nanocomposites films for food packaging applications. **Food Chemistry**, v. 93, p. 467-474, 2005.

ANDREUCCETTI, C., CARVALHO, R. A., GROSSO, C.R.F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**. v.42, p 1113-1121, 2009.

BAE, H.J., PARK, H.J., HONG, S.I., BYUN, Y.J., DARBY D.O., KIMMEL, R.M., WHITESIDE, W.S. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, p. 1179-1186, 2009.

BANGYEKAN, C., DUNANGDAO, A., SRIKULKIT, K. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 61-71, 2006.

BERTAN, L.C., FAKHOURI, F.M., SIANI, A. C., GROSSO, C.R.F. Influence of Addition of Lauric Acid to Films Made from Gelatin, Triacetin and a Blend of Stearic and Palmitic Acids. **Macromol. Symp.** p. 143-149, 2005.

CAO, NA., FU, Y., HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1153-1162, 2007.

CEREDA, M.P. Estrutura dos grânulos de amido. In: **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. Fundação Cargill, v.1, São Paulo, p.101-133, 2001a.

CEREDA, M.P. Propriedades do amido. In: **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. Fundação Cargill, v.1, São Paulo, p.141-184, 2001b.

CHEN, P., ZHANG, L. Interaction and Properties of Highly Exfoliated Soy Protein/ Montmorillonite Nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 1700-1706, 2006.

CHIOU, B., YEE, E., GLENN M., ORTS, W.J. Rheology of starch-clay nanocompósitos. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 467-475, 2005.

DOI, Y. & FUKUDA, K. **Biodegradable Plastic and Polymers**. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science, 1994.

FORNES, T. D., YOON, P. J., KESKKULA, H., PAUL D. R. Nylon 6 nanocomposites: the effect of matrix molecular weight. **Polymer**, v. 42, p. 9929-9940, 2001.

FRANCHETTI, S.M.M., MARCONATO, J.C. Polímeros Biodegradáveis – Uma solução parcial, para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FURUSAKI, E., UENO, Y., SAKAIRI, N., NISHI, N., TOKURA, S. Facile preparation and inclusion ability of a chitosan derivative bearing carboxymethyl- β -cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**. v. 29, p. 29-34, 1996.

GEORGE E.R., SULLIVAN T.M., PARK E. H.. Thermoplastic starch blends with a poly (ethylene-co-vinyl alcohol): processability and physical properties. **Polymer Engineering and Science**, v. 34, p. 17-23, 1994.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. & CUQ, J-L Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of wheat edible gluten film. **Journal of Food Science**, v.59, p. 206-211, 1993.

GUILBERT, S., GONTARD, N.; Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics. In: HAN, H. J. **Innovations in Food Packaging**,. Cap. 4., p 263- 276, 2005.

JÚNIOR, E.N.O. **Caracterização dos efeitos de quitosanas na inibição de fungos fitopatogenicos**. Campinas, 2006. 132 p. Tese (Doutorado em Desenvolvimento de Processos Químicos) – Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas.

KAMPEERAPAPPUN, P., AHT-ONG, D., PENTRAKON, D., SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p 155-163, 2007.

KIM, J.T., LEE, D.Y., OH, T., LEE, D. Characteristics of Nitrile–Butadiene Rubber Layered Silicate Nanocomposites with Silane Coupling Agent. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 89, p. 2633–2640, 2003.

KOCH, K, GILLGREN, T., STANDING, M., ANDERSSON, R. Mechanical and structural properties of solution-cast high-amylose maize starch films. **Internacional Journal of Biological Macromolecules**. v.46, p. 13-19, 2010.

KRISHNAMOORTI, R., YUREKLI, K. Rheology of polymer layered silicate nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. v. 6, p. 464-470, 2001.

KROCHTA, J.M., De MULDER-JOHNSON, C. M. Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. **Food Technology**, v. 51, p. 61-74, 1997.

LAMBERT, J. F., & PONCELET, G. Acidity in pillared clays: origin and catalytic manifestations. **Topics in catalysis**, v. 4, p. 43-56, 1997.

LEBARON, P. C., WANG Z., PINNAVAIA T. J. Polymer-layered silicate nanocomposites: an overview. **Applied Clay Science**. v. 15, p.11-29, 1999.

LI, P., ZHENG, J.P., MA, YL, YAO, KD. Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposite. II. Swelling behavior. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 88, p. 322-326, 2002.

MARQUIE, C., AYMARD, C., CUQ, J. L., & GUILBERT, S. Biodegradable packaging made from cottonseed flour: formation and improvement by chemical treatments with gossypol, formaldehyde, and glutaraldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 2762-2767, 1995.

MARTUCCI, J.F., VÁZQUEZ, A., RUSECKAITE, R. A. Nanocomposites Based on Gelatin and Montmorillonite Morphological and Thermal Studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 89, p. 117-122, 2007.

MATHEW, S., ABRAHAM, T. E. Characterisation of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p.826-835,2008.

MOGILNER, I. G., RUDERMAN, G., GRIGERA, J. R. Collagen stability, hydration and native state. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 21, p. 209 – 213, 2002.

PAIVA, L.B., MORALES, A.R., GUIMARÃES, T.R. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de polipropileno e montmorilonita organofílica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 2, p. 136-140, 2006.

PETER, M. G. Chitin and chitosan in Fungi chitin and chitosan from animal sources. In: **Biopolymers, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes**, v. 6, p. 481-574, 2002.

PINOTTI, A., GARCIA, M.A., MARTINO, M.N., ZARITZKY, N.E. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 66-72, 2007.

POLO BSW **Filme de Polipropileno biorientado, transparente, selável em ambas as faces para aplicação geral.** Disponível em: < <http://www.polofilms.com.br/arquivos/produto/14.pdf> >. Acesso em 25 de junho, 2010.

RAY, S.S., BOUSMINA M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21 st century materials world. **Progress in Materials Science**. v. 50, p. 962-1079, 2005.

RAY, S.S., OKAMOTO, M. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Materials Science**, v. 28, p. 1539-1641, 2003.

RAY, S.S., OKAMOTO, K, OKAMOTO M. Structure-Property Relationship in Biodegradable Poly(butylene succinate)/Layered Silicate Nanocomposites. **Macromolecules**, v. 36. p. 2355-2367, 2003.

REGE, P.R., BLOCK, L.H. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. **Carbohydrate Research**, v. 34, p. 235-245, 1999.

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

SHIN, F.F. Edible Films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**, v.73, n.3, p.406-409, 1996.

SHIYI OU, WANG, Y, TANG. S. HUANG, C. JACKSON, M. G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 205-210, 2005.

SOBRAL, P.J.A., MENEGALLI, F.C., HUBINGER, M.D., ROQUES, M.A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**. v.15, p. 423-432, 2001.

SORRENTINO, A., GORRASI, G., VITTORIA, V. Potencial perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p. 84-95, 2007.

SOUZA, M. A., PESSAN, L. A., JR., A. R. Nanocompósitos de Poli (Cloro de Vinila) (PVC)/ Argilas Organofílicas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 4, p. 257-262, 2006.

TALJA,R.A., HELÉN, H., ROOS, Y., JOUPPILA, K. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 288-295, 2007.

THOMAZINE, M., CARVALHO, R.A., SOBRAL, J.A. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blend of Glycerol and Sorbitol. **Food Engineering and Physical Properties**. v. 70, p. E172-E176, 2005.

WANG, S.F., SHEN, L., TONG, Y.J., CHEN, L., PHANG I. Y., LIM, P.Q., LIU T.X. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: Preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, p. 123-131, 2005.

- YANG, F. OU, Y. & YU, Z. J. Polyamide 6/Silica Nanocomposites Prepared by In Situ Polymerization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 69, p. 355–361, 1998.
- XU, S.W., ZHENG, J. P., TONG, L., YAO, K.D. Interaction of Functional Groups of Gelatin and Montmorillonite in Nanocomposite. **Journal of Applied Polymer Science**. v.101, p. 1556-1561, 2006.a
- XU, Y., REN, X., HANNA, M.A. Chitosan/Clay Nanocomposite Film Preparation and Characterization. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 99, p. 1684-1691, 2006.b
- ZHANG L.L., DENG X.M. ZHAO S.J., HUANG Z.T. Biodegradable polymer blends of poly (3-hydroxybutyrate) e acetate de amido. **Polymer International**, v. 44, p. 104-10, 1997.
- ZHENG, J. P., LI, P., MA, YL, YAO, KD. Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposite. I. Preparation and properties. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 86, p. 1189–1194, 2002.
- ZHU, L., WOOL, R. P. Nanoclay reinforced bio-based elastomers: Synthesis and characterization. **Polymer**, v.47, p. 8106-8115, 2006.

**CAPÍTULO 2 – NANOCOMPOSITES OF THERMOPLASTIC STARCH,
GELATIN AND MONTMORILLONITE CLAY AND THEIR
CHARACTERISTICS**

CAPÍTULO 2

NANOCOMPOSITES OF THERMOPLASTIC STARCH, GELATIN AND MONTMORILLONITE CLAY AND THEIR CHARACTERISTICS

Ângela M. Teixeira^{a*}, Luciana Cristina B. Fontes^a, Alan Silva de Menezes^c,
Lisandro P. Cardoso^c, Fernanda Paula Collares Queiroz^b.

^aDepartment of Food Technology, School Food Engineering – State University of Campinas – Unicamp.
P.O.Box 3021; Zip Code 85035300-Guarapuava, Pr, Brazil

^bSchool of Chemical Engineering – State University of Campinas – Unicamp.
P.O.Box 6066; Zip Code 13083-970-Campinas-SP,Brazil

^cIFGW, State University of Campinas – Unicamp.
P.O.Box 6165, 13083-970Campinas, SP, Brazil

(*) Corresponding author. Tel. +554236231697.

E-mail address: amteixeira11@yahoo.com.br (Â.M.Teixeira).

Abstract

In this work, it was used three stirring speeds in the production of nanocomposites formed from montmorillonite clay (MMT), corn starch and gelatin: (i) TA1, 500 rpm for 1 minute; (ii) TA2, under stirring at 5000 rpm for 5 minutes and (iii) TA3, under stirring at 10000 rpm for 5 minutes. The films were obtained by the casting process and characterized with respect to chemical and physical properties (thickness, opacity, color and water solubility), barrier (water vapor permeability - WVP), mechanical (tensile strength - TR and elongation – ELO) and structural (X-ray diffraction - XRD and transmission electron microscopy-TEM). Control films without clay addition were also elaborated by these three techniques. The products tested for this study were: AMISOL[®] 4000 corn starch, FLUIDEX[®] SS-22 Modified starch and SNOW-FLAKE[®] 6308 Modified starch for preparation of films before applying the clay. The SNOW-FLAKE[®] 6308 showed the best characteristics to form a film as they were more transparent (haze of 3.91%) and more easily removed from the plates. Moreover, it was the films with best mechanical properties (tensile strength 82.10 MPa) and lower values of water vapor permeability (10.28 gmm/m²dkPa). For these reasons this raw material was

chosen for the investigation of nanocomposites. The addition of clay in this formulation caused an increase in haze of the films around 82.47%, yet the materials obtained showed 76.45% transparency. The solubility (16.32%) and WVP ($4.82 \text{ gmm/m}^2\text{dkPa}$) of the films decreased, which improved their barrier properties. The tensile strength increase (87.92 MPa) and the elongation (3.29%) of the films decreased, but no significant difference in the properties of the nanocomposites when different stirring speeds were applied to the preparation of materials.

Keywords: starch, gelatin, clay, nanocomposites.

1. Introduction

Even though oil is important as an energy source, its most valuable use is as industrial raw material. For companies that manufacture plastics, it raises an enormous challenge to ensure the sustainability of an industry whose products, once discarded, will take 300 years to degrade. Given this context, several researchers have questioned what will be the strategic actions taken by staff of the plastics industry, to ensure its sustainable development. In Brazil, the per capita consumption of plastics will increase from approximately 20 kg/year to around 35 kg/year in 2010, totalizing 6.5 million tons/year (WRIGHT & GIOVINAZZO, 2004).

The plastics most commonly used in daily life, since 1940, has been the polyethylene (PE), polypropylene (PP), polystyrene (PS), polyethylene terephthalate (PET) and polyvinyl chloride (PVC) that despite the progress in the manufacturing process generate two major problems: the use of non-renewable resource (like oil) to obtain its raw material and the large amount of waste generated for disposal (AMASS apud FRANCHETTI & MARCONATO, 2006).

Therefore there is an urgent need to develop green polymeric materials without toxic components and which can be degraded as a natural product of the environment. For this reason the development of biodegradable materials with controlled properties has been a great challenge for the scientific community worldwide (RAY & BOUSIMA, 2005).

The major part of bioplastics market is composed of mixtures of thermoplastic starch and synthetic biodegradable polyester, representing about 65% of the total market. Packs contain an average of 60-70% starch, and the Novamont is the market leader, with products such as Materbi ®. The polylactic acid is the second bioplastic most commercially produced so far (mostly by Cargill Dow under the trade name Ecopla®). There is great interest in other bioplastics based on natural sources of polysaccharides and proteins due to its low cost (GUILBERT & GONTARD, 2005). However, the use of biofilms for food packaging has been greatly limited due to poor barrier properties and mechanical properties presented by natural polymers (GUILBERT & GONTARD, 1997).

The application of nanotechnology to biodegradable polymers can open new possibilities to improve not only the properties of these materials, but also the cost-price-efficiency (SORRENTINO et al., 2007).

In this work, films of modified waxy maize starch, gelatin and MMT were developed and their characteristics were evaluated to determine if the formation of nanocomposites in the polymer network occurred. Films without clay were also developed to verify differences in the properties of water vapor permeability (WVP), tensile strength (TR) and percentage of elongation at break (ELO).

2. Experimental

2.1 Materials

The raw materials used to make the films were: AMISOL® 4000 corn starch; FLUIDEX® SS-22 Modified starch; SNOW-FLAKE® 6308 Modified starch (*Corn Products, Brazil*); type-A gelatin (*Leiner Davis Gelatin*); Glycerol (*Synth*); Cloisite® Na⁺ (*Southern Clay Products, Inc.*) montmorillonite clay.

2.2. Preparation of starch and gelatin films

The films of starch and gelatin were obtained by dispersing 5 g of corn starch in 100mL of distilled water. After the total dispersion, the suspension was heated at 85°C for 15 minutes, constantly stirring. We evaluated three stirring speeds for the homogenization of the starch gel: (i) stirring at 500 rpm for 1 minute (with magnetic stirrer - Nova Ética brand, *Vargem Grande Paulista*, Brazil); (ii) stirring at 5.000 rpm (with digital stirrer IKA Ultra-Turrax®T25, Wilmington USA) for 5 minutes and (iii) stirring at 10.000 rpm (with stirrer IKA Ultra-Turrax®T25 digital, Wilmington USA) for 5 minutes. The gelatin solution was prepared by moisturizing 10 grams of gelatin in 100mL of distilled water for 1 hour. After this period, the solution was heated in a water bath (brand Nova Ética, model Dubnoff 304-DE, *Vargem Grande Paulista*, Brazil) with stirring at 70°C for approximately 15 minutes until gelatin is completely dissolved (FAKHOURI & GROSSO, 2003). The gelatinized starch solution was homogenized and mixed with the gelatin solution, incorporating 10% of glycerol in relation to the total amount of macromolecule at different speeds, for 1 minute. The mixtures were placed in ultrasonic bath (Ultrasonic Cleaner - USC model - Unique Ultrasonic Clear brand, Indaiatuba, Brazil) at 70°C for 15 minutes. In these experiments, we evaluated three types of commercial starches: AMISOL® 4000 corn starch, FLUIDEX® SS-22 Modified starch and SNOW-FLAKE® 6308 Modified starch, for preparation of films.

These film solutions were divided into *Plexiglas*® plates of 14 cm diameter with aliquots of 20mL and dried at a 25°C in stove with air circulation (Tecnal, TE-39412 model, Piracicaba, Brazil) for approximately 24 hours. The films were removed from the surfaces of plates and placed under specific conditions for the tests of physical, chemical and structural characterization, according to the technique described in items 2.4 to 2.11.

2.3. Preparation of nanocomposites of starch, gelatin and clay

Dispersions were prepared with total mass of 15g of gelatin, SNOW-FLAKE® 6308 modified starch (the proportion of gelatin-starch used was 2:1) and Cloisite® Na⁺ montmorillonite clay (5% of the total mass) in 200mL of distilled water, as will

be described below. Initially, it was prepared a dispersion of SNOW-FLAKE[®] 6308 modified starch and Cloisite[®] Na⁺ montmorillonite clay in 100mL of distilled water in magnetic stirred at 500 rpm (Nova Ética brand, *Vargem Grande Paulista*, Brazil) for 1 hour (TUNC et al., 2007). After the total dispersion, the suspension was heated in a water bath (Nova Ética brand, Dubnoff 304-DE model, *Vargem Grande Paulista*, Brazil) at 85°C for 15 minutes, under constant stirring. Three different conditions of homogenization were evaluated to obtain the starch and clay nanocomposites: (i) stirring at 500 rpm for 1 minute (with magnetic stirrer - Nova ética brand, *Vargem Grande Paulista*, Brazil); (ii) stirring at 5000 rpm for 5 minutes (with digital IKA Ultra-Turrax®T25 stirrer, USA) and (iii) stirring at 10000 rpm for 5 minutes (with digital IKA Ultra-Turrax®T25 stirrer, USA).

The gelatin solution was prepared by moisturizing the raw material in 100 mL of distilled water for 1 hour. After this period, the solution was heated in water bath (Nova Ética brand, Dubnoff 304-DE model, *Vargem Grande Paulista*, Brazil) with stirring at 70°C for 15 minutes, until gelatin is completely dissolved (FAKHOURI, GROSSO, 2003). After this, the solution of starch and clay was mixed, for 1 minute, to the solution of gelatin and to glycerol (10% of the total mass) at the tested different speeds. The mixtures were put in ultrasonic bath (Ultrasonic Cleaner - USC model - Unique Ultrasonic Clear brand, Indaiatuba, SP) at 70°C for 15 minutes.

These film solutions were divided into *Plexiglas*[®] plates of 14 cm diameter with aliquot of 20mL and dried at 25°C in stove with air circulation for approximately 24 hours. The films were removed and packed in accordance with the necessity of the tests of physical, chemical and structural characteristics.

2.4. Visual aspect

The visual and tactile tests were conducted to select only the homogeneous films (with uniform color and presenting no insoluble particles) and flexible (ease of handling, showing no breaks or brittle areas).

2.5. Film thickness

Film thickness was determined using a micrometer (MDC-25M model, Mitutoyo, MFG, Naucalpan de Juarez, Mexico), making an average of 10 random measurements in different parts of the film. This measure was obtained after placing the films in desiccators at 25°C and 50% relative humidity for 48 hours.

2.6. Haze and luminous transmittance of the films

The Haze of the films was determined according to the standard method D-1003-07^{E1} of the ASTM (ASTM, 2008), using the Hunterlab colorimeter (Colorquest II, Faifax, USA) with standard illuminant D65 and 10° observer. The determination of the film colors was based on the CIEL*a*b* system. In this system, L* indicates luminosity, which ranges from zero (black) to 100 (white), while a* and b* represent chromaticity coordinates, where +a* indicates tendency for red and -a* tendency for green; +b* indicates tendency for yellow and -b* for blue. Measurements were performed in four steps for each sample, after colorimeter calibration with a standard white background and a standard black background (HUNTERLAB, 1997).

The "Haze" was determined by the equation:

$$\text{Haze} = T_d / T_t \times 100 \quad (1)$$

In which:

T_d is the diffuse transmittance

T_t is the total transmittance

T_t is the total difference in color (ΔE), according to the following equation:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (2)$$

In which, ΔE = difference between each color parameter of the samples with and without treatment.

The standard values were those of the SSG formulation: L = 93.96, a = -0.17 and b = 1.76.

2.7. Water solubility

The solubility of the films in water was determined by the method proposed by Gontard et al.(1994). The samples, in triplicate, were prepared by cutting 2 cm diameter discs. The initial dry weight of the samples was obtained after drying the same for a period of 24 hours at a temperature of 105°C in stove with air circulation (TECNAL, TE 394/2 model, Piracicaba, Brazil). After the first weighing, the samples were immersed in a container containing 50mL of distilled water and put under stirring at 78 rpm in thermostatic bath (Nova Ética brand, Dubnoff 304-DE model, Vargem Grande Paulista, Brazil) during 24 hours. After this period, the solubilized samples were removed and dried at a temperature of 105°C for 24 hours to obtain the final dry mass.

2.8. Water vapor permeability

The water vapor permeability of films was gravimetrically determined according to the standard method E-96-00^{E1} of the ASTM (ASTM, 2002). The disc-shaped film sample was sealed in a permeation cell made of acrylic containing calcium chloride and placed in a desiccator with controlled relative humidity and temperature (25°C and 75% humidity). The water vapor diffused through the film was determined by mass gain of calcium chloride, measured every 24 hours for seven days. The tests were performed in triplicates.

2.9 Mechanical properties

Tensile strength and percentage of elongation at break were determined by using TA.XT2 texturometer (Stable Micro System, Hasleme, UK), operated in accordance with the standard method ASTM D882-02 (ASTM, 2002). Measurements were conducted at room temperature (25°C). The initial separation of the claws and the speed of the probe were 50 mm and 0.5 mm/s, respectively. The tensile strength was calculated by dividing the maximum force by cross-sectional area of the film (the film width x initial thickness). The percentage elongation at break was determined by dividing the values of the differential extent

by initial separation of the claws (50 mm) and multiplying by 100. There were eight replicates.

2.10 X-ray diffraction

Samples of clay and nanocomposites (discs with 25 mm diameter and 0.7 mm thick) were analyzed by X-ray diffraction (XRD) to determine the occurrence of intercalation/exfoliation of clay layers after incorporation of the polymer in order to identify the type of nanocomposite formed by determining the distance of the clay interlayer. The measurements were performed in a PHILIPS (PW 1710) diffractometer with copper K α radiation ($\lambda=1.5405$ Å) under the Bragg-Brentano geometry and a graphite monochromator for diffracted beam, within the range of 2.0 to 40.0° (2 θ) and counting time of 2 seconds.

Analysis of crystallite size (D) of samples was performed using the SCHERRER (1918) equation given below:

$$D = \frac{k \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (3)$$

k is the coefficient of form ($k=0,9$);

λ is the wavelength;

β is the *full width half maximum* (FWHM)

θ is the diffraction angle.

The β parameter was corrected by instrumental width using the Warren method (1969) through the equation:

$$\beta = (\beta^2_{\text{exp}} - \beta^2_{\text{inst}})^{1/2} \quad (4)$$

β_{exp} and β_{inst} are the experimental width and instrumental width of the equipment (obtained from the standard sample Al₂O₃), respectively.

2.11 Transmission electron microscopy

The transmission electron microscopy of the films was performed using the procedure described by Standing et al. (2001). For this study, film samples of 2 x 2 mm were cut. Fixation of samples was performed with 2% glutaraldehyde (solution diluted with 0.1M pH 7.2 sodium cacodylate buffer) for 2 hours at 4°C. The samples were washed with sodium cacodylate buffer 0.1M (3 times for 10 minutes) and, after that, fixed in 2% w/v, OsO₄ (solution diluted with Na 0.2M, pH 7.2 sodium cacodylate buffer) for 2 hours.

After fixation, it was performed the washing with sodium cacodylate buffer 0.1 M (3 times for 10 minutes) and, afterwards, the samples were left in Na cacodylate buffer 0.1 M pH 7,2 during 12 hours.

Hereupon, samples were dehydrated in ethanol series for 15 minutes: 30, 50, 70, 90% v/v, and finally in ethanol 99.5% v/v (3 times for 15 minutes). The dehydrated samples were immersed in propylene oxide and 99.5% ethanol (1:1) for 20 minutes, and in pure propylene oxide for 20 minutes. After this period, the samples were included in propylene oxide and resin (2:1, 1:1 and 1:2) for 90 minutes in each case. Finally, it was included in pure resin for 12 hours in rotor at room temperature. Having finished these procedures, a new inclusion in Epon resin was performed in the mold and put into stove for at 60°C (48-72 hours).

After performing semi-thin (with glass razor blade) and thin cuts (in a Leica ULTRACUT ultramicrotome, UCT model, Vienna, Austria, and Diatome diamond knife, Cryoisto 45°, Bienne, Switzerland) of dry material, it was performed a contrast with uranyl acetate and lead citrate. The specimens were observed with a transmission electron microscope (Carl Zeiss, LEO-906, Oberkochen, Germany), operating at an acceleration voltage of 80 kV.

2.12 Statistical analysis

The SAS (*Statistical Analysis System* – SAS Institute Inc., North Carolina, USA) statistical program, version 8.0, was used to calculate analysis of variance (ANOVA) of the results. The Tukey test was used to determine differences between the properties of the films with 95% confidence.

3. Results and discussion

The materials were identified according to the nomenclature of Table 2.1. depending on the raw material used and different stirring speeds tested.

Table 2.1.

Materials obtained through different stirring speeds tested.

Materials	Speed RPM	Nomenclature
Film of native corn starch and gelatin	500	SG
	5000	SG 5000
	10000	SG 10000
Film of modified starch FSS - 22 and gelatin	500	SFG
	5000	SFG 5000
	10000	SFG 10000
Film of modified starch 6308 and gelatin	500	SSG
	5000	SSG 5000
	10000	SSG 10000
Nanocomposite of modified starch 6308, gelatin and clay	500	SSGC
	5000	SSGC 5000
	10000	SSGC 10000

Of the three starches studied, the SNOW-FLAKE ® 6308 presented the best characteristics to form film, good spreadability of the film solution on the plates, the greater ease of dry material detachment from the plates and more transparent films. Moreover, they were the films that showed best mechanical properties and lowest water vapor permeability. For these reasons, this raw material was chosen for the investigation of nanocomposites.

3.1. Haze and luminous transmittance

The films prepared with modified corn starch SNOW-FLAKE ® 6308 and gelatin were those with lowest levels of haze among the starches studied, as can be observed in Figure 2.1. The addition of clay in this formulation caused an increase in haze of the films of around 82.47%, yet the materials obtained showed 76.45% transparency.

Kampeerapappun et al. (2007) determined the transparency of cassava starch/montmorillonite films in a UV-Vis spectrophotometer, mode of transmission with wavelength of 360 to 750 nm. It was found that films of starch without clay showed a percentage of transmittance (approximately 97% in the 400-700 nm wavelength range) higher than the films with clay because of the absence of particles that block the light.

Transparency is an important property for flexible films. Some authors have determined the opacity in biodegradable films. Davanço et al. (2007) found values of 19.1% in films of gelatin, triacetin and stearic acid and 24.4% in films of gelatin, triacetin, stearic acid and 70% of SDS (surfactant). Fakhouri et al. (2007) found that films of (i) gelatin and wheat starch; (ii) gelatin and potato starch; (iii) gelatin and rice starch; (iv) gelatin and sorghum starch presented haze value of, respectively, 11.46%, 29.90%, 19.87% and 40.04%.

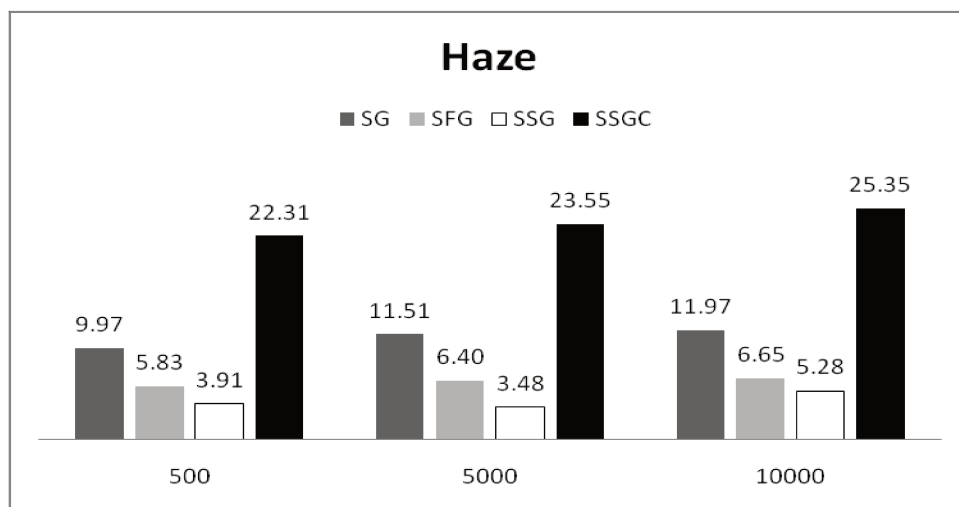


Figura. 2.1. Haze of the films and nanocomposites of starch, gelatin and MMT. The values of 500, 5000 and 10000 correspond to stirrig speeds at rpm, respectively.

Table 2.2. presents the values of haze, thickness, luminosity L, color parameters a*, b*, Chroma and ΔE of starch and gelatin films and nanocomposites of starch, gelatin and clay.

Table 2.2.

Values of haze, thickness, luminosity L, color parameters a*, b*, Chroma and ΔE of starch and gelatin films and nanocomposites of starch, gelatin and clay.

	Haze	Thickness	L	a*	b*	Chroma	ΔE
SG	9.97± 1.28 ^d	0.075±0.012 ^a	93.79±0.13 ^{ab}	-0.01±0.05 ^a	2.51±0.34 ^d	2.51±0.23 ^d	0.79±0.09 ^d
SG5000	11.51± 1.42 ^c	0.079±0.005 ^a	93.79±0.25 ^{ab}	0.03±0.05 ^a	2.68±0.28 ^{cd}	2.68±0.53 ^{cd}	0.87±0.08 ^d
SG10000	11.97± 1.72 ^c	0.068±0.005 ^a	93.46±0.47 ^c	0.02±0.06 ^a	2.84±0.17 ^c	2.84±0.44 ^c	1.21±0.07 ^c
SFG	5.83±0.42 ^e	0.077±0.003 ^a	93.75±0.28 ^{abc}	-0.11±0.02 ^{bc}	1.76±0.17 ^e	1.76±0.13 ^e	0.23±0.02 ^{ef}
SFG5000	6.40±0.66 ^e	0.069±0.007 ^a	93.77±0.22 ^{abc}	-0.11±0.04 ^{bc}	1.73±0.19 ^e	1.73±0.09 ^e	0.31±0.05 ^e
SFG10000	6.65±0.76 ^e	0.067±0.002 ^a	93.68±0.04 ^{bc}	-0.13±0.01 ^{dc}	1.65±0.07 ^{ef}	1.66±0.29 ^{ef}	0.32±0.03 ^e
SSG	3.91±0.26 ^{fg}	0.072±0.003 ^a	93.96±0.08 ^{ab}	-0.17±0.01 ^d	1.76±0.16 ^e	1.77±0.12 ^e	Standard
SSG5000	3.48±0.22 ^g	0.077±0.005 ^a	94.03±0.04 ^a	-0.14±0.02 ^{dc}	1.48±0.06 ^f	1.48±0.23 ^f	0.27±0.05 ^{ef}
SSG10000	5.28±0.52 ^{ef}	0.071±0.009 ^a	93.91±0.09 ^{ab}	-0.14±0.01 ^{dc}	1.82±0.07 ^e	1.82±0.29 ^e	0.15±0.03 ^f
SSGC	22.31±0.73 ^b	0.075±0.004 ^a	94.04±0.09 ^a	-0.11±0.02 ^{bc}	3.41±0.13 ^b	3.41±0.46 ^b	1.66±0.12 ^b
SSGC5000	23.55±0.93 ^b	0.065±0.003 ^a	94.03±0.05 ^a	-0.07±0.03 ^b	3.50±0.15 ^b	3.50±0.82 ^b	1.75±0.15 ^b
SSGC10000	25.35±0.53 ^a	0.064±0.002 ^a	93.90±0.06 ^{ab}	0.003±0.02 ^a	3.78±0.06 ^a	3.78±0.95 ^a	2.03±0.06 ^a

SG, SG5000 and SG10000 are films of native corn starch and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively. SFG, SFG5000 and SFG10000 are films of FSS - 22 modified corn starch and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively. SSG, SSG5000 and SSG10000 are films of modified corn starch 6308 and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively. SSGC, SSGC5000 and SSGC10000 are nanocomposites of modified corn starch 6308, gelatin and clay prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively.

The low Chroma values, between 1.48 and 1.82, of the films prepared with modified corn starch SNOW-FLAKE[®] 6308 and gelatin indicate low color saturation. With the addition of clay, there was an increase in color intensity shown by Chroma (3.41 and 3.78) and ΔE of these materials (1.66 and 2.03).

3.2 Thickness, water vapor permeability and water solubility of the films.

Among the films studied there was no significant difference in thickness (Table 2.3), with an average thickness equal to 0.072 mm. The results show that the WVP values were between 4.82 and 13.34 gmm/m²dkPa.

It is possible to observe (Table 2.3) that there was a decrease in WVP and solubility of the films when clay was added in the formulations (SSGC film: 4.82 gmm/m²dkPa and 16.32%, respectively), improving their barrier properties.

Tang et al. (2008) made biodegradable nanocomposites of corn starch and montmorillonite clay (MMT). Mixtures of starch, plasticizer, clay and water were extruded and then crushed, and the dried powder obtained in this process was the one used for formulation of films by casting. These researchers investigated the influence of the contents of glycerol and different plasticizers (glycerol, urea and formamide) on the formation of nanostructure and properties of the films. They found that films with 5% glycerol presented the lowest water vapor permeability (9.76 gmm/m²dkPa), highest glass transition temperature (53.78°C) and higher tensile strength (35 MPa), however, showed the lowest elongation at break (2.15%).

Kampeeraappun et al. (2007) found values of WVP ranging between 2000 and 1082 gm⁻²d⁻¹ for films made from cassava starch and MMT clay by the method of solution. These researchers found that there was a significant decrease in the values of WVP with the addition of MMT.

Table 2.3.

Thickness, water vapor permeability and solubility films made of starch and gelatin and nanocomposites of starch, gelatin and clay.

Films	Thickness (mm)	WVP(gmm/m ² dkPa)	Water solubility(%)
SG	0.075±0.012 ^a	13.15±0.68 ^{ab}	19.85±1.46 ^{cd}
SG 5000	0.079±0.005 ^a	13.12±0.25 ^{ab}	19.34±0.96 ^{cde}
SG 10000	0.068±0.005 ^a	11.13±1.15 ^{bcd}	23.25±0.93 ^{ab}
SFG	0.077±0.003 ^a	12.92±0.43 ^{abc}	22.65±0.64 ^{abc}
SFG 5000	0.069±0.007 ^a	13.34±0.59 ^a	21.14±1.43 ^{bc}
SFG 10000	0.067±0.002 ^a	10.12±0.14 ^d	25.07±1.38 ^a
SSG	0.072±0.003 ^a	10.95±0.84 ^{dc}	20.434±1.06 ^{bcd}
SSG 5000	0.077±0.005 ^a	10.28±1.23 ^d	21.88±1.58 ^{abc}
SSG 10000	0.071±0.009 ^a	10.75±1.05 ^d	23.25±0.59 ^{ab}
SSGC	0.075±0.004 ^a	4.82±0.77 ^e	16.32±1.20 ^{ef}
SSGC 5000	0.065±0.003 ^a	5.04±0.08 ^e	15.72±0.82 ^f
SSGC 10000	0.064±0.002 ^a	4.88±0.16 ^e	17.67±0.83 ^{def}

SG, SG5000 and SG10000 are films of native corn starch and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 rpm, respectively. SFG, SFG5000 and SFG10000 are films of FSS - 22 modified corn starch and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 rpm, respectively. SSG, SSG5000 and SSG10000 are films of modified corn starch 6308 and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 rpm, respectively. SSGC, SSGC5000 and SSGC10000 are nanocomposites of modified corn starch 6308, gelatin and clay prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 rpm, respectively.

López et al. (2008) studied films of modified corn starch and among them the acetylated corn starch at a concentration of 5% w/w was selected for having the lowest water vapor permeability (10.86 gmm/m²dkPa). As the structure of these films, no added plasticizers, appeared stiff and fragile, a study was conducted with the addition of glycerol, finding a value of 1.41 gmm/m²dkPa of water vapor permeability for films containing 1.5% m/m plasticizer.

Bertuzzi et al. (2007) found that the WVP of corn starch films with high amount of amylose linearly increased with the increase in glycerol concentration. These results may be related to structural changes of the starch network produced by the plasticizer and the hydrophilicity of glycerol, which favor the absorption and desorption of water molecules. Plasticizers cause a higher flexibility in the polymer chain, which increases with the mobility of water within the structure. As a result, the WVP increases as the content of plasticizer in the film increases. WVP values were found around 32.76 gmm/m²dkPa and 38.79 gmm/m²dkPa, respectively, for films with 10% and 20% glycerol.

Garcia et al. (2006) found a solubility of 30.3% (25°C) for film of corn starch with 25% amylose and 0.2856 g glycerol per gram of starch. LÓPEZ *et al.* (2008) found that there was an increase in solubility (25°C) the films of acetylated corn starch as glycerol concentration in the formulations increases. The values were 2.31% for films of acetylated corn starch, and 5.81% and 13.73% for films with 0.5% and 1.5% glycerol, respectively.

3.3 Mechanical properties

The films prepared with corn starch SNOW-FLAKE[®] 6308 were significantly more resistant than those prepared with the other starches (82.10 MPa) as can be seen in Table 2.4. When 5% of MMT was used, we observed an increase in tensile strength (87.92 MPa) and decrease in elongation of the films of starch and gelatin (3.29%), but no significant difference in properties when different stirring speeds were used for the preparation of materials.

This increase in strength is attributed to dispersion of MMT layers in nanometer scale in the matrix of starch and gelatin and the strong interaction between polymer and clay.

The tensile strength values of nanocomposites of corn starch and gelatin were higher than those reported by Fakhouri et al. (2007) for films of gelatin and sorghum starch (85.89 MPa); and films of gelatin and potato starch (56.24 MPa). Zheng et al. (2002) found that the intercalation of clay can improve the mechanical

properties of gelatin. The composites with 5% MMT showed a tensile strength of 78.9 MPa, 1.6 times higher than that of gelatin films.

Xu et al. (2006) prepared composite of gelatin/MMT at several pH values (3.8 to 11). The composites prepared at pH 8.88 were the most resistant (80.4 MPa), this result indicates that the carboxylic anion could interact more strongly with MMT, because gelatin chains would have more -COO^- than NH_3^+ under alkaline conditions that could interact with clay.

Bae et al. (2009) assessed the effect of clay content, homogenization speed, pH and ultrasound in mechanical and barrier properties of nanocomposite films of gelatin and montmorillonite. The addition of 5% clay (w/w) increased the tensile strength of 30.31 MPa to 40.71 MPa and decreased the elongation of the nanocomposites. The speed of homogenization did not result in significant changes in mechanical properties.

Yu et al. (2008) prepared films with 4% corn starch and 5% w/w (related to dry-starch) of Na^+ MMT clay for all formulations, varying concentrations of glycerol from 0 to 50% (related to dry-starch). The researchers observed that the mechanical parameters such as tensile strength, elongation and Young's modulus present variations as glycerol is added. With increasing concentration of glycerol, the tensile strength and Young's modulus of the films increased, peaking at 15% and 10% glycerol. Above these concentrations, there was a dramatic decrease in these parameters. On the other hand, the elongation was relatively low (around 2.5%) with the amount of glycerol ranging from 0% to 20%, increasing slightly with the amount of plasticizer between 20% and 30% (around 7.5%) and then sharply at concentrations above 30% (around 28%).

Majdazadeh-Ardakani et al. (2010) prepared nanocomposites of clay and starch by the method of solution and assessed the effects of the source of starch, treated and untreated montmorillonite clay, glycerol content and blending mode to prepare film solutions using a Taguchi experimental design approach. Nanocomposites of potato starch, clay modified with citric acid and glycerol (10%) showed the highest tensile strength (28.1 MPa) and an elongation of 57.3%. The

tensile strength of nanocomposites of corn starch and sodium montmorillonite with 20% glycerol was 9.2 MPa and elongation of 25.2%.

Table 2.4.

Mechanical properties of starch and gelatin films and nanocomposites of starch, gelatin and clay.

Films	Thickness	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
SG	0.079 ± 0.006^a	64.16 ± 3.7^d	4.63 ± 0.56^{bc}
SG 5000	0.074 ± 0.002^{ab}	66.59 ± 1.4^d	4.44 ± 0.42^c
SG 10000	0.073 ± 0.003^{abc}	62.96 ± 3.1^d	4.48 ± 0.69^c
SFG	0.070 ± 0.005^{bc}	66.21 ± 2.36^d	4.46 ± 0.21^c
SFG 5000	0.072 ± 0.005^{ab}	65.45 ± 3.47^d	4.56 ± 0.18^{bc}
SFG 10000	0.073 ± 0.007^{abc}	64.08 ± 3.42^d	4.70 ± 0.18^{abc}
SSG	0.068 ± 0.004^{bc}	82.10 ± 1.37^{bc}	5.152 ± 0.14^a
SSG 5000	0.071 ± 0.007^{abc}	78.82 ± 1.27^c	4.98 ± 0.29^{ab}
SSG 10000	0.073 ± 0.008^{abc}	77.85 ± 0.92^c	5.00 ± 0.36^{ab}
SSGC	0.075 ± 0.005^{ab}	86.13 ± 5.64^{ab}	3.34 ± 0.32^d
SSGC 5000	0.066 ± 0.003^c	87.11 ± 3.36^a	3.31 ± 0.23^d
SSGC 10000	0.065 ± 0.003^c	87.92 ± 1.08^a	3.29 ± 0.19^d

SG, SG5000 and SG10000 are films of native corn starch and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively. SFG, SFG5000 and SFG10000 are films of FSS - 22 modified corn starch and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively. SSG, SSG5000 and SSG10000 are films of modified corn starch 6308 and gelatin prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively. SSGC, SSGC5000 and SSGC10000 are nanocomposites of modified corn starch 6308, gelatin and clay prepared with stirring speeds of 500, 5000 and 10000 RPM, respectively.

3.4 X-ray diffraction

There are two basic structures reported for polymer-clay nanocomposites. In intercalated nanocomposites, the polymer chain penetrates within the layers of silica keeping tactoids unchanged, except for an increase in basal spacing (d-spacing). In exfoliated nanocomposites, the clay layers are delaminated and separated from each other by a distance of more than a few nanometers in relation to original clay (CHUNG et al., 2010).

Figure 2.2 shows the results for sodium montmorillonite clay, films of starch and gelatin e nanocomposites of starch, gelatin and clay, obtained at different stirring speeds. Table 2.5 presents the values of interplanar distances and angles corresponding to the first peak, calculated by Bragg's law.

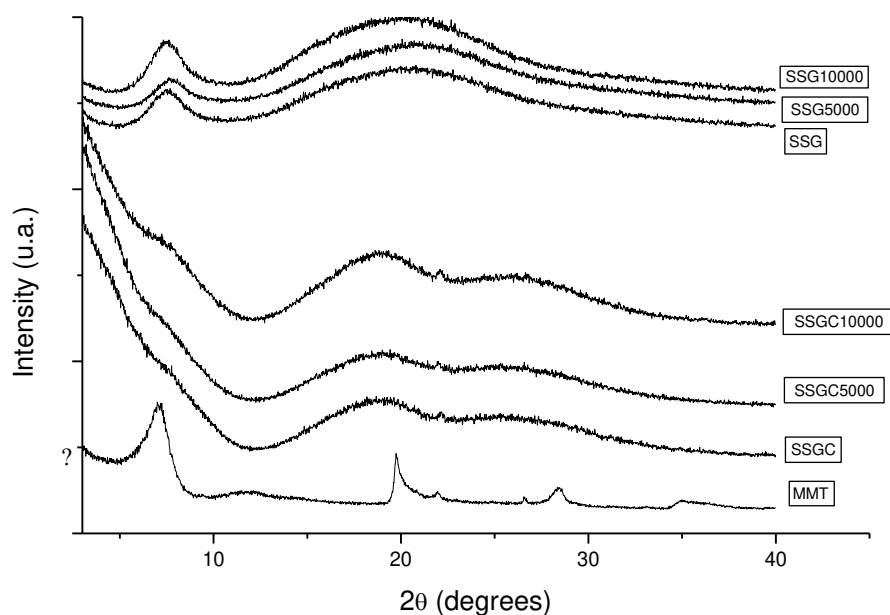


Figura. 2.2. X-ray diffractograms of films of starch and gelatin, nanocomposites of starch, gelatin and clay compared with pure MMT clay.

Analyzing the results, it is possible to observe that SSGC, SSGC 5000 and SSGC10000 films, prepared by the method of solution, formed an intercalated/exfoliated structure. Figure 2.2 and Table 2.5 show that the nanocomposites of starch, gelatin and clay presented a slightly larger interlayer distance and relative intensity of the peaks much smaller than that of pure MMT clay, indicating a more disorganized structure. The same value of d (12,18 Å) obtained for SSGC, SSGC 5000 and SSGC10000 films indicate that these materials present very similar structures and that the intercalation was independent of the speed used in the preparation of materials.

The value of gallery expansion ($\Delta d=0,48$ Å) obtained for the nanocomposites of starch and gelatin is similar to those obtained by other authors for nanocomposites of thermoplastic starch and clay, prepared by the solution method (MAJDZADEH-ARDAKANI et al., 2010; CYRAS et al., 2008; KAMPEERAPAPPUN et al., 2007).

Table 2.5.

Diffraction angles and interlayer distance of clay levels (001). Δd is the difference between values of d for nanocomposites and sodium clay.

	2 θ	d (Å)	Δd (Å)
Cloisite® Na⁺ Montmorillonite clay	7.56	11.7	-
SSGC	7.25	12.18	0.48
SSGC5000	7.25	12.18	0.48
SSGC10000	7.25	12.18	0.48

The crystallite size of the montmorillonite was 15.08 nm (Table 2.6). During the preparation of nanocomposites, there was a reduction of 88.7% in the crystallite size of the clay, which fell to 1.71 nm.

Pandey & Singh (2005) prepared nanocomposites of corn starch using different sequences of addition of glycerol (20% of the starch weight) and montmorillonite (5% of the starch weight) by the method of solution. The largest

increase in basal spacing ($2\theta = 3.32^\circ$, d-spacing= 26.8 Å) in relation to clay was observed for films which were prepared by mixing the montmorillonite with starch and water under heating and vigorous agitation, followed by the addition of plasticizer. The characteristic peak was highly decreased indicating an increase in intercalation, that is, the extensive dissemination of the polymer inside the galleries of clay. The smaller increase in basal spacing ($2\theta = 6.37^\circ$, d-spacing= 13.8 Å), in turn, occurred when gelatinized starch and the water were plasticized with glycerol to be added to clay. This small increase can be explained as electrostatic attraction between the starch and plasticizer having the formation of hydrogen bonds, thus affecting the overall mobility. Another cause may be the decrease in polar attraction between starch and clay due to hydrogen bonds formed between starch and plasticizer.

Table 2.6.

Estimation of the crystal sizes (nm).

	Crystallite size (nm).
Cloisite[®] Na⁺ Montmorillonite clay	15.08
SSGC	1.71
SSGC5000	1.73
SSGC10000	1.77

3.5. Transmission Electron Microscopy

To confirm the formation of nanostructure of starch and clay films and verify the XRD findings, TEM was performed.

Figure 2.3 shows the micrographs of starch and gelatin films without clay. It is possible to verify that with the increase on stirring speed there was the formation of holes.

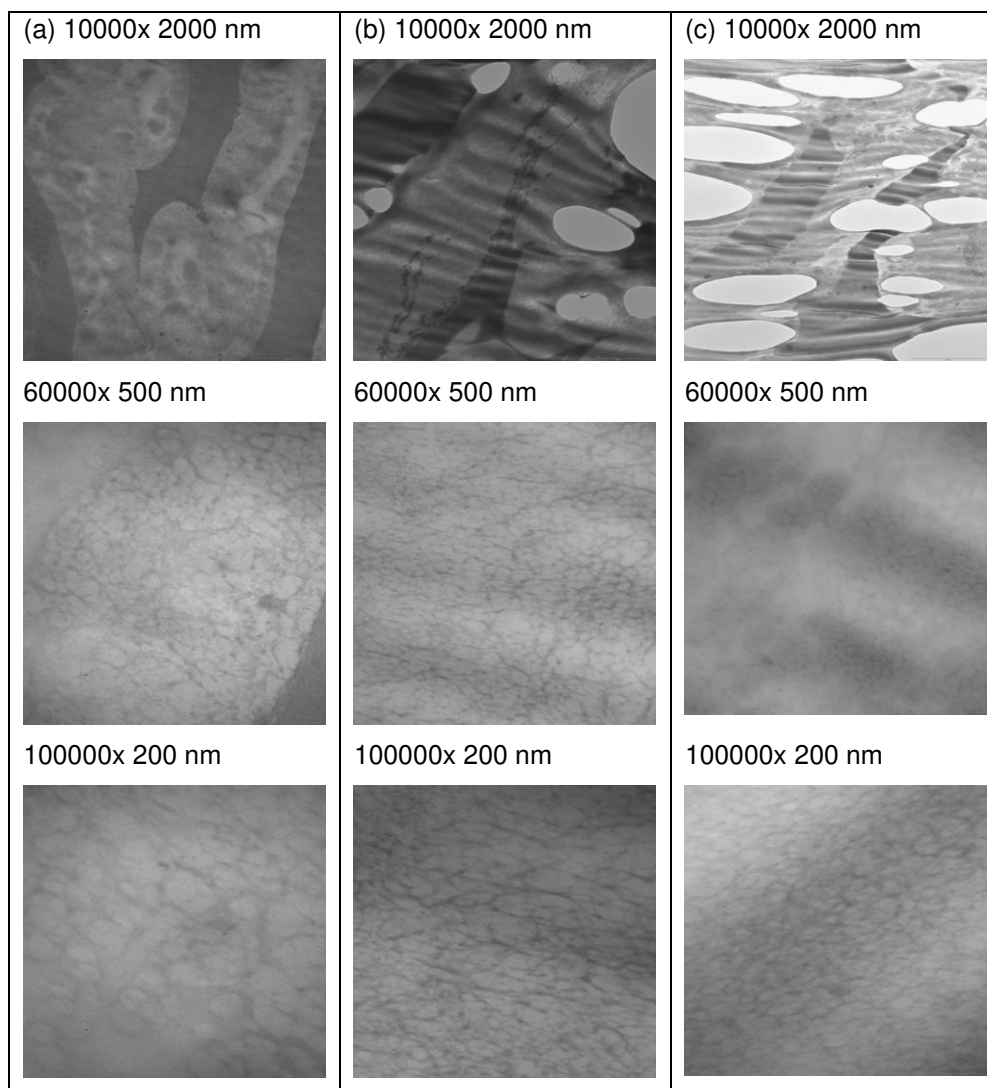


Figura. 2.3. Transmission electron microscopy (TEM) micrographs of starch SNOW-FLAKE[®] 6308 with gelatin films under stirring at (a)500 rpm, (b)5000 rpm, (c)10000 rpm.

Figure 2.4 presents the micrographs of starch and MMT nanocomposites containing 5% clay, prepared with different stirring speeds. It is observed that the clay particles are well dispersed in the polymer matrix and a structure that intercalates/exfoliates was obtained. For SSGC, there was an orientation of tactoids in the same direction, while for o SSGC5000 and SSGC10000, slightly disordered structures were obtained in samples, which may be due to the increase in stirring speed on the preparation of solutions. Despite this, the structures formed are similar, which confirms the results obtained by XRD.

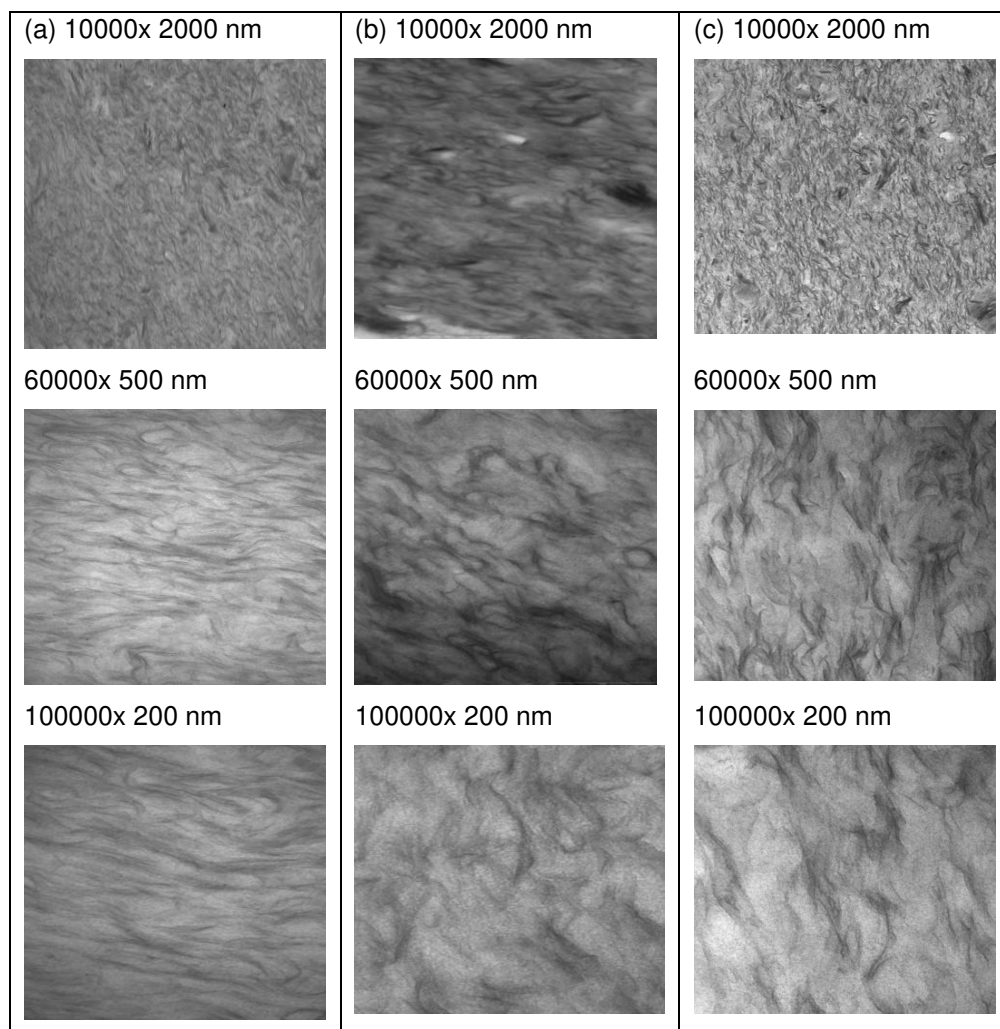


Figura. 2.4. TEM micrographs of starch SNOW-FLAKE[®] 6308, gelatin and clay nanocomposites under stirring at (a)500 rpm, (b)5000 rpm, (c)10000 rpm.

Majdzadeh-Ardakani et al. (2010) found similar structures for nanocomposites of corn starch with 6% MMT prepared with citric acid, and with clay particles well dispersed in the polymer matrix.

4. Conclusions

Films of starch, gelatin and glycerol were prepared by solution technique. They were tested in formulations of native corn starch and of two modified corn starch.

Among the types of starches evaluated, modified corn starch SNOW-FLAKE ® 6308 was chosen for preparation of nanocomposites for the films obtained by them are more transparent (haze of 3.91%) and resistant (TR equals 82.10 MPa).

TEM analysis showed that an increase in stirring speed in the sample preparation caused rupture in the structure of films obtained which may have contributed to the reduction of mechanical strength of materials.

To improve the mechanical and barrier properties, nanocomposites of starch, gelatin and glycerol with 5% clay were formulated.

The addition of clay resulted in films more opaque, more resistant, but with lower solubility (16.32%), WVP (4.82 gmm/m²dkPa) and elongation. However, there was no significant difference in the properties of developed nanocomposites when different stirring speeds were applied for the preparation of materials.

XRD analysis, demonstrated the structure formation of nanocomposites by increasing the interlayer space of silica; and of micrographs of the intercalated/exfoliated montmorillonite structure with the matrix of starch and gelatin formed during the solution process.

References

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **D1003-07, Standard test methods for Haze and Luminous Transmittance of Transparent Plastics**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2008.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **D882-02 Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **E96-00. Standard test methods of water vapor transmission of materials.** Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2002.

BAE, H.J., PARK, H.J., HONG, S.I., BYUN, Y.J., DARBY D.O., KIMMEL, R.M., WHITESIDE, W.S. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposito. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42,p. 1179-1186, 2009.

BERTUZZI, M.A., VIDAURRE, E.F.C., ARMADA, M., GOTTIFREDI, J.C. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of food engineering**, v. 80, p. 972-978, 2007.

CHUNG YI-LIN, ANSARI S., ESTEVEZ L., HAYRAPETYAN S., GIANNELIS E. P., LAI HSI-MEI Preparation and properties of biodegradable starch–clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, V. 79, P. 391-396, 2010.

CYRAS, V. P., MANFREDI, L. B., TON-THAT, VÁZQUEZ, A. Psysical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p 55-63, 2008.

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P. E GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capríco: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 408-416, 2007.

FAKHOURI F. M.; BATISTA J. A.; GROSSO C.R.F. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis de Gelatina, Triacetina e Ácidos Graxos, **Brazilian Journal of Food Technology**, v.16, n. 2, p. 301-308, 2003.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C.J. E COLLARES-QUEIROZ, F.P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 369-375, 2007.

FRANCHETTI, S.M.M., MARCONATO, J.C. Polímeros Biodegradáveis – Uma solução parcial, para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v.29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GARCIA, M.A., PINOTTI, A., ZARITZKY, N.E. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. **Starch-Starke**, v.58, p. 453-463, 2006.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International J. Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GUILBERT, S., GONTARD, N.; Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics. In: HAN, H. J. **Innovations in Food Packaging**,. Cap. 4., p 263- 276, 2005.

GUILBERT, S., CUQ, B., GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, v.14, p 741-751, 1997.

HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3. Reston, 1997.

KAMPEERAPAPPUN, P., AHT-ONG, D., PENTRAKON, D., SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, v.67, p 155-163, 2007.

LÓPEZ, O. V., GARCÍA, M. A., ZARITZKY, N. E. Film forming capacity of chemically modified corn starches. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p. 573-581, 2008.

MAJDZADEH-ARDAKANI, K., NAVARCHIAN, A. H., SADEGHI, F. Optimization of mechanical properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p. 547-554, 2010.

PANDEY, J. K., SINGH, R. P. Green nanocomposites from renewable resources: effect of plasticizer on the structure and material properties of clay-filled starch. **Starch/ Stärke**, v.. 57, p 8-15, 2005.

RAY, S.S., BOUSMINA M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21 st century materials world. **Progress in Materials Science**. v.50, p. 962-1079, 2005.

Sas Institute (2003). *SAS User's guide: statistics*, v.8.2. Cary, USA: SAS Institute.

SCHERRER, P. Nachr. Ges. Wiss. Gottingen, **Math.-Phys.** Kl. 2 p. 96, 1918.

SORRENTINO, A., GORRASI, G., VITTORIA, V. Potencial perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p. 84-95, 2007.

STANDING, M., RINDLAV-WESTLING, A., GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylase and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p.209-217, 2001.

TANG, T., ALAVI, S., HERALD T. J. Effects of plasticizers on the structure and properties of starch-clay nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p. 552-558, 2008.

TUNC, S., ANGELLIER, H., CAHYANA, Y., CHALIER, P., GONTARD, N., GASTALDI, E. Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. **Journal of Membrane Science**, v.289, p. 159-168, 2007.

WRIGHT J. T. C., GIOVINAZZO, R. A. Crescimento sustentável da indústria de plásticos: Criando estratégias de ação. **Revista de Administração Mackenzie**, v..1, p. 145-164, 2004.

XU, Y., REN, X., HANNA, M.A. Chitosan/Clay Nanocomposite Film Preparation and Characterization. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 99, p. 1684-1691, 2006.

YU, J., WANG, J., WU, X., ZHU, P. Effect of glycerol an water vapor sorption and mechanical properties of starch /clay composite films. **Starch/Starke**, v.60, p. 257-262, 2008.

ZHENG, J.P., PING, L., YL, M., KD, Y. Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposite. I. Preparation and properties. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 86, p. 1189–1194, 2002.

**CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE
ISOLADO PROTÉICO DE SOJA NAS PROPRIEDADES DE
NANOCOMPÓSITOS DE AMIDO, GELATINA E ARGILA
MONTMORILONITA SÓDICA**

CAPITULO 3

Avaliação do efeito da incorporação de isolado protéico de soja nas propriedades de nanocompósitos de amido, gelatina e argila montmorilonita sódica.

Resumo

Filmes de amido de milho, gelatina, isolado protéico de soja (IPS) e montmorilonita Na⁺ (MMT) foram preparados com sucesso, e suas estruturas e propriedades foram caracterizadas com a técnica de difração de raios-X, microscopia eletrônica de transmissão, testes de resistência à tração, permeabilidade ao vapor de água e transparência. Para avaliar a influência do IPS nos filmes, foram estudadas as seguintes formulações: (i) amido e IPS (5% e 10%); (ii) amido, IPS (5%) e MMT (5%); (iii) gelatina e IPS (5% e 10%); (iv) gelatina, IPS (5%) e MMT (5%); (v) amido, gelatina e IPS (5% e 10%); e, por fim, (vi) amido, gelatina, IPS (5%) e MMT (5%). Os filmes preparados com gelatina e IPS nas concentrações de 5% e 10% foram os que apresentaram menores valores de opacidade 1,33 e 2,83%. Quando amido foi adicionado às formulações com gelatina, a opacidade dos materiais obtidos aumentou, passando de 1,33% para 5,10%; e 2,83% para 13,91% nas formulações com 5% e 10% de IPS, respectivamente. Os nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água (8,52 gmm/m²dkPa) e maior resistência à tração (71,91 MPa) que os demais filmes estudados. As formulações que apresentaram maior alongamento foram a de gelatina, IPS e MMT (36,65%) e amido, gelatina, IPS e MMT (9,44%).

Palavras chave: amido, gelatina, isolado protéico de soja, argila, nanocompósitos.

1. Introdução

O constante progresso da tecnologia na preparação dos filmes sintéticos é expandido e suportado pela sua utilização na indústria de alimentos (THARANATHAN, 2003). As embalagens são necessárias para a preservação das características orgânicas, nutricionais e higiênicas dos alimentos durante a estocagem e a comercialização. Existe uma grande variedade de embalagens podendo ser classificadas em sintéticas e comestíveis ou biodegradáveis.

A grande quantidade de resíduos de plástico sintético produzido no mundo inteiro proporcionou a busca por novos materiais biodegradáveis. Atualmente, já existe no mercado matéria-prima ecologicamente correta para a produção de embalagens como o primeiro polietileno verde certificado no mundo produzido pela indústria petroquímica brasileira Braskem S.A., a partir de cana de açúcar.

Os polímeros orgânicos amido, gelatina e isolado protéico de soja têm sido utilizados como matéria-prima para formulações de filmes por diversos pesquisadores (DENAVID et al., 2009 a; DENAVI et al., 2009 b; CAO et al., 2007; MAURI e ANÓN, 2008; RHIM et al., 1998), porém, ainda a resistência mecânica e alongamento destes materiais é deficiente para muitas aplicações.

Em particular, o uso de proteínas de soja como agente formador de filme, individualmente (GENNADIOS et al., 1996; CHO et al., 2007) ou em blends com outros polímeros (CAO et al., 2007), pode agregar valor à soja na produção de filmes biodegradáveis. A proteína de soja produz filmes mais flexíveis e claros em comparação aos filmes de outras proteínas retiradas de outras plantas (GUILBERT, 1986). Filmes de proteína de soja são geralmente obtidos pelo método de *casting*. A técnica de secagem envolve uma solução coloidal complexa constituída de proteína, solvente e, geralmente, plastificante, previamente despejado em um recipiente apropriado.

O uso de biopolímeros pela indústria alimentícia tem enfrentado problemas de viabilidade relacionados principalmente ao seu custo relativamente elevado e

as deficitárias características dos materiais obtidos quando comparados com as dos polímeros sintéticos. Nanocompósitos prometem expandir o uso de filmes de polímeros naturais, melhorando suas propriedades mecânicas, térmicas e propriedades de barreira. Assim, as nanopartículas têm um papel importante para melhorar a viabilidade da utilização de biopolímeros para aplicações diversas, incluindo embalagens de alimentos (DE AZEREDO, 2009).

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adição de isolado protéico de soja nas propriedades físicas, mecânicas, de barreira e estruturais de filmes de amido e gelatina e de nanocompósitos de amido, gelatina e argila montmorilonita sódica.

2. Material e Métodos

2.1. Material

As matérias-primas utilizadas para a elaboração dos filmes foram às seguintes: (i) Amido Modificado SNOW-FLAKE[®] 6308 (*Corn Products*, Brasil); (ii) Gelatina tipo A (*Leiner Davis Gelatin*); (iii) Isolado Protéico de Soja Supro 783 (*Solae do Brasil Ind. e Com. Ltda*, Esteio, Brasil); (iv) Glicerol (*Synth*); (v) Argila montmorilonita Cloisite[®] Na⁺ (*Southern Clay Products*, Inc.).

2.2. Filme de amido e isolado protéico de soja (IPS)

Uma dispersão contendo 5g de amido em 100 mL de água destilada foi preparada sob agitação magnética com um agitador da marca Nova Ética, Vargem Grande Paulista, Brasil utilizando rotação de 500 rpm durante 1 hora (TUNC et al., 2007). Após a total dispersão, a suspensão foi aquecida a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

A solução formadora de filme de isolado protéico de soja foi preparada dispersando-se 5% ou 10% de isolado protéico de soja em pó (em relação a massa total de polímeros) em aproximadamente 50mL de água destilada sob constante agitação, sendo adicionados 3 gramas de glicerol. O pH foi ajustado

para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl e, então, água destilada foi adicionada para um total de 100 gramas. Esta solução foi aquecida em banho-maria (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) por 30 minutos a 85°C sob agitação constante (150 rpm) (SHIYI OU et al., 2005).

As soluções de amido e de isolado protéico de soja foram, então, misturadas sob agitação e colocadas em banho ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP) a 70°C por 15 minutos. A solução filmogênica final foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14cm de diâmetro com alíquota de 20mL e seca à 25°C em estufa com circulação de ar (marca Tecnal, modelo TE-39412, Piracicaba, Brasil) por aproximadamente 24 horas.

Como não houve desprendimento dos filmes das placas (Figuras 3.1 e 3.2), foram realizadas as seguintes alterações na metodologia: foram preparadas dispersões com massa total de 5 g de amido, isolado protéico de soja em pó (sendo uma dispersão com 5% e outra com 10% de IPS em relação à massa total) e 10% de glicerol (em relação à massa total) em aproximadamente 80 mL de água destilada sob constante agitação. O pH foi ajustado para 9 com 0,1 mmol/L NaOH e HCl e, então, água destilada foi adicionada para um total de 100 mL. Estas dispersões foram mantidas sob agitação magnética (500 rpm) por 1 hora. Após a total dispersão, as suspensões foram aquecidas em banho maria (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

As soluções obtidas foram então colocadas por 15 minutos em banho ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP, Brasil) a 70°C. A solução filmogênica com 5% de IPS foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20mL e seca à 25°C em estufa com circulação de ar (marca Tecnal, modelo TE-39412, Piracicaba, Brasil) por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes. A solução contendo 10%

de IPS ficou muito viscosa não sendo possível o espalhamento das mesmas sobre as placas de petri para a obtenção dos filmes.

2.3. Filme de amido, IPS e argila montmorillonita (MMT)

Dispersões com massa total de 5g de amido, IPS e MMT (5% de IPS e 5% de MMT, em relação à massa total) em aproximadamente 80 mL de água destilada sob constante agitação. O pH foi ajustado para 9 com 0,1 mmol/L NaOH e HCl e, então, água foi adicionada para um total de 100 mL. Esta dispersão foi mantida sob agitação magnética (500 rpm) por 1 hora (TUNC et al., 2007). Após a total dispersão, a suspensão foi aquecida em banho maria a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

A solução obtida foi, colocada em um becker com 10% de glicerol e mantida por 15 minutos em banho ultrassônico a 70°C. A solução filmogênica final ficou muito viscosa não sendo possível a distribuição de alíquota em placas *Plexiglas*®.

2.4. Filme de gelatina e IPS

Soluções com massa total de 10 g de gelatina e IPS foram preparadas da seguinte forma: hidratou-se a gelatina em 80 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria com agitação a 70°C até a gelatina estar dissolvida (FAKHOURI et al., 2003).

Adicionou-se à solução de gelatina, o IPS (substituindo-se 5% e 10%, em relação à massa total) sob constante agitação e o pH foi ajustado para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl e, então, água foi adicionada para um total de 100 mL. Estas dispersões foram aquecidas a 70°C por 15 minutos, sob agitação constante. As diferentes soluções foram colocadas em banho ultrassônico a 70°C por 15 minutos.

Estas soluções filmogênicas foram distribuídas em placas *Plexiglas*® de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e secas à 25°C em estufa com circulação de ar por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e

acondicionados de acordo com a necessidade dos testes de caracterização física, química e estrutural.

2.5. Filme de gelatina, IPS e MMT

Uma solução de gelatina, IPS e argila, com massa total de 30 gramas em 300 mL, foi preparada segundo o procedimento descrito a seguir. Inicialmente, hidratou-se a gelatina em 150 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria com agitação a 70°C até a gelatina estar dissolvida (FAKHOURI et al., 2003).

Uma dispersão com 1,5 g de IPS e 1,5 g de argila foi preparada com aproximadamente 80 mL de água destilada. O pH da dispersão foi ajustado para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl e, então, água destilada foi adicionada para um total de 100 mL. Esta dispersão foi mantida sob agitação por 1 hora.

A dispersão de IPS e argila, foi então adicionada à solução de gelatina dissolvida, o pH foi ajustado para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl e, então, água destilada foi adicionada para um total de 300 mL. Esta solução foi aquecida a 70°C por 15 minutos, sob agitação constante para, então, ser colocada em banho ultrassônico a 70°C por mais 15 minutos.

Esta solução filmogênica foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e secas à 25°C em estufa com circulação de ar (marca Tecnal, modelo TE-39412, Piracicaba, Brasil) por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com a necessidade dos testes de caracterização física, química e estrutural.

2.6. Filme de amido, gelatina e IPS

Uma dispersão, com uma massa total de 15 gramas, de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1) e IPS (substituindo-se 5% e 10% em relação à massa total) foi preparada em 200 mL de água. Inicialmente preparou-se uma solução, contendo amido e IPS em aproximadamente 80 mL de água sob constante agitação. O pH foi ajustado para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl e, então, água foi adicionada para um total de 100 mL. Estas dispersões foram mantidas sob agitação magnética (500 rpm) por 1 hora (TUNC et al., 2007). Após a total dispersão as suspensões foram aquecidas a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

A solução de gelatina foi preparada hidratando-se a gelatina em 80 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria com agitação a 70°C até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI et al., 2003). Ajustou-se o pH para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl e, então, água foi adicionada para um total de 100 mL.

As soluções obtidas, conforme discriminado acima foram então colocadas em um béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho ultrassônico a 70°C por 15 minutos. A solução filmogênica resultante foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e seca à 25°C em estufa com circulação de ar por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes.

2.7. Filme de amido, gelatina, IPS e MMT

Os filmes foram preparados a partir de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1), IPS (5% em relação a massa de sólidos) e MMT (5% em relação a massa de sólidos) em 200 mL de água destilada (massa total de 15 gramas).

Inicialmente, uma solução de amido foi obtida pela adição de 100 mL de água e aquecimento a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante. A solução de

gelatina foi preparada hidratando-se a gelatina em 50 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria com agitação a 70°C até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI et al., 2003).

Uma dispersão com IPS e MMT foi realizada adicionando-se 40 mL de água destilada, ajustou-se o pH para 9 com 0,1 mmol/L NaOH ou HCl, e esta foi mantida sob agitação por uma hora. Adicionou-se, então a solução de gelatina, e o pH foi ajustado novamente em 9 para ser então completado o volume total em 100 mL.

As dispersões obtidas foram, finalmente, colocadas em um béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho ultrassônico a 70°C por 15 minutos. Estas soluções filmogênicas foram distribuídas em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e secas à 25°C em estufa com circulação de ar por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes.

2.8. Aspecto visual

As análises visuais e táteis foram realizadas visando selecionar somente os filmes homogêneos (com coloração uniforme e que não apresentem partículas insolúveis) e flexíveis (facilidade de manuseio, não apresentando rupturas ou zonas quebradiças).

2.9. Espessura do filme

A espessura dos filmes foi determinada com a utilização de um micrômetro (Modelo MDC-25M, Mitutoyo, MFG, Naucalpan de Juarez, México), fazendo-se a média de 10 medidas aleatórias em diferentes partes do filme. Essa medida foi obtida após o acondicionamento dos filmes em dessecadores a temperatura de 25°C e 50% de umidade relativa durante 48 horas.

2.10. Opacidade e transmitância luminosa dos filmes

A opacidade dos filmes foi determinada de acordo com o método padrão D-1003-07^{E1} da ASTM (ASTM, 2008), utilizando-se o colorímetro HUNTERLAB (Colorquest II, Faifax, USA) com iluminante padrão D65 e observador a 10°. A determinação da cor dos filmes baseou-se no sistema CIEL*a*b*. Neste sistema, L* indica luminosidade, que varia de zero (preto) a 100 (branco); enquanto a* e b* representam as coordenadas de cromaticidade, sendo que +a* indica tendência para o vermelho e -a* tendência para o verde; +b* indica tendência para o amarelo e -b* tendência para o azul. As determinações foram realizadas em quatro medidas para cada amostra, após a calibração do colorímetro com um fundo padrão branco e um fundo padrão negro (HUNTERLAB, 1997).

A “Opacidade” foi determinada através da equação:

$$\text{Opacidade} = T_d / T_t \times 100 \quad (1)$$

Onde:

T_d é a transmitância difusa

T_t é a transmitância total

2.11. Solubilidade em água

A solubilidade dos filmes em água foi determinada segundo o método proposto por Gontard et al. (1994). As amostras, em triplicata, foram preparadas recortando-se discos de 2 cm de diâmetro. O peso seco inicial das amostras foi obtido após secagem das mesmas por um período de 24 horas a temperatura de 105°C em estufa de circulação e renovação de ar (TECNAL, Modelo TE 394/2, Piracicaba, Brasil). Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um recipiente contendo 50 mL de água destilada e colocadas sob agitação a 78 rpm em banho termostático (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) durante 24 horas. Após este período, as amostras solubilizadas foram retiradas e secas a temperatura de 105°C por mais 24 horas, para a obtenção da massa seca final.

2.12. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método padrão E-96-00^{E1} da ASTM (ASTM, 2002). A amostra de filme, em forma de disco, foi selada em uma célula de permeação feita de acrílico contendo cloreto de cálcio e colocada em um dessecador com temperatura e umidade relativa controlada (25° C e 75% UR). O vapor de água difundido através do filme foi determinado pelo ganho de massa do cloreto de cálcio, medido a cada 24 horas durante sete dias. Os testes foram realizados em triplicatas.

2.13. Propriedades mecânicas

A resistência à tração e porcentagem de alongamento na ruptura foram determinadas utilizando-se texturômetro TA.XT2 (Stable Micro System, Hasleme, UK), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-02 (ASTM, 2002). As medidas foram conduzidas em temperatura ambiente (25°C). A separação inicial das garras e a velocidade do “probe” foram de 50 mm e 0,5 mm/s, respectivamente. A resistência à tração foi calculada dividindo-se a força máxima pela área seccional do filme (largura do filme x espessura inicial). A porcentagem de alongamento na ruptura foi obtida dividindo-se os valores do diferencial de extensão pela separação inicial das garras (50 mm) e multiplicando-se por 100. Foram realizadas oito replicatas.

2.14. Difração de raios-X

As amostras de argila e nanocompósitos foram analisadas por difração de raios X (DRX) para determinar a ocorrência da intercalação/esfoliação das camadas de argila após a incorporação do polímero, visando identificar o tipo de nanocompósito formado pela determinação da distância interlamelar da argila. O aparelho utilizado nesta análise foi o Difractômetro, marca PHILIPS (modelo PW 1710, Holanda), usando radiação K α do cobre (comprimento de onda 1,5405 Å). As medidas foram realizadas conforme geometria Bragg-Brentano no intervalo de 2,0 a 40,0 (2 θ) e tempo de contagem de 2 segundos. A amostra de argila foi

analisada sob a forma de pó compacto no porta amostra do equipamento. As amostras de nanocompósitos foram preparadas cortando-se discos de 25 mm de diâmetro e 0,7 mm de espessura.

2.15. Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão dos filmes foi realizada segundo o procedimento descrito por Standing et al. (2001). Amostras de 2 x 2 mm de filmes foram cortadas. A fixação das amostras foi realizada com glutaraldeído 2% (solução diluída com tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2) por 2 horas à 4°C. As amostras foram lavadas com tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e após foram fixadas em 2% w/v, OsO₄ (solução diluída com tampão cacodilato de sódio de Na 0,2 M, pH 7,2) por 2 horas.

Após a fixação, foi realizada a lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e, posteriormente, as amostras foram deixadas em tampão cacodilato de Na 0,1 M pH 7,2 durante 12 horas.

As amostras foram, então, desidratadas em séries de etanol por 15 minutos: 30, 50, 70, 90% v/v, e finalmente em etanol a 99,5% v/v (3 vezes por 15 minutos). As amostras desidratadas foram imersas em óxido de propileno e etanol 99,5% (1:1) por 20 minutos, e em óxido de propileno puro por mais 20 minutos. Após esse período, foi realizada a inclusão das amostras em óxido de propileno e resina (2:1, 1:1 e 1:2) por 90 minutos em cada caso. Finalmente, realizou-se a inclusão em resina pura e deixou-se durante 12 horas em rotor a temperatura ambiente, em capela. Concluído esse período, foi realizada a inclusão em resina Epon no molde e colocado em estufa a 60°C (48-72 horas).

Depois de realizados os cortes semi-finos (com navalha de vidro) e finos (em um ultramicrôtomato da marca Leica ULTRACUT modelo UCT, Viena, Áustria, e faca de diamante da marca Diatome tipo Cryoisto 45º, Bienne, Suíça) do material seco foi realizada a contrastação com acetato de uranila e citrato de chumbo. As amostras foram observadas em um microscópio eletrônico de transmissão (marca Carl Zeiss, LEO-906, Oberkochen, Alemanha), operando a uma voltagem de aceleração de 80 kV.

2.16. Análise estatística

O programa estatístico SAS (*Statistical Analysis System* – SAS Institute Inc., North Carolina, USA), versão 8.0, foi usado para calcular as análises de variância (ANOVA) dos resultados. O teste de Tukey foi usado para determinar diferenças entre as propriedades dos filmes no intervalo de 95% de confiança.

3. Resultados e Discussão

As formulações de filmes de amido, gelatina e IPS e nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMTS obtidos, receberam a nomenclatura apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Nomenclatura adotada para os filmes elaborados a partir de amido, gelatina, IPS e argila Montmorilonita.

Filmes	Sigla
Amido e IPS 5%	SSIPS5%
Amido e IPS 10%	SSIPS10%
Amido, IPS 5% e MMT 5%	SSIPSC
Gelatina e IPS 5%	GIPS5%
Gelatina e IPS 10%	GIPS10%
Gelatina, IPS 5%, MMT5%	GIPSC
Amido, gelatina e IPS5%	SSGIPS5%
Amido, gelatina e IPS10%	SSGIPS10%
Amido, gelatina, IPS5% e MMT 5%	SGIPSC

3.1. Aspecto visual, opacidade e cor dos filmes

Não foi possível desprender os filmes SSIPS5% e SSIPS10% das placas (como mostra a Figura 3.1a e 3.1b.) após o período de secagem, preparados com uma alíquota de 20 mL da solução com uma massa total de 5 g de amido e IPS (5% e 10%) em 200 mL de água.

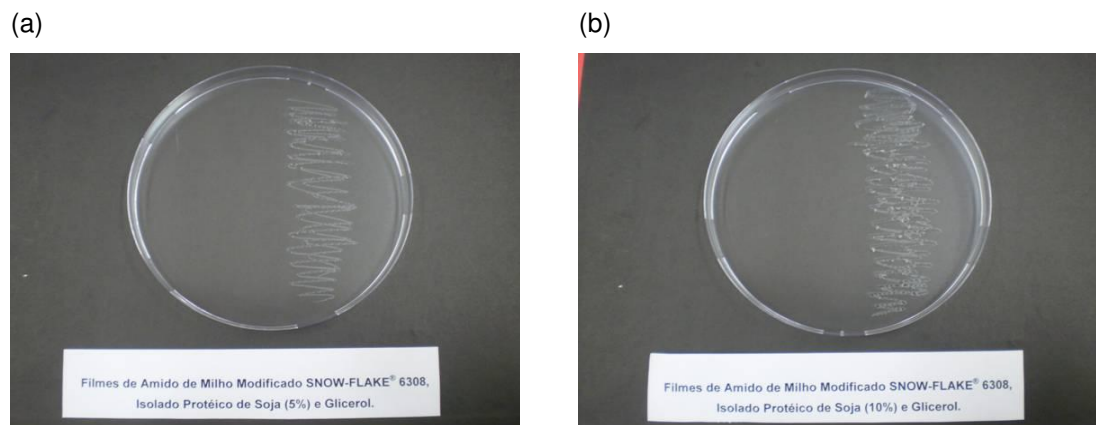


Figura 3.1. a) Filme de amido e isolado protéico de soja (5%), plastificado com glicerol. b) Filme de amido e isolado protéico de soja (10%), plastificado com glicerol.

Como descrito anteriormente, para contornar este problema, foram preparadas dispersões com massa total de 5 g de amido e IPS (sendo uma dispersão com 5% e outra com 10% de IPS em relação à massa de sólidos) em 100 mL de água.

Conforme se pode observar na Figura 3.2a e 3.2b, os filmes de amido com 5% de IPS apresentaram bom desprendimento das placas e os filmes com 10 % de IPS racharam durante o processo de secagem e no momento de retirá-los das placas.

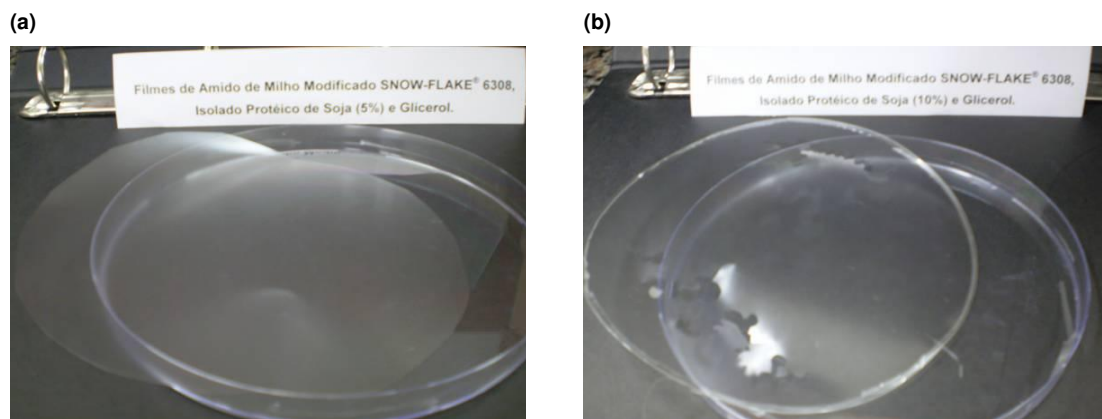


Figura 3.2. a) Filme de amido e isolado protéico de soja (5%), plastificado com glicerol. b) Filme de amido e isolado protéico de soja (10%), plastificado com glicerol.

Durante a formulação dos filmes de amido, IPS e argila (SSIPSC) houve dificuldade no plaqueamento das alíquotas da solução filmogênica final devido à alta viscosidade da solução (Figura 3.3a). Após a secagem por aproximadamente 24 horas do material, não foi possível caracterizá-lo, pois os filmes se tornaram muito quebradiços (Figura 3.3b).

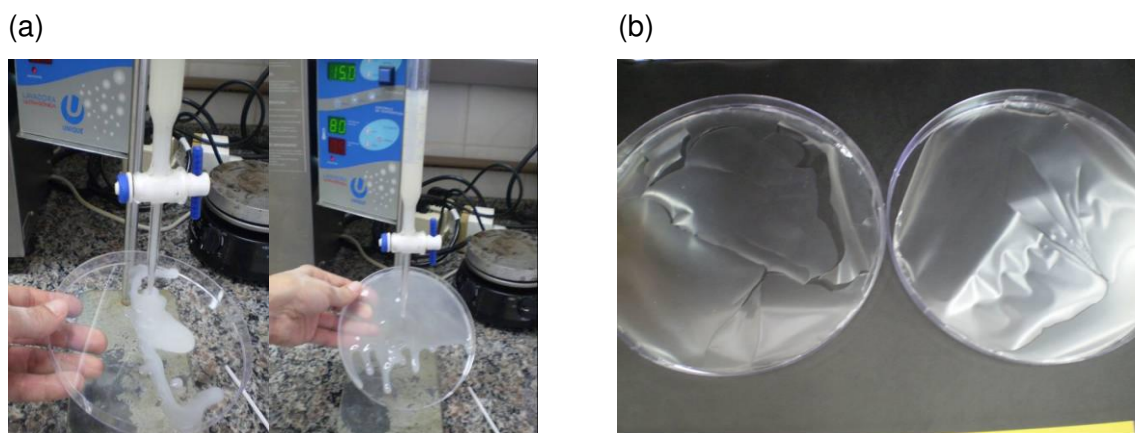


Figura 3.3. a) Espalhamento da solução de amido, isolado protéico de soja (5%), argila (5%) e glicerol, nas placas de Petri. b) Filme de amido, isolado protéico de soja (5%), argila (5%) e glicerol.

Todas as outras formulações estudadas apresentaram fácil espalhabilidade nas placas e desprendimento adequado após a secagem.

Dentre os filmes desenvolvidos, os preparados com gelatina e IPS foram os que apresentaram menores valores de opacidade 1,33 e 2,83%, como pode se observar na Figura 3.4. A adição de 5% de argila nas formulações GIPS5% e SSGIPS 5% causou um aumento na opacidade dos filmes de 1,33% para 9,67% e de 5,10% para 13,24%, respectivamente.

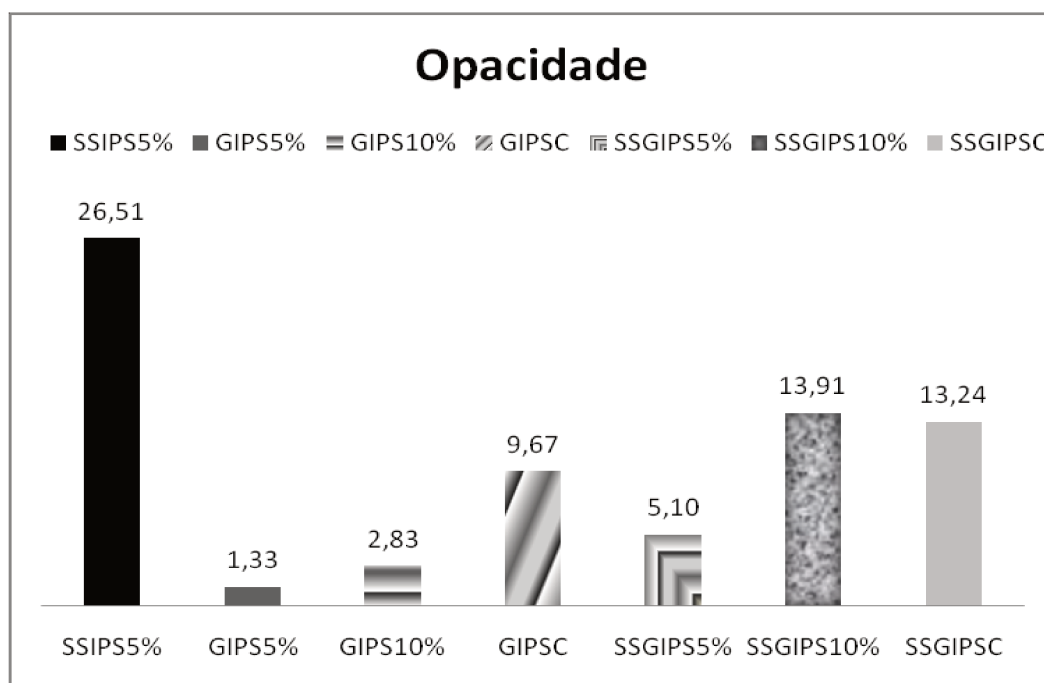


Figura 3.4. Opacidade dos filmes compostos de amido de milho SS e IPS (SSIPS5%), gelatina e IPS nas concentrações de 5% e 10% (GIPS5% e GIPS10%), gelatina, IPS e MMT (GIPSC), amido, gelatina e IPS nas concentrações de 5% e 10% (SSGIPS 5% e SSGIPS 10%) e amido, gelatina, IPS e MMT (SSGIPSC).

A formulação SIPS5% foi a que resultou em filmes com maior opacidade devido à presença do amido em maior quantidade. Quando amido foi adicionado às formulações com gelatina, a opacidade dos materiais obtidos aumentou como era esperado, passando de 1,33% para 5,10% nas formulações com 5% de IPS e

de 2,83% para 13,91%. É importante ressaltar que durante o processo de gelatinização do amido ocorre mudança na coloração devido à perda da estrutura cristalina dos grânulos de amido, formando-se um gel com certa opacidade.

A espessura dos filmes variou de 0,059 mm (SSIPS5%) à 0,115 mm (GIPS10%) como pode se observar na Tabela 3.2. Como a massa de sólidos por mL de solução filmogênica da formulação SSIPS5% é a metade da formulação GIPS10% este resultado era esperado. Apesar da diferença de espessura o filme SSIPS5% apresentou maior opacidade.

Tabela 3.2. Valores de opacidade, espessura, luminosidade L, parâmetros de cor a^* e b^* , chroma e hue dos filmes de amido, gelatina, IPS e nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e argila.

Filmes	Opacidade	Espessura	L	a^*	b^*	chroma	hue
SSIPS5%	26,51± 1,79 ^a	0,059 ± 0,004 ^e	94,24±0,45 ^b	0,26±0,01 ^a	3,34±0,28 ^b	3,35±0,28 ^b	85,44±0,43 ^a
GIPS5%	1,33± 0,11 ^e	0,105±0,004 ^b	94,16±0,21 ^{bc}	-0,36±0,02 ^d	2,26±0,11 ^d	2,29±0,11 ^d	80,98±0,44 ^c
GIPS10%	2,83± 0,19 ^{de}	0,115±0,004 ^a	93,59±0,36 ^c	-0,76±0,04 ^f	4,11±0,32 ^a	4,18±0,32 ^a	79,51±0,34 ^b
GIPSC	9,67±0,30 ^c	0,098±0,004 ^b	94,09±0,21 ^{bc}	-0,46±0,03 ^e	3,39±0,14 ^b	3,42±0,14 ^b	82,39±0,17 ^d
SSGIPS5%	5,10±0,5 ^d	0,084±0,004 ^c	94,25±0,09 ^b	-0,22±0,01 ^c	2,21±0,13 ^d	2,22±0,13 ^d	84,37±0,49 ^e
SSGIPS10%	13,91±0,26 ^b	0,73±0,004 ^d	91,54±0,47 ^d	-0,16±0,01 ^b	3,46±0,07 ^b	3,46±0,07 ^b	87,39±0,52 ^f
SSGIPSC	15,01±0,13 ^b	0,073±0,002 ^d	94,85±0,51 ^a	-0,35±0,01 ^d	2,82±0,17 ^c	2,84±0,17 ^c	82,99±0,40 ^d

Verificou-se efeito significativo da adição de IPS sobre a diferença de cor dos filmes de amido e gelatina, havendo um aumento de coloração dos materiais de 5,10% para 13,9%. Denavi et al. (2009) prepararam filmes por *casting* a partir de uma solução aquosa com 5% de IPS comercial e 2,5% de glicerol (peso/volume). Os filmes obtidos apresentaram uma espessura de 0,060 mm, uma opacidade de 12,6% e coloração amarela que é típica de filmes preparados com fontes protéicas.

A luminosidade dos filmes entre 91,54 e 94,85 indica tom amarelo claro dos materiais obtidos por serem valores próximos a 100.

3.2. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes.

Os filmes GIPS5% e GIPSC diferiram significativamente nas características de permeabilidade ao vapor de água e solubilidade, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A formulação SSGIPS5% também apresentou maior PVA que os filmes SSGIPSC. A adição da argila reduziu a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade dos materiais, como pode-se observar na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos filmes amido, gelatina, IPS e MMT.

Filmes	Espessura (mm)	Permeabilidade ao vapor de água (gmm/m ² dkPa)	Solubilidade em água (%)
SSIPS5%	0,062±0,002 ^d	13,71±0,71 ^{bc}	9,89±0,95 ^e
GIPS5%	0,110±0,011 ^{ab}	15,19±0,52 ^{ab}	28,15±0,43 ^a
GIPS10%	0,122±0,003 ^a	16,42±0,57 ^a	24,19±0,42 ^b
GIPSC	0,097±0,011 ^{bc}	10,74±0,93 ^c	23,55±0,83 ^{bc}
SSGIPS5%	0,081±0,001 ^{dc}	15,46±0,43 ^{ab}	28,36±0,31 ^a
SSGIPS10%	0,074±0,002 ^d	12,86±0,77 ^c	21,94±1,18 ^c
SSGIPSC	0,077±0,001 ^d	8,52±0,38 ^e	16,25±0,68 ^d

Ning et al. 2009 prepararam nanocompositos de amido, montmorilonita e glicerol e verificaram que houve uma diminuição da permeabilidade ao vapor de água com o aumento da concentração da argila. Isto pode ter ocorrido devido à estrutura formada pela adição da argila na matriz polimérica que bloqueia a passagem da água pelos canais normais.

Os resultados mostram que os valores de PVA ficaram entre 8,52 e 16,42 gmm/m²dkPa para os filmes SSGIPSC e GIPS10%, respectivamente (Tabela 3.3). É possível observar que houve uma diminuição na solubilidade em água e na PVA dos filmes quando argila foi adicionada nas formulações, melhorando suas propriedades de barreira.

López et al. (2008) caracterizaram filmes de amido de milho modificados, sendo o amido de milho acetilado na concentração de 5% p/p foi selecionado, uma vez que apresentou a mais baixa permeabilidade ao vapor de água (10,86 gmm/m²dkPa). Como a estrutura destes filmes, sem adição de plastificante, apresentou-se rígida e frágil (que provavelmente facilitaria a transferência de vapor de água), foi realizado um estudo com a adição de glicerol, onde foi encontrado um valor de 6,034 gmm/m²dkPa para permeabilidade ao vapor de água para uma concentração de 1% p/p de plastificante. Quando glicerol na concentração de 1,5 g/100 g de suspensão filmogênica foi adicionado, uma estrutura mais compacta foi obtida reduzindo os valores de PVA. Contudo concentrações mais altas de plastificante produzem um aumento significativo na PVA devido ao caráter hidrofílico do glicerol.

3.3. Propriedades mecânicas

O filme SSGIPSC apresentou a maior resistência à tração entre os filmes estudados, 71,91 MPa, sendo significativa em relação aos nanocompósitos de GIPSC, 47,99 MPa (Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Propriedades mecânicas dos filmes de amido, gelatina, isolado protéico de soja e MMT.

Filmes	Espessura (mm)	Resistência à tração (MPa)	Alongamento (%)
SSIPS5%	0,059 ± 0,004 ^e	25,16 ± 5,8 ^e	5,20 ± 0,16 ^{dc}
GIPS5%	0,105 ± 0,004 ^b	46,67 ± 3,2 ^c	4,97 ± 0,33 ^d
GIPS10%	0,115 ± 0,004 ^a	40,46 ± 3,8 ^d	5,66 ± 0,23 ^{dc}
GIPSC	0,098 ± 0,004 ^b	47,99 ± 2,2 ^c	36,65 ± 1,89 ^a
SSGIPS5%	0,084 ± 0,004 ^c	69,07 ± 3,8 ^a	6,28 ± 0,56 ^c
SSGIPS10%	0,730 ± 0,004 ^d	61,93 ± 3,8 ^b	4,62 ± 0,18 ^d
SSGIPSC	0,073 ± 0,002 ^d	71,91 ± 1,9 ^a	9,44 ± 0,71 ^b

O aumento de concentração de IPS de 5% para 10% nos filmes de gelatina e IPS como nos filmes de amido, gelatina e IPS causou uma diminuição significativa na resistência à tração dos materiais. BAE et al. (2009) verificaram que a adição de 5% de argila (p/p) aumentou a resistência à tração de filmes de gelatina de 30,31 MPa para 40,71 MPa.

Cao et al. (2007) estudaram as propriedades físicas de filmes compostos de proteína isolada de soja e gelatina. Soluções formadoras de filmes com 10% de proteína e 0,1% de glicerol foram preparadas pela mistura de diferentes proporções de soluções de IPS e gelatina (10:0; 8:2; 6:4; 4:6; 2:8; 0:10). Os resultados mostraram que a resistência à tração dos filmes preparados aumentou com o conteúdo de gelatina de 24 MPa (formulação 8:2 IPS:gelatina) para 55 MPa (formulação 2:8 IPS:gelatina). O filme composto somente com IPS apresentou-se mais duro e menos maleável. Com a adição de gelatina, o filme tornou-se mais transparente, homogêneo e mais fácil de manusear.

Comparando-se com a resistência mecânica de outros filmes formulados com polímeros orgânicos encontrados na literatura (Tabela 3.5) e com o filme sintético de polipropileno biorientado (RT 80 MPa, POLO TBM, 2010) a formulação SSGIPSC pode ser considerada resistente (RT 71,91 MPa).

A formulação que apresentou maior alongamento foi a GIPSC (36,65%), seguida pelo filme SSGIPSC (9,44%). Chen e Zhang (2006) elaboraram filmes de IPS e MMT. Verificaram que o alongamento dos filmes manteve-se diminuindo com o aumento do conteúdo de MMT. Filmes com 5% de MMT na formulação apresentaram em torno de 37% de alongamento.

Tabela 3.5. Resistência à tração de filmes formulados com polímeros orgânicos

Filmes	Resistência à tração (MPa)	Alongamento (%)	Artigo
Filme de quitosana, amido e MMT	24,64	2,4	Kampeerapappun et al. (2007)
Filme de amido (4%) e MMT (5%).	18,3	2,5	Yu et al. (2008)
Filme de amido de milho e MMT	9,2	25,2	Majdzadeh-Ardakani et al. (2010)
Filme de amido, quitosana e MMT	12,46	5,4	Chung et al. (2010)
Filme de IPS e gelatina	40,60	3,3	Cao et al. (2007)
Filme gelatina e MMT	40,94	37,9	Bae et al. (2009)
Filme de IPS e MMT (5%)	11,3	37	Chen e Zhang (2006)
Filme de IPS e MMT	32	3,7	Xiang et al. (2009)

3.4 Difração de raio X

A Figura 3.5 apresenta os resultados obtidos para montmorilonita sódica, filmes de amido, gelatina e IPS e nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e argila. A Tabela 3.6 mostra os ângulos e distâncias interplanares correspondentes ao primeiro pico, calculadas pela lei de Bragg.

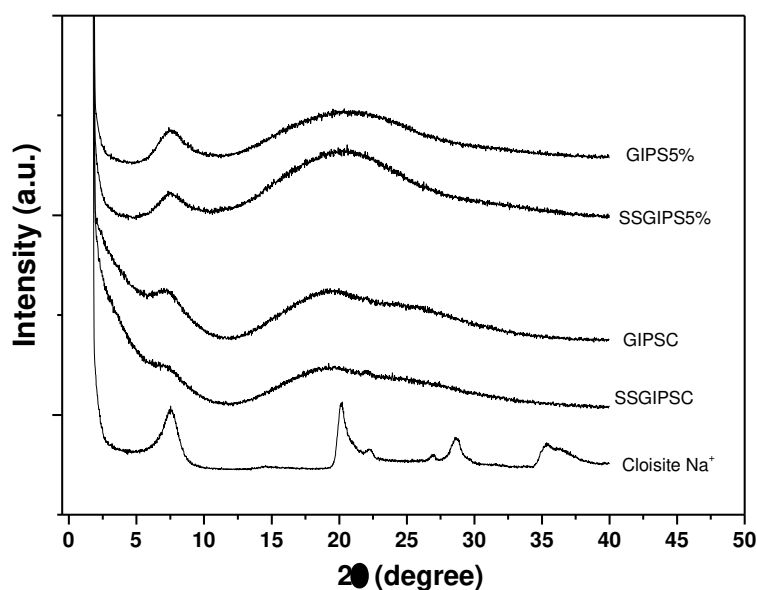


Figura 3.5. Difratoograma de raios X dos filmes de gelatina e IPS (GIPS5%); de amido, gelatina e IPS (SSGIPS5%); dos nanocompósitos de gelatina, IPS e argila (GIPSC) e amido, gelatina e IPS (SSGIPSC) comparados com o da argila (Cloisite Na⁺).

Os filmes GIPSC e SSGIPSC, preparados pelo método de solução, formaram estrutura intercalada. A Figura 3.5 e a Tabela 3.6 mostram que os nanocompósitos GIPSC, SSGIPSC apresentaram uma distância interlamelar ligeiramente maior e a intensidade relativa dos picos muito menor do que a da argila MMT indicando uma estrutura mais desorganizada. Os valores de d (12,51 Å) obtidos para os filmes GIPSC e SSGIPSC mostram que estes materiais apresentam estruturas bastante semelhantes.

O valor de expansão da galeria ($\Delta d=0,81$ Å) obtido para os nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e argila é semelhante ao obtido por Majdzadeh-Ardakani et al., (2010) para filmes de amido de milho com motmorilonita sódica ($\Delta d=0,66$ Å) preparados pelo método de solução.

Tabela 3.6. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila sódica.

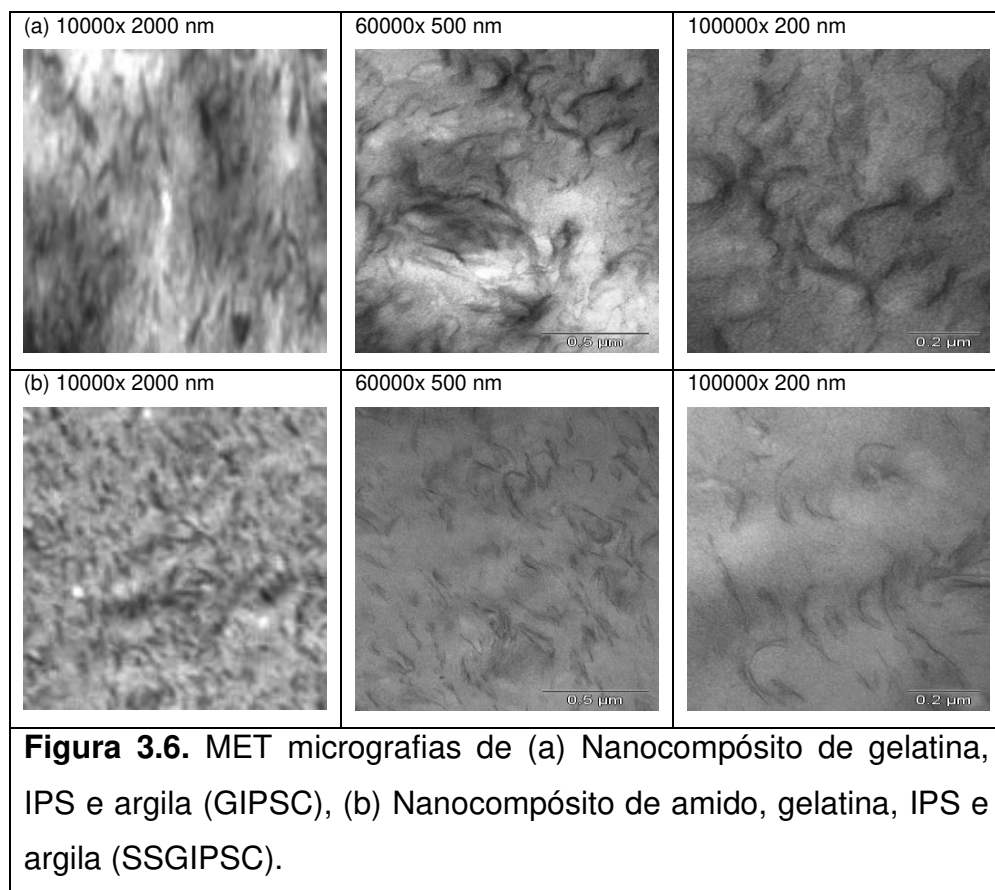
	2 θ	d (Å)	Δd (Å)
Argila montmorilonita Cloisite® Na⁺	7,56	11,7	-
GIPSC	7,06	12,51	0,81
SSGIPSC	7,06	12,51	0,81

Chen e Zhang (2006) prepararam nanocompósitos de isolado protéico de soja e montmorilonita sódica. Os resultados revelaram que a distribuição heterogênea de cargas positivas da globulina da soja são atraídas pelas cargas negativas da superfície das camadas da sílica. Houve atração eletrostática e interações de ligações de hidrogênio nas interfaces da proteína de soja e MMT, que levou à boa dispersão das camadas de filosilicatos na matriz protéica. As camadas de MMT altamente esfoliadas com uma dimensão de 1-2 nm, em espessura foram aleatoriamente dispersas na matriz protéica contendo menos do que 12% de MMT em peso, enquanto uma estrutura intercalada foi predominante quando o conteúdo MMT foi superior a 12% em peso.

3.5. Microscopia eletrônica de transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão é uma das principais ferramentas utilizadas para a determinação da dispersão das nanopartículas de argila.

Na Figura 3.6, observa-se que as partículas de argila estão bem dispersas na matriz polimérica e que uma estrutura intercala/esfoliada foi obtida para os nanocompósitos de gelatina, IPS e argila (GIPSC) e de amido, gelatina, IPS e argila (SSGIPSC), confirmando os fatos já observados pela técnica de DRX.



Bae et al. (2009) apresentaram em seu trabalho imagens feitas por MET de filmes de gelatina, argila e glicerol com um aumento de 100000x. Nanocompósitos à base de proteínas foram desenvolvidos. Nas misturas, a argila montmorilonita sódica foi inicialmente tratada com ultrassonificação em uma solução de glicerol e água destilada. A solução de nanoargila foi então adicionada à solução de gelatina de peixe e alíquotas de 35 mL foram distribuídas em placas BYTAC[®] de 20,32 cm x 40,64 cm. Após secagem os filmes foram acondicionados a temperatura de 25°C e umidade relativa de 50%. Estes nanocompósitos exibiram um tipo de estrutura esfoliada com melhores propriedades mecânicas e de barreira. Os filmes produzidos foram uniformes e relativamente transparentes. Os resultados obtidos por XRD e MET confirmaram que a maioria das partículas de argila apresentaram-se em estado esfoliado.

Xiang et al. 2009, analisaram fotos de nanocompósitos de SPI/argila com 5% de MMT obtidas através de microscopia eletrônica de transmissão. Verificaram

que as camadas de MMT estavam bem dispersas na matriz de SPI. Lamelas com uma dimensão de 1-2 nm de espessura indicaram uma estrutura esfoliada, enquanto agregados com uma dimensão em torno de 20-50 nm foram também observados, indicando uma estrutura intercalada. Os resultados sugeriram uma forte interação eletrostática entre SPI e MMT, incluindo ligações de hidrogênio.

4. Conclusões

O aumento da concentração de IPS de 5% para 10% na formulação dos filmes causou um aumento na opacidade dos filmes de gelatina de 1,33% para 2,83%; e nos filmes de amido e gelatina de 5,10% para 13,91%.

A solubilidade dos materiais obtidos diminuiu de 28,15% para 24,16% nos filmes de gelatina; e de 28,36% para 21,94% nos filmes de amido e gelatina com o aumento de IPS de 5% para 10%. A resistência mecânica dos filmes diminuiu e não houve muita diferença com relação às propriedades de alongamento e permeabilidade ao vapor de água. Por estes motivos a concentração de 5% de IPS foi escolhida para a formulação dos nanocompósitos.

Os filmes de gelatina e IPS e de amido, gelatina, IPS com argila apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água, menor solubilidade e maior resistência à tração. Resultados de DRX revelaram que estruturas intercaladas ou parcialmente esfoliadas foram obtidas.

5. Referências bibliográficas

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **D1003-07, Standard test methods for Haze and Luminous Transmittance of Transparent Plastics**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2008.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **D882-02 Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **E96-00. Standard test methods of water vapor transmission of materials**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2002.

BAE, H.J., PARK, H.J., HONG, S.I., BYUN, Y.J., DARBY D.O., KIMMEL, R.M., WHITESIDE, W.S. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocompósito. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, p. 1179-1186, 2009.

CAO, NA., FU, Y., HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1153-1162, 2007.

CHEN, P., ZHANG, L. Interaction and Properties of Highly Exfoliated Soy Protein/ Montmorillonite Nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 1700-1706, 2006.

CHO, S.Y., PARK JANG-WOO, BATT, THOMAS R. L. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 418-423, 2007.

CHUNG YI-LIN, ANSARI S., ESTEVEZ L., HAYRAPETYAN S., GIANNELIS E. P., LAI HSI-MEI Preparation and properties of biodegradable starch-clay nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, V. 79, P. 391-396, 2010.

DE AZEREDO H.M.C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42. P. 1240-1253, 2009.

DENAVI G., TAPIA-BLÁCIDO D.R., AÑÓN M.C., SOBRAL P.J.A., MAURI A.N., MENEGALLI F.C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, V. 90, P. 341-349, 2009 a.

DENAVI G., PEREZ-MATEOS, M., AÑÓN, M.C., MONTERO, P., MAURI A.N., GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. **Food Hydrocolloids**, V. 23, P. 2094-2101, 2009 b.

FAKHOURI F. M.; BATISTA J. A.; GROSSO C.R.F. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis de Gelatina, Triacetina e Ácidos Graxos, **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 2, p. 301-308, jul/dez 2003.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International J. Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GUILBERT, S Technology and application of edible protective films. In: **Food Packaging and Preservation** (M. Mathlouthi, ed.), p. 371-394. Elsevier Applied Science Publishers, New York, NY, 1986.

HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3. Reston, 1997.

KAMPEERAPAPPUN, P., AHT-ONG, D., PENTRAKON, D., SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p 155-163, 2007.

MAJDZADEH-ARDAKANI, K., NAVARCHIAN, A. H., SADEGHI, F. Optimization of mechanical properties of thermoplastic starch/clay nanocompósitos. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p. 547-554, 2010.

MAURI, A. N.; AÑÓN, M.C. Mechanical and Physical Properties of Soy Protein Films with pH-Modified Microstructures. **Food Science and Technology International**, v. 14. p. 119-125, 2008.

NING W., XINGXIANG Z., NA H., SHIHE B. Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, V. 76, P. 68-73, 2009.

POLO TBM Filme de Polipropileno biorientado, branco perolado, termosselável e metalizado. Disponível em: < <http://www.polofilms.com.br/arquivos/produto/14.pdf> >. Acesso em 25 de fevereiro, 2010.

RHIM, J., GENNADIOS, A., WELLER, C.L., CEZEIRAT, C., HANNA, M.A. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. **Industrial Crops and Products**, v.8, p. 195-203, 1998.

SHIYI OU, WANG, Y, TANG. S. HUANG, C. JACKSON, M. G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 205-210, 2005.

STANDING, M., RINDLAV-WESTLING, A., GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylase and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p.209-217, 2001.

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

TUNC, S., ANGELLIER, H., CAHYANA, Y., CHALIER, P., GONTARD, N., GASTALDI, E. Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. **Journal of Membrane Science**, v. 289, p. 159-168, 2007.

YU, J., WANG, J., WU, X., ZHU, P. Effect of glycerol an water vapor sorption and mechanical properties of starch /clay composite films. **Starch/Starke**, v.60, p. 257-262, 2008.

XIANG, L., TANG, C.,CAO,J., WANG, C., WANG, K., ZHANG, Q., FU, Q. Preparation and Characterization of Soy Protein Isolate (SPI)/ Montmorillonite (MMT) Bionanocomposites. **Chinese Journal of Polymer Science**. v. 27, p.843-849, 2009.

**CAPÍTULO 4 – EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE
SOJA E MONTMORILONITA NAS PROPRIEDADES DE NANOCOMPÓSITOS
DE AMIDO DE MILHO E GELATINA**

CAPITULO 4

Efeito da concentração de isolado protéico de soja e montmorilonita nas propriedades de nanocompósitos de amido de milho e gelatina

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da concentração de argila montmorilonita sódica (MMT) e isolado protéico de soja (IPS) nas propriedades mecânicas e de barreira de nanocompósitos de amido de milho e gelatina. Foi adotado um delineamento composto central rotacional 2^2 , incluindo os quatro pontos axiais e quatro pontos centrais, resultando em 12 experimentos; aplicável à metodologia de superfície de resposta a fim de maximizar a resistência à tração e diminuir a permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos nanocompósitos avaliados. Os filmes foram caracterizados quanto a: propriedades mecânicas; permeabilidade ao vapor de água (PVA); solubilidade em água; opacidade; difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de transmissão. A concentração de MMT (L) foi a única variável que exerceu influência aumentando a resistência à tração dos nanocompósitos. A média da resistência à tração foi de 70,63 MPa. O alongamento dos filmes foi influenciado pela concentração de IPS, o valor médio desta propriedade foi ao redor de 6,64%. A PVA encontrada para os nanocompósitos foi de 9,92 gmm/m²dkPa. A variável que exerceu maior influência na solubilidade em água (18,61%) dos nanocompósitos foi a concentração de MMT. Os filmes apresentaram opacidade entre 4,81 e 28,98%. Pelas técnicas de difração de raios-X e microscopia eletrônica de transmissão verificou-se a formação de estrutura intercalada e esfoliada dos nanocompósitos. Este estudo mostrou que as propriedades funcionais dos nanocompósitos de amido de milho e gelatina podem ser modificadas pela variação na concentração de MMT e IPS, tornando promissora a utilização destes materiais para embalagem de alimentos.

1. Introdução

A maioria dos materiais, atualmente utilizados para o acondicionamento de alimentos, não são biodegradáveis, gerando problemas ambientais. Vários biopolímeros têm sido explorados para desenvolver materiais para as embalagens de alimentos eco-amigáveis. No entanto, o uso de biopolímeros tem sido limitado devido as suas pobres propriedades mecânicas e de barreira, que podem ser melhoradas pela adição de compostos de reforço (cargas), formando compósitos (AZEREDO, 2009).

Atualmente, 180 empresas no mundo inteiro estão classificadas na indústria de bioplástico, sendo que entre estas um grupo de 45 já produz um total de 400 mil toneladas por ano de bioplásticos em 14 países diferentes, com a maior concentração de empresas nos Estados Unidos, Alemanha e Japão (QUEIROZ e COLLARES-QUEIROZ, 2009).

Nanocompósitos biopolímero-argila são uma nova classe de materiais com propriedades mecânicas potencialmente melhoradas. Estes compósitos são preparados pela adição de baixas quantidades de argila na matriz dos biopolímeros (ZHAO e HALLEY, 2008).

Três principais tipos de estruturas podem ser obtidas quando uma argila é dispersa em uma matriz polimérica: (i) estrutura de fase separada, onde as cadeias poliméricas não intercalam as camadas de argila, levando à obtenção de uma estrutura de propriedades similares às de um compósito convencional; (ii) estrutura intercalada, onde as cadeias poliméricas são intercaladas entre as camadas de argila, formando uma estrutura multicamada bem ordenada, que apresenta propriedades superiores às de um compósito convencional; e (iii) estrutura esfoliada, onde a argila é completa e uniformemente dispersa em uma matriz polimérica, maximizando as interações polímero-argila e levando à significativas melhorias nas propriedades físicas e mecânicas (ZHU e WOOL, 2006; RAY e BOUSMINA, 2005; KRISHNAMOORTI e YUREKLI, 2001; LEBARON e PINNAVAIA, 1999).

Diversos pesquisadores (CHUNG et al. 2010; MAJDZADEH-ARDAKANI et al. 2010; NING et al., 2009; CYRAS et al., 2008; TANG et al., 2008; YU et al., 2008; CHIOU et al., 2007; KAMPEERAPAPPUN et al., 2007; TUNC et al., 2007; CHEN e ZHANG, 2006; RHIM et al., 2006; AVELLA et al., 2005; CHEN et al., 2005; PANDEY e SINGH, 2005; WANG et al., 2005), tem desenvolvido filmes à base de biopolímeros, utilizando argila para melhorar a resistência mecânica dos materiais.

As plantas são fontes potenciais de uma grande variedade de polímeros, que são renováveis e ecologicamente corretos. Os biopolímeros agro-base são comestíveis e biodegradáveis, o que os tornam mais versáteis que os polímeros sintéticos, podendo ser utilizados na produção de plásticos, alimentos e aplicações na medicina. Os amidos, materiais dominantes de reserva de carboidratos das plantas superiores, são abundantes e relativamente baratos (CHUNG et al., 2010).

Vários tipos de proteínas, tais como a zeína do milho, glúten do trigo, soja, amendoim, algodão, girassol, albumina e gelatina, têm sido estudadas como potenciais agentes formadores de filmes (KROTCHA, 1997). A funcionalidade das proteínas nos filmes é determinada pela microestrutura, característica que varia significativamente dependendo da estrutura inicial da proteína e do método de preparação (DENAUI et al., 2009).

PARK et al. (2003) prepararam nanocompósitos de amido termoplástico (TPS) com dois tipos de argila, Cloisite 30 B e montmorilonita Cloisite Na⁺. A argila Cloisite Na⁺ mostrou melhor dispersão na nanoestrutura dos híbridos de TPS devido a sua hidrofilicidade e as interações polares entre as camadas de sílica e o amido. A forte interação entre TPS e a Cloisite Na⁺ levou ao aumento da resistência mecânica e à diminuição da permeabilidade ao vapor de água dos nanocompósitos. Os resultados mostraram que a adição de somente 5% de argila na matriz de amido melhora a resistência à tração e propriedades de barreira destes materiais.

A gelatina é preparada pela desnaturação do colágeno, isolado da pele e ossos dos animais, com ácido muito diluído. É muito utilizada pela indústria de

alimentos como gelificante, e devido à natureza anfifílica das moléculas, torna-se um agente de emulsificação e estabilizante de espumas. No processo de desidratação, as mudanças na sua conformação são irreversíveis, podendo ser utilizada na formação da superfície de filmes (RAY e BOUSMINA, 2005).

ZHENG et al. (2002) prepararam, pela primeira vez, nanocompósitos híbridos de gelatina e montmorilonita sódica, sendo que os resultados indicaram que a intercalação com MMT melhorou as propriedades térmicas da gelatina. Em adição, a resistência mecânica melhorou notavelmente. O compósito com 5% em peso de MMT apresentou uma resistência a tração de 78,9 MPa, 1,6 vezes maior que a do filme de gelatina.

Plásticos biodegradáveis de proteína isolada de soja e MMT sódica, com estrutura altamente esfoliada e intercalada, foram obtidos com sucesso pelo método de nanocompósitos obtidos via processo de intercalação em uma solução em meio aquoso neutro por CHEN et al. (2006). Para o conteúdo de MMT menor que 12%, a estrutura foi predominantemente esfoliada, enquanto acima desta quantidade, a estrutura intercalada foi predominante. Os pesquisadores verificaram que houve um aumento da força de ruptura aplicada nas folhas de plástico de 8,77 MPa (0% MMT) para 16,43 MPa quando 16% de MMT foi incorporada no filme.

Os principais objetivos deste trabalho foram:

- Obter uma maximização da resistência à tração e minimização da permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água de nanocompósitos de amido de milho, gelatina, isolado protéico de soja e argila montmorilonita sódica, avaliando-se o efeito da concentração destes dois últimos componentes.
- Determinar a caracterização microestrutural de nanocompósitos através das técnicas de microscopia óptica, microscopia eletrônica de transmissão e difração de raio-x.

2. Material e métodos

2.1. Materiais

As matérias-primas utilizadas para a elaboração dos filmes foram as seguintes: (i) Amido Modificado SNOW-FLAKE[®] 6308 (*Corn Products*, Brasil); (ii) Gelatina tipo A (*Leiner Davis Gelatin*); (iii) Isolado Protéico de Soja - IPS (Supro 783, *Solae do Brasil* Ind. e Com. Ltda, Esteio Brasil); (iv) Glicerol (*Synth*); (v) Argila montmorilonita Cloisite[®] Na⁺ - MMT (*Southern Clay Products*, Inc.).

2.2. Filmes de amido, gelatina, IPS e MMT

Os filmes foram preparados com massa total de 15 gramas de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1), IPS e MMT (a concentração destes polímeros utilizada na elaboração dos filmes foi definida de acordo com o delineamento composto central apresentado na Tabela 4.1) em 200 mL de água destilada.

Inicialmente, uma suspensão foi preparada com amido e 100 mL de água e, então, aquecida a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

Uma solução de gelatina foi preparada, hidratando-se a gelatina em 50 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) com agitação a 70°C até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI e GROSSO, 2003).

Uma dispersão com IPS e MMT foi preparada em béquer com 40 mL de água destilada, ajustou-se o pH para 9 com 0,1 mmol/L NaOH e HCl, e esta foi mantida sob agitação por 1 hora. Adicionou-se, então, a solução de gelatina e o pH foi ajustado novamente em 9 para, então, o volume ser ajustado em 100 mL.

As dispersões obtidas foram colocadas em béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho

ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP) a 70°C por 15 minutos. Estas soluções filmogênicas foram distribuídas em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e secas a 25°C em estufa com circulação de ar (marca Tecnal, modelo TE-39412, Piracicaba, Brasil) por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes.

2.3. Planejamento experimental

Para o estudo das formulações dos filmes, foi adotado um delineamento composto central rotacional 2², incluindo os quatro pontos axiais e quatro pontos centrais, resultando em 12 experimentos; aplicável à metodologia de superfície de resposta a fim de avaliar o efeito da concentração de MMT e IPS nas propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos. Cada variável foi estudada em cinco níveis diferentes conforme mostrado na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Níveis das variáveis independentes IPS e MMT no planejamento experimental da formulação dos nanocompósitos, contendo gelatina e amido na proporção 2:1.

Variáveis Independentes	-1,41	-1	0	+1	+1,41
IPS (%)*	0	1,5	5	8,5	10
MMT (%)*	0	1,5	5	8,5	10

* Concentração em massa em relação à massa total de sólido utilizada na formulação (15g)

As variáveis dependentes avaliadas para cada ensaio do planejamento experimental realizado foram: (i) resistência à tração (RT); (ii) alongamento na ruptura (ALO); (iii) permeabilidade ao vapor de água (PVA) e (iv) solubilidade em água (SOL).

Os dados foram ajustados ao modelo de segunda ordem (Equação 1) como uma função das variáveis dependentes.

$$Y_i = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_{12} + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 \quad (1)$$

Onde:

b_n são coeficientes de regressão;

Y_i são as variáveis dependentes (RT, ALO, PVA e SOL)

X_1 e X_2 são as variáveis independentes (IPS e MMT).

O objetivo do planejamento experimental foi obter uma maximização da RT e ALO, juntamente com uma minimização da PVA e SOL. Assim, foi realizada uma análise conjunta das superfícies de resposta obtidas para as variáveis dependentes (respostas), a fim de se encontrar a região que melhor atendesse aos objetivos deste estudo.

2.4. Espessura

A espessura dos filmes foi determinada pela utilização de um micrômetro (Modelo MDC-25M, Mitutoyo, MFG, Naucalpan de Juarez, México), fazendo-se a média de 10 medidas aleatórias em diferentes partes do filme. Essa medida foi obtida após o acondicionamento dos filmes em dessecadores a 25°C e 50% UR durante 48 horas.

2.5. Propriedades mecânicas

As medidas de RT e ALO foram determinadas usando-se texturômetro TA.XT2 (Stable Micro System, Hasleme, UK), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-02 (ASTM, 2002). As medidas foram conduzidas em temperatura ambiente (25°C). A separação inicial das garras e a velocidade do “probe” foram de 50 mm e 0,5 mm/s, respectivamente. A resistência à tração foi

calculada dividindo-se a força máxima pela área seccional do filme (largura do filme x espessura inicial). Dividindo-se os valores do diferencial de extensão pela separação inicial das garras (50 mm) e multiplicando-se por 100, calculou-se a porcentagem de alongamento na ruptura. Foram realizadas oito replicatas.

2.6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A PVA dos filmes foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método padrão E-96-00^{E1} da ASTM (ASTM, 2002). O filme em forma de disco foi selado em uma célula de permeação feita de acrílico contendo cloreto de cálcio e colocado em um dessecador com temperatura e umidade relativa controlada (25° C e 75% UR). O vapor de água difundido através do filme foi determinado pelo ganho de massa do cloreto de cálcio, medido a cada 24 horas por sete dias. Os testes foram realizados em triplicata.

2.7. Solubilidade em água (SOL)

A SOL foi determinada segundo o método proposto por Gontard et al. (1994). As amostras, em triplicata, foram preparadas recortando-se discos de 2 cm de diâmetro. A massa seca inicial das amostras foi obtida após secagem das mesmas por um período de 24 horas à temperatura de 105°C em estufa de circulação e renovação de ar (marca Tecnal, modelo TE-39412, Piracicaba, Brasil). Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um recipiente contendo 50 mL de água destilada e colocadas sob agitação suave em banho termostático (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) durante 24 horas. Após este período, as amostras solubilizadas foram retiradas e secas a 105°C por mais 24 horas, para a obtenção da massa seca final.

2.8. Difração de raios-X

As amostras de argila e nanocompósitos foram analisadas por difração de raios-X (DRX) para determinar a ocorrência da intercalação/esfoliação das camadas de argila após a incorporação do polímero, visando identificar o tipo de nanocompósito formado pela determinação da distância interlamelar da argila. O aparelho utilizado nesta análise foi o Difrátômetro (marca PHILIPS, modelo PW 1710, Holanda), usando radiação $K\alpha$ do cobre (comprimento de onda 1,5405 Å). As medidas foram realizadas conforme geometria Bragg-Brentano no intervalo de 2,0 a 40,0 (2θ) e tempo de contagem de 2 segundos. A amostra de argila foi analisada sob a forma de pó compacto no porta amostra do equipamento. As amostras de nanocompósitos foram preparadas cortando-se discos de 25 mm de diâmetro e 0,7 mm de espessura.

2.9. Microscopia óptica

A análise de microscopia óptica tem sido utilizada em alguns trabalhos como método preliminar de avaliação da microestrutura (CHUNG et al. 2010; CARASTAN et al., 2010; VERMOGEN et al., 2005). As amostras foram observadas em um microscópio Leica-Q500IW (Cambridge, UK) com aumentos de 50 e 200x e as fotomicrografias foram tiradas com uma câmera CCD acoplada ao microscópio.

2.10. Microscopia Eletrônica de Transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão dos filmes foi realizada segundo o procedimento descrito por Standing et al. (2001). Amostras de 2 x 2 mm de filmes foram cortadas. A fixação das amostras foi realizada com glutaraldeído 2% (solução diluída com tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2) por 2 horas à 4°C. As amostras foram lavadas com tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e após foram fixadas em 2% p/v, OsO₄ (solução diluída com tampão cacodilato de sódio de Na 0,2 M, pH 7,2) por 2 horas.

Após a fixação, foi realizada a lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e, posteriormente, as amostras foram deixadas em tampão cacodilato de Na 0,1 M pH 7,2 durante 12 horas.

As amostras foram, então, desidratadas em séries de etanol por 15 minutos: 30, 50, 70, 90% v/v, e finalmente em etanol a 99,5% v/v (3 vezes por 15 minutos). As amostras desidratadas foram imersas em óxido de propileno e etanol 99,5% (1:1) por 20 minutos, e em óxido de propileno puro por mais 20 minutos. Após esse período, foi realizada a inclusão das amostras em óxido de propileno e resina (2:1, 1:1 e 1:2) por 90 minutos em cada caso. Finalmente, realizou-se a inclusão em resina pura e deixou-se durante 12 horas em rotor a temperatura ambiente, em capela. Concluído esse período, foi realizada a inclusão em resina Epon no molde e colocado em estufa a 60°C (48-72 horas).

Depois de realizados os cortes semi-finos (com navalha de vidro) e finos (em um ultramicrotomo (marca Leica ULTRACUT, modelo UCT, Viena, Áustria) e faca de diamante (marca Diatome, tipo Cryoisto 45º, Bienne, Suíça) do material seco foi realizada a contrastação com acetato de uranila e citrato de chumbo. As amostras foram observadas em um microscópio eletrônico de transmissão (marca Carl Zeiss, LEO-906, Oberkochen, Alemanha), operando a uma voltagem de aceleração de 80 kV.

3. Resultados e discussão

A Tabela 4.2 apresenta o planejamento com os 12 ensaios realizados, os valores codificados, os reais e os resultados das propriedades mecânicas (RT e Alo), PVA e SOL dos filmes obtidos. Os experimentos foram realizados aleatoriamente e os dados foram tratados utilizando-se o Programa Statistica 5.0 (Software Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

Tabela 4.2. Planejamento fatorial, valores codificados e reais das variáveis independentes (IPS e MMT) e as variáveis dependentes (propriedades mecânicas, PVA e SOL) dos filmes.

Ensaio	Concentração de IPS (%)	Concentração de MMT(%)	RT (MPa)	ALO (%)	PVA gmm/m ² dkPa	SOL (%)
1	-1 (1,5)	-1 (1,5)	67,71	3,94	12,90	23,09
2	1 (8,5)	-1 (1,5)	67,89	6,37	10,74	21,02
3	-1 (1,5)	1 (8,5)	70,58	4,05	7,21	13,90
4	1 (8,5)	1 (8,5)	70,15	3,45	8,92	20,47
5	-1,41 (0)	0 (5)	69,73	4,72	9,08	16,87
6	1,41 (10)	0 (5)	69,57	4,25	11,06	20,84
7	0 (5)	-1,41 (0)	67,14	6,27	15,47	24,36
8	0 (5)	1,41 (10)	68,23	3,22	8,39	14,42
9	0 (5)	0 (5)	71,04	6,12	8,45	18,49
10	0 (5)	0 (5)	70,91	7,22	9,79	18,54
11	0 (5)	0 (5)	70,17	6,17	11,46	18,69
12	0 (5)	0 (5)	70,42	7,04	9,95	18,73

IPS = isolado protéico de soja ; MMT = montmorilonita sódica; RT = resistência à tração; Alo = alongamento na ruptura; PVA = coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água; SOL = solubilidade em água.

3.1. Resistência à tração

Os efeitos das variáveis independentes sobre a resistência mecânica dos filmes estão apresentados na Tabela 4.3. Em negrito, estão os efeitos dos fatores que são significativos: média, MMT(L) e MMT (Q), admitindo um intervalo de confiança de 95%, ou seja, um nível de significância de 5% para a análise pelo erro padrão (MS Residual).

O efeito estimado de uma variável indica o quanto esta exerce influência sobre a resposta. Desta forma, quanto maior for o seu valor, maior esta influência. Um efeito positivo sobre a resposta indica que, ao passar de um valor mínimo a um valor máximo da variável, o valor da resposta aumenta. No caso do efeito ser negativo, indicará uma diminuição da resposta.

Tabela 4.3. Efeitos das variáveis independentes sobre a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2=0,87$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	70,63373	0,320480	0,000000
IPS (L)	-0,11925	0,453906	0,801547
IPS (Q)	-0,77496	0,508844	0,178593
MMT (L)	1,67170	0,453906	0,010295
MMT (Q)	-2,75172	0,508844	0,001652
IPXMMT1 (L)X2(L)	-0,30500	0,640965	0,651015

IPS = isolado protéico de soja ; MMT = montmorilonita sódica.

L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

O parâmetro que exerceu influência na RT dos nanocompósitos foi a concentração de MMT (Q). A média da resistência à tração ficou em torno de $70,63 \pm 0,32$ MPa.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Análise de variância (ANOVA) para a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,84$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Fcalc	F (2;9;0,05)	p-valor
Regressão	16,72	2	8,36	21,44	4,26	0,004
Resíduo	3,54	9	0,39			
Total	20,26	11				

Barros Neto et al. (2007) sugeriram que para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mas também útil para fins preditivos, o valor de F calculado para a regressão deve ser no mínimo 4 vezes o valor de F tabelado. Essa condição é satisfeita nesse estudo.

Pela análise de variância, verificou-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 5,03 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,84, indicando que o modelo explica 84% da variação dos dados observados.

Os filmes apresentaram RT entre 67,14 e 71,04 MPa, correspondendo aos tratamentos 7 e 9, respectivamente (Tabela 4.2).

O modelo codificado proposto para representar a resistência à tração dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS e MMT, é apresentado pela Equação 3.

$$RT=70,33+0,84 x_2-1,3x_2^2 \quad (3)$$

Onde: x_2 é a concentração de MMT (%)

As curvas de contorno geradas pelo modelo para a resistência à tração encontram-se representadas na Figura 4.1.

A concentração de IPS não influenciou na resistência mecânica dos nanocompósitos como pode ser verificado na Figura 4.1. As faixas com maiores valores de resistência à tração foram alcançadas quando 5% a 8,5% de MMT foram substituídos na massa total dos polímeros para obtenção dos nanocompósitos.

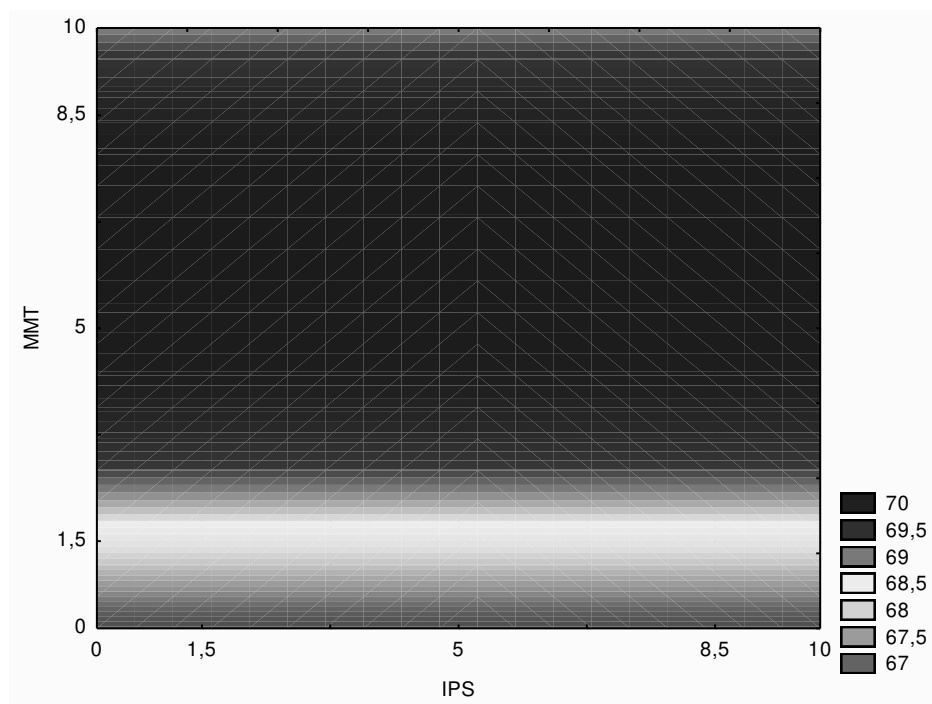


Figura 4.1. Curvas de contorno da resistência à tração em função da concentração de IPS e MMT.

3.2. Alongamento na ruptura

Os efeitos dos parâmetros lineares, quadráticos e interações no ALO dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS e MMT estão apresentados na Tabela 4.5, onde os valores em negrito são significativos a um nível de significância de 5%.

O parâmetro que exerceu maior influência no ALO foi a concentração de IPS (Q), seguida pela concentração de MMT (Q), MMT (L) e IPSXMMT1(L)x2(L). O valor médio do alongamento foi ao redor de $6,64 \pm 0,29\%$.

Tabela 4.5. Efeitos das variáveis independentes sobre o alongamento dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2=0,90$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	6,63795	0,295520	0,000001
IPS (L)	0,29270	0,418554	0,510550
IPS (Q)	-2,24148	0,469214	0,003072
MMT (L)	-1,78293	0,418554	0,005323
MMT (Q)	-1,97992	0,469214	0,005563
1 (L)X2(L)	-1,51500	0,591044	0,042721

IPS = isolado protéico de soja ; MMT = montmorilonita sódica. L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se, por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 4.6.

Através da análise de variância, verificou-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,84, indicando que o modelo explica 84% da variação dos dados observados.

Tabela 4.6. Análise de variância (ANOVA) para o ALO dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,84$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (4;7;0,05)	p-valor
Regressão	20,51	4	5,12	16	4,12	0,001
Resíduo	2,27	7	0,32			
Total	22,78	11				

O modelo codificado proposto para representar o alongamento dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS e MMT é apresentado pela Equação 4.

$$ALO=6,64-1,12x_1^2-0,89x_2-0,99 x_2^2-0,76 x_1x_2 \quad (4)$$

Onde : x_1 é a concentração de IPS (%)

x_2 é a concentração de MMT (%)

As curvas de contorno, geradas pelo modelo para o ALO, encontram-se representadas na Figura 4.2.

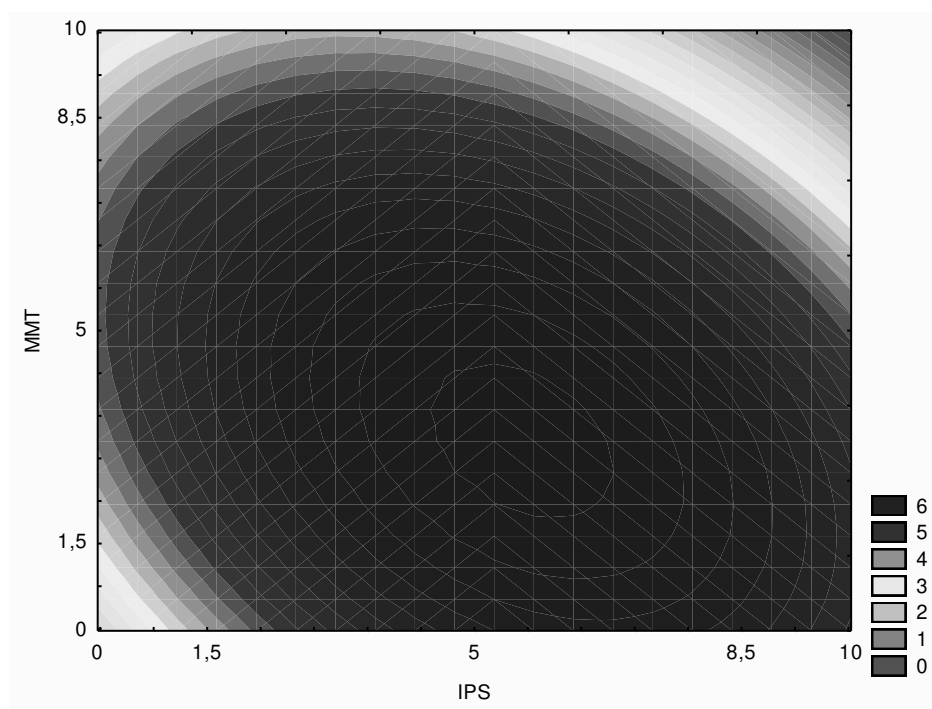


Figura 4.2. Curvas de contorno do ALO em função da concentração de IPS e MMT.

Com o aumento da concentração de argila houve uma diminuição no ALO dos nanocompósitos (Figura 4.2). Os maiores valores de ALO dos materiais foram obtidos nas concentrações de IPS e MMT do ponto central do delineamento experimental.

Os filmes apresentaram ALO entre 3,22 e 7,22%, correspondendo aos tratamentos 8 e 10, respectivamente (Tabela 4.2).

3.3. Permeabilidade ao vapor de água

Os efeitos das variáveis independentes sobre a PVA estão apresentados na Tabela 4.7 e foram avaliados ao nível de significância de 10%. Os filmes apresentaram PVA entre 7,21 e 15,46 gmm/m²dkPa correspondendo aos tratamentos 3 e 7, respectivamente (Tabela 4.2).

Tabela 4.7. Efeitos das variáveis independentes sobre a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2 = 0,84$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	9,91746	0,609167	0,000003
IPS (L)	0,58691	0,862784	0,521711
IPS (Q)	-0,37784	0,967210	0,709546
MMT (L)	-4,38615	0,862784	0,002257
MMT (Q)	1,48643	0,967210	0,175249
IPSxMMT 1 (L)X2(L)	1,93289	1,218344	0,163723

IPS = isolado protéico de soja ; MMT = montmorilonita sódica. L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

O parâmetro que exerceu maior influência na PVA foi a concentração de MMT (L). Com o aumento da concentração de argila houve uma diminuição no coeficiente de permeabilidade ao vapor de água. Os fatores MMT (Q) e IPSxMMT 1(L)X2(L) foram considerados significativos devido ao valor de p estar próximo dos

valores considerados significativos. O valor médio da PVA nos nanocompósitos foi ao redor de $9,92 \pm 0,61\%$.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se, por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 4.8.

Pela análise de variância, verifica-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 3,1 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,82, indicando que o modelo explica 82% da variação dos dados observados.

Tabela 4.8. Análise de variância (ANOVA) para a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2 = 0,82$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (3;8;0,05)	p-valor
Regressão	46,12	3	15,37	12,6	4,07	0,001
Resíduo	9,82	8	1,22			
Total	55,94	11				

O modelo codificado proposto para representar a PVA dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS e MMT é apresentado pela Equação 5.

$$PVA = 9,77 - 2,19 x_2 + 0,78 x_2^2 + 0,97 x_1 x_2 \quad (5)$$

Onde : x_1 é a concentração de IPS (%)

x_2 é a concentração de MMT (%)

As curvas de contorno, geradas pelo modelo para a PVA, encontram-se representadas na Figura 4.3. É possível observar através das curvas de contorno

que para a formulação de nanocompósitos com baixo coeficiente de permeabilidade ao vapor de água a faixa ótima é de 8,5% a 10% de MMT e de 0% a 1,5% de IPS.

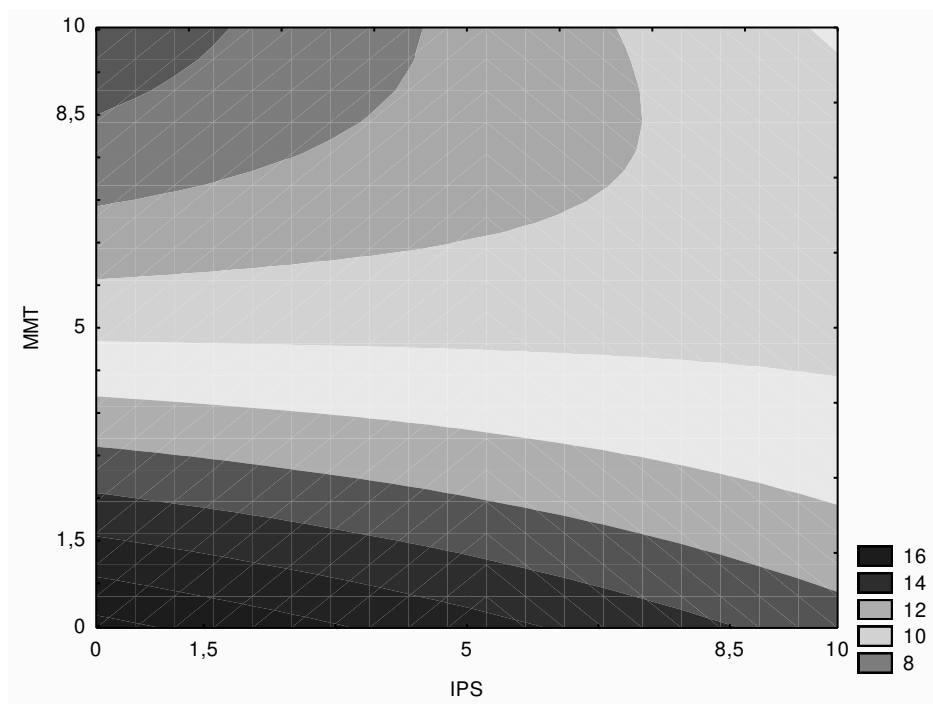


Figura 4.3. Curvas de contorno da PVA em função da concentração de IPS e MMT.

3.4. Solubilidade em água

Os efeitos dos parâmetros lineares, quadráticos e interações na solubilidade dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS e MMT estão apresentados na Tabela 4.9, onde os valores em negrito são significativos a um nível de significância de 5%. Os filmes apresentaram solubilidade entre 13,89 e 24,36% correspondendo aos tratamentos 3 e 7, respectivamente (Tabela 4.2).

O parâmetro que exerceu maior influência na SOL foi a concentração de MMT (L), seguido pelos fatores IPSxMMT 1(L)X2(L) e IPS(L). O valor médio da SOL nos nanocompósitos foi ao redor de $18,61 \pm 0,37\%$.

Tabela 4.9. Efeitos das variáveis independentes sobre a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($R^2=0,97$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	18,61043	0,356899	0,000000
IPS (L)	2,53427	0,505488	0,002420
IPS (Q)	0,49673	0,566669	0,414426
MMT (L)	-5,95690	0,505488	0,000023
MMT (Q)	1,03377	0,566669	0,117916
IPSxMMT 1 (L)X2(L)	4,32172	0,713804	0,000920

IPS = isolado protéico de soja ; MMT = montmorilonita sódica. L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se, por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Análise de variância (ANOVA) para a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, IPS e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,95$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (3;8;0,05)	p-valor
Regressão	102,25	3	34,08	55,87	4,07	0,001
Resíduo	4,89	8	0,61			
Total	107,14	11				

Pela análise de variância, verifica-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 13,72 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,95, indicando que o modelo explica 95% da variação dos dados observados.

O modelo codificado proposto para representar a SOL dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, IPS e MMT é apresentado pela Equação 6.

$$\text{Solubilidade} = 19,12 + 1,28x_1 - 2,98x_2 + 2,16x_1x_2 \quad (6)$$

Onde : x_1 é a concentração de IPS (%)

x_2 é a concentração de MMT (%)

As curvas de contorno, geradas pelo modelo para a solubilidade, encontram-se representadas na Figura 4.4. A minimização da solubilidade dos nanocompósitos ocorreu com o aumento da concentração de argila dentro da faixa estudada (0% a 10%) e IPS na faixa de concentração de 0% a 1,5%.

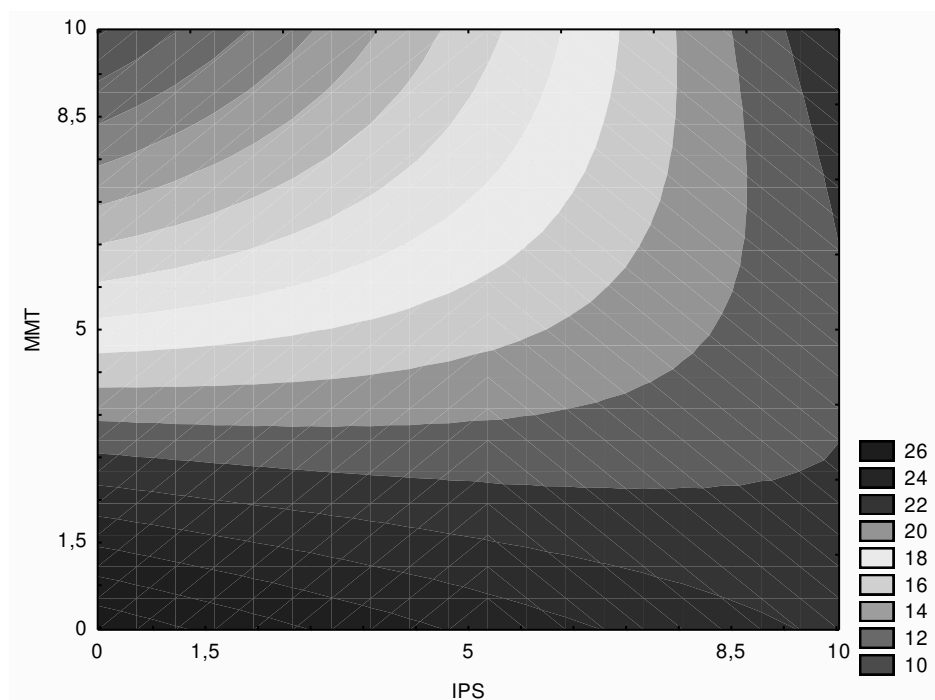


Figura 4.4. Curvas de contorno da SOL em função da concentração de IPS e MMT.

3.5. Difração de raios-X

A Figura 4.5 ilustra os resultados de DRX obtidos para montmorilonita sódica e filmes de amido, gelatina, IPS com argila, obtidos nos ensaios do delineamento experimental. A Tabela 4.11 mostra os ângulos e distâncias interplanares correspondente ao primeiro pico, calculadas pela lei de Bragg.

A distância interlamelar da MMT foi de 11,7 Å correspondendo ao valor d de 1,17 nm fornecido pelo fabricante.

Pelos resultados obtidos, é possível observar que há um indicativo que os filmes preparados nos ensaios 3, 5, 9 e 10, pelo método de solução, formaram estrutura intercalada.

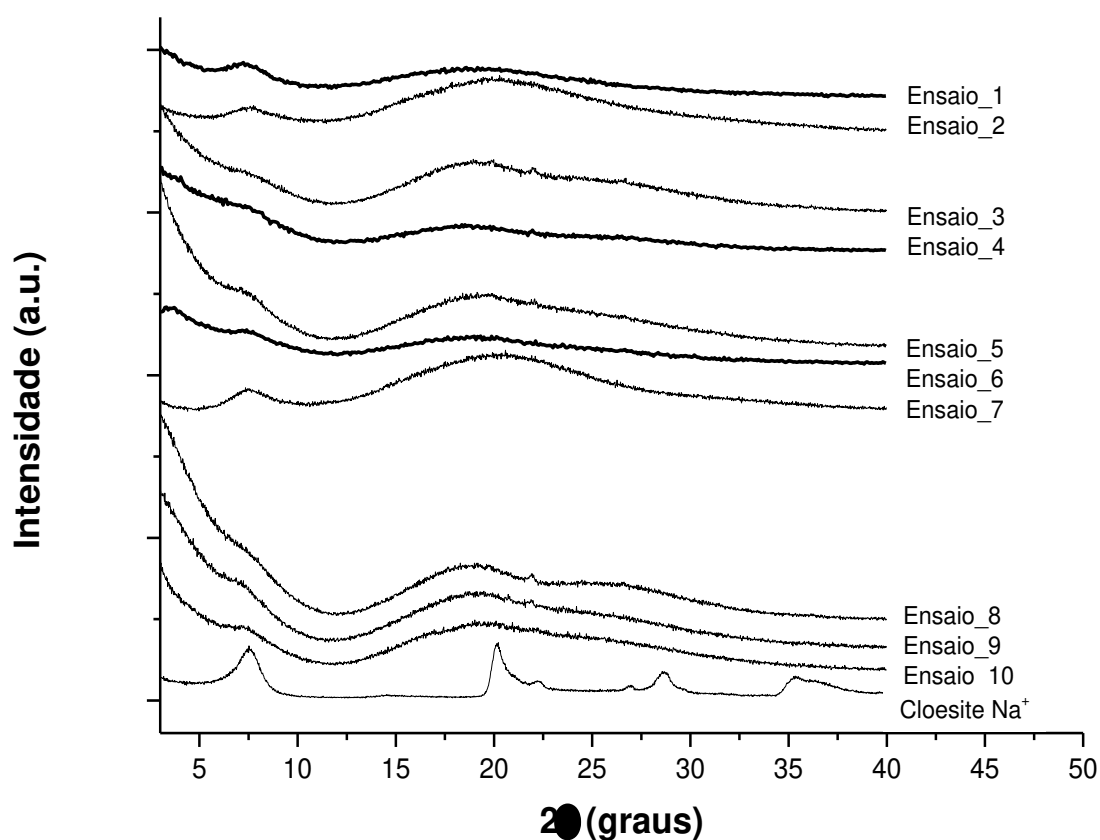


Figura 4.5. Difratograma de raios-X dos filmes de amido, gelatina, IPS e argila obtidos segundo delineamento experimental, comparados com o da argila MMT.

A Figura 4.5 e a Tabela 4.11 mostram que os nanocompósitos de amido, gelatina, IPS com argila apresentaram uma distância interlamelar ligeiramente maior, e a intensidade relativa dos picos muito menor do que a da argila MMT indicando uma estrutura mais desorganizada. Os valores de d (12,16 a 12,51 Å) obtidos para os filmes mostram que estes materiais apresentam estruturas bastante semelhantes.

Tabela 4.11. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e a diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila.

	2θ	d (Å)	Δd (Å)
Argila montmorilonita Cloisite® Na⁺	7,56	11,7	-
Ensaio 1 (IPS1,5% MMT1,5%)	7,24	12,21	0,51
Ensaio 2 (IPS8,5% MMT1,5%)	7,27	12,16	0,46
Ensaio 3 (IPS1,5% MMT8,5%)	-	-	-
Ensaio 4 (IPS8,5% MMT8,5%)	-	-	-
Ensaio 5 (IPS0% MMT5%)	7,14	12,37	0,67
Ensaio 6 (IPS10% MMT5%)	-	-	-
Ensaio 7 (IPS5% MMT0%)	-	-	-
Ensaio 8 (IPS5% MMT10%)	-	-	-
Ensaio 9 (IPS5% MMT5%)	7,06	12,51	0,81
Ensaio 10 (IPS5% MMT5%)	7,2	12,27	0,57

Os valores de expansão da galeria ($\Delta d=0,57$ a $0,81$ Å) obtidos para os nanocompósitos de amido, gelatina IPS com argila são semelhantes aos obtidos por outros autores para nanocompósitos de amido termoplástico e argila, preparados pela técnica via solução (MAJDZADEH-ARDAKANI et al., 2010; CYRAS et al., 2008; KAMPEERAPAPPUN et al., 2007).

Os difratogramas dos filmes obtidos nos ensaios 1, 2 e 7 foram muito semelhantes, devido à baixa concentração e ausência de argila 1,5%, 1,5% e 0%, respectivamente.

Os bio-nanocompositos obtidos nos ensaios 3 (IPS1,5% MMT8,5%); 4 (IPS8,5% MMT8,5%); 6 (IPS10% MMT5%) e 8 (IPS5% MMT10%) apresentaram estrutura amorfa sendo um indicativo de esfoliação da montomorilonita sódica e da formação de nanocompósito.

Kumar et al. (2010) prepararam bio-nanocompósitos de IPS com quatro diferentes níveis de MMT (0%, 5%, 10% e 15%) para avaliar o efeito da

concentração da argila nas propriedades dos filmes. A estrutura da MMT na matriz de proteína de soja variou de esfoliada em concentrações menores de argila (5%), parcialmente esfoliada para a concentração de 10% a intercalada quando 15% de argila foi utilizada.

Chiou et al. (2007) compararam o efeito de 5, 10 e 15% de glicerol em dispersões de argila. Para suas amostras, a adição de 5% de glicerol produziu a maior esfoliação na nanoargila, enquanto a adição de 10 e 15% de glicerol produziu uma nanoargila intercalada. Eles concluíram que a incorporação suficiente de glicerol dentro das amostras de amido-argila inibia a intercalação até certo ponto, porque um aumento na interação do amido / glicerol poderia competir com as interações entre glicerol, amido e superfície da argila.

3.6. Microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão

As Figuras 4.6 e 4.7 apresentam as micrografias dos filmes de amido e gelatina, com diferentes concentrações de IPS e MMT, com um aumento de 50 vezes e de 200 vezes. É possível observar que as amostras, de uma forma geral, apresentam estruturas semelhantes com pequenas variações relacionadas principalmente à concentração de MMT.

Pelas micrografias das amostras preparadas por solução, pode-se observar que apesar da argila e polímeros orgânicos terem sido dispersos no solvente, ainda há partículas de tamanhos relativamente grandes, indicando que o solvente não foi capaz de desfazer todos os aglomerados.

Nas Figuras 4.6c e 4.6d (filmes com 8,5% de MMT) e Figura 4.7c (filmes com 10% de MMT), pode-se observar uma mudança na estrutura dos filmes que apresentaram uma superfície irregular, indicando heterogeneidade. Já, as formulações com 5% de MMT (Figura 4.6e, Figura 4.7a, 4.7d e 4.7e) apresentaram estruturas semelhantes com uma superfície mais homogênea, indicando melhor interação entre a argila e os polímeros.

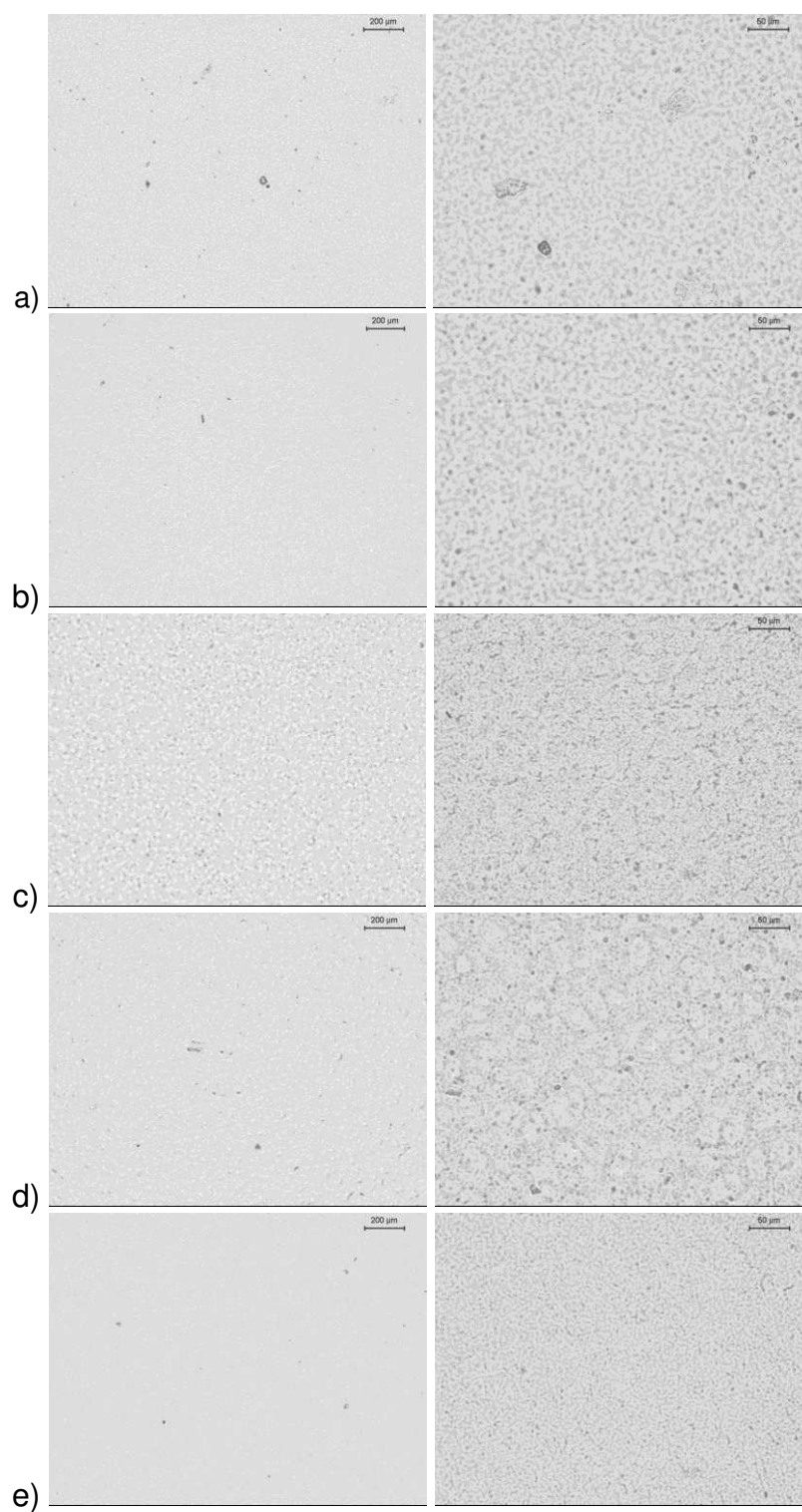


Figura 4.6. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT, respectivamente: (a) 1,5%; 1,5%; (b) 8,5%; 1,5%; (c) 1,5%; 8,5%; (d) 8,5%; 8,5% e (e) 0% e 5%.

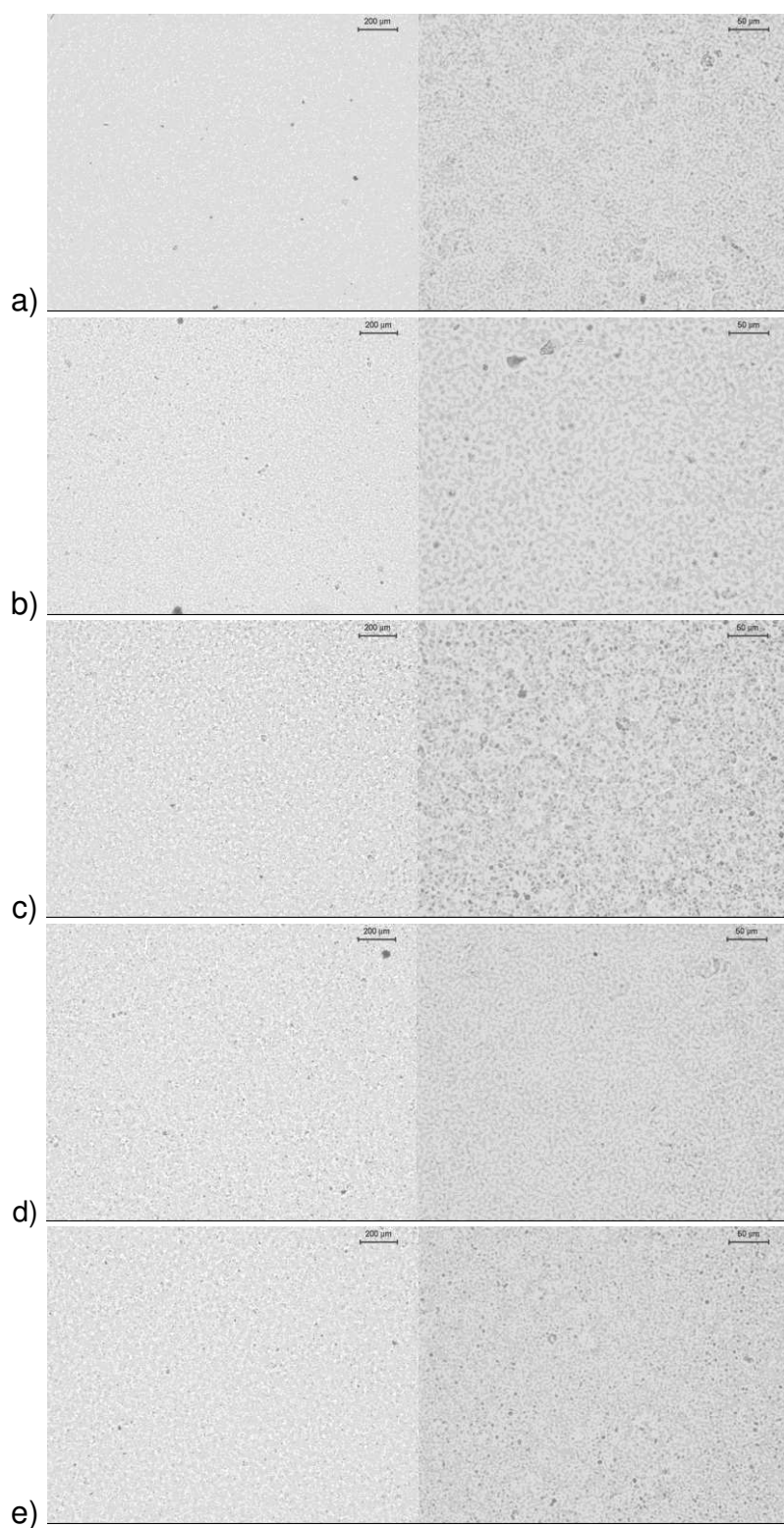


Figura 4.7. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT, respectivamente: (a) 10%; 5%; (b) 5%; 0%; (c) 5%; 10%; (d) 5%; 5% e (e) 5%; 5%.

Para confirmar a formação de nanoestrutura dos filmes de gelatina, amido e IPS com argila e verificar as conclusões do DRX, MET foi realizada.

As Figuras 4.8 e 4.9 apresentam as MET- micrografias em dois aumentos dos filmes de gelatina, amido e IPS com argila, obtidos pelo método de solução, de acordo com o delineamento experimental.

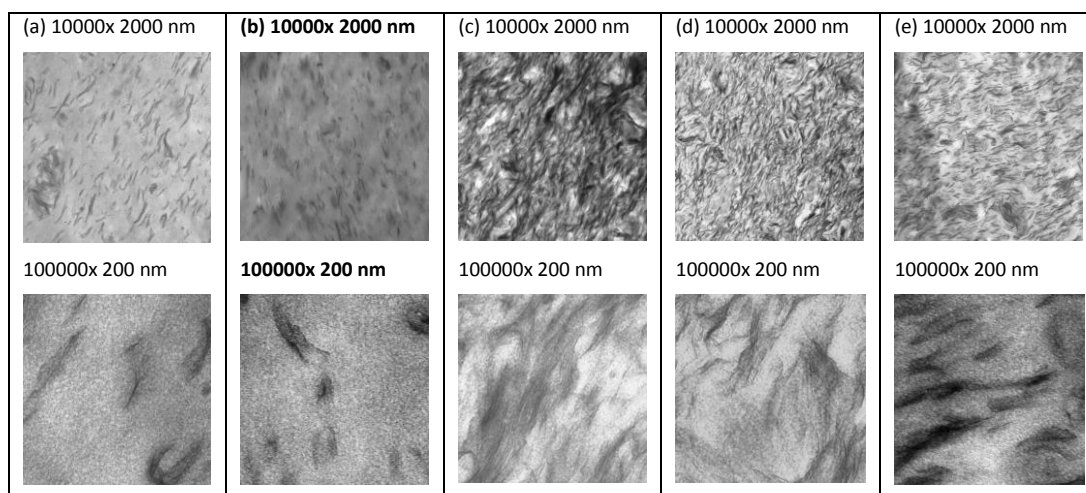


Figura 4.8. MET-micrografias em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT respectivamente: a) 1,5%; 1,5%; b) 8,5%; 1,5%; c) 1,5%; 8,5%; d) 8,5%; 8,5% e e) 0% e 5%.

Pela visualização das micrografias, é possível observar que com o aumento da concentração de argila, há presença de uma quantidade maior de tactóides. As imagens da Figura 4.8a e b mostram que os nanocompósitos com 1,5% de argila montmorilonita apresentaram estruturas semelhantes com a presença de poucas lamelas intercaladas. Já, na Figura 4.8 c, d e e (8,5%, 8,5% e 5% de MMT), observa-se uma quantidade de tactóides maior, devido à concentração da argila utilizada nas respectivas formulações.

Na Figura 4.9b, é possível verificar que na ausência da argila não existe a presença de tactóides, como era esperado.

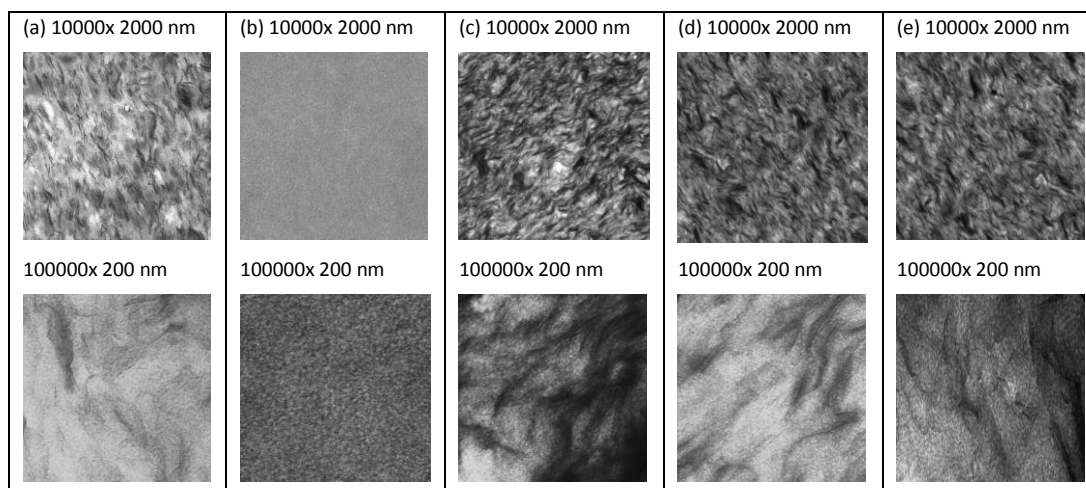


Figura 4.9. MET micrografias em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de IPS e MMT respectivamente: a) 10%; 5%; b) 5%; 0%; c) 5%; 10%; d) 5%; 5% e e) 5%; 5%.

4. Conclusões

Este estudo mostrou que as propriedades funcionais dos nanocompósitos de amido de milho e gelatina podem ser modificadas pela variação na concentração de MMT e IPS, utilizados no preparo dos materiais.

Filmes com maior RT foram obtidos quando 5% de MMT foi utilizada na formulação para a obtenção dos nanocompósitos. Nanocompósitos com 5% de MMT e 5% de IPS apresentaram melhores resultados para ALO (em torno de 6,5%). Os menores valores de PVA e SOL foram encontrados nos nanocompósitos formulados com a concentração de MMT em torno de 8,5% e IPS 1,46%.

Os filmes com 5% de MMT e 5% de IPS foram os que apresentaram melhores propriedades mecânicas e de barreira.

5. Referências bibliográficas

ASTM (American Society For Testing And Materials). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Designation D 882-02.PA, USA, 2002, 9 p.

ASTM (American Society for Testing and Materials) Standard test methods of water vapor transmission of materials. Designation, E 96-00^{E1}, PA, USA, 2002, 8 p.

ASTM (American Society for Testing and Materials) Standard test methods for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Designation, D 3985-02, PA, USA, 2002, 6 p.

AZEREDO, H.M.C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, p. 1240-1253, 2009.

BARROS NETO, B. de, SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas, Editora da UNICAMP, 3ª edição, 2007.

CARASTAN, J.C.; VERMOGEN, A.; MASENELLI-VARLOT, K.. Quantification of Clay dispersion in nanocomposites of styrenic polymers. **Polymer Engineering and Science**. p. 257-267DOI 10.1002/pen.21527, 2010.

CHEN, P., ZHANG, L. Interaction and Properties of Highly Exfoliated Soy Protein/ Montmorillonite Nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 1700-1706, 2006.

CHEN B. & EVANS J. R. G. Thermoplastic starch-clay nanocompósitos and their characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, p. 455-463, 2005.

CHIOU BOR-SEN; WOOD D., YEE E., IMAM S. H., GLENN G. M., ORTS W. J. Extruded starch-nanoclay nanocomposites: effects of glycerol and nanoclay concentration. **Polymer Engineering and Science**, p. 1898-1904, 2007.

CHUNG YI-LIN, ANSARI S., ESTEVEZ L., HAYRAPETYAN S., GIANNELIS E. P., LAI HSI-MEI Preparation and properties of biodegradable starch-clay nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, P. 391-396, 2010.

CYRAS V. P., MANFREDI L. B., TON-THAT MINH-TAN, VÁZQUEZ A. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, P. 55-63, 2008.

DENAVI G., TAPIA-BLÁCIDO D.R., AÑÓN M.C., SOBRAL P.J.A., MAURI A.N., MENEGALLI F.C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, v. 90, P. 341-349, 2009.

FAKHOURI F. M.; BATISTA J. A.; GROSSO C.R.F. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis de Gelatina, Triacetina e Ácidos Graxos, **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 2, p. 301-308, jul/dez 2003.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International J. Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3. Reston, 1997.

KAMPEERAPAPPUN, P., AHT-ONG, D., PENTRAKON, D., SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p 155-163, 2007.

KRISHNAMOORTI, R., YUREKLI, K. Rheology of polymer layered silicate nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. v. 6, p. 464-470, 2001.

KUMAR, P.; SANDEEP, K.P.; ALAVI, V.D.; TRUONG, R.E.; GORGA, R.E. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. **Journal of Food Engineering**. v.100, p.480-489, 2010.

LEBARON, P. C., WANG Z., PINNAVAIA T. J. Polymer-layered silicate nanocomposites: an overview. **Applied Clay Science**. v. 15, p.11-29, 1999.

MAJDZADEH-ARDAKANI, K., NAVARCHIAN, A. H., SADEGHI, F. Optimization of mechanical properties of thermoplastic starch/clay nanocompósitos. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p. 547-554, 2010.

NING W., XINGXIANG Z., NA H., SHIHE B. Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, P. 68-73, 2009.

PANDEY, J. K., SINGH, R. P. Green nanocompósitos from renewable resources: effect of plasticizer on the structure and material properties of clay-filled starch. **Starch/ Stärke**, v.57, p 8-15, (2005).

PARK Hwan-Man, LEE Won-Ki, PARK Chan-Young, CHO Won-Jei, HA Chang-Sik. Environmentally friendly polymer hybrids: Part I Mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocompósitos. **Journal of materials science**, v. 38, n°5, p. 909-915, 2003.

QUEIROZ, A. U. B., COLLARES-QUEIROZ, F.P. Innovation and Industrial Trends in Bioplastics. **Journal of Macromolecular Science®** v.49, p.65–78, 2009.

RAY, S.S., BOUSMINA M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21 st century materials world. **Progress in Materials Science**. v. 50, p. 962-1079, 2005.

RHIM JONG-WHAN, HONG SEOK-IN, PARK HWAN-MAN, NG P. K. W. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity **J. Agric. Food Chem.**, 54 (16), p. 5814–5822, 2006.

TANG X., ALAVI S., HERALD T. J. Effects of plasticizers on the structure and properties of starch–clay nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, P. 552-558, 2008.

TUNC, S., ANGELLIER, H., CAHYANA, Y., CHALIER, P., GONTARD, N., GASTALDI, E. Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. **Journal of Membrane Science**, v. 289, p. 159-168, 2007.

VERMOGEN, A.; MASENELLI-VARLOT, K.; SÉGUÉLA, R. Evaluation of the structure and dispersion in polymer-layered silicate nanocomposites. **Macromolecules**, v. 38, p. 9661-9669, 2005.

WANG, S.F., SHEN, L., TONG, Y.J., CHEN, L., PHANG I. Y., LIM, P.Q., LIU T.X. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: Preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, p. 123-131, 2005.

YU JIAN-HUA, WANG JIA-LI, WU X., ZHU PU-XIN. Effect of Glycerol on Water Vapor Sorption and Mechanical Properties of Starch/Clay Composite Films. **Starch**, v. 60, p. 257-262, 2008.

ZHENG, J.P., PING, L., YL, M., KD, Y. Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposite. I. Preparation and properties. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 86, p. 1189–1194, 2002.

ZHU, L., WOOL, R. P. Nanoclay reinforced bio-based elastomers: Synthesis and characterization. **Polymer**, v.47, p. 8106-8115, 2006.

**CAPÍTULO 5 – ESTUDO DO EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE
QUITOSANA NAS PROPRIEDADES DE NANOCOMPÓSITOS DE AMIDO,
GELATINA, ISOLADO PROTÉICO DE SOJA E ARGILA
MONTMORILONITA SÓDICA**

CAPITULO 5

Estudo do efeito da incorporação de quitosana nas propriedades de nanocompósitos de amido, gelatina, isolado protéico de soja e argila montmorilonita sódica.

Resumo

Filmes de amido de milho, gelatina, quitosana e montmorilonita Na⁺ foram preparados e suas propriedades foram caracterizadas com ensaios de tração, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e opacidade. Para avaliar a influência da quitosana nos filmes de amido e gelatina, foram avaliados os seguintes tipos de quitosana e concentração de argila montmorilonita sódica: (i) quitosana de baixa massa molecular (b.m.m.) nas concentrações de 3,75% (SSGC3,75%); 5% (SSGC5%); 7,5% (SSGC7,5%) e 10% (SSGC10%); (ii) quitosana de média massa molecular (m.m.m.) nas concentrações de 5% (SSGCMH5%) e 10% (SSGCMH10%) e (iii) quitosana de b.m.m. na concentração de 3,75% e de argila montmorilonita sódica na concentração de 5% (SSGCC5%) e (iv) quitosana de b.m.m. na concentração de 7,5% e de argila montmorilonita sódica na concentração de 10% (SSGCC10%). Como agente plastificante foi utilizado 10% de glicerol em relação a massa total para todas as formulações estudadas. Com o aumento da concentração de quitosana e a adição de argila houve um aumento na opacidade dos filmes, sendo que a formulação que apresentou menor opacidade (10,8%) foi a SSGC 3,75%. A formulação que apresentou a menor PVA foi a SSGCC 10% (9,43 gmm/m²dkPa) e a menor solubilidade (16,05%) foi a SSGC 3,75%. Entre as formulações estudadas com a adição de quitosana o filme mais resistente a tração foi o SSGC10% com 82,08 MPa e alongamento de 6,15%. Com a adição da argila, houve uma diminuição na resistência mecânica dos filmes, indicando a falta de interação dos compósitos pela metodologia investigada.

Palavras-chave: amido, gelatina, quitosana, argila, nanocompósitos.

1. Introdução

Os polímeros quitina e quitosana têm sido bastante estudados devido ao elevado potencial de aplicação em indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas e na agricultura. A utilização desses compostos em várias áreas justifica-se pelo baixo custo de produção, os quais são produzidos a partir de descartes do processamento de crustáceos, fonte abundante e renovável (REGE et al., 1999).

A quitina e a quitosana são aminoglicopirrananas compostas pelos monômeros N-acetil-D-glicosamina (GlcNac) e D-glicosamina (GlcN). Os polímeros podem ser diferenciados por suas solubilidades em solução aquosa de ácido acético 1% (v/v). Quitina, contendo um número maior ou igual a 40% de GlcNac é insolúvel, sendo que os polímeros solúveis são designados de quitosana (PETER, 2002). A quitosana é composta de três grupos funcionais reativos, um grupo amino e dois grupos hidroxilas primário e secundário nas posições dos carbonos C-2, C-3 e C-6, respectivamente (FURASAKI et al., 1996). Processos químicos e biotecnológicos estão sendo, atualmente, investigados para a produção de quitosana. Industrialmente, quitosana é produzida a partir da desacetilação alcalina da quitina (hidrólise alcalina), porém quitosana também pode ser obtida a partir da desacetilação enzimática de quitina, processo este investigado em pesquisas laboratoriais.

Considerando a tendência na busca de produtos saudáveis da moderna tecnologia de alimentos, o uso de filmes à base de biopolímeros ativos como materiais de embalagem é muito importante. Entre os biopolímeros conhecidos, a quitosana parece ser altamente promissora como aditivo para preparação de filmes, devido principalmente ao seu caráter catiônico e propriedades versáteis. Contudo, considerando-se o custo de preparação da quitosana, torna-se interessante combiná-la com outros biopolímeros tais como proteína animal e polissacarídeos. Pesquisas no melhoramento das propriedades mecânicas, transporte do vapor de água e habilidade de permeação de água são também necessários (AIDER, 2010).

O uso de preenchedores com pelo menos uma dimensão em nanoescala (nanopartículas) produz nanocompósitos. As nanopartículas têm proporcionalmente área superficial maior do que seus equivalentes em microescala, o que favorece a interação entre a matriz e o preenchedor e a performance do material resultante. Além disto, nanoreforçadores podem ter outras funções quando adicionados a um polímero, tais como atividade antimicrobiana, imobilização enzimática, biosensor, etc (AZEREDO, 2009).

A incorporação de nanomateriais para produção de embalagens plásticas tem sido realizada pelas indústrias do setor de plásticos para promover a melhoria das propriedades de barreira dos materiais. Diversas pesquisas tem sido realizadas com a utilização de nanocargas na produção de filmes elaborados com polímeros orgânicos naturais.

Os argilominerais mais utilizados para a produção de nanocompósitos pertencem ao grupo das esmectitas, como, por exemplo, as montmorilonitas (MMT), hectoritas e saponitas, sendo a MMT a mais importante delas.

PINOTTI et al. (2007) obtiveram filmes biodegradáveis de quitosana com metilcelulose por método de solução. Foram preparados filmes com as seguintes proporções entre quitosana e metilcelulose: 25:75; 50:50 e 75:25. Os filmes com maior teor de quitosana apresentaram maior rigidez. A flexibilidade dos filmes aumentaram com o maior teor de metilcelulose.

BAGYEKAN et al. (2006) prepararam filmes de quitosana com amido de mandioca e verificaram que com o aumento da concentração de quitosana houve um aumento significativo da tensão de ruptura e diminuição da percentual de alongamento e quebra, apresentando propriedades mecânicas superiores aos filmes preparados somente com amido.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adição de quitosana nas propriedades físicas, mecânicas, de barreira e estruturais de filmes de amido, gelatina e isolado protéico de soja e de nanocompósitos de amido, gelatina, isolado protéico de soja e argila montmorilonita sódica.

2. Material e Métodos

2.1. Material

As matérias-primas utilizadas para a elaboração dos filmes e nanocompósitos foram às seguintes: (i) Amido Modificado SNOW-FLAKE[®] 6308 (*Corn Products*, Brasil); (ii) Gelatina tipo A (*Leiner Davis Gelatin*); (iii) Isolado Protéico de Soja (Supro 783, *Solae do Brasil* Ind. e Com. Ltda, Esteio, Brasil); (iv) Quitosana de baixa e média massa molecular (*Sigma-Aldrich*); (v) Glicerol (*Synth*); (vi) Argila montmorilonita Cloisite[®] Na⁺ (*Southern Clay Products*, Inc.).

2.2. Filme de amido, gelatina e quitosana.

Dispersões, com uma massa total de 15 gramas, de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1) e quitosana de baixo e médio peso molecular (sendo uma dispersão com 5% de quitosana e outra 10% de quitosana em relação à massa total) foram preparadas em 200 mL de água destilada conforme descrito a seguir.

Uma solução de quitosana foi elaborada dissolvendo-se 2% em solução de ácido acético 1% (v/v) seguido pela filtração à vácuo em papel de filtro, para separação de materiais insolúveis.

Uma solução, contendo amido e quitosana em aproximadamente 100 mL de solução de água destilada e ácido acético foi elaborada sob constante agitação. Após a total dispersão a suspensão foi aquecida a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

A solução de gelatina foi preparada hidratando-se a gelatina em 100 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) com agitação a 70°C até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI, GROSSO, 2003).

As soluções obtidas conforme descrito acima foram então colocadas em um béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP) a 70°C por 15 minutos. A solução filmogênica resultante foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e seca à 25°C em estufa com circulação de ar por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes.

2.3. Filme de amido, gelatina, quitosana e MMT

Dispersões, com uma massa total de 15 gramas, de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1), quitosana de baixo e médio peso molecular (sendo uma dispersão com 3,75% de quitosana e outra 7,5% de quitosana em relação à massa total) e argila montmorilonita (sendo uma dispersão com 5% e outra com 10%) foram preparada em 200 mL de água destilada conforme descrito a seguir.

Uma solução de quitosana foi elaborada dissolvendo-se 2% em solução de ácido acético 1% (v/v) seguido pela filtração, para separação de materiais insolúveis.

Uma solução, contendo amido e quitosana em aproximadamente 100 mL de solução de água destilada e ácido acético foi elaborada sob constante agitação. Após a total dispersão a suspensão foi aquecida a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

A solução de gelatina foi preparada hidratando-se a gelatina em 50 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) com agitação a 70°C até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI, GROSSO, 2003).

Uma dispersão de argila foi preparada em 50 mL de água destilada por 1 hora sob constante agitação.

As dispersões obtidas, conforme descrito acima, foram então colocadas em um béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP) a 70°C por 15 minutos. A solução filmogênica resultante foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20 mL e seca à 25°C em estufa com circulação de ar por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes.

As soluções preparadas com quitosana de médio peso molecular quando misturadas as dispersões de gelatina com argila tornaram-se muito viscosas, não sendo possível realizar o espalhamento nas placas.

Foram realizados testes de formulações com 10% de quitosana de baixo peso molecular e 10% de argila; 15% de quitosana de baixo peso molecular e 10% de argila pela mesma metodologia de preparo citada acima. Não foi possível realizar o espalhamento das soluções filmogênicas nas placas devido à alta viscosidade das formulações obtidas. Deste modo foram preparados nanocompósitos com 3,75% de quitosana de baixo peso molecular e 5% de argila (SSGCC5%) e nanocompósitos com 7,5% de quitosana de baixo peso molecular e 10% de argila (SSGCC10%).

2.4. Filmes de amido, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana e MMT

Os filmes foram preparados a partir de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1), isolado protéico de soja (5% em relação a massa de sólidos), quitosana de baixa massa molecular (5% e 10% em relação a massa de sólidos) e MMT (5% em relação a massa de sólidos) em 200 mL de água destilada (massa total de 15 gramas).

Uma solução, contendo amido e quitosana em aproximadamente 100 mL de solução de água destilada e ácido acético foi elaborada sob constante agitação. Após a total dispersão a suspensão foi aquecida a 85°C por 15 minutos, sob agitação constante.

A solução de gelatina foi preparada hidratando-se a gelatina em 50 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) com agitação a 70°C até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI, GROSSO, 2003).

Uma dispersão com IPS e MMT foi realizada adicionando-se 40 mL de água destilada, ajustou-se o pH para 9 com 0,1 mmol/L NaOH e HCl, e esta foi mantida sob agitação por uma hora. Adicionou-se, então a solução de gelatina, e o pH foi ajustado novamente em 9 para ser então completado o volume total em 100 mL.

As dispersões obtidas foram, finalmente, colocadas em um béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP) a 70°C por 15 minutos.

As soluções filmogênicas obtidas através desta metodologia, além de muito viscosas, não foram homogêneas devido a insolubilidade da quitosana em pH acima de 6 não sendo possível obter filmes com esta mistura de polímeros.

2.5. Aspecto visual

As análises visuais e táteis foram realizadas visando selecionar somente os filmes homogêneos (com coloração uniforme e sem a presença de partículas insolúveis) e flexíveis (facilidade de manuseio, não apresentando rupturas ou zonas quebradiças).

2.6. Espessura do filme

A espessura dos filmes foi determinada com a utilização de um micrômetro (Modelo MDC-25M, Mitutoyo, MFG, Naucalpan de Juarez, México), fazendo-se a média de 10 medidas aleatórias em diferentes partes do filme. Essa medida foi obtida após o acondicionamento dos filmes em dessecadores a temperatura de 25°C e 50% de umidade relativa durante 48 horas.

2.7. Opacidade e transmitância luminosa dos filmes

A opacidade dos filmes foi determinada de acordo com o método padrão D-1003-07^{E1} da ASTM (ASTM, 2007), utilizando-se o colorímetro Hunterlab (Colorquest II, Faifax, USA) com iluminante padrão D₆₅ e ângulo de 10°. A determinação da cor dos filmes baseou-se no sistema CIEL a*b*. Neste sistema, L* indica luminosidade, que varia de zero (preto) a 100 (branco); enquanto a* e b* representam as coordenadas de cromaticidade, sendo que +a* indica tendência para o vermelho e -a* tendência para o verde; +b* indica tendência para o amarelo e -b* tendência para o azul. As determinações foram realizadas em quatro medidas para cada amostra, após a calibração do colorímetro no modo transmitância total (HUNTERLAB, 1997).

A opacidade foi determinada através da equação:

$$\text{Opacidade} = T_d / T_t \times 100 \quad (1)$$

Onde:

T_d é a transmitância difusa

T_t é a transmitância total

Foi calculada a diferença total de cor (ΔE) [2], de acordo com a equação:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (2)$$

em que Δ = diferença entre cada parâmetro de cor das amostras com e sem tratamento.

Os valores padrões foram os da formulação SSG: L = 93.96, a = -0.17, b = 1,76.

2.8. Solubilidade em água

A solubilidade dos filmes em água foi determinada segundo o método proposto por Gontard et al. (1994). As amostras, em triplicata, foram preparadas recortando-se discos de 2 cm de diâmetro. O peso seco inicial das amostras foi obtido após secagem das mesmas por um período de 24 horas a temperatura de 105°C em estufa de circulação e renovação de ar (TECNAL, Modelo TE 394/2, Piracicaba, Brasil). Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um recipiente contendo 50 mL de água destilada e colocadas sob agitação suave em banho termostático (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) durante 24 horas. Após este período, as amostras solubilizadas foram retiradas e secas a temperatura de 105°C por mais 24 horas, para a obtenção da massa seca final.

2.9. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método padrão E-96-00^{E1} da ASTM (ASTM, 2002). A amostra de filme, em forma de disco, foi selada em uma célula de permeação feita de acrílico contendo cloreto de cálcio e colocada em um dessecador com temperatura e umidade relativa controlada (25° C e 75% UR). O vapor de água difundido através do filme foi determinado pelo ganho de massa do cloreto de cálcio, medido a cada 24 horas por sete dias. Os testes foram realizados em triplicatas.

2.10. Propriedades mecânicas

A resistência à tração e porcentagem de alongamento na ruptura foram determinadas utilizando-se texturômetro TA.XT2 (Stable Micro System, Hasleme, UK), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-02 (ASTM, 2002). As medidas foram conduzidas em temperatura ambiente (25°C). A separação inicial das garras e a velocidade do “probe” foram de 50 mm e 0,5 mm/s, respectivamente. A resistência à tração foi calculada dividindo-se a força máxima pela área seccional do filme (largura do filme x espessura inicial). A porcentagem

de alongamento na ruptura foi obtida dividindo-se os valores do diferencial de extensão pela separação inicial das garras (50 mm) e multiplicando-se por 100. Foram realizadas oito replicatas.

2.11. Difração de raios-X

As amostras de argila e nanocompósitos foram analisadas por difração de raios X (DRX) para determinar a ocorrência da intercalação/esfoliação das camadas de argila após a incorporação do polímero, visando identificar o tipo de nanocompósito formado pela determinação da distância interlamelar da argila. O aparelho utilizado nesta análise foi o Difrátômetro, marca PHILIPS (modelo PW 1710, Holanda), usando radiação $K\alpha$ do cobre (comprimento de onda 1,5405 Å). As medidas foram realizadas conforme geometria Bragg-Brentano no intervalo de 2,0 a 40,0 (2θ) e tempo de contagem de 2 segundos. A amostra de argila foi analisada sob a forma de pó compacto no porta amostra do equipamento. As amostras de nanocompósitos foram preparadas cortando-se discos de 25 mm de diâmetro e 0,7 mm de espessura.

2.12. Microscopia eletrônica de transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão dos filmes foi realizada segundo o procedimento descrito por Standing et al. (2001). Amostras de 2 x 2 mm de filmes foram cortadas. A fixação das amostras foi realizada com glutaraldeído 2% (solução diluída com tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2) por 2 horas à 4°C. As amostras foram lavadas com tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e após foram fixadas em 2% w/v, OsO₄ (solução diluída com tampão cacodilato de sódio de Na 0,2 M, pH 7,2) por 2 horas.

Após a fixação, foi realizada a lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e, posteriormente, as amostras foram deixadas em tampão cacodilato de Na 0,1 M pH 7,2 durante 12 horas.

As amostras foram, então, desidratadas em séries de etanol por 15 minutos: 30, 50, 70, 90% v/v, e finalmente em etanol a 99,5% v/v (3 vezes por 15 minutos). As amostras desidratadas foram imersas em óxido de propileno e etanol 99,5%

(1:1) por 20 minutos, e em óxido de propileno puro por mais 20 minutos. Após esse período, foi realizada a inclusão das amostras em óxido de propileno e resina (2:1, 1:1 e 1:2) por 90 minutos em cada caso. Finalmente, realizou-se a inclusão em resina pura e deixou-se durante 12 horas em rotor a temperatura ambiente, em capela. Concluído esse período, foi realizada a inclusão em resina Epon no molde e colocado em estufa a 60°C (48-72 horas).

Depois de realizados os cortes semi-finos (com navalha de vidro) e finos (em um ultramicrotomo da marca RMC modelo MT-7000 e faca de diamante da marca Diatome tipo Cryoisto 45^o) do material seco foi realizada a contrastação com acetato de uranila e citrato de chumbo. As amostras foram observadas em um microscópio eletrônico de transmissão (marca Carl Zeiss, LEO-906, Oberkochen, Alemanha), operando a uma voltagem de aceleração de 100 kV.

2.13. Análise estatística

O programa estatístico SAS (*Statistical Analysis System* – SAS Institute Inc., North Carolina, USA), versão 8.0, foi usado para calcular as análises de variância (ANOVA) dos resultados. O teste de Tukey foi usado para determinar diferenças entre as propriedades dos filmes no intervalo de 95% de confiança.

3. Resultados e discussão

As formulações de filmes de amido, gelatina, quitosana e argila, que foram elaboradas nesta etapa da pesquisa, receberam a nomenclatura apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Nomenclatura adotada para os filmes elaborados a partir de amido, gelatina, quitosana e argila Montmorilonita.

Filmes	Sigla
Amido, gelatina e quitosana de baixa massa molecular (b.m.m.). 3,75%	SSGC3,75%
Amido, gelatina e quitosana de b.m.m. 5%	SSGC5%
Amido, gelatina e quitosana de b.m.m. 7,5%	SSGC7,5%
Amido, gelatina e quitosana de b. m.m. 10%	SSGC10%
Amido, gelatina e quitosana de média massa molecular (m. m. m.) 5%	SSGCMH5%
Amido, gelatina e quitosana de m. m.m. 10%	SSGCMH10%
Amido, gelatina, quitosana de b.m. m. 3,75% e argila 5%.	SSGCC5%
Amido, gelatina, quitosana de b. m. m. 7,5% e argila 10%.	SSGCC10%

3.1. Aspecto visual, opacidade e cor dos filmes

Conforme se pode observar na Figura 5.1, todos os filmes desenvolvidos apresentaram desprendimento das placas, aparência e transparência visual similar aos filmes plásticos sintéticos.

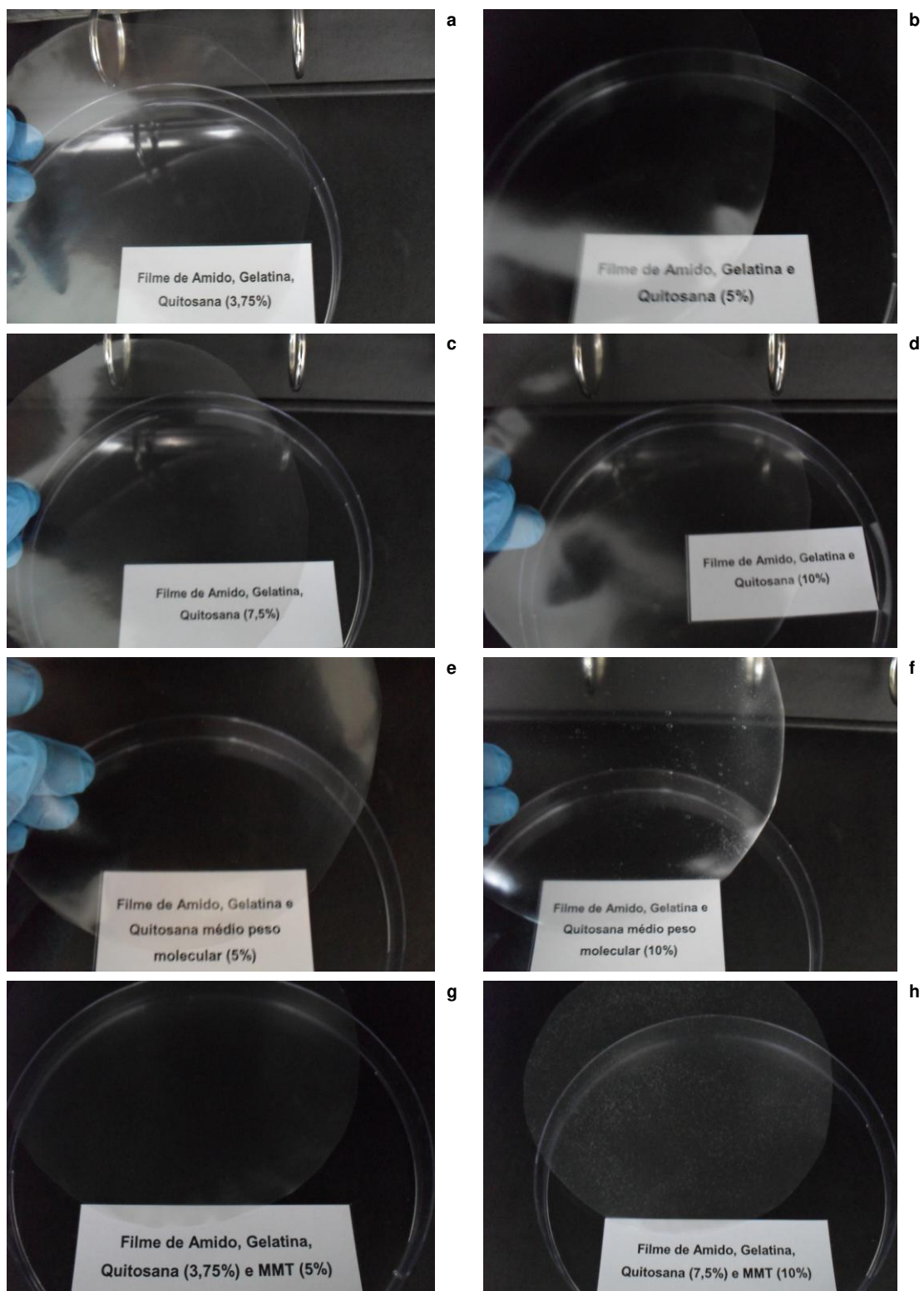


Figura 5.1. Filmes a) SSGC3,75%; b) SSGC5% c) SSGC7,5% d) SSGC10%; e) SSGCMH5%; f) SSGCMH10%, g) SSGCC5%, h) SSGCC10%

Durante a formulação dos filmes de amido, gelatina e quitosana de médio massa molecular (SSGCMH5% e SSGCMH10%), houve dificuldade no plaqueamento das alíquotas da solução filmogênica final devido à alta viscosidade das soluções. Após a secagem por aproximadamente 24 horas dos materiais, foi possível observar a presença de poucas bolhas nos filmes obtidos na formulação com 5% de quitosana e em grande quantidade quando 10% de quitosana de média massa molecular foi adicionada na formulação do material, conforme pode-se observar na Figura 5.1.

O nanocompósito formulado com 7,5% de quitosana b.m.m. e 10% de argila também apresentou uma grande quantidade de bolhas e menor transparência, provavelmente devido à presença da MMTNa⁺.

Quando as concentrações, variando de 3,75% a 10%, de quitosana de baixa e média massa molecular foram substituídas em relação à massa total de amido e gelatina na formulação dos filmes, houve um aumento significativo no valor de opacidade de 3,91% para a faixa de 10,8% a 15,58% (Figura 5.2).

Dentre os filmes desenvolvidos, o preparado com amido e gelatina (SSG) foi o que apresentou menor valor de opacidade 3,91%, como pode se observar na Figura 5.2. A adição de quitosana de baixa massa molecular nas concentrações de 3,75%; 5%; 7,5% e 10% nas formulações SSGC3,75%, SSGC5%, SSGC7,5%, SSGC10% causou um aumento significativo na opacidade dos filmes quando 10% de quitosana foi adicionado.

A opacidade do material é um indicativo de quanta luz passa através dele. Quanto maior for a opacidade, menor é a quantidade de luz que atravessa o material.

Os nanocompósitos obtidos apresentaram transparência, mas a presença da argila conferiu aos materiais maiores valores de opacidade, sendo de 39,24% e 55,31% para os filmes com 5% e 10% de argila mineral, respectivamente.

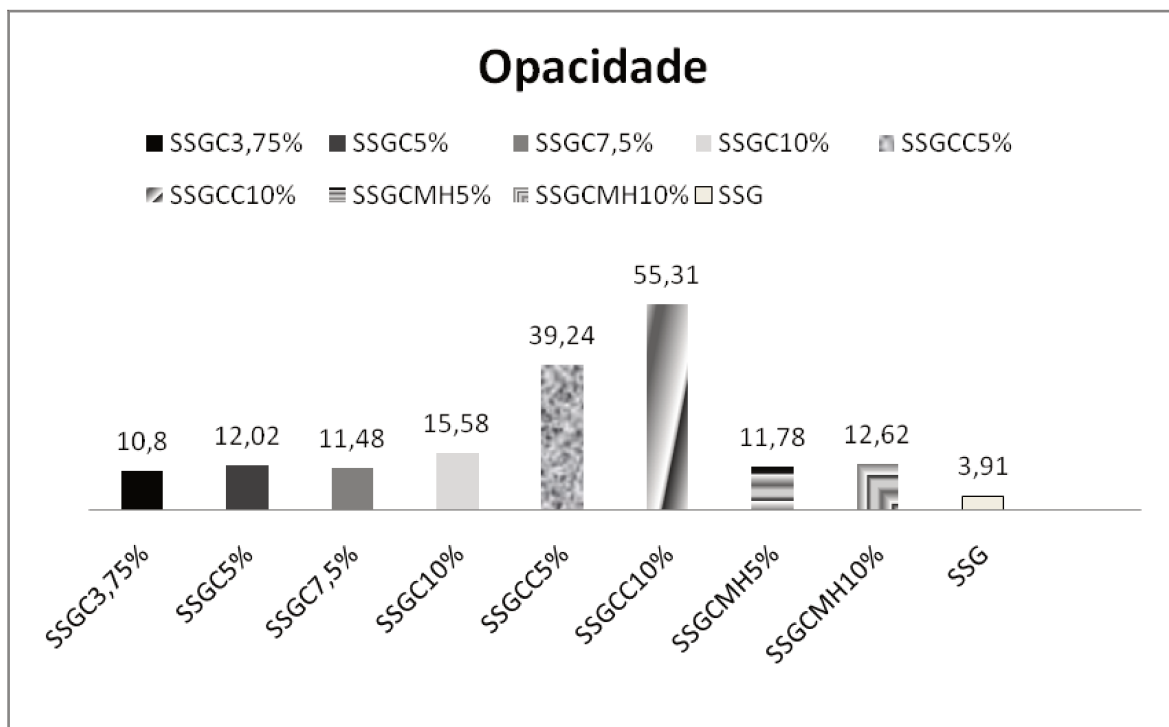


Figura 5.2. Opacidade dos filmes compostos de amido de milho SS, gelatina e quitosana de baixa massa molecular nas concentrações de 3,75%, 5%, 7,5%, 10% (SSGC3,75%, SSGC5%, SSGC7,5%, SSGC10%), amido de milho SS, gelatina, quitosana de baixo peso molecular nas concentrações de 3,75% e 7,5% e MMT nas concentrações de 5% e 10% (SSGCC5% e SSGCC10%), amido de milho SS, gelatina e quitosana de média massa molecular nas concentrações de 5% e 10% (SSGCMH5%, SSGCMH10%), e filmes de amido e gelatina (SSG).

Todos os filmes foram transparentes e apresentaram tom amarelo.. Com relação à luminosidade (L^*), é possível observar que os valores obtidos entre 93,40 e 94,21 (Tabela 5.2) são relativamente semelhantes aos obtidos para filmes de quitosana com argila por Casariego et al. (2009), para os quais a faixa de valores entre 91,02 e 94,24 indicam que as amostras apresentaram-se claras.

O valor de b^* é o parâmetro que descreve a cor dos filmes de amido e gelatina indicando que o tom amarelo aumentou nos filmes significativamente a partir da substituição de 5% de quitosana de baixo peso molecular nas formulações estudadas, conforme pode-se observar na Tabela 5.2. Isto se deve à cor amarela natural da quitosana.

Os nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e argila MMTNa⁺ apresentaram valores de Chroma 4,38±0,15 e 5,27±0,18 que indicam baixa saturação da cor amarela.

A espessura dos filmes variou de 0,066 mm (SSGCMH5% e SSGCMH10%) a 0,079 mm (SSGC3,75%), como pode ser observado na Tabela 5.2.

Tabela 5.2. Valores de opacidade, espessura, luminosidade L, parâmetros de cor a* e b* e Chroma dos filmes de amido, gelatina, quitosana e nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila.

Filmes	Opacidade	Esp.	L	a*	b*	Chroma	ΔE
SSGC3,75%	10,8 ^d ±0,79	0,079 ^a ±0,007	93,54 ^{de} ±0,11	-0,081 ^{ef} ±0,009	1,77 ^f ±0,08	1,77 ^f ±0,08	0,43 ^e ±0,05
SSGC5%	12,02 ^d ±0,53	0,072 ^{abc} ±0,004	93,68 ^{cd} ±0,09	-0,073 ^{de} ±0,007	1,99 ^{de} ±0,03	1,99 ^{de} ±0,03	0,38 ^{ef} ±0,04
SSGC7,5%	11,48 ^d ±1,05	0,075 ^{ab} ±0,006	93,40 ^e ±0,01	-0,106 ^g ±0,009	2,12 ^d ±0,13	2,12 ^d ±0,13	0,68 ^d ±0,08
SSGC10%	15,58 ^c ±0,93	0,069 ^{bc} ±0,004	93,55 ^{de} ±0,10	-0,045 ^c ±0,005	2,48 ^c ±0,08	2,48 ^c ±0,08	0,84 ^c ±0,06
SSGCC5%	39,24 ^b ±1,93	0,075 ^{ab} ±0,006	93,77 ^c ±0,13	0,134 ^b ±0,013	4,37 ^b ±0,15	4,38 ^b ±0,15	2,64 ^b ±0,15
SSGCC10%	55,31 ^a ±2,91	0,069 ^{bc} ±0,007	94,21 ^a ±0,16	0,416 ^a ±0,04	5,26 ^a ±0,19	5,27 ^a ±0,18	3,56 ^a ±0,17
SSGCMH5%	11,78 ^d ±0,53	0,066 ^c ±0,003	93,77 ^c ±0,14	-0,056 ^{cde} ±0,007	1,85 ^{ef} ±0,05	1,86 ^{ef} ±0,05	0,27 ^f ±0,01
SSGCMH10%	12,63 ^d ±1,01	0,066 ^c ±0,005	93,69 ^{cd} ±0,13	-0,051 ^{cd} ±0,003	1,88 ^{ef} ±0,09	1,88 ^{ef} ±0,09	0,31 ^{ef} ±0,02
SSG	3,90 ^e ±0,26	0,072 ^{abc} ±0,003	93,96 ^b ±0,08	-0,169 ^g ±0,010	1,76 ^f ±0,161	1,77 ^f ±0,120	-

3.2. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes.

A espessura dos filmes com 5% e 10% de argila foram 0,075 mm e 0,069 mm, respectivamente. Estes resultados indicam que não houve variação significativa nesta propriedade em função de diferentes quantidades de argila adicionadas. Para os filmes de amido e gelatina não houve diferença significativa na espessura dos materiais com a substituição de parte dos polímeros por 5%, 7,5%, 10% de quitosana de b.m.m., 5% e 10% de argila (Tabela 5.3). Os filmes elaborados com quitosana de média massa molecular apresentaram menor espessura (0,066 mm).

Tabela 5.3. Espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos filmes amido, gelatina, quitosana e MMT.

Filmes	Espessura (mm)	PVA (gmm/m ² dkPa)	Solubilidade (%)
SSGC3,75%	0,079±0,004 ^a	14,71±0,63 ^a	16,05±0,35 ^b
SSGC5%	0,072±0,005 ^{abc}	10,58±1,01 ^{cd}	19,68±1,42 ^a
SSGC7,5%	0,075±0,007 ^{ab}	14,2±0,58 ^{ab}	16,19±1,17 ^b
SSGC10%	0,069±0,007 ^{bc}	15,88±0,07 ^a	19,82±0,73 ^a
SSGCC5%	0,075±0,004 ^{ab}	12,15±0,77 ^{bc}	17,78±1,34 ^{ab}
SSGCC10%	0,069±0,007 ^{bc}	9,43±0,80 ^d	18,72±1,11 ^{ab}
SSGCMH5%	0,066±0,015 ^c	16,48±1,32 ^a	16,05±0,35 ^b
SSGCMH10%	0,066±0,004 ^c	15,08±0,27 ^a	16,77±0,03 ^b
SSG	0,072±0,003 ^{abc}	10,95±0,84 ^{cd}	20,43±1,06 ^a

Os filmes SSGCC10% (9,43±0,80 gmm/m²dkPa) e SSGCMH5% (16,48±1,32 gmm/m²dkPa) diferiram significativamente nas características de PVA de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os filmes formulados com argila apresentaram menor PVA em relação aos filmes de amido e gelatina com quitosana, melhorando suas propriedades de barreira, mas não diferiram significativamente dos filmes de amido com gelatina, como pode-se observar na Tabela 5.3.

As propriedades de barreira dos filmes tornam-se mais eficazes como um resultado da intercalação ou esfoliação da argila devido ao desalinhamento das suas lamelas tornando o caminho para difusão molecular através do filme mais longo reduzindo o efeito da transmissão de gás e umidade.

O filme que apresentou maior solubilidade em água foi o SSG com valor deste parâmetro igual a 20,43% (Tabela 5.3) e as formulações menos solúvel foram as SSGC3,75% e SSGCMH5%. A solubilidade em água dos nanocompósitos SSGCC5% (17,78±1,34) e SSGCC10% (18,72±1,11) foi menor que a dos filmes de amido, gelatina e quitosana nas mesmas concentrações, mas

a diferença não foi significativa.

Garcia et al. (2006) encontraram uma solubilidade de 24,2% para filmes de amido de milho, quitosana e glicerol, com espessura de 0,052 mm. Lopez et al. (2008) formularam filmes de amido de milho acetilado e verificaram a influência da concentração de glicerol nas características dos filmes obtidos. A solubilidade da formulação com 5% de glicerol apresentou um valor de 27,26%.

Fakhouri et al. (2007) determinaram a solubilidade em água de biofilmes de gelatina e amido de trigo (24,38%) e gelatina e amido de arroz (30,20%). Segundo estes autores, esta propriedade direciona a aplicação do biofilme como embalagem de produtos alimentícios. Em alguns casos, a sua total solubilização em água pode ser benéfica como nos produtos semiprontos destinados ao preparo sob cozimento. Entretanto, quando o alimento é líquido ou, então, exsuda uma solução aquosa, filmes de elevada solubilidade não são indicados.

3.3. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes de amido, gelatina e quitosana e dos nanocompósitos estão na Tabela 5.4. Quando 5% e 10% de quitosana de baixa massa molecular foram substituídos na formulação base dos filmes de amido e gelatina, não houve diferença significativa na resistência à tração mas houve aumento em torno de 1% no alongamento dos materiais.

Os nanocompósitos SSGCC5% (64,60 MPa) e SSGCC10% (44,57 MPa) apresentaram menor resistência à tração que as demais formulações, o que pode ter ocorrido devido a presença de aglomerados maiores formados pela presença da quitosana, dificultando a dispersão dos polímeros e argila.

A resistência à tração dos filmes preparados com quitosana de média massa molecular foi significativamente menor que a dos filmes de amido e gelatina.

Chung et al. (2010) encontraram uma resistência à tração de 12,46 MPa para nanocompósitos de amido de milho, quitosana e argila e 15,49 MPa para nanocompósitos de amido de milho e argila. Atribuíram a diminuição da resistência

mecânica à forte interação entre a quitosana e a argila, o que pode ter dificultado a interação entre o amido e a argila.

Tabela 5.4. Propriedades mecânicas dos filmes de amido, gelatina, quitosana e MMT.

Filmes	Espessura (mm)	Resistência à tração (MPa)	Alongamento (%)
SSGC3,75%	0,061 ± 0,004 ^b	70,89± 4,60 ^{cd}	5,08±0,47 ^{bc}
SSGC5%	0,069±0,003 ^{ba}	82,08 ±4,44 ^a	6,15±0,51 ^a
SSGC7,5%	0,073±0,003 ^{ab}	75,21 ± 1,71 ^{bc}	5,47±0,55 ^{abc}
SSGC10%	0,069±0,005 ^{ba}	80,39±2,70 ^{ab}	5,95±0,67 ^a
SSGCC5%	0,072±0,012 ^{ab}	64,60 ± 4,30 ^{de}	4,72±0,47 ^c
SSGCC10%	0,067±0,005 ^{ba}	44,57 ± 4,03 ^f	2,20±0,23 ^d
SSGCMH5%	0,073±0,016 ^{ab}	73,30 ± 3,83 ^{dc}	5,69±0,5 ^{ba}
SSGCMH10%	0,075±0,009 ^a	69,21±5,57 ^{de}	5,01±0,3 ^{bc}
SSG	0,069±0,004 ^{ba}	82,36±1,19 ^a	5,17±0,15 ^{bc}

Os filmes SSGC5%, SSGC7,5%, SSGC10% apresentaram maior alongamento que os filmes SSG e SSGC3,75%. A adição da argila causou uma diminuição significativa no alongamento dos bio-nanocompósitos.

3.4. Dispersão das camadas de sílica

A dispersão da argila nos filmes foi investigada usando a técnica de difração de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de transmissão (MET), que são os métodos mais freqüentemente usados para analisar a estrutura dos nanocompósitos. Existem basicamente dois tipos de nanocompósitos: os nanocompósitos intercalados e os esfoliados. Quando as moléculas de um polímero penetram no espaço interlamelar aumentando um pouco a distância entre as lamelas, tem-se um nanocompósito intercalado. Se a interação entre o polímero e as lamelas for muito grande, a ponto de separá-las individualmente,

tornando-as uniformemente dispersas na matriz polimérica, o material obtido é classificado como esfoliado ou delaminado (ALEXANDRE e DUBOI, 2000).

A Figura 5.3 ilustra os padrões de DRX da argila MMTNa⁺, da rede de amido, gelatina e quitosana (3,75%) e dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila nas concentrações de 5% e 10%. Pelos resultados obtidos, é possível observar que os filmes SSGCC5%, preparados pelo método de solução, formaram estrutura intercalada e a formulação SSGCC10% esfoliada. A Figura 5.3 e a Tabela 5.5 mostram que os nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila apresentaram uma distância interlamelar ligeiramente maior, e a intensidade relativa dos picos muito menor do que a da argila MMT pura, indicando uma estrutura mais desorganizada.

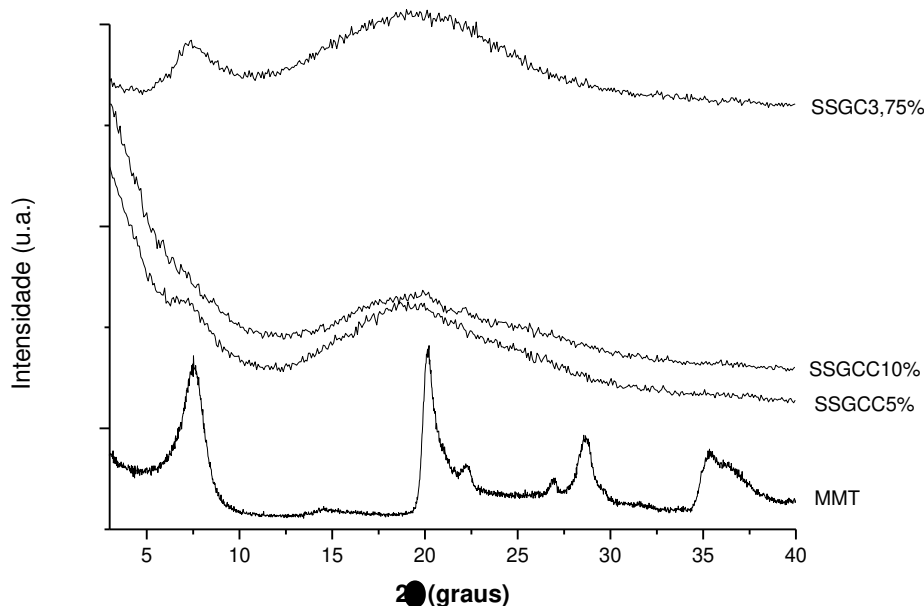


Figura 5.3. Difratograma de raios-X dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila (SSGCC5% e SSGCC10%), comparados com o da argila MMT pura.

O valor de expansão da galeria ($\Delta d=0,50$ Å), obtido para os nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila, é semelhante aos obtidos

por outros autores para nanocompósitos de amido termoplástico e argila, preparados pela técnica de solução (MAJDZADEH-ARDAKANI et al., 2010; CYRAS et al., 2008; KAMPEERAPAPPUN et al., 2007).

Tabela 5.5. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e a diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila sódica.

	2 θ	d (Å)	Δd (Å)
Argila montmorilonita Cloisite® Na⁺	7,54	11,7	-
SSGCC5%	7,24	12,19	0,50
SSGCC10%	-	-	-

Para confirmar a formação de nanoestrutura dos filmes de amido, gelatina, quitosana com argila e verificar as conclusões do DRX, MET foi realizada.

A Figura 5.4 mostra as micrografias dos filmes de amido, gelatina e quitosana contendo 5% e 10% de argila. Camadas da argila esfoliada coexistem com alguns aglomerados da argila nos filmes preparados com 5% do argilomineral (Figura 5.4a). A estrutura dos nanocompósitos preparados com 10% de MMT apresentou maior esfoliação devido ao desalinhamento dos tactóides da sílica (Figura 5.4b), confirmando o resultado da DRX.

É possível observar na Figura 5.4C, a presença de aglomerados nos filmes de amido, gelatina e quitosana, indicando uma estrutura não homogênea, o que pode explicar a diminuição da resistência à tração em relação aos filmes de amido e gelatina.

Xu, et al. (2006) analisaram a estrutura de nanocompósitos de quitosana com 3% MMT-Na⁺ utilizando a MET. Observaram uma dispersão boa e aleatória da argila na matriz de quitosana, semelhante a do nanocompósito esfoliado apresentado na Figura 5.4b.

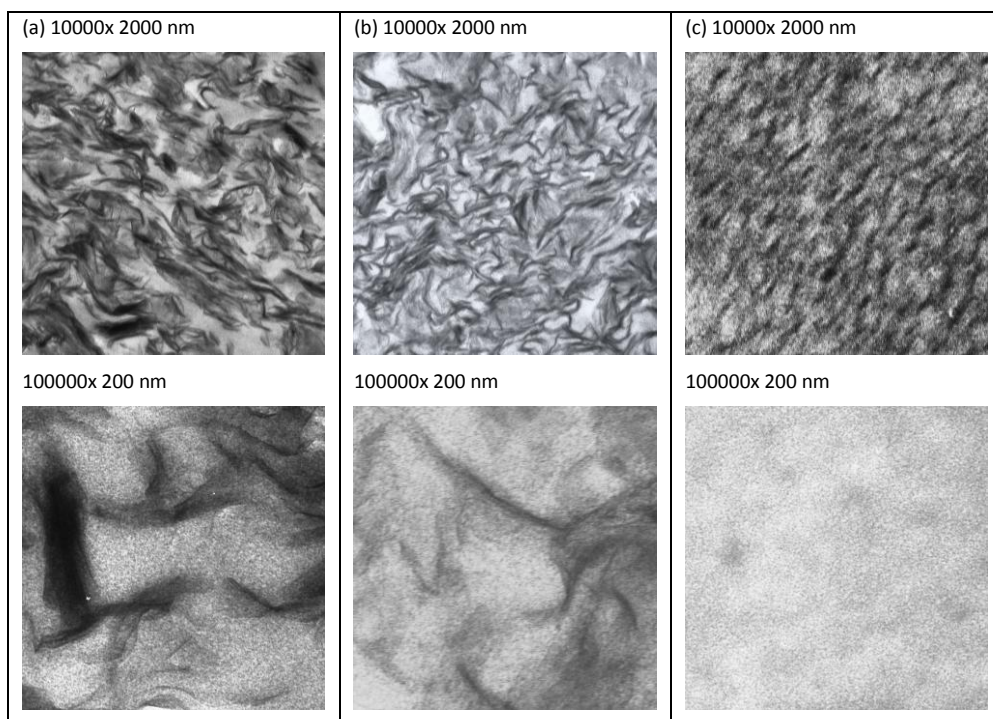


Figura 5.4. TEM micrografias de (a) Filme de amido de milho modificado 6308 com gelatina, quitosana e argila SSGCC5%, (b) Filme de amido de milho modificado 6308 com gelatina, quitosana e argila SSGCC10%, (c) Filme de amido de milho modificado 6308 com gelatina e quitosana SSGC3,75%..

4. Conclusões

Não foi possível obter nanocompósitos de amido, gelatina e quitosana de média massa molecular devido à alta viscosidade da dispersão, o que impediu o espalhamento das alíquotas nas placas.

As soluções filmogênicas obtidas pela metodologia investigada para obtenção de nanocompósitos de amido, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana e argila, além de muito viscosas, não foram homogêneas devido à insolubilidade da quitosana em pH acima de 6, não sendo possível obter filmes com esta mistura de polímeros.

Os nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila apresentaram-se mais opacos e de cor amarela com sub-tom vermelho devido à presença da argila.

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido e gelatina aumentou com a presença da quitosana de baixa e média massa molecular. Para os nanocompósitos, não houve diferença significativa.

A quitosana de baixa massa molecular não alterou a resistência à tração dos filmes e a de média massa molecular diminuiu esta propriedade.

Pelas técnicas de DRX e TEM, pode-se verificar a formação de nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e argila, mas as propriedades de barreira e mecânicas dos materiais não foram melhores que a dos filmes de amido de milho e gelatina.

5. Referências bibliográficas

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potencial in the food industry: Review. **LWT Food Science and Technology** (2010), doi:10.1016/j.lwt.2010.01.021

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P.; Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering**. v. 28, p. 1-63, 2000.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **D1003-07, Standard test methods for Haze and Luminous Transmittance of Transparent Plastics**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2008.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **D882-02 Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Designation: **E96-00. Standard test methods of water vapor transmission of materials**. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 2002.

AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**. v. 42, p. 1240-1253, 2009.

BANGYEKAN, C., DUNANGDAO, A., SRIKULKIT, K. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 61-71, 2006.

CASARIEGO A., SOUZA B.W.S., CERQUEIRA M.A., TEIXEIRA J.A., CRUZ L., DÍAZ R., VICENTE A.A. Chitosan/Clay films' properties as affected by biopolymer

and Clay micro/nanoparticles' concentrations. **Food hydrocolloids**, v.23, p. 1895-1902, 2009.

CHUNG YI-LIN, ANSARI S., ESTEVEZ L., HAYRAPETYAN S., GIANNELIS E. P., LAI HSI-MEI Preparation and properties of biodegradable starch–clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, V. 79, P. 391-396, 2010.

FAKHOURI F. M.; BATISTA J. A.; GROSSO C.R.F. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis de Gelatina, Triacetina e Ácidos Graxos, **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 2, p. 301-308, jul/dez 2003.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C.J. E COLLARES-QUEIROZ, F.P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 369-375, 2007.

FURUSAKI, E., UENO, Y., SAKAIRI, N., NISHI, N., TOKURA, S. Facile preparation and inclusion ability of a chitosan derivative bearing carboxymethyl-B-cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**. v. 9, p. 29-34, 1996.

GARCIA, M.A., PINOTTI, A., ZARITZKY, N.E. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. **Starch-Starke**, v.58, p. 453-463, 2006.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International J. Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3. Reston, 1997.

KAMPEERAPAPPUN, P., AHT-ONG, D., PENTRAKON, D., SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p 155-163, 2007.

MAJDZADEH-ARDAKANI, K., NAVARCHIAN, A. H., SADEGHI, F. Optimization of mechanical properties of thermoplastic starch/clay nanocompósitos. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p. 547-554, 2010.

PETER, M. G. Chitin and chitosan in Fungi chitin and chitosan from animal sources. **In: Biopolymers, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes**, v. 6, p. 481-574, 2002.

PINOTTI, A., GARCIA, M.A., MARTINO, M.N., ZARITZKY, N.E. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 66-72, 2007.

REGE, P.R., BLOCK, L.H. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. **Carbohydrate Research**, v. 34, p. 235-245, 1999.

STANDING, M., RINDLAV-WESTLING, A., GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylase and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p.209-217, 2001.

XU, Y., REN, X., HANNA, M.A. Chitosan/Clay Nanocomposite Film Preparation and Characterization. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 99, p. 1684-1691, 2006.

**CAPÍTULO 6 – EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E
MONTMORILONITA NAS PROPRIEDADES DE NANOCOMPÓSITOS DE
AMIDO DE MILHO E GELATINA.**

CAPITULO 6

Efeito da concentração de quitosana e montmorilonita nas propriedades de nanocompósitos de amido de milho e gelatina

Resumo

O objetivo deste trabalho foi elaborar nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e argila montmorilonita sódica, avaliando-se diferentes concentrações dos dois últimos componentes através de um delineamento composto central rotacional 2^2 , incluindo os quatro pontos axiais e quatro pontos centrais, resultando em 12 experimentos; aplicável à metodologia de superfície de resposta a fim de maximizar a resistência à tração e diminuir a permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes. Pelas superfícies de resposta pode-se avaliar o efeito da concentração de MMT (faixa estudada de 0 a 10%) e quitosana (concentração investigada de 0 a 7,5%) nas propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos de gelatina e amido plastificados com 10% de glicerol. Verificou-se que com o aumento da concentração de MMT houve uma diminuição na resistência mecânica e alongamento dos filmes, sendo que a formulação que apresentou maior RT (78,27 MPa) e ALO (5,83%) continha 1,09% de quitosana e 1,5% de MMT em relação à massa total de gelatina e amido. Com o aumento da concentração de quitosana nas formulações, a PVA aumentou. O valor médio da PVA dos nanocompósitos investigados foi de 10,85 gmm/m²dkPa. Com o aumento da concentração de quitosana e MMT houve uma diminuição na solubilidade dos filmes, sendo o valor médio encontrado de 15,04%. A opacidade dos materiais aumentou com o aumento da concentração de quitosana e MMT. Pela técnica de difração de raios-X, observou-se que com o aumento da concentração de argila, a estrutura dos filmes tornou-se amorfa. As micrografias obtidas pela microscopia eletrônica de transmissão confirmaram a formação de estrutura intercalada/esfoliada da argila.

Palavras-chave: amido, gelatina, quitosana, argila e nanocompósitos.

1. Introdução

A maioria dos polímeros sintéticos é produzida a partir do petróleo. Sua síntese produz resíduos perigosos e seus materiais não são facilmente degradáveis, causando problemas ambientais. As plantas são fonte potencial para uma ampla variedade de polímeros que são renováveis e ecologicamente corretos. Os biopolímeros à base de matérias-primas agropecuárias são comestíveis, biocompatíveis e biodegradáveis, o que os tornam superiores aos polímeros sintéticos e, particularmente, úteis na produção de plásticos descartáveis, alimentos e aplicações na medicina. Os amidos, carboidratos de reserva dominantes nas plantas superiores, são biopolímeros abundantes e relativamente baratos. Contudo, as propriedades mecânicas dos materiais à base de amido são sensíveis e receptivos as mudanças ambientais, tais como, umidade, temperatura e pH (CHUNG et al., 2010).

Um dos mais promissores biopolímeros investigados para o desenvolvimento de embalagens é a quitosana, devido a sua excelente habilidade de formação de filme com boa resistência mecânica e propriedades de barreira a gás.

A quitosana é obtida pela reação de desacetilação da quitina em meio alcalino. A quitina é um polímero natural extraído de exoesqueleto de crustáceos, insetos etc., composto pelas unidades monoméricas de β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose e β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose. Este polímero natural possui uma estrutura cristalina altamente organizada, como comprovada por difração de raios-X. Dessa forma, é um polímero insolúvel em meio aquoso e na maioria dos solventes orgânicos, e tem baixa reatividade química. A insolubilidade da quitina é o maior fator limitante da sua utilização (MUZZARELLI, 1986). O extraordinário sucesso do conceito de nanocompósitos na área de polímeros sintéticos tem estimulado novas pesquisas sobre nanocompósitos de polímeros biodegradáveis como matriz (SORRENTINO et al. 2007).

Muitos tipos de nanopartículas podem ser utilizados em nanocompósitos, dependendo da aplicação. Dentre as mais freqüentemente utilizadas encontram-

se as nanoargilas, em particular a montmorilonita (AYRES E ORÉFICE, 2007, KAMPEERAPAPPUN et al.,2007; HUANG et al., 2004; PARK et al., 2003; PARK et al.,2002).

As partículas inorgânicas têm pelo ou menos uma dimensão na faixa nanométrica (de 1 a 100 nanômetros). Isto significa que uma dispersão uniforme destas partículas pode levar a uma área interfacial muito grande entre os constituintes.

Bionanocompósitos preparados com biopolímeros, tais como amido e proteína, podem ser formados usando o método de fusão ou solução. A incorporação das camadas de sílica, dentro das matrizes dos biopolímeros resulta em melhores propriedades mecânicas, propriedades de barreira ao vapor de água, e estabilidade térmica dos nanobiocompósitos resultantes, sem sacrificar a biodegradabilidade devido ao seu tamanho nanométrico na dispersão (ZHAO, et al. 2008). Quando as camadas de argila são completamente e uniformemente distribuídas em uma matriz polimérica contínua, uma estrutura esfoliada é obtida. A esfoliação completa da nanoargila pelas técnicas convencionais é muito difícil, devido à grande dimensão lateral das camadas, da alta viscosidade intrínseca do polímero e da forte tendência dos tactóides da argila se aglomerarem.

A maioria das argilas é hidrofílica, portanto, quando adicionadas aos polímeros solúveis em água resultam em boa dispersão, especialmente quando uma quantidade de energia de mistura é usada. O grau de esfoliação pode ser melhorado pela utilização de dispositivos de cisalhamento convencional, tais como extrusoras, misturadores, ultrasonificadores, moinhos de bolas, fluidizadores, entre outros (VARTIAINEN, 2010).

As nanoargilas tendem a se aglomerar quando misturadas com a água. Os aglomerados são mantidos por forças de atração de natureza física e química, incluindo Van der Waals e tensão superficial da água. Essas forças de atração devem ser superadas para desaglomerar e dispersar a argila em água. O ultrassom é utilizado para criar as ondas sonoras que se propagam na água,

resultando em ciclos alternados de pressão, que superam as forças de ligação e quebram os aglomerados (VARTIAINEN, 2010).

A preparação de nanocompósitos de biopolímeros e argila têm sido investigadas extensivamente. Melhores propriedades de resistência à tração e menor permeabilidade ao vapor de água dos filmes têm sido relatadas (CASARIEGO, 2009; KAMPEERAPAPPUN, 2007; RHIM, 2006)

Os principais objetivos deste trabalho foram:

- * Obter uma maximização da resistência à tração e diminuição da permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e argila montmorilonita sódica, avaliando-se diferentes concentrações dos dois últimos componentes.

- *Determinar a caracterização microestrutural de nanocompósitos através das técnicas de microscopia óptica, microscopia eletrônica de transmissão e difração de raio-x.

2. Material e Métodos

2.1. Material

As matérias-primas utilizadas para a elaboração dos filmes foram as seguintes: (i) Amido modificado SNOW-FLAKE[®] 6308 (*Corn Products*, Brasil); (ii) Gelatina tipo A (*Leiner Davis Gelatin*); (iii) Quitosana de baixa massa molecular (*Sigma-Aldrich*); (iv) Glicerol (*Synth*); (v) Argila montmorilonita Cloisite[®] Na⁺ (*Southern Clay Products*, Inc.).

2.2. Filme de amido, gelatina, quitosana e MMT

Dispersões, com uma massa total de 15 gramas, de gelatina, amido (a proporção de gelatina para amido utilizada foi de 2:1), quitosana de baixa massa molecular (sendo uma dispersão com 3,75% de quitosana e outra 7,5% de

quitosana em relação à massa total) e argila montmorilonita (sendo uma dispersão com 5% e outra com 10%) foram preparada em 200 mL de água destilada, conforme descrito a seguir.

Uma solução de quitosana foi elaborada dissolvendo-se 2% em solução de ácido acético 1% (v/v), seguido por filtração à vácuo em papel de filtro, para separação de materiais insolúveis.

Uma solução, contendo amido e quitosana em aproximadamente 100mL de solução de água destilada e ácido acético foi elaborada sob constante agitação em agitador magnético à 500rpm (modelo TE-0851, Piracicaba, Brasil). Após a total dispersão, a suspensão foi aquecida a 85°C por 15 minutos, sob agitação manual.

A solução de gelatina foi preparada hidratando-se a gelatina em 50 mL de água destilada por 1 hora. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria a 70°C (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) sob agitação manual até a gelatina estar completamente dissolvida (FAKHOURI, GROSSO, 2003).

Uma dispersão de argila foi preparada em 50mL de água destilada por 1 hora, sob constante agitação em agitador magnético à 500rpm (modelo TE-0851, Piracicaba, Brasil).

As dispersões obtidas, conforme discriminado acima, foram então colocadas em um béquer contendo 10% de glicerol em relação à massa total, agitadas por 1 minuto e colocadas em banho ultrassônico (Lavadora Ultra-sônica- Modelo USC marca Unique Ultrasonic Clear, Indaiatuba, SP) a 70°C por 15 minutos. A solução filmogênica resultante foi distribuída em placas *Plexiglas*[®] de 14 cm de diâmetro com alíquotas de 20mL e seca a 25°C em estufa com circulação de ar (marca Tecnal, modelo TE-39412, Piracicaba, Brasil) por aproximadamente 24 horas. Os filmes foram removidos e acondicionados de acordo com padronização dos testes.

2.3. Planejamento experimental

Para o estudo das formulações dos filmes, foi adotado um delineamento composto central rotacional 2^2 , incluindo os 4 pontos axiais e 4 pontos centrais, resultando em 12 experimentos; aplicável à metodologia de superfície de resposta a fim de avaliar o efeito da concentração de MMT e quitosana nas propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos. Cada variável foi estudada em 5 níveis diferentes conforme Tabela 6.1.

Tabela 6.1. Níveis das variáveis independentes, concentração de quitosana e MMT, no planejamento experimental da formulação dos nanocompósitos, contendo amido e gelatina.

Variáveis Independentes	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Quitosana (%)	0	1,09	3,75	6,41	7,5
MMT (%)	0	1,5	5	8,5	10

As variáveis dependentes avaliadas para cada ensaio do planejamento experimental realizado foram: (i) resistência à tração (RT); (ii) alongamento na ruptura (ALO); (iii) permeabilidade ao vapor de água (PVA); (iv) solubilidade em água (SOL) e (v) Opacidade.

Os dados foram ajustados ao modelo de segunda ordem (Equação 1) como uma função das variáveis dependentes.

$$Y_i = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 \quad (1)$$

Onde:

b_n são coeficientes de regressão;

Y_i são as variáveis dependentes (RT, ALO, PVA, SOL e Opacidade)

x_1 e x_2 são as variáveis independentes (Quitosana e MMT).

O objetivo do planejamento experimental foi obter uma maximização da RT e ALO, e uma minimização da PVA e SOL.

2.4. Espessura do filme

A espessura dos filmes foi determinada com a utilização de um micrômetro (Modelo MDC-25M, Mitutoyo, MFG, Naucalpan de Juarez, México), fazendo-se a média de 10 medidas aleatórias em diferentes partes do filme. Essa medida foi obtida após o acondicionamento dos filmes em dessecadores a temperatura de 25°C e 50% de umidade relativa durante 48 horas.

2.5. Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento na ruptura (ALO) foram determinadas utilizando-se texturômetro TA.XT2 (Stable Micro System, Hasleme, UK), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-02 (ASTM, 2002). As medidas foram conduzidas em temperatura ambiente (25°C). A separação inicial das garras e a velocidade do “probe” foram de 50mm e 0,5mm/s, respectivamente. A resistência à tração foi calculada dividindo-se a força máxima pela área seccional do filme (largura do filme x espessura inicial). A porcentagem de alongamento na ruptura foi obtida dividindo-se os valores do diferencial de

extensão pela separação inicial das garras (50 mm) e multiplicando-se por 100. Foram realizadas oito replicatas.

2.6. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método padrão E-96-00^{E1} da ASTM (ASTM, 2002). A amostra de filme, em forma de disco, foi selada em uma célula de permeação feita de acrílico contendo cloreto de cálcio e colocada em um dessecador com temperatura e umidade relativa controlada (25°C e 75% UR). O vapor de água difundido através do filme foi determinado pelo ganho de massa do cloreto de cálcio, medido a cada 24 horas por sete dias. Os testes foram realizados em triplicatas.

2.7. Solubilidade em água

A solubilidade dos filmes em água foi determinada segundo o método proposto por GONTARD et al. (1994). As amostras, em triplicata, foram preparadas recortando-se discos de 2cm de diâmetro. O peso seco inicial das amostras foi obtido após secagem das mesmas por um período de 24 horas a temperatura de 105°C em estufa de circulação e renovação de ar (TECNAL, Modelo TE 394/2, Piracicaba, Brasil). Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um recipiente contendo 50mL de água destilada e colocadas sob agitação suave em banho termostático (marca Nova Ética modelo Dubnoff 304-DE, Vargem Grande Paulista, Brasil) durante 24 horas. Após este período, as amostras solubilizadas foram retiradas e secas a temperatura de 105°C por mais 24 horas, para a obtenção da massa seca final.

2.8. Difração de raios-X

As amostras de argila e nanocompósitos foram analisadas por difração de raios-X (DRX) para determinar a ocorrência da intercalação/esfoliação das camadas de argila após a incorporação do polímero, visando identificar o tipo de nanocompósito formado pela determinação da distância interlamelar da argila. O aparelho utilizado nesta análise foi o Difratorômetro marca PHILIPS (modelo PW 1710, Holanda), usando radiação $K\alpha$ do cobre (comprimento de onda 1,5405 Å). As medidas foram realizadas conforme geometria Bragg-Brentano, no intervalo de 2,0 a 40,0 (2θ) e tempo de contagem de 2 segundos. A amostra de argila foi analisada sob a forma de pó compacto no porta-amostra do equipamento. As amostras de nanocompósitos foram preparadas cortando-se discos de 25 mm de diâmetro e 0,7 mm de espessura.

2.9. Microscopia óptica

A análise de microscopia óptica tem sido utilizada em alguns trabalhos como método preliminar de avaliação da microestrutura (CHUNG et al. 2010; CARASTAN et al., 2010; VERMOGEN et al., 2005). As amostras foram observadas em um microscópio Leica-Q500IW (Cambridge, UK) com aumentos de 50 e 200x e as fotomicrografias foram tiradas com uma câmera CCD acoplada ao microscópio.

2.10. Microscopia eletrônica de transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão dos filmes foi realizada segundo o procedimento descrito por Standing et al. (2001). Amostras de 2 x 2 mm de filmes foram cortadas. A fixação das amostras foi realizada com glutaraldeído 2% (solução diluída com tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2) por 2 horas à 4°C. As amostras foram lavadas com tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e após foram fixadas em 2% w/v, OsO₄ (solução diluída com tampão cacodilato de sódio de Na 0,2 M, pH 7,2) por 2 horas.

Após a fixação, foi realizada a lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (3 vezes por 10 minutos) e, posteriormente, as amostras foram deixadas em tampão cacodilato de Na 0,1 M pH 7,2 durante 12 horas.

As amostras foram, então, desidratadas em séries de etanol por 15 minutos: 30, 50, 70, 90% v/v, e finalmente em etanol a 99,5% v/v (3 vezes por 15 minutos). As amostras desidratadas foram imersas em óxido de propileno e etanol 99,5% (1:1) por 20 minutos, e em óxido de propileno puro por mais 20 minutos. Após esse período, foi realizada a inclusão das amostras em óxido de propileno e resina (2:1, 1:1 e 1:2) por 90 minutos em cada caso. Finalmente, realizou-se a inclusão em resina pura e deixou-se durante 12 horas em rotor a temperatura ambiente, em capela. Concluído esse período, foi realizada a inclusão em resina Epon no molde e colocado em estufa a 60°C (48-72 horas).

Depois de realizados os cortes semi-finos (com navalha de vidro) e finos (em um ultramicrotomo da marca RMC modelo MT-7000 e faca de diamante da marca Diatome tipo Cryoisto 45º) do material seco foi realizada a contrastação com acetato de uranila e citrato de chumbo. As amostras foram observadas em um microscópio eletrônico de transmissão (marca Carl Zeiss, LEO-906, Oberkochen, Germany), operando a uma voltagem de aceleração de 100 kV.

3. Resultados e discussão

A substituição de parte do amido e gelatina na formulação base por quitosana (0 a 7,5%) e MMT (0 a 10%) causou diferenças significativas nas propriedades de resistência à tração, alongamento, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e opacidade dos materiais obtidos ($p < 0,05$).

A Tabela 6.2 apresenta o planejamento fatorial com os 12 ensaios realizados, os valores codificados, os reais e os resultados das propriedades mecânicas (RT e ALO), PVA, SOL e opacidade dos filmes obtidos. Os experimentos foram realizados aleatoriamente e os dados foram tratados com a ajuda do Statistica 5.0 (Software Inc., USA).

Tabela 6.2. Planejamento fatorial, valores codificados e reais das variáveis independentes (Quitosana e MMT) e as variáveis dependentes (RT, ALO, PVA e SOL) dos filmes.

Ensaio	Concentração Quitosana%	Concentração MMT%	RT (MPa)	ALO %	PVA (gmm/m ² dkPa)	SOL %
1	-1 (1,09)	-1 (1,5)	78,27	5,83	11,82	27,97
2	1 (6,41)	-1 (1,5)	76,35	5,83	12,47	21,76
3	-1 (1,09)	1 (8,5)	43,64	1,31	8,73	17,19
4	1 (6,41)	1 (8,5)	44,99	3,29	12,15	18,56
5	-1,41 (0)	0 (5)	72,66	5,83	10,53	19,83
6	1,41 (7,5)	0 (5)	59	5,5	14,81	21,69
7	0 (3,75)	-1,41 (0)	72,87	4,29	7,06	24,36
8	0 (3,75)	1,41 (10)	34,17	1,2	8,71	15,08
9	0 (3,75)	0 (5)	60,47	4,59	11,08	15,61
10	0 (3,75)	0 (5)	60,01	4,58	11,4	15,25
11	0 (3,75)	0 (5)	64,13	4,6	10,27	15,21
12	0 (3,75)	0 (5)	57,53	4,33	10,65	14,09

MMT = montmorilonita sódica; RT = resistência à tração; ALO = alongamento na ruptura; PVA = permeabilidade em água; SOL = solubilidade em água.

3.1. Resistência à tração

Os efeitos das variáveis independentes sobre a resistência mecânica dos filmes estão apresentados na Tabela 6.3. Em negrito, estão os efeitos dos fatores que são significativos: média e MMT(L), admitindo um intervalo de confiança de 95%, ou seja, um nível de significância de 5% para a análise pelo erro padrão (MS Residual).

O efeito estimado de uma variável indica o quanto esta exerce influência sobre a resposta. Desta forma, quanto maior for o seu valor, maior esta influência. Um efeito positivo sobre a resposta indica que, ao passar de um valor mínimo a um valor máximo da variável, o valor da resposta aumenta. No caso do efeito ser negativo, indicará uma diminuição do valor da resposta.

Tabela 6.3. Efeitos das variáveis independentes sobre a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,96$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	60,5316	1,873601	0,000001
Quitosana (L)	-4,9724	2,653645	0,110095
Quitosana (Q)	5,9048	2,974825	0,094376
MMT (L)	-30,2292	2,653645	0,000027
MMT (Q)	-6,4788	2,974825	0,072271
1 (L)X2(L)	1,6350	3,747235	0,677866

MMT = Montmorilonita sódica.

L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

O parâmetro que exerceu influência na RT dos nanocompósitos foi a concentração de MMT (L), com o aumento da sua concentração nas formulações houve uma diminuição na resistência mecânica. O filme que apresentou maior resistência mecânica (78,27 MPa) foi o com 1,09% de quitosana e 1,5% de argila. A média da resistência à tração ficou em torno de $60,53 \pm 1,87$ MPa.

Este resultado é significativo comparando com outros estudos sobre filmes compostos com polissacarídeos e proteínas e nanocompósitos de polímeros naturais e argila (CHUNG, 2010, ZHONG e XIA, 2008, KAMPEERAPAPPUN, 2007, RHIM, 2006, XU, 2005)

Zhong e Xia (2008) desenvolveram filmes de quitosana, amido de mandioca, gelatina e glicerol, pelo método de solução (*casting*). O filme que apresentou maior resistência à tração foi o com formulação contendo 50g de amido de mandioca e 100 g de quitosana (49,40 MPa). A formulação com 50g de amido de mandioca e 50 g de gelatina por 100 g de quitosana apresentou uma resistência mecânica de 13,63 MPa. Estes autores verificaram que houve uma diminuição na resistência à tração com o aumento da concentração de amido e que houve uma correlação negativa entre esta propriedade e a gelatina.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 6.4.

Pela análise de variância, verificou-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 15,4 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,86, indicando que o modelo explica 86% da variação dos dados observados.

Os filmes apresentaram RT entre 34,17 e 78,27 MPa, sendo que estes valores extremos correspondem aos tratamentos 8 e 1, respectivamente (Tabela 6.2).

O modelo codificado proposto para representar a resistência à tração dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e MMT, é apresentado pela Equação 5.

$$RT=60,34-15,11x_2 \quad (5)$$

Onde : x_2 é o valor codificado da concentração de MMT (%)

Tabela 6.4. Análise de variância (ANOVA) para a resistência à tração dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,86$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (1;10;0,05)	p-valor
Regressão	1822,170	1	1822,170	63,27	4,10	0,00001
Resíduo	287,982	10	28,798			
Total	2110,151	11				

As curvas de contorno geradas pelo modelo para a resistência à tração encontram-se representadas na Figura 6.1. Pode-se observar que a melhor condição para resistência máxima é na menor concentração de MMT utilizada para obtenção dos filmes. Com o aumento da concentração de argila ocorre uma diminuição desta propriedade, o que indica que não houve uma boa interação química entre os polímeros e o filossilicato. A resistência a tração dos bio-nanocompósitos não sofreu influência com a substituição dos polímeros (amido e gelatina) pela quitosana na faixa de concentração investigada.

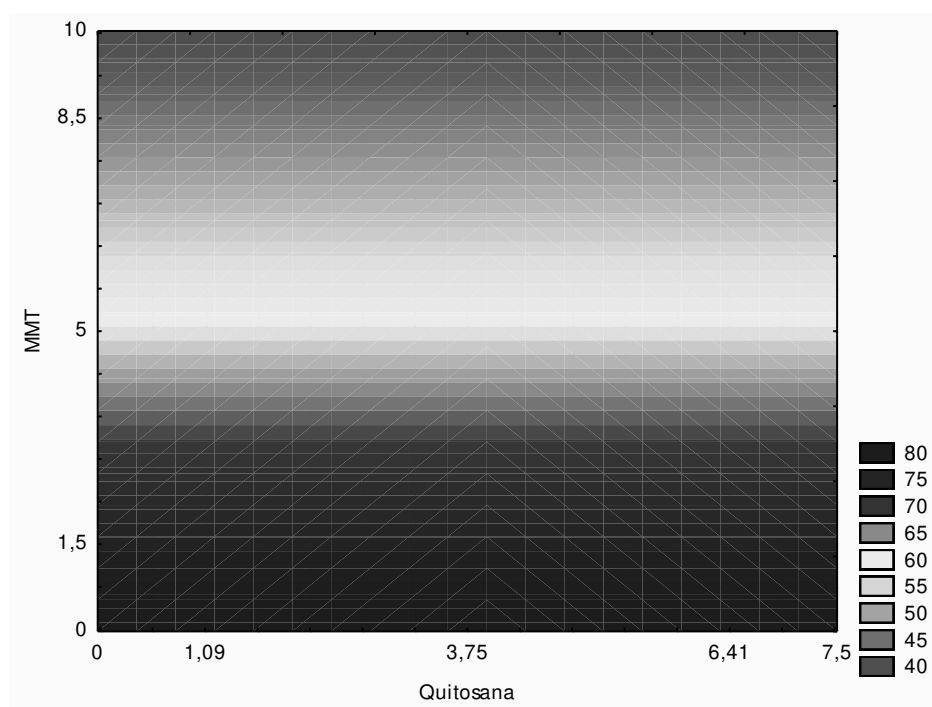


Figura 6.1. Curvas de contorno da resistência à tração em função da concentração de quitosana e MMT.

3.2. Alongamento na ruptura

Os efeitos dos parâmetros lineares, quadráticos e interações no ALO dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e MMT estão apresentados na Tabela 6.5, em que os valores em negrito são significativos a um nível de significância de 5%.

Tabela 6.5. Efeitos das variáveis independentes sobre o alongamento dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,94$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	4,52541	0,268391	0,000003
Quitosana (L)	0,37980	0,380132	0,356302
Quitosana (Q)	1,07696	0,426140	0,044847
MMT (L)	-2,86274	0,380132	0,000284
MMT (Q)	-1,86052	0,426140	0,004740
1 (L)X2(L)	0,99000	0,536787	0,114692

MMT = montmorilonita sódica. L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

O parâmetro que exerceu maior influência no ALO foi a concentração de MMT (L), seguida pela concentração de MMT (Q) e quitosana (Q). O valor médio do alongamento foi ao redor de $4,52 \pm 0,27\%$.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se, por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 6.6.

Tabela 6.6. Análise de variância (ANOVA) para o ALO dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2 = 0,89$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (2;9;0,05)	p-valor
Regressão	25,28	2	12,64	38,30	4,26	0,0001
Resíduo	2,99	9	0,33			
Total	28,27	11				

Pela análise de variância, verifica-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 8,99 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,89, indicando que o modelo explica 89% da variação dos dados observados.

O modelo codificado proposto para representar o alongamento dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e MMT é apresentado pela Equação 6.

$$\text{ALO} = 4,52 + 1,08x_1^2 - 1,43x_2 - 0,93x_2^2 \quad (6)$$

Onde : x_1 é o valor da concentração de Quitosana (%)

x_2 é o valor da concentração de MMT (%)

As curvas de contorno, geradas pelo modelo para o ALO, encontram-se representadas na Figura 6.2. Através do gráfico é possível observar que com o aumento da concentração de MMT ocorre a diminuição do alongamento. As concentrações de quitosana nos pontos de mínimo e máximo causaram um leve aumento do alongamento dos materiais, porém ainda muito menor que a dos filmes sintéticos comerciais como o POLO BPS que é um filme de polipropileno biorientado transparente utilizado para alimentos refrigerados e congelados que apresenta um alongamento de 95% (POLO BPS, 2010).

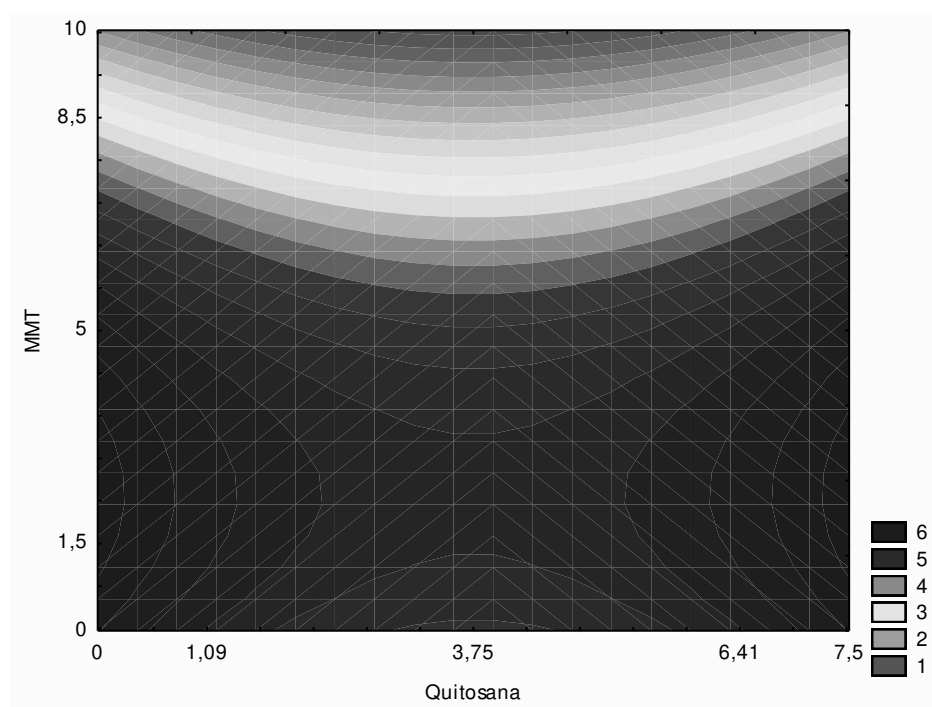


Figura 6.2. Curvas de contorno do ALO em função da concentração de quitosana e MMT.

Os filmes apresentaram ALO entre 1,2 e 5,83 %, cujos extremos correspondem aos tratamentos 8 (quitosana 3,75% e MMT 10%) e 1 (quitosana 1,09% e MMT 1,5%), 2 (quitosana 6,41% e MMT 1,5%) e 5 (quitosana 0% e MMT 5%) respectivamente (Tabela 6.2). Comparando com filmes comerciais, como por exemplo, o filme de polipropileno biorientado, Polo TFW, com alongamento DM/DT 160%/50% (POLO TFW, 2010) serão necessárias mais pesquisas com a finalidade de melhorar esta propriedade. O aumento de concentração dos plastificantes utilizados nas formulações de filmes à base de polissacarídeos e proteínas pode melhorar esta propriedade, mas por apresentarem caráter hidrofílico aumentam a permeabilidade ao vapor de água.

3.3. Permeabilidade ao vapor de água

Os efeitos das variáveis independentes sobre a PVA estão apresentados na Tabela 6.7. Ao nível de significância de 5%, nenhum fator foi considerado significativo. Os filmes apresentaram PVA entre 7,06 e 14,81 gmm/m²dkPa, correspondendo estes valores extremos aos tratamentos 7 e 6, respectivamente (Tabela 6.2). Estes podem ser considerados bons resultados, pois a diminuição de transferência de umidade entre o alimento e a atmosfera ao redor deste é desejada. Garcia et al. (2006) encontraram valores semelhantes de PVA para filmes de amido de milho e quitosana com glicerol, variando de 3,87 a 15,25 gmm/m²dkPa.

Zhong e Xia (2008), no entanto, trabalhando com filmes de amido de mandioca, gelatina e quitosana na proporção de 100:50:100, respectivamente, e com 63% de glicerol, obtiveram valores de 52,41 gmm/m²dkPa.

Tabela 6.7. Efeitos das variáveis independentes sobre a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,84$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	10,84697	0,555791	0,000001
Quitosana (L)	2,53374	0,787186	0,018166
Quitosana (Q)	2,34618	0,882462	0,037590
MMT (L)	-0,27168	0,787186	0,741772
MMT (Q)	-2,46746	0,882462	0,031324
1 (L)X2(L)	1,38500	1,111593	0,259223

MMT = montmorilonita sódica. L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

O parâmetro que exerceu maior influência na PVA foi a concentração de quitosana (L) seguido de MMT(Q) e Quitosana (Q). O valor médio da PVA nos nanocompósitos foi ao redor de $10,85 \pm 0,56$ gmm/m²dkPa. Com um aumento da concentração de quitosana (acima de 4%) nas formulações, a permeabilidade ao vapor de água aumentou. Este fenômeno pode estar relacionado à interação das

pontes de hidrogênio com a água, favorecendo a transmissão de vapor de água através dos filmes.

O aumento de concentração de MMT resultou em um efeito significativo na diminuição da PVA dos filmes de amido, gelatina, quitosana e glicerol, como pode se observar na Figura 6.3.

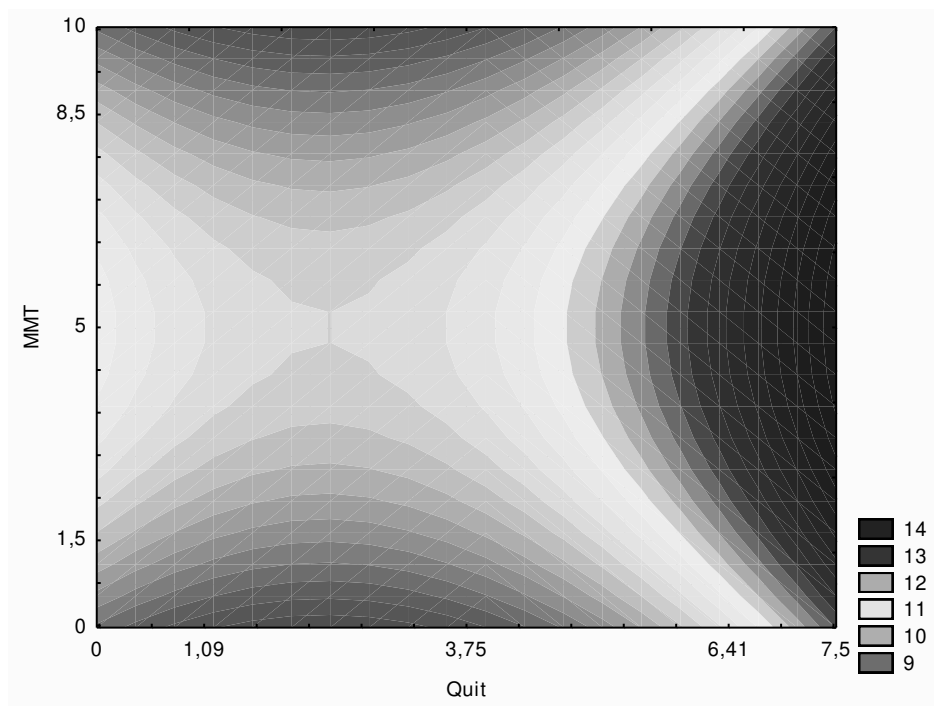


Figura 6.3. Curvas de contorno da PVA em função da concentração de quitosana e MMT.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se, por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 6.8.

Tabela 6.8. Análise de variância (ANOVA) para a PVA dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2 = 0,79$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (3;8;0,05)	p-valor
Regressão	35,71	3	11,90	10,04	4,07	0,001
Resíduo	9,48	8	1,19			
Total	45,19	11				

Pela análise de variância, verifica-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 2,47 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,79, indicando que o modelo explica 79% da variação dos dados observados.

O modelo codificado proposto para representar a PVA dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e MMT é apresentado pela Equação 7.

$$\text{PVA} = 10,85 + 1,27x_1 + 1,17x_1^2 - 1,24x_2^2 \quad (7)$$

Onde : x_1 é o valor da concentração de quitosana (%)

x_2 é o valor da concentração de MMT (%)

As curvas de contorno, geradas pelo modelo para a PVA, encontram-se representadas na Figura 6.3. Através do gráfico é possível observar que houve um aumento na PVA com o aumento da concentração de quitosana, quando 7,5% desta matéria prima foi utilizada na formulação a PVA encontrada foi de 14,81(gmm/m²dkPa). O aumento da passagem do vapor de água pelo filme indica que não houve uma boa interação química entre este polímero e o amido, gelatina e argila.

3.4. Solubilidade em água

A solubilidade em água é a medida da resistência das amostras de filmes à água. Os efeitos dos parâmetros lineares, quadráticos e interações na solubilidade dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e MMT estão apresentados na Tabela 6.9, onde os valores em negrito são significativos a um nível de significância de 5%. Os filmes apresentaram solubilidade entre 14,09 e 27,97 %, cujos extremos correspondem aos tratamentos 12 e 1, respectivamente (Tabela 6.2).

O parâmetro que exerceu maior influência na SOL foi a concentração de MMT (L), seguido pelos fatores Quitosana (Q), MMT (Q) e QuitosanaxMMT 1(L)X2(L). O valor médio da SOL nos nanocompósitos foi ao redor de $15,04 \pm 0,64\%$.

Casariello et al. (2009) prepararam filmes pela dispersão de partículas de argila em uma matriz polimérica de quitosana. Verificaram que com o aumento da concentração de argila houve uma diminuição na solubilidade do material em água a 25°C. Para filmes com 1,5% de quitosana e 3% de argila, encontraram uma solubilidade em água de 37,60%.

Tabela 6.9. Efeitos das variáveis independentes sobre a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($R^2=0,95$).

Fator	Efeito	Erro padrão	p
Média	15,03673	0,669382	0,000001
Quitosana (L)	-0,55600	0,948068	0,578946
Quitosana (Q)	6,31023	1,062816	0,001019
MMT (L)	-6,78639	0,948068	0,000375
MMT (Q)	5,26401	1,062816	0,002571
QuitosanaxMMT 1 (L)X2(L)	3,79000	1,338775	0,029921

MMT = montmorilonita sódica. L = efeito linear e Q = efeito quadrático.

Após a eliminação dos parâmetros não significativos, verificou-se, por análise de variância (ANOVA), a significância da regressão e do resíduo ao nível de 95% de confiança, utilizando o teste F, para o planejamento estudado, conforme a Tabela 6.10.

Tabela 6.10. Análise de variância (ANOVA) para a SOL dos nanocompósitos de amido, gelatina, quitosana e MMT ($p \leq 0,05$; $R^2=0,95$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}	F_{tab} (4,7;0,05)	p-valor
Regressão	196,06	4	49,015	30,07	4,12	0,0001
Resíduo	11,37	7	1,63			
Total	207,43	11				

Pela análise de variância, verifica-se que o modelo apresentou regressão significativa (F calculado 7,3 vezes superior ao F tabelado) e o coeficiente de determinação (R^2) obtido para o modelo ajustado foi de 0,95, indicando que o modelo explica 95% da variação dos dados observados.

O modelo codificado proposto para representar a SOL dos nanocompósitos de amido de milho, gelatina, quitosana e MMT é apresentado pela Equação 8.

$$\text{Solubilidade} = 15,04 + 3,16x_1^2 - 3,39x_2 + 2,63x_2^2 + 1,9x_1x_2 \quad (8)$$

Onde : x_1 é o valor da concentração de quitosana (%)

x_2 é o valor da concentração de MMT (%)

As curvas de contorno, geradas pelo modelo para a solubilidade, encontram-se representadas na Figura 6.4. É possível observar que a região onde os filmes apresentaram menor solubilidade em água foi quando em torno de 8,5% de argila e 3,75% de quitosana foram utilizados na formulação dos nanocompósitos.

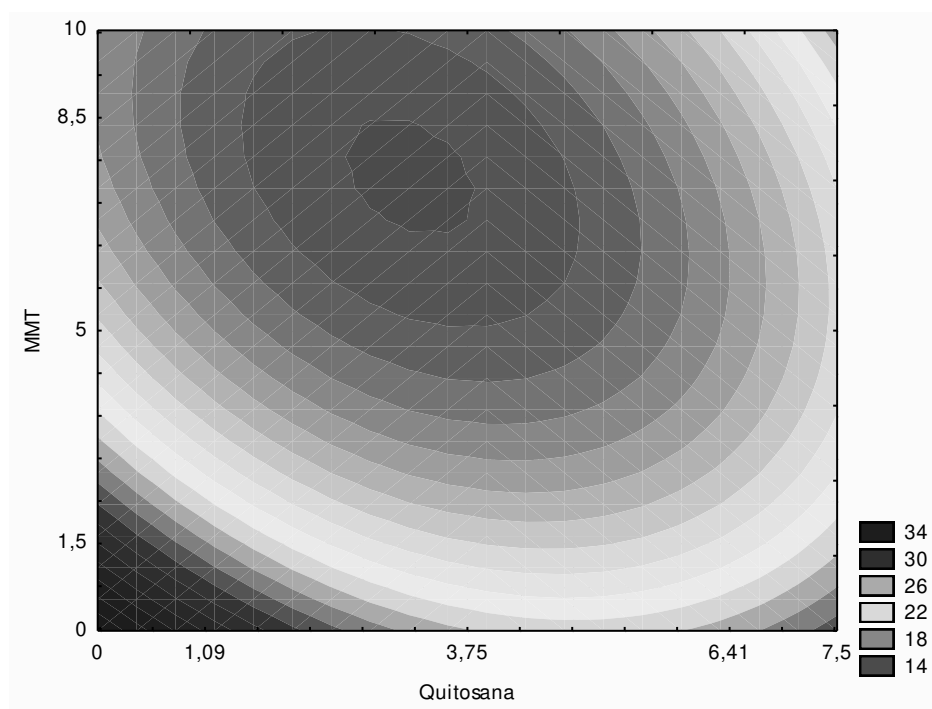


Figura 6.4. Curvas de contorno da SOL em função da concentração de quitosana e MMT.

3.5. Dispersão das camadas de argila

Como a formação dos nanocompósitos ocorre em função da presença de argila e devido a dificuldade da obtenção dos cortes ultrafinos realizados com navalha de diamante dos filmes obtidos emblocados em resina foram escolhidos os seguintes pontos do delineamento experimental para o estudo da dispersão da argila usando difratometria de raio-X e microscopia eletrônica: ensaio 7 sem a presença do filossilicato para poder comparar com as demais imagens obtidas; ensaio 11 por ser o filme do ponto central do delineamento experimental e os ensaios 1, 3, 5 e 8 foram escolhidos por conterem a menor e maior concentração de argila e valores intermediários.

A Figura 6.5 apresenta os padrões de raios-X dos filmes de amido, gelatina e quitosana com argila, obtidos nos ensaios do delineamento experimental e para a montmorilonita sódica. Não houve pico de difração na faixa de $1,5^\circ$ à 10° do 2θ para o ensaio 8, correspondente à formulação com 3,75% de quitosana e 5% de argila. A perda do pico d001 da argila é atribuída a uma boa dispersão da argila devido à desordem dos tactóides da argila e baixa concentração de aglomerados. O difratograma do ensaio 1 (formulação com 1,09% de quitosana e 1,5% de argila) e ensaio 7 (formulação com 3,75% e sem argila) apresentaram pico em 2θ igual a $7,39^\circ$, o que significa que estes materiais possuem estrutura cristalina similar.

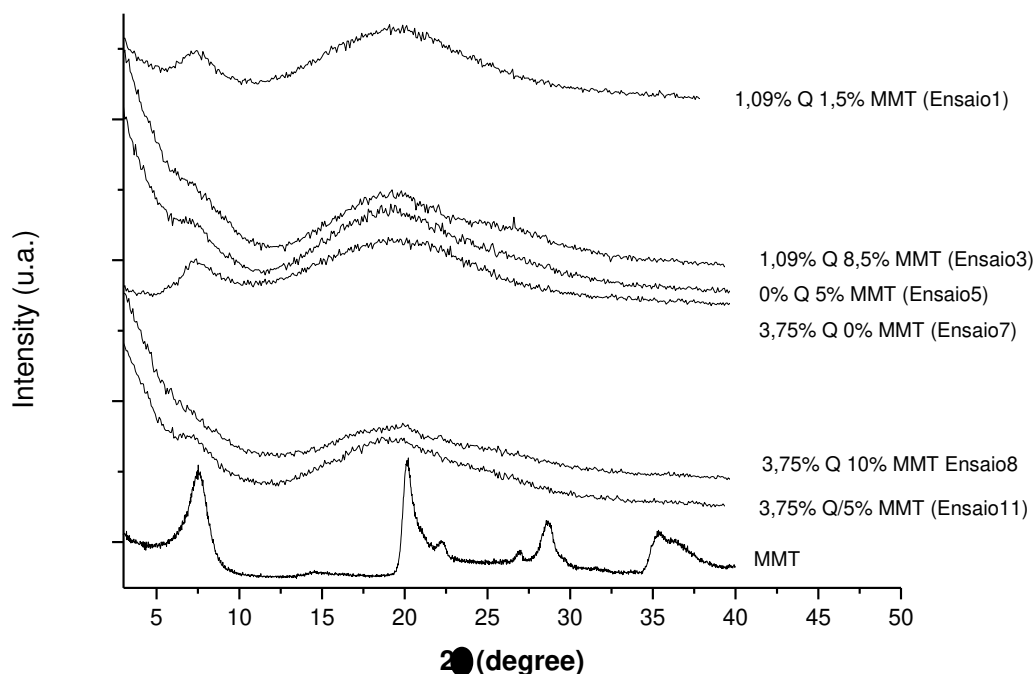


Figura 6.5. Padrões de raios-X de MMT, filmes e nanocompósitos de amido e gelatina com diferentes concentrações de quitosana / MMT.

Zhong (2008) apresentou difratogramas com estrutura semelhante à obtida para a formulação com 3,75% de quitosana (ensaio 7) para filmes de amido de mandioca, gelatina e quitosana. Rhao (2007) obteve nanocompósitos de argila e gelatina. Determinou os picos de difração de gelatina, que apresentou uma estrutura cristalina similar a do ensaio 7. Em todas as formulações estudadas neste trabalho, o polímero em maior concentração utilizado foi a gelatina e nas formulações com MMT, o primeiro pico de difração se deslocou levemente para a esquerda ou desapareceu.

Os picos característicos de difração apareceram em $2\theta=7,56^\circ$ para MMT; $2\theta=6,89^\circ$ para o ensaio 3; $2\theta=7,06$ para o ensaio 5 e $2\theta=6,92$ para o ensaio 11. A Tabela 6.11 apresenta os ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila, calculadas pela lei de Bragg, e a diferença (Δd) entre d dos

nanocompósitos e da Montmorilonita sódica. Um ângulo de difração menor do que a MMT indica a formação de estrutura intercalada.

Tabela 6.11. Ângulos de difração e distância interlamelar dos planos (001) da argila e a diferença (Δd) entre d dos nanocompósitos e da argila sódica.

	2θ	d (Å)	Δd (Å)
Argila montmorilonita Cloisite[®] Na⁺	7,56	11,7	-
Ensaio 1	7,39	-	-
Ensaio 3	6,89	12,82	1,12
Ensaio 5	7,06	12,51	0,81
Ensaio 7	7,39	-	-
Ensaio 8	-	-	-
Ensaio11	6,92	12,76	1,06

Xu et al. (2005) avaliaram a estrutura cristalina de quitosana em pó, amido de milho ceroso e filmes de quitosana e amido de milho ceroso. Observaram dois picos principais de difração de raios-X na quitosana em pó ($2\theta=11,6^\circ$ e $20,25^\circ$). Nos filmes, devido à gelatinização do amido e à secagem da solução, uma estrutura amorfa foi encontrada para o amido de milho ceroso. Com o aumento da concentração de amido, os picos cristalinos da quitosana foram suprimidos, demonstrando uma interação entre estes dois polímeros. Bourtoom (2008) encontrou estruturas semelhantes para filmes de amido de arroz e quitosana.

Pela microscopia óptica, foi possível observar a superfície dos filmes biodegradáveis. As Figuras 6.6 e 6.7 apresentam as micrografias dos filmes de amido e gelatina com diferentes concentrações de quitosana e MMT em duas ampliações (50 e 200 vezes).

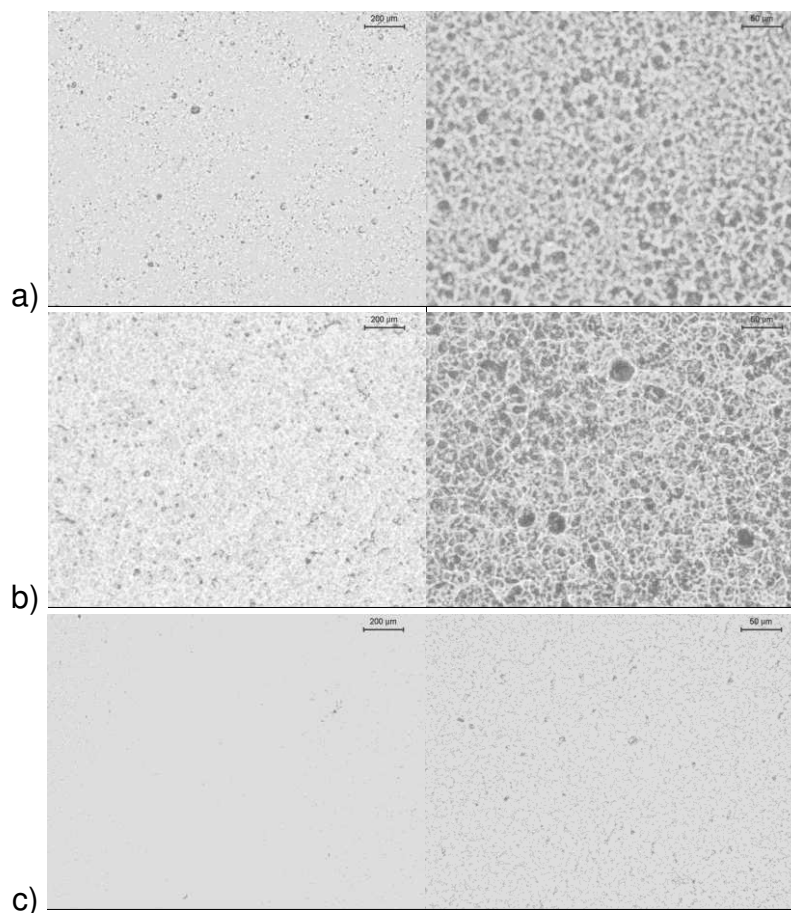


Figura 6.6. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de quitosana e MMT, respectivamente: a) 1,09%; 1,5%; b) 1,09%; 8,5%; c) 0%; 5%.

Pelas Figuras 6.6a, 6.6c e 6.7a, é possível observar que com a presença da quitosana no filme houve a formação de um número maior de aglomerados mesmo na ausência de argila (Figura 6.7c).

Com o aumento na concentração de argila e quitosana nos filmes, houve a formação de uma superfície mais rugosa e heterogênea (Figuras 6.6a, 6.6b e Figuras 6.7c e 6.7b).

O filme que apresentou uma superfície mais homogênea com a menor quantidade de aglomerados foi à formulação da Figura 6.6c com 0% de quitosana e 5% de montmorilonita sódica.

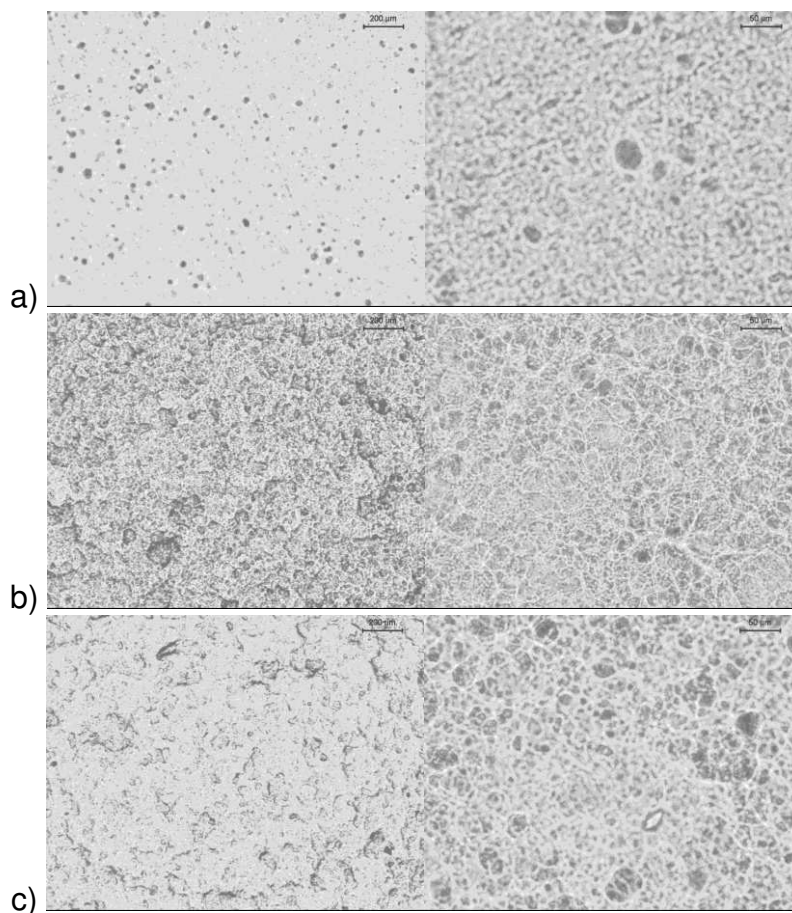


Figura 6.7. Microscopia óptica em diferentes aumentos dos nanocompósitos de gelatina, amido contendo as seguintes concentrações de quitosana e MMT, respectivamente: a) 3,75%; 0%; b) 3,75%; 10%; c) 3,75%; 5%.

Para confirmar a formação de nanoestrutura dos materiais estudados e verificar as conclusões do DRX, MET foi realizada. As Figuras 6.8 e 6.9 mostram as micrografias dos filmes de gelatina, amido, quitosana e argila em dois níveis de ampliação. As linhas escuras e a área clara representam a argila e a matriz de gelatina, amido e quitosana, respectivamente.

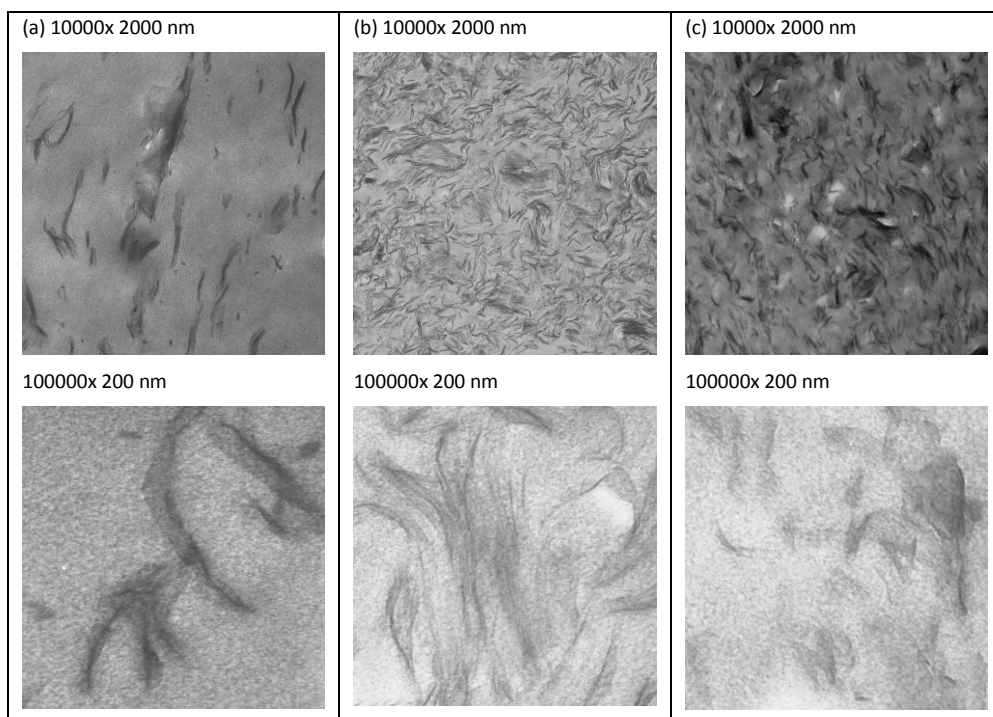


Figura 6.8. MET micrografias de filmes e Nanocompósito de gelatina, amido de milho com quitosana e MMT nas seguintes concentrações: Ensaio_1 (1,09%/1,5%); Ensaio_3 (1,09%/8,5%) e Ensaio_5 (0%/5%).

É possível observar pelas micrografias dos filmes que com o aumento da concentração de MMT, o material passa a apresentar morfologia intercalada (1,5% MMT, Figura 6.8a; 8,5% MMT, Figura 6.8b; 5% MMT, Figura 6.8c; 10% MMT, Figura 6.9b e 5% MMT, Figura 6.9c). Uma dispersão boa e aleatória da argila na matriz de gelatina, amido e quitosana foi observada. No filme sem a presença da argila (Figura 6.9a), pode-se verificar que a estrutura não é completamente homogênea, indicando que não houve uma boa interação entre a quitosana com a gelatina e o amido, o que pode ter influenciado nas propriedades de resistência mecânica e de permeabilidade ao vapor de água dos filmes.

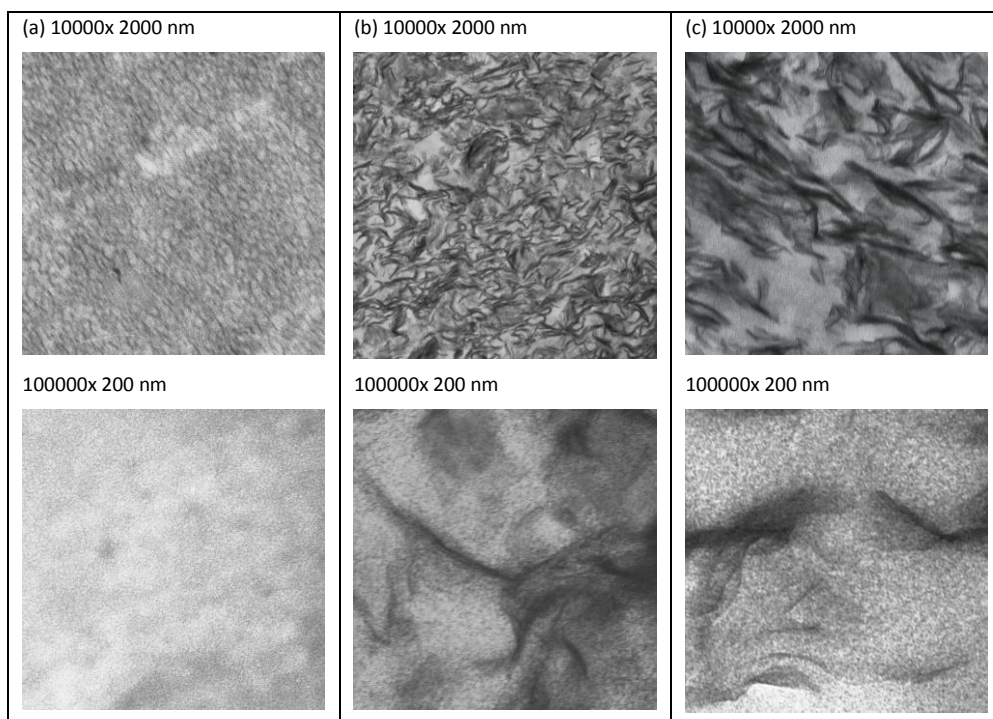


Figura 6.9. MET micrografias de filmes e Nanocompósito de gelatina, amido de milho com quitosana e MMT nas seguintes concentrações: Ensaio_7 (3,75%/0%), Ensaio_8(3,75%/10%) e Ensaio_11(3,75%/5%).

4. Conclusões

Pelas superfícies de resposta obtidas para avaliar o efeito da concentração de MMT (faixa estudada de 0 a 10%) e quitosana (concentração investigada de 0 a 7,5%) nas propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos de gelatina e amido plastificados com 10% de glicerol, verificou-se que:

- Com o aumento da concentração de MMT houve uma diminuição na resistência mecânica e alongamento dos filmes, sendo que a formulação que apresentou maior RT (78,27 MPa) e ALO (5,83%) continha 1,09% de quitosana e 1,5% de MMT em relação à massa total de gelatina e amido.

- O filme com 10% de MMT e 3,75% de quitosana apresentou menor RT (34,17MPa) e ALO (1,2%).

- Com o aumento da concentração de quitosana nas formulações, a PVA aumentou. O valor médio da PVA dos nanocompósitos investigados foi de 10,85 gmm/m²dkPa.

- Com o aumento da concentração de quitosana e MMT houve uma diminuição na solubilidade dos filmes, sendo o valor médio encontrado de 15,04%.

- A opacidade dos materiais aumentou com o aumento da concentração de quitosana e MMT.

- Pela técnica de difração de raios-X, observou-se que com o aumento da concentração de argila, a estrutura dos filmes tornou-se amorfa. As micrografias obtidas pela microscopia eletrônica de transmissão confirmaram a formação de estrutura intercalada/esfoliada da argila, porém foi possível observar que nos filmes com 0% de MMT houve a formação de uma estrutura não homogênea, indicando que não houve uma boa interação entre a quitosana com a gelatina e o amido de milho, o que pode ter influenciado na diminuição da RT e ALO e no aumento da PVA.

5. Referências bibliográficas

ASTM (American Society For Testing And Materials). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Designation D 882-02.PA, USA, 2002, 9 p.

ASTM (American Society for Testing and Materials) Standard test methods of water vapor transmission of materials. Designation, E 96-00^{E1}, PA, USA, 2002, 8 p.

ASTM (American Society for Testing and Materials) Standard test methods for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Designation, D 3985-02, PA, USA, 2002, 6 p.

CARASTAN, J.C.; VERMOGEN, A.; MASENELLI-VARLOT, K.. Quantification of Clay dispersion in nanocomposites of styrenic polymers. **Polymer Engineering and Science**. p. 257-267 DOI 10.1002/pen.21527, 2010.

CASARIEGO A., SOUZA B.W.S., CERQUEIRA M.A., TEIXEIRA J.A., CRUZ L., DÍAZ R., VICENTE A.A. Chitosan/Clay films' properties as affected by biopolymer and Clay micro/nanoparticles' concentrations. **Food hydrocolloids**, v.23, p. 1895-1902, 2009.

CHUNG YI-LIN, ANSARI S., ESTEVEZ L., HAYRAPETYAN S., GIANNELIS E. P., LAI HSI-MEI Preparation and properties of biodegradable starch–clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, V. 79, P. 391-396, 2010.

FAKHOURI F. M.; BATISTA J. A.; GROSSO C.R.F. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis de Gelatina, Triacetina e Ácidos Graxos, **Brazilian Journal of Food Technology**, v. l6, n. 2, p. 301-308, jul/dez 2003.

GARCIA, M.A., PINOTTI, A., ZARITZKY, N.E. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. **Starch-Starke**, v.58, p. 453-463, 2006.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International J. Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3. Reston, 1997.

KAMPEERAPAPPUN, P., AHT-ONG, D., PENTRAKON, D., SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p 155-163, 2007.

MUZZARELLI, R. A. A., CHARLES, J., GOODAY, G.W. **Chitin in nature and technology**. New York: Plenum Press. 1986.

PARK Hwan-Man, LEE Won-Ki, PARK Chan-Young, CHO Won-Jei, HA Chang-Sik. Environmentally friendly polymer hybrids: Part I Mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Journal of materials science**, v.38, n°5, p.909-915, 2003.

POLO TFW. Filme de polipropileno biorientado, transparente, termosselável em ambas as faces e rígido para sobre embalagem. Disponível em: <<http://www.polofilms.com.br/arquivos/produto/79.pdf>> Acesso em 10 set. 2010.

POLO BPS. Filme de polipropileno biorientado, transparente, selável e tratado em uma face encolhível multipack. Disponível em: <<http://www.polofilms.com.br/arquivos/produto/2.pdf>> Acesso em 10 nov. 2010.

RAY, S.S., OKAMOTO, M. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Materials Science**, v. 28, p. 1539-1641, 2003.

RHIM JONG-WHAN, HONG SEOK-IN, PARK HWAN-MAN, NG P. K. W. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity **J. Agric. Food Chem.**, 54 (16), p. 5814–5822, 2006.

VARTIAINEN, J., TUOMINEN, M., NATTINEN, K., Bio-Hybrid Nanocomposite Coatings from Sonicated Chitosan and Nanoclay. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 116, 3638-3647, 2010.

VERMOGEN, A.; MASENELLI-VARLOT, K.; SÉGUÉLA, R. Evaluation of the structure and dispersion in polymer-layered silicate nanocomposites. **Macromolecules**, v. 38, p. 9661-9669, 2005.

ZHAO R., TORLEY P., HALLEY P.J. Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bio-nanocomposites. **J Mater Sci.** v. 43, p. 3058-3071, 2008.

ZHONG, QIU-PING, XIA, WEN-SHUI. Physicochemical properties of edible and preservative films from chitosan/cassava starch/gelatin blend plasticized with glycerol. **Food Technol. Biotechnol.** v.46, p.262-269, 2008.

XU, Y., REN, X., HANNA, M.A. Chitosan/Clay Nanocomposite Film Preparation and Characterization. **Journal of Applied Polymer Science.** v. 99, p. 1684-1691, 2006.

Conclusão Geral

Filmes de amido, gelatina e glicerol foram preparados pela técnica de solução. Foram testadas nas formulações amido de milho nativo e dois amidos de milho modificados comerciais. Dentre os tipos de amidos avaliados, o amido de milho modificado SNOW-FLAKE® 6308 foi escolhido para elaboração dos nanocompósitos em função dos filmes por eles obtidos serem mais transparentes (haze de 3,91%) e mais resistentes (RT igual 82,10 MPa).

A adição da argila resultou em filmes mais opacos, mais resistentes (RT igual 86,13 MPa), com menor solubilidade (16,32%), PVA (4,82 gmm/m²dkPa) e alongação (3,34%).

Através das análises de DRX foi possível verificar a formação da estrutura de nanocompósitos através do aumento do espaço interlamelar da sílica; e das micrografias a estrutura intercalada/esfoliada da montmorilonita com a matriz de amido e gelatina formada durante o processo de solução.

O delineamento experimental mostrou que as propriedades funcionais dos nanocompósitos de amido de milho e gelatina podem ser modificadas pela variação na concentração de MMT de 0 a 10% e IPS de 0 a 10%, utilizados no preparo dos materiais.

Filmes com maior RT (71,04 MPa) e ELO (6,12%) foram obtidos quando 5% de MMT e IPS foram utilizados na formulação para a obtenção dos nanocompósitos. Os menores valores de PVA (7,21 gmm/m²) e SOL (13,9%) foram encontrados nos nanocompósitos formulados com a concentração de MMT em torno de 8,5% e IPS 1,46%. A opacidade dos filmes aumentou com o aumento da concentração de argila.

As soluções filmogênicas obtidas pela metodologia investigada para obtenção de nanocompósitos de amido, gelatina, isolado protéico de soja, quitosana e argila, além de muito viscosas, não foram homogêneas devido à insolubilidade da quitosana em pH acima de 6, não sendo possível obter filmes com esta mistura de polímeros.

Pelas superfícies de resposta obtidas para avaliar o efeito da concentração de MMT (faixa estudada de 0 a 10%) e quitosana (concentração investigada de 0 a 7,5%) nas propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos de gelatina e amido plastificados com 10% de glicerol, verificou-se que:

Com o aumento da concentração de MMT houve uma diminuição na resistência mecânica e alongação dos filmes, sendo que a formulação que apresentou maior RT (78,27 MPa) e ELO (5,83%) continha 1,09% de quitosana e 1,5% de MMT em relação à massa total de gelatina e amido.

O filme com 10% de MMT e 3,75% de quitosana apresentou menor RT (34,17MPa) e ELO (1,2%).

Com o aumento da concentração de quitosana nas formulações, a PVA aumentou. O valor médio da PVA dos nanocompósitos investigados foi de 10,85 gmm/m²dkPa.

Com o aumento da concentração de quitosana e MMT houve uma diminuição na solubilidade dos filmes, sendo o valor médio encontrado de 15,04%.

A opacidade dos materiais aumentou com o aumento da concentração de quitosana e MMT.

Pela técnica de difração de raios-X, observou-se que com o aumento da concentração de argila, a estrutura dos filmes tornou-se amorfa. As micrografias obtidas pela microscopia eletrônica de transmissão confirmaram a formação de estrutura intercalada/esfoliada da argila, porém foi possível observar que nos filmes com 0% de MMT houve a formação de uma estrutura não homogênea, indicando que não houve uma boa interação entre a quitosana com a gelatina e o amido de milho, o que pode ter influenciado na diminuição da RT e ELO e no aumento da PVA.