

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**Obtenção e Caracterização de Filmes**  
**Biodegradáveis a partir de Misturas de Amido de**  
**Mandioca e Extrato Protéico de Soja**

**GEISA OLIVEIRA ROCHA**

**2009**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS  
A PARTIR DE MISTURAS DE AMIDO DE MANDIOCA E EXTRATO  
PROTÉICO DE SOJA**

**GEISA OLIVEIRA ROCHA**

*Sob a orientação do pesquisador*  
**Dr. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho**

*e Co-orientação do pesquisador*  
**José Luis Ramírez Ascheri**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Março de 2009

664.72272

R672o

T

Rocha, Geisa Oliveira, 1984-

Obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja / Geisa Oliveira Rocha - 2009.

Xiv, 75 f. : il.

Orientador: Carlos Wanderlei Piler de Carvalho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 59-70

1. Farinha de mandioca - Extrusão - Teses. 2. Proteínas de soja - Extrusão - Teses. 3. Filmes plásticos - Embalagens - Teses. 4. Matéria - Propriedades - Teses. I. Carvalho, Carlos Wanderlei Piler de, 1967-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**GEISA OLIVEIRA ROCHA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 23/03/2009

---

Carlos Wanderlei Piler de Carvalho. Dr. Embrapa Agroindústria de Alimentos (Orientador)

---

José Luis Ramírez Ascheri. Dr. Embrapa Agroindústria de Alimentos  
(co-orientador)

---

Diego Palmiro Ramirez Ascheri. Dr. Universidade Estadual de Goiás

---

Lourdes Maria Corrêa Cabral. Dra. Embrapa Agroindústria de Alimentos

---

Cristina Yoshie Takeiti. Dra. Embrapa Agroindústria de Alimentos  
suplente

## DEDICATÓRIA

A minha família: minha mãe Maria da Conceição Oliveira Silva, meu pai Liomar Rocha da Silva, e meu irmão Diego Oliveira Rocha, base de minha vida, pela confiança, apoio e exemplo de vida, que tornaram possível a realização de mais uma etapa de minha vida.

A meu namorado, Jonas Rosa Tereza, pelos conselhos, apoio e dedicação nos momentos difíceis e pela colaboração na realização deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu a vida, saúde e força para vencer mais esta etapa, que jamais me abandonou e me propiciou dentre tanto acontecimentos a realização deste trabalho, me guiado por este longo caminho.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de Realização deste estudo.

Ao orientador Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, pela idealização e condução do projeto temático viabilizando este projeto. Agradeço pela orientação, apoio e incentivo, fundamentais para o desenvolvimento deste estudo.

Ao co-orientador José Luis Ramírez Ascheri pelo apoio e contribuição para a minha formação profissional.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora Dr. Diego Palmiro Ramirez Ascheri, Dra. Lourdes Maria Corrêa Cabral e a Dra. Cristina Yoshie Takeiti, pelas sugestões e correções que contribuíram para a concretização deste trabalho.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos pelas instalações e pelo apoio financeiro que viabilizou esta dissertação.

Expresso também todo meu agradecimento por minha formação moral e educacional aos meus pais Liomar e Conceição, os quais por vezes privaram-se materialmente em prol de meus estudos no ensino fundamental e médio. Muito obrigada por toda a atenção dedicada ao telefone nestes anos todos e pela compreensão das minhas ausências! E a meu irmão Diego, pelo amor, carinho e incentivo.

À Vó Maria, pelo amor, amizade, carinho e incentivo nestes anos todos. À todos os Tios, Tias, Primos e Primas que mesmo de longe estavam na torcida! Às minhas afilhadas: Maria da Graças, Catarina e Maria Eduarda, que a cada sorriso e demonstração de carinho abasteciam as minhas forças para dar mais um passo nessa jornada.

Ao meu namorado, Jonas, por todo companheirismo durante estes 2 anos, pelo apoio em todas as fases do trabalho, nos momentos bons e difíceis de minha vida e pela compreensão das minhas ausências, pelo carinho e incentivo, sobretudo na reta final deste trabalho.

Aos amigos e colegas de Eunápolis Ba e da UFRualRJ, às companheiras de república e alojamento: Gleizy, Mariana, Marinei, Talita, Noeli, Gabi, Regilaine, Priscila, Renata, Taís,

Rita, Daniela, Adriane, pela amizade, brincadeiras e pelas longas conversas; à GOUlera: Nete, Tiago, Ana Paula, Cristiane, Alessandro, Juan, Irineu, Jean, Walcimar, Adriana, Raquel, pela amizade, força, oração e companheirismo nos momentos difíceis. Aos estagiários e colaboradores do laboratório de Reologia: Carla, Keliane, Mayra, Ligiane, Maggi, Melissa, Juan, Gustavo, Fabio, Leonardo, Anderson, Martim, pela amizade, trabalho em conjunto, e pelas risadas e conversas animadas que tivemos também. Aos Assistentes de pesquisa: Vanessa, Adriana, Aline, Tatiana e Mirian, Sidney, Flávio, José Carlos, Mario, Francisco, Rodrigo, pelo apoio atenção e disponibilidade em ajudar. Aos colegas de turma (2007) do mestrado: Carla, Juan, Rosa, Vanessa, Juliana, Isabel, Sidney, Julia, Monique, Gisele, Gislene, Priscila, Jon, Elisa, e Luciana pelo companheirismo, troca de conhecimentos, incentivos nos momentos difíceis, amizade, apoio e pelos momentos agradáveis que passamos juntos.

Em todos os lugares por onde passei na execução de meu trabalho muitas pessoas colaboraram prontamente. Portanto, quero expressar minha gratidão a todos que de uma forma ou de outra tornaram possível a realização desta Dissertação.

Muito obrigada!

## **MENSAGEM**

**Tudo posso naquele que me fortalece.**  
*(Filipenses 4,13)*

## RESUMO

ROCHA, Geisa Oliveira. **Obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de mistura de amido de mandioca e extrato de soja**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

Com o advento da conscientização ambiental, decorrente dentre outros fatores, do elevado grau de poluição e dependência de matérias provenientes de resinas de petróleo, tem-se observado um considerável aumento de estudos sobre a obtenção de materiais de rápida degradação biológica. A produção de embalagens biodegradáveis provenientes de fontes renováveis, tais como proteínas e polissacarídeos apresenta-se como alternativa, pois são capazes de formar matrizes poliméricas contínuas, embora sua alta afinidade pela água e baixa resistência mecânica ainda precisam ser melhoradas. Os objetivos deste trabalho foram elaborar e caracterizar filmes biodegradáveis, avaliando-se o efeito combinado de amido e proteína na formação dos filmes em condições variáveis de plastificante e pH. Os filmes foram produzidos segundo a técnica de espalhamento, a partir de soluções filmogênicas (SF) a 2,5% (p/p) de sólidos totais de amido mandioca, de extrato protéico de soja (13.18, 20, 30, 40 e 46.82%), de glicerol (13.18, 20, 30, 40 e 46.82%), e pH variável (1.9, 4, 7, 10 e 12.0). As SF foram desidratadas a 30°C por 24 h e os filmes resultante foram acondicionados em umidade relativa do ar controlada a 52,9% por seis dias para caracterização. As análises realizadas nos filmes foram espessura, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades óticas, e mecânicas. O aumento da espessura foi influenciado pela adição de glicerol associado ao aumento do pH. A redução do teor de proteína e do pH combinada com o aumento do glicerol influenciou na redução da solubilidade em água. A redução da proteína de soja e aumento do pH e do teor de glicerol reduziu PVA. Quanto às propriedades óticas, os filmes apresentaram menor coloração com a redução da proteína de soja e aumento do pH, enquanto a opacidade foi reduzida com o aumento do teor glicerol e do pH combinados com a redução do teor de proteína. Observou-se aumento da deformação na perfuração com incremento do glicerol, baixo teor de extrato protéico de soja em pH mais baixo e mais alto. A força na perfuração aumentou com a elevação do pH e baixos teores de glicerol e proteína. O aumento da deformação na tração foi observado com o incremento na concentração de glicerol, com a redução do extrato protéico de soja e com níveis extremos de pH. A redução no módulo de elasticidade ocorreu com o aumento na concentração de glicerol, com a redução da concentração de proteína e do pH. Os filmes produzidos com baixo teor de extrato protéico apresentaram menores valores de solubilidade em água, da PVA, da opacidade, da coloração e do módulo de elasticidade, e maior deformação na tração e força na perfuração. Por outro lado filmes produzidos com alto teor de glicerol apresentaram maior espessura e deformação na tração, e redução da solubilidade em água, da permeabilidade ao vapor de água, da opacidade e do módulo de elasticidade, enquanto que a elevação do pH ocorreu redução da opacidade, da coloração, da PVA e aumento da espessura e da força na perfuração.

Palavras chave: filmes biodegradáveis, amido de mandioca, proteína de soja, análises físicas.

## ABSTRACT

ROCHA, Geisa Oliveira. **Elaboration and Characterization of biodegradable films from cassava starch and soy protein extract mixtures**. 2009. Dissertation (Master of Science and Technology) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

As environmental conscious increases due to pollution and petroleum resins dependency, within other factors, it has been observed a considerable increase of studies dealing with the use of material of fast biological degradation. The production of biodegradable packing from renewed resources such us proteins and carbohydrates seems to be an alternative because those materials are able to produce continuously polymer matrices, although their high water affinity and low mechanical resistance need to be improved. The objectives of this work were to elaborate and characterize biodegradable films evaluating the combined effect of starch and protein on a film formation under variable of plasticizer and pH. The films were produced using casting technique from filmogenic solutions (SF) at 2.5% (w/w) of total solids of cassava starch, of soybean protein extract (13.18, 20, 30, 40 e 46.82%), of glycerol (13.18, 20, 30, 40 e 46.82%), and pHs (1.9, 4, 7, 10 e 12.0). SF were dehydrated at 30°C for 24 h and the resulting films were conditioned at 52.9% relative humidity for six days for further analysis. Thickness, water solubility, water vapor permeability (PVA), optical and mechanical properties were used to analyze the films. Film thickness increased was affected by glycerol associated with an increase of pH. The reduction of protein and low pH combined with an increase of glycerol reduced water solubility. The reduction of protein and increase of pH and glycerol reduced PVA. Concerning optical properties, the color of the films produced with low protein content at high pH were clear whereas opacity reduced with high glycerol content. It was observed and increase of deformation during puncture with an increase of glycerol, low soy protein and low and pH. Force in puncture increased at high pH and low glycerol and protein content. Deformation in tensile test increased with high glycerol and low protein content at extreme pH values. Films produced with low protein content showed low water solubility, PVA, opacity, color and elastic modulus and high deformation when pulled and more resistant when punctured. High glycerol content lead to an increase of thickness and deformation at break as well as reduction of water solubility, PVA, opacity, elastic modulus, whereas at high pH reduced opacity, color, PVA and increased thickness and puncture force.

Keywords: biodegradable films, cassava starch, soy protein, analyses physical.

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1-Equipamentos utilizados.....	20
Tabela 2-Variáveis independentes e seus respectivos níveis .....	23
Tabela 3–Delineamento completo do desenho experimental do processo de elaboração de biofilme de amido de mandioca e extrato de soja.....	24
Tabela 4- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a espessura, dos filmes biodegradáveis.....	33
Tabela 5- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a permeabilidade ao vapor de água, dos filmes biodegradáveis. ....	35
Tabela 6- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a solubilidade em água, dos filmes biodegradáveis..	37
Tabela 7- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a diferença de cor ( $\Delta E$ ), dos filmes biodegradáveis..	40
Tabela 8- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a opacidade, dos filmes biodegradáveis.....	42
Tabela 9- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a força no teste de perfuração, dos filmes biodegradáveis. ....	44
Tabela 10- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a deformação na ruptura no teste de perfuração, dos filmes biodegradáveis.....	46
Tabela 11- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a tensão no teste de tração, dos filmes biodegradáveis. ....	49
Tabela 12- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a deformação no teste de tração, dos filmes biodegradáveis. ....	51
Tabela 13- Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada ao módulo de elasticidade (Mpa), dos filmes biodegradáveis. ....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).....	7
Figura 2-Representação esquemática do teste de perfuração na ruptura dos filmes (com modificações).....	17
Figura 3-Curva característica da relação resistência a tração versus deformação.....	18
Figura 4-Fluxograma da elaboração e caracterização dos filmes biodegradáveis.....	21
Figura 5-Viscoamilógrafo usado na preparação das soluções filmogênicas.....	22
Figura 6-Câmaras herméticas onde os filmes ficaram armazenados.....	23
Figura 7-Células de permeação de plástico.....	25
Figura 8-Colorímetro usado na determinação da cor dos filmes.....	26
Figura 9-Analisador de textura Texture Analyzer TA HDi (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra) utilizado na determinação nos testes de perfuração (a) e de tração (b).....	27
Figura 10-Imagem ilustrativa dos 20 filmes de amido de mandioca e extrato protéico de soja elaborados no presente trabalho.....	32
Figura 11-Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a espessura (mm) dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja....	34
Figura 12- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a PVA dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.....	36
Figura 13- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a solubilidade dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.....	38
Figura 14- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a diferença de cor ( $\Delta E$ ) dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja. ....	41
Figura 15- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a opacidade dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.....	43
Figura 16- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a força na perfuração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja. ....	45
Figura 17- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a deformação na perfuração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja. ....	47
Figura 18- Gráfico linear da tensão na tração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja em função do teor de glicerol (%)......	50
Figura 19- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a deformação no teste de tração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja. ....	52
Figura 20- Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre o módulo de elasticidade dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.....	55

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	2
2.1	Objetivo Geral.....	2
2.2	Objetivos Específicos.....	2
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3.1	Polímeros, Filmes, Biodegradação: definições.....	3
3.2	Danos causados pelo uso de materiais plásticos convencionais.....	3
3.3	Características comerciais e possíveis aplicações dos filmes biodegradáveis.....	4
3.4	Proteína: definição e estrutura.....	5
3.5	Amido: definição e estrutura.....	7
3.6	Elaboração de filmes biodegradáveis a partir de base protéica.....	8
3.7	Elaboração de filmes biodegradáveis a partir de base amilácea.....	9
3.8	Uso de Plastificantes na formação de filmes.....	10
3.9	Efeito do pH.....	11
3.10	Análises realizadas na caracterização de filmes.....	12
3.10.1	Espessura dos filmes.....	12
3.10.2	Permeabilidade ao vapor de água.....	13
3.10.3	Solubilidade em água.....	14
3.10.4	Propriedades ópticas.....	14
3.10.4.1	Opacidade.....	15
3.10.4.2	Diferença de cor.....	15
3.10.5	Propriedades mecânicas.....	16
3.10.5.1	Teste de perfuração.....	17
3.10.5.2	Teste de tração.....	18
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1	Matéria-prima.....	20
4.2	Equipamentos.....	20
4.3	Elaboração dos filmes.....	21
4.3.1	Secagem e condicionamento dos biofilmes.....	22
4.4	Planejamento Experimental.....	23
4.5	Caracterização da matéria-prima.....	24
4.6	Caracterização dos filmes biodegradáveis.....	25
4.6.1	Espessura dos Filmes.....	25
4.6.2	Permeabilidade ao vapor de água.....	25
4.6.3	Solubilidade em Água.....	26
4.6.4	Propriedades Ópticas.....	26
4.6.4.1	Cor.....	26
4.6.4.2	Medida da Opacidade.....	27
4.6.5	Propriedades Mecânicas.....	27

4.6.5.1	Teste de Perfuração.....	28
4.6.5.2	Teste de Tração.....	28
4.6.6	Análise Estatística dos Resultados.....	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1	Composição centesimal da matéria-prima .....	30
5.2	Avaliação geral dos filmes.....	30
5.3	Espessura.....	33
5.4	Permeabilidade ao vapor de água.....	35
5.5	Solubilidade em água.....	37
5.6	Diferença de Cor( $\Delta E$ ).....	40
5.7	Opacidade.....	42
5.8	Força no teste de perfuração.....	44
5.9	Deformação no teste de perfuração.....	46
5.10	Tensão no teste de tração.....	49
5.11	Deformação no teste de tração.....	51
5.12	Módulo de Elasticidade.....	54
6	CONCLUSÕES.....	57
7	SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....	58
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS	.....	71
A	Resultados experimentais das análises de espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.....	72
B	Resultados experimentais das análises de diferença de cor e opacidade dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.....	73
C	Resultados experimentais das análises de força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.....	74
D	Resultados experimentais das análises de tensão e deformação e módulo de elasticidade no teste de tração dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.....	75

## 1 INTRODUÇÃO

Os materiais plásticos convencionais garantem uma proteção adequada para diversos tipos de aplicações e satisfazem a necessidade de custo, praticidade, proteção física, química e ótica, porém levam em média mais de um século para se degradar no ambiente. Eles são responsáveis por grande parte de resíduos que se acumulam na natureza e influenciam diretamente a poluição ambiental. Assim, vários países no mundo já reconheceram a necessidade de reduzir a enorme quantidade de materiais de difícil degradação, principalmente os plásticos sintéticos, incentivando e apoiando pesquisas, no sentido de encontrar alternativa ecologicamente viável.

As pesquisas de filmes biodegradáveis para embalagens vêm aumentando também em função do aumento do custo da resina de petróleo. O uso de filmes tendo como base polímeros de origem biológica, tais como proteínas e polissacarídeos, poderá reduzir a pressão sobre o meio ambiente, com a diminuição do uso de materiais oriundos de fontes não renováveis (petróleo), diminuição de taxas de poluição e volume de material descartado.

O desenvolvimento de tecnologias para produção de plásticos biodegradáveis iniciou-se no Brasil na década de 90, empregando como matéria-prima derivados da cana-de-açúcar. Esses polímeros possuem propriedades semelhantes a dos plásticos petroquímicos, com a vantagem de poderem ser degradados por microrganismos presentes no meio ambiente, em curto espaço de tempo, após o descarte. Porém estes os plásticos biodegradáveis ainda têm uma participação mínima no mercado internacional. Apesar da vantagem de sua aplicação quanto à preservação do meio ambiente, os plásticos biológicos são mais caros, menos flexíveis e têm aplicações mais limitadas que os sintéticos.

A formação de filmes pela técnica de espalhamento é baseada na dispersão dos biopolímeros em um solvente e a adição de um plastificante, obtendo-se uma dispersão filmogênica. Posteriormente deve acontecer a operação de secagem, nesta etapa, ocorre o aumento da concentração do biopolímero na solução, devido à evaporação do solvente, e consequentemente agregação das moléculas, levando a formação de uma rede tridimensional, gel.

Filmes biodegradáveis podem ser produzidos a partir de misturas de polissacarídeos e proteínas cujas cadeias são longas e capazes de produzir matrizes contínuas que dão estrutura ao filme. As características estruturais e a composição química do biopolímero são muito importantes na elaboração de filmes biodegradáveis.

No Brasil, a soja é considerada uma fonte protéica vegetal disponível em abundância e economicamente competitiva. Enquanto o amido é o biopolímero mais abundante no mundo após a celulose, além de ter a vantagem de ser abundante, barato e renovável. Vale ressaltar que na safra 2007/2008, o Brasil produziu 60.017,7 milhões de toneladas de soja, 2,8% superior a safra 2006/2007 (CONAB, 2009), e produziu no ano de 2007 26,6 milhões de toneladas de raiz de mandioca e 545,01 mil toneladas de amido de mandioca (CEPEA/ABAM, 2009).

Considerando as vantagens da tecnologia de filmes biodegradáveis sobre as embalagens tradicionais, assim como o grande aumento das pesquisas em materiais de embalagem alternativos, é possível prever que o futuro das embalagens alimentícias pertença aos filmes biodegradáveis

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Elaborar filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Estudar o efeito da concentração de glicerol, na mistura de amido de mandioca e extrato de soja;
- Verificar o efeito da concentração de proteína (extrato de soja) nas características físicas dos filmes;
- Estudar o efeito do pH nas características físicas dos filmes;
- Caracterizar os filmes obtidos por meio de análises físicas, tais como propriedades mecânicas, óticas, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água;

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

A partir da década de 80, com o advento da conscientização ambiental, os aspectos negativos do material polimérico inerte começaram a ser percebidos. Assim, características desejáveis durante o uso, como a alta resistência e não deterioração são identificadas como inconvenientes no descarte ou liberação na natureza, já que tais materiais poderiam levar centenas de anos para serem totalmente destruídos. Encontrou-se assim na incineração uma alternativa de gerenciamento deste lixo polimérico (principalmente países como o Japão, de pequeno espaço territorial para aterros sanitários). Entretanto, tornaram-se também evidentes os problemas ambientais consequentes da incineração. A destruição ambiental causada pela queima de recursos fósseis tem um efeito composto de aquecimento global gerado pelo dióxido de carbono e poluição causada pela liberação de agentes químicos agressivos na atmosfera (BAUMANN et al., 1998).

O crescente interesse em melhorar a qualidade do meio ambiente, aliado ao acúmulo de lixo não biodegradável, tem incentivado pesquisas em todo o mundo no sentido de incrementar e desenvolver embalagens biodegradáveis provindas de fontes renováveis. As macromoléculas biológicas mais estudadas para este fim são as proteínas e os polissacarídeos, polímeros capazes de formar matrizes contínuas e, que através de diversas técnicas de produção podem ser transformados em filmes e revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis (MALI; GROSSMANN, 2003).

O uso de filmes tendo como base polímeros de origem biológica, oriundos de fontes de recursos renováveis, poderá diminuir a pressão sobre o meio ambiente, com a diminuição do uso de materiais oriundos de fontes não renováveis, diminuição de taxas de poluição e volume de material descartado (BARRETO, 2003).

A formação de filmes é baseada na dispersão dos biopolímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e a adição de aditivos (plastificantes, agentes de ligação, etc.) obtendo-se uma dispersão filmogênica. Posteriormente, deve acontecer a operação de secagem, onde a elevação da temperatura e as mudanças no conteúdo de umidade, influenciam na formação do filme, estas transformações que ocorrem na estrutura dos polímeros podem ser visualizadas nos estudos de estado vítreo e transição vítrea. Nesta etapa, ocorre o aumento da concentração do biopolímero na solução, devido à evaporação do

solvente, e conseqüentemente agregação das moléculas, levando a formação de uma rede tridimensional (GONTARD, 1991 apud VICENTINI, 2003). Filmes são formados principalmente por forças coesivas entre as moléculas de polímeros. A desnaturaçãõ ou a incorporaçãõ de aditivos que promovem a formaçãõ de ligações cruzadas resultam em maior ordenaçãõ molecular, e conseqüentemente, maior coesãõ e rigidez dos filmes (GUILBERT, GONTARD, GOSSIS, 1996).

### **3.1 Polímeros, Filmes, Biodegradaçãõ: definições**

Polímeros sãõ materiais compostos por macromoléculas. Essas macromoléculas sãõ cadeias compostas pela repetiçãõ de uma unidade básica, chamada mero. Daí o nome: *poli* (muitos) + *mero*. Os meros estãõ dispostos um após o outro, analogicamente as pérolas num colar, ou seja, uma macromolécula que assume formato muito semelhante ao de um cordãõ (MICHAELI, 1995).

Conforme estabelecido pela Norma ASTM D 883, polímeros biodegradáveis sãõ polímeros degradáveis nos quais a degradaçãõ resulta primariamente da açãõ de microorganismos de ocorrênciã natural (FILHO et al., 2001). Os polímeros biodegradáveis sofrem mais facilmente a açãõ de microorganismos, por conterem funções orgânicas em suas cadeias alifáticas: carbonilas, hidroxilas, ésteres, hidroxiaçidos, mais suscetíveis à açãõ enzimática, entretanto, é importante lembrar que esta açãõ depende de fatores, tais como tipos de microorganismos presentes, condições do meio e propriedades do polímero (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

Filmes sãõ estruturas utilizadas para envolver produtos. Diferentemente dos revestimentos, que sãõ aplicados sobre o produto anteriormente à sua própria formaçãõ, os filmes primeiramente formam lâminas e só entãõ sãõ utilizados como revestimento (GUILBERT, GONTARD; GOSSIS, 1996). Quando sãõ completamente degradados por microorganismos sãõ considerados biodegradáveis (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

Gennadios; e Weller (1990) afirmaram que nãõ existe uma distinçãõ clara entre filmes e coberturas e que estes dois termos sãõ geralmente intercambiáveis. No entanto, usualmente as coberturas sãõ aplicadas e formadas diretamente na superfície do produto, enquanto os filmes sãõ formados separadamente como folhas finas e entãõ aplicados aos produtos.

Biodegradaçãõ é o processo de decomposiçãõ do polímero ou de qualquer que seja o material, pela açãõ de microorganismos como bactérias, fungos ou algas, que, em ambientes aeróbicos, degradam os polímeros a dióxido de carbono e águã, e que, em ambientes anaeróbicos, produzem dióxido de carbono e metano, além de outros produtos naturais gerados pelos microorganismos (HUANG; SHETTY; WANG; 1990; SILVA, 2000).

### **3.2 Danos causados pelo uso de materiais plásticos convencionais**

Os polímeros, cuja produçãõ é estimada na ordem de 180.000.000 t/ano, têm um papel importantíssimo na sociedade moderna, estando presente em praticamente todos os setores da economia como: medicina, agricultura, construçãõ civil, embalagens e eletroeletrônicos (PRADELLA, 2006).

Vários países em todo o mundo têm reconhecido a necessidade de se reduzir a quantidade de materiais plásticos desperdiçados e descartados, além de incentivarem a reciclagem, que apesar de depender, em grande parte da coleta e seleçãõ do produto, e apesar de grande parte dos municípios brasileiros possuírem algum tipo de coleta seletiva, nãõ atingem a totalidade de recicláveis. Neste contexto, o interesse na utilizaçãõ de produtos que tenham origem vegetal e a produçãõ de materiais, principalmente plásticos com caráter

biodegradável tem se intensificado como política em diversos setores da sociedade (RÓZ, 2003).

Nos países em desenvolvimento, a poluição ambiental por polímeros sintéticos tem provocado uma série de danos. Como resultado, esforços têm sido feitos para resolver estes problemas acrescentando aos polímeros a biodegradabilidade através de pequenas modificações nas suas estruturas (CHANDRA; RUSTGI, 1998 a).

Muitas embalagens flexíveis são feitas com plásticos, isto é, materiais sintéticos, que apesar de possuírem excelentes propriedades funcionais, são considerados não-biodegradáveis e estão envolvidos em problemas de gerenciamento de resíduos sólidos municipais. A biodegradação do polietileno, por exemplo, é estimada em 200 anos (TORRES, 1994).

Franchetti; Marconato (2006) afirmaram que, para resolver o problema de tanto resíduo plástico, vem sendo empregados métodos como, incineração, reciclagem, disposição em aterros sanitários, biodegradação e o uso de polímeros biodegradáveis. Estes métodos são importantes e a aplicação prática de cada um depende do tipo, da quantidade do plástico desperdiçado e das condições ambientais. O emprego de polímeros biodegradáveis naturais ou sintéticos no mercado ainda não é significativo, mas deverá ser mais expressivo futuramente, uma vez que estes polímeros geram resíduos de curta duração, em relação aos plásticos sintéticos e tem crescido a pesquisa a respeito da aplicação tecnológica e tempo de degradação de seus resíduos.

### **3.3 Características comerciais e possíveis aplicações dos filmes biodegradáveis**

O mercado dos biopolímeros era da ordem de 60.000 toneladas em 2002 com preço de comercialização de US\$ 4/kg. Este mercado tem taxa de crescimento acima de 20% ao ano e custos de produção decrescente para cerca de US\$ 2/kg, antevendo um consumo em 2015 da ordem 1.000.000 t/ano, perfazendo um mercado anual de US\$ 2 bilhões. É consenso entre as fontes consultadas que o preço de venda do produto é o obstáculo principal para sua entrada no mercado, apontando-se um preço teto de cerca de US\$ 2/kg, ou seja, cerca de até 50% superior aos preços de comercialização das resinas sintéticas mais comuns (PE, PP, PET). Não obstante, entre os anos 1990 e 2002 houve duplicação da demanda de bioplásticos a cada dois anos (BORSCHIVER; ALMEIDA; ROITMAN, 2008).

Uma análise da evolução do preço destes biopolímeros, levando-se em conta a curva de evolução tecnológica e do preço do petróleo em diversos cenários, demonstrou que os preços de polietileno tereftalato (PET) e bioplásticos convergiram para cerca de US\$ 1/kg no ano de 2020, caso o petróleo subisse de US\$ 25 a US\$ 50/barril, cenário bastante provável na atual conjuntura (PRADELLA, 2006).

Os filmes e coberturas comestíveis, por serem embalagens e componentes de um alimento, devem apresentar os seguintes requerimentos: boas qualidades sensoriais; alta eficiência à barreira e mecânica; estabilidade bioquímica, físico-química e microbiana; livre de toxicidade e seguros para a saúde; obtenção por tecnologia de processamento simples, não poluente e de baixo custo, tanto de matérias-primas como de processo (DEBEAUFORT et al., 1998), devem apresentar adequada resistência à ruptura e flexibilidade o suficiente para se adaptar a eventuais deformações dos alimentos (VICENTINI, 2003).

A composição da embalagem biodegradável e comestível é uma escolha em função das propriedades desejadas e do biopolímero selecionado. Proteínas e polissacarídeos resultam em filmes com boas propriedades mecânicas e organolépticas e são barreiras efetivas a compostos de aroma e gases de baixa massa molar como oxigênio e dióxido de carbono (DEBEAUFORT et al., 2000).

O uso de revestimentos e filmes comestíveis tem sido crescente para a indústria alimentar. Revestimentos ajudam a satisfazer muitos desafios relacionados com o

armazenamento e a comercialização de produtos alimentícios. A funcionalidade e o desempenho dos filmes comestíveis e revestimentos dependem de suas propriedades de barreira e mecânicas, o que por sua vez dependem da composição do filme, seu processo de formação e o método de aplicação para o produto (RODRÍGUEZ et al., 2006).

Segundo Oliveira et al.; (2007), a utilização de filmes comestíveis em alimentos de origem vegetal além de ser uma alternativa para o aumento da vida de útil, devido à redução da perda de umidade e ao controle da transmissão de gases, é também eficaz no melhoramento da aparência dos produtos aumentando sua aceitabilidade frente ao consumidor.

Os plásticos à base de amido podem ser utilizados para confecção de itens descartáveis, tais como sacos de lixo, vasos para plantas, cobertura temporária de mudas, talheres, pratos etc (THIRÉ et al., 2004). Além disso, apresentam grande potencial para aplicação em matrizes de liberação controlada de medicamentos e de pesticidas (MARTINS et al., 1997).

### **3.4 Proteína: definição e estrutura**

Proteínas são moléculas complexas constituídas por carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e, às vezes, também por outros elementos, como enxofre, ferro, cobre, fósforo e zinco. São formadas essencialmente a partir de 20 aminoácidos primários unidos entre si por ligações peptídicas (ORDÓÑEZ et al., 2005). Isto resulta em muitas possibilidades de ligações e estruturas, e em complexas e variadas propriedades. As utilizadas para a fabricação de materiais são aquelas encontradas em maior quantidade na matéria natural explorada: reservas de proteínas de grãos (soja, girassol, etc), cereais de co-produtos (glúten, zein, etc), ou proteínas de tecidos animais estrutura (colágeno, queratina, etc.) (ROUILLY; RIGAL, 2002).

Proteínas podem ser definidas como os polímeros naturais capazes de dar forma às estruturas tridimensionais amorfas estabilizadas principalmente por interações não covalentes (SWAIN, 2004).

Segundo Damodaran, (1996a) as cadeias de polipeptídios são unidas por um grande número de diferentes interações: interações de Van der Waal's, pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas, e ligações covalentes dissulfeto. Elas são, portanto, organizadas de acordo com a cadeia de aminoácidos em estáveis e complexas estruturas que estão classificados de acordo com uma escala crescente de dimensão: secundário, terciário e, quaternárias. Sob o efeito da temperatura, pressão, ou de um agente químico, estas organizações podem ser parcialmente destruídas ou modificadas. Mas, embora com amido a desestruturação provoca um fluido de fase amorfa, a desnaturação das proteínas libera os núcleos da estrutura que pode ser mais hidrofóbico que a superfície, dependendo da sua estabilização no ambiente. Em um ambiente polar a estrutura forma resíduos polares na superfície e hidrofóbico dentro, e vice-versa. Sob efeito térmico, as cadeias se tornam móveis, mas a sua circulação é restrita devido ramificação da estrutura, ocorre aumento das interações hidrofóbicas devido a intensidade da temperatura (DAMODARAN, 1996b).

Segundo Swain (2004) até pouco tempo, o uso e a aplicação de proteínas eram apenas em ciências de alimentos. O desenvolvimento dos estudos em uso não-alimentício das matérias-primas agrícolas, e mais especificamente sobre as proteínas essenciais, em conceitos do uso e em ferramentas tornou-se clássica no campo da ciência e tecnologia de polímero, que considera as relações entre estrutura e função macromolecular.

De acordo com Krochta (1997), dois grupos de eventos ocorrem durante a formação de filmes. Primeiro, durante a fase de aquecimento, a estrutura da proteína é rompida, algumas pontes dissulfito são quebradas, e os grupos sulfídricos e hidrofóbicos são expostos.

Porém, durante a fase de secagem, ocorrem novas interações hidrofóbicas e são formadas pontes dissulfeto e de hidrogênio.

As características estruturais e a composição química do biopolímero utilizado na elaboração dos biofilmes são muito importantes. Nesse sentido as proteínas são mais interessantes que os polissacarídeos (homopolímeros), por possuírem em sua estrutura até 20 monômeros diferentes (aminoácidos), com alto potencial de interações intermoleculares (GONTARD; GUILBERT, 1996). Segundo Cuq et al.; (1996b), as propriedades funcionais (força, deformação, barreira aos gases, etc.) dos biofilmes dependem sobretudo do tipo de ligações intermoleculares.

As proteínas devem apresentar-se na forma aberta ou estendida para permitir a interação molecular, necessária para a formação do filme. A extensão desta interação depende da estrutura da proteína (grau de extensão da cadeia) e da seqüência dos resíduos de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos da proteína. O aumento da interação molecular da cadeia de proteína resulta em filme forte, porém, menos flexível e permeável (KROCHTA, 1997).

As proteínas mais estudadas são as de origem vegetal, possivelmente pela alta produção e baixo custo nos países desenvolvidos. No Brasil, a única proteína vegetal disponível em abundância e economicamente competitiva é a proteína de soja. Por outro lado, as proteínas de origem animal são produzidas a baixo custo, em relação ao primeiro mundo (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000). As proteínas de soja utilizadas são reservas de corpúsculos citoplasmáticos constituída essencialmente por duas frações de globulina, o 7S ( $\beta$ -conglycinine) e o original 11S (glycinine) (KUNTE et al.; 1997).

Um grande número de pesquisas de plásticos de grão de soja foram conduzidas nos anos 30 e nos anos 40. O petróleo era considerado caro, visto que os grãos de soja eram abundantes e estavam disponíveis. Naquele tempo, os produtos do grão de soja foram incorporados em resinas fenólicas principalmente como o enchimento ou o prolongamento para diminuir o custo dos plásticos. Com a diminuição do preço do petróleo e a melhor-execução das técnicas, plásticos a base de petróleo dominaram o mercado após a segunda guerra mundial (SWAIN, 2004).

As proteínas de soja foram os primeiros biopolímeros da agricultura que foram utilizadas para a fabricação de materiais moldados. Na verdade, Brother começou na década de 30, a fabricação de peças para automóveis marca FORD com uma mistura de fenol-formaldeído / farinha de soja (ROUILLY; RIGAL, 2002). Mas precisou ser interrompido devido aos custos da extração e o aparecimento de plástico sintético (BROTHER, G.H.; MCKINNEY, 1939 apud ROUILLY; RIGAL, 2002).

Proteínas de soja vem sendo utilizadas para elaboração de filmes (KUNTE et al.; 1997). Sua baixa permeabilidade ao oxigênio a torna adequada para utilização na embalagem, porém a utilização é limitada pela sua baixa resistência à água (ROUILLY; RIGAL, 2002).

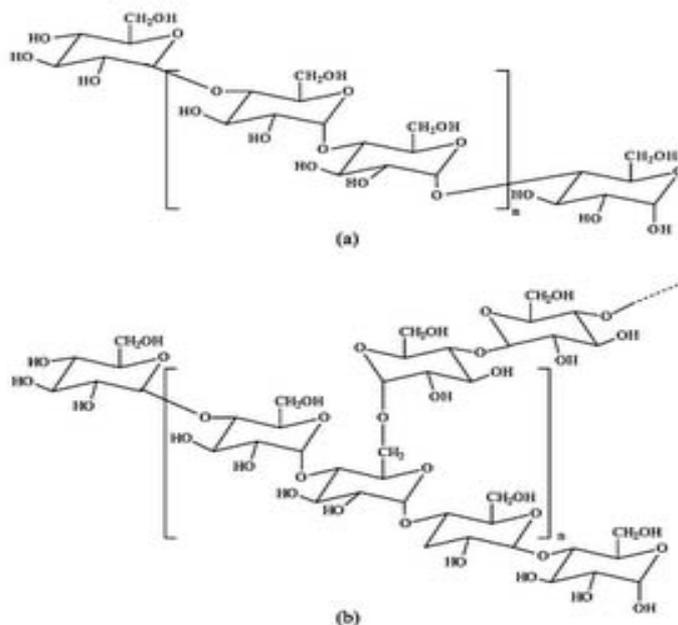
### **3.5 Amido: definição e estrutura**

O amido é o biopolímero mais abundante no mundo após a celulose (BAYER; LAMED, 1992), podendo ser extraído comercialmente de várias fontes, como de cereais (milho, trigo, arroz, aveia, sorgo), tubérculos (batata), raízes (mandioca, inhame) e leguminosas (grão-de-bico, soja, lentilha, feijão) (PERONI, 2003; HUANG, 2006).

Amido e fécula são sinônimos, porém na legislação brasileira (Brasil, 1978) denomina-se amido a fração amilácea encontrada em órgãos aéreos como grãos e frutas, enquanto fécula é a fração amilácea de órgãos subterrâneos como raízes e tubérculos. A diferenciação não ocorre na composição química, mas sim na origem do produto e em propriedades funcionais e tecnológicas (VEIGA et al., 1995).

O amido é a mais comum reserva de polissacarídeo. No seu estado nativo é parcialmente composta de grânulos cristalinos insolúveis em água. Estes são constituídas de polímeros lineares (amilose) e de polímeros ramificados (amilopectina), (Figura 1), de  $\alpha$ -D-glicose (ROUILLY; RIGAL, 2002), com estruturas e funcionalidade diferentes. A amilose é um polímero linear com unidades de D-glicose ligadas por ligações  $\alpha(1\rightarrow4)$ , com grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da fonte do amido. A amilopectina é um polímero altamente ramificado, com unidades de D glicose ligadas através de ligações  $\alpha(1\rightarrow4)$  e as ramificações em  $\alpha(1\rightarrow6)$  (ELLIS et al., 1998).

A amilose e amilopectina estão associadas entre si por pontes de hidrogênio, formando as áreas cristalinas radialmente orientadas. As pontes de hidrogênio no amido são formadas pelos grupos OH nas unidades de glicose. Nestes grupos (-O-H), o oxigênio tende a atrair o par de elétrons que compartilha com o hidrogênio. Consequentemente, o átomo de hidrogênio adquire o caráter de próton e tende a partilhar os elétrons livres dos átomos de oxigênio vizinhos, formando as chamadas pontes de hidrogênio (CIACO; CRUZ, 1982).



**Figura 1** Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).

O amido, quando presente em solução aquosa e esta é aquecida, as pontes de hidrogênio se rompem e o grânulo passa a absorver água e incha, ocorrendo simultaneamente a liberação da amilose para o meio até do rompimento o que contribui para o aumento da viscosidade. É importante observar que, para cada tipo de amido há uma faixa de gelatinização (CIACO; CRUZ, 1982).

Variações nas proporções entre estes componentes e, em suas estruturas e propriedades, podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais muito diferentes, que podem afetar as suas aplicações industriais. A aplicação do amido na confecção de biofilmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes (YOUNG, 1984). As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente, para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986).

A amilose, devido à linearidade de suas moléculas, é o principal componente responsável pela capacidade de formação de filmes de amido, no entanto, como filmes compostos essencialmente por amido são muito quebradiços, se torna inevitável a adição de plastificantes compatíveis, compostos estes que melhoram a flexibilidade dos filmes (MALI, 2004).

### **3.6 Elaboração de filmes biodegradáveis a partir de base protéica**

No processo de elaboração de filmes por espalhamento o pH é um fator muito importante. Geralmente, a dispersão é feita no pH alcalino para quebrar a proteína. A sensibilidade das proteínas à mudança de pH é associada geralmente com um índice elevado de aminoácidos polares ionizados. Por exemplo, os índices elevados de aminoácidos polares ionizados nas proteínas de soja (25.4%) limitam a formação da película no baixo pH (SWAIN, 2004).

Segundo Mauri; Añón, (2006) a formação de filmes de proteína de soja tem sido alcançada entre o pH de 1-3 e 6-12. Não ocorre formação de filme perto do isoeletrico da proteína (pH 4.5). Neste pH, o isolado protéico de soja (SPI) coagula ao invés de dispersar, não permitindo assim a dispersão das proteínas por espalhamento.

SOBRAL et al., (2004) estudaram as propriedades físicas de filmes constituídos de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo de tilápia-do-nylo, em razão da concentração de proteínas e do plastificante na solução filmogênica. Os filmes produzidos com soluções de maior concentração de proteínas apresentaram-se mais coloridos, mais resistentes à perfuração e à tração, com maior capacidade de deformação quando submetido à tração, e visivelmente mais opacos, embora nesse último caso, sem efeito significativo. As propriedades viscoelásticas e a deformação na perfuração não foram influenciadas pela concentração de proteínas. Todas as propriedades foram influenciadas pela concentração do plastificante.

Monterrey e Sobral (1999) caracterizaram as propriedades mecânicas e óticas de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nylo, em função do pH (2,0-3,0), da concentração de proteína ( $C_p = 0,5-2,0\text{g}/100\text{g}$  solução) e do teor de glicerol ( $C_g = 30-70\text{g}/100\text{g}$  proteína) da solução filmogênica (SF). A força e a deformação na ruptura apresentaram comportamentos opostos em função da  $C_g$  (pH= 2,5 e  $C_p = 1,25\text{g}/100\text{g}$  solução): a variação da  $C_g$  de 30 a 70% provocou uma variação na força e na deformação na ruptura entre 6,67N e 2,94N e 2,71% e 7,5%, respectivamente. A  $C_g$  e o pH exercem influência significativa sobre a força na ruptura ( $p < 0,05$ ). Porém nenhum dos fatores estudados demonstrou ter influência significativa sobre a deformação na ruptura ou sobre a opacidade aparente dos biofilmes.

Batista; Tanada-Palmu; Grosso (2005), desenvolveram filmes à base de pectina de baixo teor de esterificação, amidada, com adição dos ácidos graxos láurico, palmítico e esteárico e verificaram que a adição de 12 e 18% dos ácidos promoveu aumento da permeabilidade ao vapor de água e da elongação e redução da tensão de ruptura, em relação aos filmes com 6% de ácido graxo. Todos os filmes apresentaram-se 100% solúveis em água e mais opacos quando os ácidos graxos foram adicionados.

### **3.7 Elaboração de filmes biodegradáveis a partir de base amilácea**

Cereda et al., (1992) relataram que amido geleificado tem a propriedade de formar géis, que quando desidratados, dão origem a películas rígidas e transparentes. A obtenção de películas de amido baseia-se no princípio de geleificação da fécula (altas temperaturas, com excesso de água), com posterior retrogradação. Na retrogradação, pontes de hidrogênio são estabelecidas e o material disperso volta a se organizar em macromolécula, originando uma

película protetora em volta do fruto. A fécula geleificada quando desidratada, devido às suas propriedades físico-químicas, pode formar películas semelhantes às de celulose em resistência e transparência, representando uma alternativa potencial como películas a serem usadas na conservação de frutas e hortaliças. Não sendo tóxica, pode ser ingerida juntamente com os frutos e hortaliças, sendo facilmente removida quando necessário.

O processo para obtenção de filmes a partir do amido é baseado na técnica denominada de espelhamento, na qual são feitas dispersão, solubilização e gelatinização do amido em um solvente, geralmente água, com formação de uma solução filmogênica. Os filmes se formam depois que a solução é aplicada sobre um suporte e é seca para evaporação do solvente. Após a gelatinização térmica dos grânulos com excesso de água, amilose e amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes (MALI, 2004).

Os primeiros estudos sobre o uso de amido em embalagens de alimentos biodegradáveis foram baseados na substituição de parte da matriz sintética por amido (abaixo de 10%), porém, as principais dificuldades encontradas foram atribuídas a incompatibilidade química de amido com polímeros sintéticos (GRIFFIN, 1977 apud MALI, et al., 2004). Biofilmes tendo o amido como biopolímero para sua formação, começam a ser estudados de forma mais intensiva, sendo a fécula de mandioca selecionada como sendo a matéria-prima mais adequada (CEREDA et al., 1992).

O uso de amido para produção de bioplásticos iniciou nos anos 70 (CURVELO et. al., 2001). O amido tem vantagem de ser abundante, barato e renovável. Pode ser encontrado sob várias formas em função da origem da matéria prima (LAWTER; FISCHER, 2000 apud VILPOUX; AVEROUS, 2002).

Como os filmes confeccionados exclusivamente por amido são pouco flexíveis e quebradiços e apresentam baixa dificuldade de adequação aos processamentos convencionais para a produção de embalagens, sendo necessária a introdução de aditivos às matrizes poliméricas. A questão da rigidez pode ser resolvida através da adição de plastificantes, que melhoram as propriedades mecânicas dos filmes (GONTARD, GUILBERT; CUQ, 1993).

Atualmente, muitas pesquisas lidam com a adição de plastificantes em materiais à base de amido puro para superar a fragilidade provocada pelas altas forças intermoleculares (GARCÍA et al., 2000; SOUZA; ANDRADE, 2000).

Henrique; Cereda; Sarmento (2008), verificaram as características físicas de filmes biodegradáveis elaborados com amidos modificados de mandioca pelo processo de *casting*. Os amidos modificados utilizados foram: amido com ligação cruzada; carboximetilamido (CMA) de baixa viscosidade e alta viscosidade e esterificado. Os filmes elaborados foram comparados a um filme de PVC comercial com espessura de 0,0208 a 0,0217 mm. O RVA mostrou que, com exceção do amido com ligação cruzada, todos os amidos modificados apresentaram certa solubilidade a frio, o que facilita o preparo das soluções filmogênicas, entretanto, todos os amidos modificados apresentaram redução acentuada da tendência à retrogradação, propriedade geralmente associada à formação de filmes. As espessuras dos filmes de amido variaram de 0,0551 a 0,1279 mm, cujas espessuras mínimas foram a dos filmes de amido com ligação cruzada. Os filmes mostraram-se transparentes, manuseáveis e bem homogêneos. Não houve interferência da espessura na permeabilidade ao vapor de água, e os filmes com 5% de matéria-seca, independente do tipo de amido modificado, foram mais permeáveis que o PVC.

Olivato; Mali; Grossmann (2006), avaliaram o efeito de embalagens biodegradáveis de amido de inhame no armazenamento (30 dias / 4°C) de queijo processado obtido de fonte comercial, e comparam o seu desempenho com o de embalagens convencionais. Os resultados obtidos mostraram que a embalagem convencional foi mais eficaz na retenção do peso e atividade de água das amostras do que a embalagem de amido. Quanto à contagem

microbiana, apenas as amostras não embaladas apresentaram contaminação. A utilização de embalagens de amido de inhame pode ser uma alternativa a este tipo de produto, entretanto, é necessário que mais estudos sejam realizados no sentido de aprimorar a técnica, principalmente pelo estudo da combinação do amido a materiais que sejam uma barreira mais efetiva às trocas de vapor de água, impedindo assim, as perdas de massa do produto.

Entretanto, o maior desafio para a utilização industrial de filmes biodegradáveis obtidos de polissacarídeos é substituir as embalagens convencionais mantendo, com a mesma eficácia, a qualidade do produto e garantir sua vida de prateleira. Entre as maiores desvantagens dos filmes biodegradáveis quando comparados a embalagens convencionais são suas características mecânicas, que em geral, são inferiores (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON; 1997).

### **3.8 Uso de plastificantes na formação de filmes**

De acordo com Banker et. al.,(1996 apud Park; Chinnan,1995), plastificante é uma substância não volátil, com um ponto de ebulição alto, miscível e que quando adicionado a outro material altera suas propriedades físicas e/ou mecânicas. (Mchugh; Krochta, 1994) afirmam que polióis como sorbitol, glicerol, polietilenoglicol são plastificantes efetivos devido a suas habilidade em reduzir as ligações de hidrogênio internas ao mesmo tempo em que aumentam os espaços intermoleculares. Eles evitam rachaduras do filme durante o manuseamento e armazenagem (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993) e afetam as permeabilidades a gás, vapor de água e a solutos (BANKER, 1966 apud PARK; CHINNAN,1995).

Os plastificantes são substancias incorporadas durante o processamento de plásticos visando aumentar sua flexibilidade ou capacidade de alongamento. Eles reduzem a viscosidade do material fundido, diminuem a temperatura de transição vítrea, bem como o módulo de elasticidade. Os plastificantes são geralmente líquidos, inodoros, incolores e de baixa volatilidade. Eles podem ser classificados em monoméricos, aqueles com massa molar de até 500g/mol e poliéricos, com maior massa molar, como os poliésteres, ésteres complexos e óleos epoxidados. As características essenciais de um bom plastificante são baixa volatilidade e pouca ou nenhuma migração para a superfície, alta resistência à extração por água, óleos e solventes, compatibilidade com o polímero, baixa toxicidade e resistência térmica (NUNES; RODOLFO Jr, 2006)

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

Segundo Cuq; Gontard; Guilbert, (1998), a adição de plastificante aos biopolímeros modifica a organização tridimensional da rede polimérica, diminuindo as forças de atração intermolecular, aumentando o volume livre do sistema e deixando menos densa a matriz dos filmes, com isto ocorre um aumento da sua flexibilidade e extensibilidade. No entanto, seu aumento pode resultar em redução nas propriedades mecânicas de tração dos filmes, e em alguns casos, também na redução da barreira ao vapor de água (COUPLAND et al., 2000).

Água também é considerada um plastificante em filmes hidrofílicos, resultando em produtos com alto brilho (KUUTTI et al., 1998; COUPLAND et al., 2000).

Shimazu; Mali; Grossmann (2007) produziram filmes por espalhamento empregando amido de mandioca e diferentes concentrações de glicerol ou sorbitol e verificaram que glicerol e sorbitol apresentaram efeito antiplastificante quando empregados em baixas

concentrações ( $\leq 15$  g/100 g amido) e sob baixos valores de atividade de água ( $\leq 0,58$ ). O efeito antiplastificante pode ser demonstrado pelo decréscimo da hidrofobicidade e da flexibilidade dos filmes nestas condições. Em concentrações mais elevadas de plastificante e sob maiores atividades de água, os plastificantes empregados exerceram o efeito esperado de plastificação. Comparando-se glicerol e sorbitol, pode-se observar que o glicerol exerceu plastificação mais efetiva, tornando os filmes mais hidrofílicos (por aumentar a sua capacidade de interação com a água) e mais flexíveis.

### 3.9 Efeito do pH

Segundo Cheftel; Cuq; Lorient; (1989), o pH do meio em que a proteína se encontra tem uma influência considerável no processo de desnaturação. A maioria das proteínas são estáveis para uma determinada zona de pH e frequentemente se desnaturam quando se submetem a valores de pH muito altos ou muito baixos. Nestes valores extremos de pH, acontecem na molécula fortes repulsões eletrostáticas nos grupos iônicos, o que favorece o desdobraimento (desnaturação) da molécula. Em pH distinto do ponto isoelétrico, as proteínas possuem cargas líquidas e repelem-se entre si, podendo interagir com as moléculas de água; portanto, são mais solúveis. À medida que o ponto isoelétrico está mais próximo a diferença de cargas entre as moléculas de proteínas diminui; quando chega a ser suficientemente pequena, elas podem contatar, formar agregados e precipitar. Quando se representa a solubilidade de determinada proteína em função do pH, obtêm-se normalmente curvas em forma de “U”, em que a solubilidade mínima corresponde a pH coincidente com o ponto isoelétrico. As proteínas são mais solúveis em água quanto mais distante o pH encontra-se de seu ponto isoelétrico e, portanto, mais pontes de hidrogênio podem estabelecer-se entre as moléculas de água e as de proteínas (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Davanço; Tanada-Palmu; Grosso, (2007), avaliaram incorporação das substâncias hidrofóbicas e o efeito do pH na matriz protéica (gelatina) dos filmes, com a finalidade de observar se estes exercem influência na homogeneidade da matriz filmogênica. A adição do surfactante SDS reduziu a permeabilidade ao vapor de água dos filmes contendo ácido esteárico, ou ácido capróico. Enquanto o ajuste de pH para os filmes sem a adição de surfactantes foi eficiente na redução da permeabilidade ao vapor de água em comparação aos filmes produzidos no pH natural da solução filmogênica.

Mauri; Añón, (2006) estudaram as mudanças na solubilidade e nas propriedades moleculares de filmes de proteína, obtidos de soluções (SPI) isolado protéico de soja, com diferentes valores de pH (2, 8 e 11) e verificaram o comportamento da proteína durante formação de filme. As proteínas retiveram sua conformação nativa em filmes com pH 8, mas foram parcialmente ou extensivamente desnaturados a pH 2 e 11.

Segundo Mauri; Añón, (2006) a maior solubilidade foi observada em filmes de isolado protéico de soja, formados em pH 8, e a menor solubilidade em filmes formados em pH 2. Este fato poderia ser atribuído a falta de capacidade de proteção da água e a quantidade elevada de HCl ou NaOH usada para modificar o pH das soluções iniciais. O aumento de pH da água para 8 aumentou provavelmente a solubilidade das proteínas presentes na rede de filmes com pH 2, mas também mudou o estado da proteína no filme. Proteínas em filmes formados a pH 2 foram totalmente desnaturadas, e suas estruturas abertas lhes permitiam facilmente a interação intermolecular, mantendo as proteínas na rede do filme e / ou levando-as a fazer parte de agregados insolúveis de alto peso molecular. Ambos os efeitos poderiam afetar a solubilidade de filme.

### **3.10 Análises realizadas na caracterização de filmes**

#### **3.10.1 Espessura dos filmes**

A espessura, definida como a distância perpendicular entre duas superfícies principais do material, é um parâmetro importante para filmes plásticos. Conhecendo-se a espessura é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira a gases e ao vapor de água do material. Podendo avaliar a homogeneidade de um filme (OLIVEIRA et al., 1996). É um parâmetro que influencia as propriedades dos filmes (CUQ et al., 1996 a), por isso o controle da espessura dos filmes é importante para a uniformidade desses materiais, para a repetitividade das medidas das propriedades e validade das comparações entre as propriedades dos filmes. Variações na espessura de um material podem afetar suas propriedades mecânicas e de barreira, comprometendo o desempenho da embalagem (SARANTÓPOULOS, 2002).

Segundo Cuq et al., (1996 a) a variação da espessura (inicial) da solução filmogênica não tem implicação sobre possíveis arranjos moleculares durante o processo de secagem. E Crank, (1975 apud Henrique; Cereda; Sarmiento, 2008) salientou que a espessura do filme não deveria influenciar a permeabilidade ao vapor de água.

Para a análise de espessura, recomenda-se que as medidas sejam realizadas em corpos de prova sem irregularidade, a pelo menos 6 mm da borda. Principalmente no caso de biofilmes que tendem a trocar umidade com o meio, as amostras devem ser previamente acondicionadas em ambiente com umidade e temperatura controladas. As superfícies de medição do micrômetro devem ser limpas com óleo anticorrosivo, como éter de petróleo e anteriormente à análise, o micrômetro deve ser sempre zerado. A espessura é mais comumente expressa em mm (SARANTÓPOULOS, 2002).

Sobral (2000), estudou a influência da espessura dos biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares (de carne bovina e de tilápia-do-nylo) sobre suas propriedades funcionais. Os biofilmes foram preparados a partir de uma solução filmogênica com 1g de proteínas/100g de solução, 45g de glicerina/100g de proteínas, e o pH 2,7. E verificaram que a força na perfuração, a permeabilidade ao vapor de água, a diferença de cor e a opacidade dos dois biofilmes aumentaram linearmente com a espessura dos corpos-de-prova. A deformação na perfuração foi pouco dependente da espessura e apresentou grande dispersão, em ambos os filmes.

#### **3.10.2 Permeabilidade ao vapor de água**

Uma das mais importantes propriedades de um filme comestível é a permeabilidade ao vapor de água (PVA), que é definida pelo "Annual Book of Standards" (ASTM E96-80), como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área de um material delgado, de espessura conhecida, induzida por uma diferença de pressão entre duas superfícies específicas, sob condições de temperatura e umidade relativa especificadas (ASTM, 1989).

A diferença da pressão de vapor d'água entre componentes pode ser reduzida com o uso de plastificante, que fixa as moléculas de água no componente de maior atividade de água reduzindo a pressão de vapor (BANKER, 1966 apud MAHMOUD; SAVELLO, 1992).

Considera-se que o processo de permeação de gases e vapores através dos espaços intermoleculares do material acontece em 3 etapas: a) sorção e solubilização do permeante na superfície do material; b) difusão do permeante através do material devido à ação de um gradiente de concentração; c) dessorção e evaporação de permeante na outra face do material (SARANTÓPOULOS, 2002).

Segundo Bertuzzi et al., (2007), o transporte da água em películas comestíveis de produtos a base de amido é um fenômeno complexo devido à interação forte de moléculas de água com a estrutura polimérica do amido. A permeabilidade é afetada geralmente por parâmetros tais como a temperatura, a espessura de película e o teor do plastificante. Avaliando a permeabilidade do vapor de água de filmes comestíveis a base de amido, verificaram uma relação direta entre a permeabilidade ao vapor de água com índice do plastificante e espessura de película. Estas observações podem ser explicadas nos termos das variações no número de interações intermolecular potenciais na estrutura do filme. O plastificante (glicerol) favorece a permeabilidade ao vapor de água devido a sua natureza hidrófila e igualmente aumenta a taxa da difusão da água dentro do filme permitindo a maior mobilidade do polímero.

O método mais comum usado para determinar a permeabilidade ao vapor de água (WVP) é o método padrão para transmissão de vapor d'água de materiais (ASTM, 1990a). É um método gravimétrico que envolve a vedação do filme a ser testado em um prato parcialmente cheio com água ou solução saturada de sal (método da água) ou dessecante (método do dessecante), deixando um espaço de ar entre o filme e a solução de água, sal saturado ou dessecante. Em seguida, o prato é colocado em um ambiente com temperatura e umidade relativa controlada e a mudança de peso com o tempo, deve ser acompanhada para determinar o estado de fluxo estável de água para o filme. O fluxo é dividido pela diferença de pressão parcial sobre o filme durante o teste e multiplicado pela sua espessura para calcular os valores de WVP do filme (Mc HUGH et al., 1993).

A diferença da pressão de vapor de água entre componentes pode ser reduzida com o uso de plastificante, que fixa as moléculas de água no componente de maior atividade de água reduzindo a pressão de vapor (BANKER, 1966 apud MAHMOUD; SAVELLO, 1992).

Em aplicações onde a barreira à umidade é importante a permeabilidade ao vapor de água deve ser o mais baixo possível, uma vez que as películas comestíveis ou de revestimento devem retardar a taxa de transferência de umidade entre os alimentos e o ambiente, ou entre dois componentes de um produto alimentar heterogêneo (GONTARD; GUILBERT; CUQ; 1992).

### **3.10.3 Solubilidade em água**

A solubilidade em água de filmes biodegradáveis é de grande importância, uma vez que a grande maioria dos filmes elaborados a partir de carboidratos e proteínas possuem grande afinidade com a água (SANTOS, 2004).

A solubilidade pode ser definida como a propriedade de uma substância de formar solução com outra. Pode também ser considerada como uma medida da capacidade que tem uma determinada substância de se dissolver em outra, expressa pela concentração da solução saturada da primeira na segunda (dissolver é o mesmo que desfazer, desagregar, dispersar, dissipar) (FERREIRA, 1986).

A solubilidade em água do filme indica sua integridade em ambientes muito úmidos ou aquosos, senso que uma alta solubilidade indica uma baixa resistência a água, esta é uma importante propriedade dos filmes e coberturas comestíveis. Filmes com alta solubilidade podem ser interessantes para embalagens de alimentos desidratados que devam sofrer uma hidratação prévia no consumo. Já os alimentos com alta atividade de água demandam embalagens resistentes à água (MONTERREY-QUINTERO, 1998).

A solubilidade em água de um filme biodegradável é característica que define a sua aplicação, particularmente para alimentos em que a própria embalagem possa ser consumida juntamente com o produto embalado. Em alguns casos, a total solubilização em água pode ser benéfica, como nos produtos semi-prontos destinados ao preparo sob cozimento, os quais

podem ser consumidos com próprio alimento embalado. Quando o alimento é líquido ou então exsuda uma solução aquosa, biofilmes de elevada solubilidade não são indicados (FAKHOURI, 2007).

Segundo Shih (1996), normalmente os polissacarídeos são altamente higroscópicos e se desintegram rapidamente em água. Em semente o uso de coberturas hidrofílicas tem apresentado oportunidades de promover rápida e completa germinação das mesmas (SCOTT, 1989).

Em produtos semi-prontos destinados ao preparo por cocção, torna-se útil o uso de filmes comestíveis que se desintegram ao entrar em contato com a água (GUILBERT, BIQUET, 1989).

Batista et al., (2005), relataram que a alta solubilidade encontrada para os filmes (à base de pectina) pode ser uma alternativa para a aplicação dos mesmos em produtos que necessitem de hidratação prévia ao consumo, ou mesmo na cobertura de sementes agrícolas que necessitem de rápida germinação no campo ou como carreadores de aditivos necessários ao crescimento das mesmas.

### **3.10.4 Propriedades óticas**

Dentre as propriedades óticas de biofilmes para aplicação em embalagem, destacam-se a cor e a transparência (opacidade). A cor pode ser considerada um importante parâmetro na caracterização do biofilmes, pois está relacionada com a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos (VICENTINI, 2003).

Para uma boa apresentação visual do produto, é desejável que as embalagens plásticas apresentem elevado brilho e alta transparência. Por outro lado, muitas vezes a proteção contra a incidência de luz se faz necessária (transparência baixa ou nula), como no acondicionamento de produtos sensíveis a reações de deterioração catalisadas pela luz (OLIVEIRA et al., 1996).

Um objeto é dito transparente quando a luz incidente o atravessa com um mínimo de absorção ou reflexão. Já o seu oposto, isto é, um objeto opaco absorve e/ou reflete toda luz nele incidente, sem que ocorra alguma transmissão de luz (FERREIRA, 1981).

#### **3.10.4.1 Opacidade**

Opacidade é uma propriedade de primeira importância, se o filme for utilizado como revestimento de alimento ou como uma embalagem de alimentos (GONTARD et al., 1992).

De acordo com Oliveira (2007), para elaboração de biofilmes que visam ser utilizados como embalagens, uma maior transparência é desejável para manter as características originais do produto, como a cor, por exemplo. Em outras aplicações, como em saquinho de leite, uma maior opacidade é favorável para garantir a conservação do produto. Os filmes devem apresentar opacidade e colorações atrativas, e não devem sofrer alteração de cor com o tempo de armazenamento, para não prejudicar a aceitação do produto acondicionado.

A transparência ou opacidade do polímero é consequência da estrutura química relacionada à massa molecular do material (DAVAÇO, 2006). O grau de transparência do filme dependerá da estrutura do polímero utilizado (se mais amorfo, será mais transparente e, se mais cristalino, mais opaco) e de sua espessura (CRIPPA, 2006).

Sobral et al., (2004), estudaram as propriedades físicas de filmes constituídos de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo de tilápia-do-nylo, em razão da concentração de proteínas e do plastificante na solução filmogênica. Tanto a diferença de cor, quanto a opacidade dos filmes diminuíram com o aumento da concentração de glicerina,

provavelmente pelo efeito de diluição provocado pela glicerina (PASCHOALICK et al., 2003), que é um produto incolor e transparente.

#### **3.10.4.2 Diferença de cor**

A cor é um atributo de fundamental importância em um produto, principalmente em relação ao seu consumo, por isso a determinação da cor em filmes biodegradáveis que possivelmente atuarão como embalagem para estes produtos é importante.

De acordo com Santos (2004), a cor de um filme pode ser avaliada tanto por transmitância como por absorvância, dependendo do tipo do material. Uma forma de avaliar por transmitância é através da transmitância total, com ou sem brilho. Entre os vários tipos de equipamentos para avaliar a cor está o espectrofotômetro de cor COLOR QUEST II, marca Hunter Lab, com área de visão de uma polegada quadrada. Para leitura da cor utiliza-se o sistema CIELAB Ttan D65, ângulo 10°. Embora seja usual a prática de se fazer três leituras por amostra, também podem ser realizadas quatro medições em quadrantes diferentes do material.

Henrique; Cereda; Dupuy (2007), elaboraram e caracterizaram filmes de fécula - modificada de mandioca, na expectativa de permitir a avaliação de seu uso no setor hortifrutícola. Os filmes obtidos foram comparados pelos métodos de espectrofotometria de cor, transparência e infravermelho com os filmes de policloreto de vinila (PVC) de baixa densidade com espessura de 0,03 mm. Todos os filmes demonstraram luminosidade e transparência semelhante ao filme de PVC de baixa densidade, com característica de brancura.

Bourtoom et al., (2006), desenvolveram filmes comestíveis de proteínas de peixes avaliando os efeitos do pH, da temperatura de aquecimento, e o tempo de aquecimento da solução filmogênica e verificaram que a cor dos filmes foi mais afetada pelo pH da solução filmogênica, enquanto a temperatura de aquecimento e o tempo de aquecimento tiveram pouco efeito. Os filmes formados em níveis mais baixos de pH e temperatura de aquecimento apresentaram uma cor amarela mais clara do que os filmes formados em níveis mais altos de pH e de temperatura de aquecimento.

#### **3.10.5 Propriedades mecânicas**

A propriedade desejada de um material para embalagem de alimento depende da aplicação. Geralmente, uma embalagem de alimento pode ser um material indeformável para fornecer integridade estrutural ou reforçar a estrutura do alimento, ou uma película deformável para outras aplicações (GONTARD et al., 1992).

Filmes e coberturas empregados como embalagem de alimentos devem ser resistentes à ruptura a abrasão, para que possam reforçar a estrutura do alimento e facilitar o seu manejo, e devem também, ser flexíveis, para que possam se adaptar às possíveis deformações sem se romper (VICENTINI, 2003). De acordo com Ward; Hadley (1998), o conhecimento das propriedades mecânicas de materiais poliméricos é de fundamental importância já que destas dependem muitas das aplicações industriais. As propriedades mecânicas são aquelas que determinam a resposta destes materiais às influências mecânicas externas. Estão associadas à capacidade de desenvolver deformações reversíveis e irreversíveis e de apresentar resistência a ruptura ou fratura. Ainda, de acordo com os autores, as propriedades mecânicas são conseqüências da composição da matriz polimérica e de sua estrutura nos níveis moleculares.

As propriedades mecânicas dos filmes dependem das interações entre os componentes, ou seja, da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias (CALLEGARIN, 1997).

As características mecânicas devem ser suficientes para manter a integridade através das práticas de produção e manipulação porque qualquer dano ao filme, como perfurações e rasgos, que destrói as propriedades de barreira e proteção. A quantificação de dados para as características mecânicas dos filmes é essencial para o dimensionamento e desenho dos processos de embalagem e para que se alcancem características desejáveis de aplicação específica (MAUER; SMITH; LABUZA, 2000).

Para os filmes, o fator mais importante é apresentar uma alta resistência à tensão, enquanto que o valor da elongação depende do tipo de aplicação do filme. É essencial que o filme mantenha a sua integridade e propriedades de barreira, sob a tensão normal aplicada durante transporte e manuseio. Um filme com propriedades de barreira adequadas pode ser ineficiente se as propriedades mecânicas não permitirem a manutenção da integridade do filme durante o processo de manipulação, empacotamento e transporte. Os biofilmes devem ser resistentes à ruptura e à abrasão, fazendo com que o alimento não perca sua proteção por manuseio ou armazenamento (DAVAÇO, 2006).

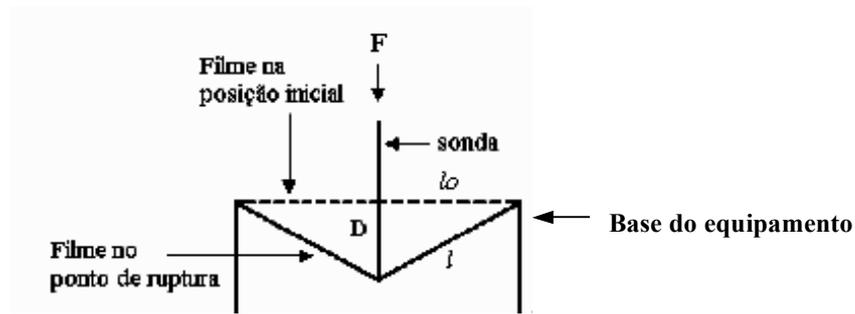
Segundo Barreto (2003), uma importante propriedade dos filmes poliméricos é sua resposta a aplicação de uma força, indicada por dois tipos principais de comportamentos: elástico e plástico. Materiais elásticos irão retornar à sua forma original desde que a força seja removida. Materiais plásticos não retomam sua forma. Em materiais plásticos, o fluxo ocorre semelhantemente a um líquido altamente viscoso. A maioria dos filmes poliméricos sintéticos demonstra uma combinação dos comportamentos elástico e plástico, apresentando comportamento plástico após o limite elástico ter sido excedido.

### **3.10.5.1 Teste de perfuração**

O teste de perfuração determina a força necessária em (N) para o dispositivo perfurar a superfície do filme usando um analisador de textura (Desrumaux et al., 1998). O computador registra e analisa a força em função do tempo, representando em uma curva o comportamento do material (PATIL et al., 2005).

O teste de perfuração é realizado através de uma sonda cilíndrica, a qual desce perpendicularmente à superfície do filme, fixado na base do equipamento, até ocorrer o seu rompimento (Figura 2). A força aplicada pela sonda em função de seu deslocamento é registrada em um gráfico, onde a altura do pico se traduz pela força de ruptura, expressa em Newton (N), e a medida do deslocamento da sonda entre o momento onde ele toca o filme e onde o filme se rompe, se traduz pela deformação do filme (expressa em %) (VICENTINI, 2003).

A deformação do filme durante a realização deste teste de perfuração é outro importante valor para a caracterização destes. De acordo com SOBRAL et al., (2001), a deformação na perfuração está relacionada ao comprimento inicial do filme utilizado no teste para a determinação da força de perfuração, ou seja, quando se aplica determinada força sobre a superfície do filme, este pode resistir até determinada instante, mantendo a sua estrutura por uma elongação até que esta se rompa.



**Figura 2** Representação esquemática do teste de perfuração na ruptura dos filmes (com modificações), (Fonte: VICENTINI, 2003).

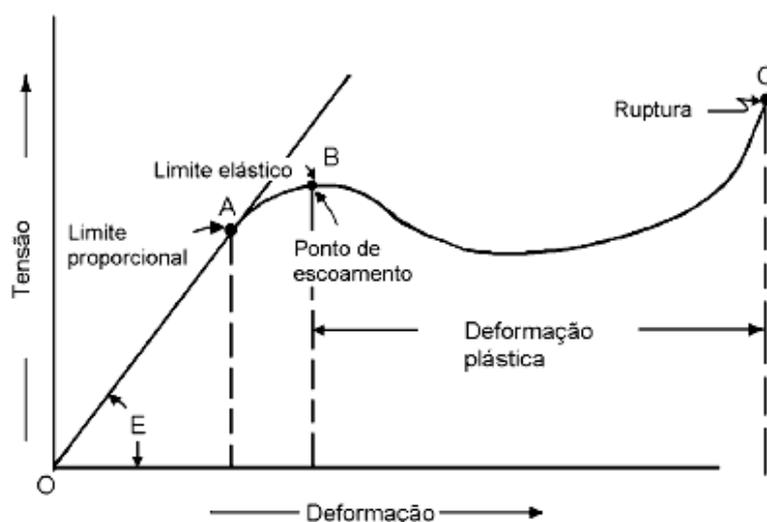
Monterrey; Sobral (1999), caracterizaram as propriedades mecânicas de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nylo, em função do pH, da concentração de proteína e do teor de glicerol da solução filmogênica. Os autores verificaram a diminuição da força na ruptura e o aumento da deformação na ruptura com o aumento do plastificante. Este comportamento foi atribuído a presença de plastificantes que diminuíram a densidade das interações proteína-proteína, aumentando a mobilidade das cadeias polipeptídicas e consequentemente, tornando os filmes menos resistentes e mais elásticos.

### 3.10.5.2 Teste de tração

O teste mais usado para medir a força mecânica é o teste de tração, onde podem ser derivadas três propriedades: tensão na ruptura, deformação na ruptura e módulo de elasticidade (VICENTINI, 2003).

As propriedades de tração expressam a resistência do material ao alongamento e mesmo ao rompimento, quando submetido à tração, sendo o módulo de elasticidade considerado um indicador da rigidez do filme. Quanto maior o módulo, mais rígido o material (OLIVEIRA et al., 1996).

As propriedades de tração expressam a resistência do material à deformação por alongamento quando submetido à tração. Observando uma curva característica de tensão de tração versus deformação de filmes flexíveis, inicialmente o material oferece resistência crescente à solitação de tração, a qual provoca seu alongamento. A partir de certo ponto, o aumento de resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento, a partir do qual é possível alongar o filme sem que este responda com um aumento de resistência. Continuando o alongamento, o material resiste até que ocorra sua ruptura (SARANTÓPOULOS, 2002) (Figura 3).



**Figura 3** Curva característica da relação resistência a tração versus deformação (Fonte Miltz, 1992)

Materiais diferentes exibem padrões de tração diferentes. Por exemplo, um filme de polissacarídeo possui alta resistência à tração e pouca alongação, enquanto que filmes protéicos apresentam moderada resistência à tração e grande alongação. Essas diferenças podem ser devidas à estrutura molecular diferente. A estrutura da cadeia polimérica de polissacarídeos é linear, enquanto que as proteínas apresentam uma estrutura complexa devido às interações inter e intra-moleculares dos grupos radicais (CHEN, 1995). As medidas de tensão na ruptura e deformação na ruptura são geralmente conduzidas de acordo com o método padrão de propriedades de tração de filme plástico fino (ASTM, 1993). Utiliza-se um instrumento universal de teste mecânico, como o Instron ou o texturômetro TAHDi.

A resistência máxima à tração (Tensão na Tração), como o próprio nome já diz, é a resistência máxima oferecida pelo material quando submetido à tração. A resistência à tração é a relação entre a força, medida pela área transversal inicial do corpo de prova. É comumente expressa em MPa, N/m<sup>2</sup> ou kgf/cm<sup>2</sup>. Já o fator de ruptura, é a relação entre a força máxima

de tração por unidade de largura inicial do corpo de prova. É um parâmetro alternativo para caracterizar a resistência à tração de filmes cuja seção transversal não é homogênea, como em filmes cuja espessura com grande desvio de espessura. É também expresso em MPa, N/m<sup>2</sup> ou kgf/cm<sup>2</sup> (SARANTÓPOULOS, 2002).

A porcentagem de alongamento (deformação na tração) é a relação entre o alongamento do corpo de prova e seu comprimento inicial, podendo ser determinada para a situação de ruptura (SARANTÓPOULOS, 2002).

O módulo de elasticidade é a razão entre a tensão e a deformação dentro do limite elástico, em que a deformação é totalmente reversível e proporcional à tração (MANO, MENDES, 1999).

Arvanitoyannis et al., (1996) estudaram propriedades físicas de filmes comestíveis de misturas de caseinato de sódio com amidos de diferentes origens (milho e trigo) plastificados com água, glicerol ou açúcares. Os resultados apontaram que um aumento no conteúdo de água/glicerol provocou uma diminuição considerável no módulo de elasticidade e na tensão máxima dos filmes.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de 01 de fevereiro a 30 de maio de 2008 nos laboratórios de reologia, moagem e sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Guaratiba, RJ.

### 4.1 Matéria-prima

Foram utilizados extrato protéico de soja (EPS) comercial (Arma Zen Produtos Naturais LTDA, Rio de Janeiro, RJ) e amido de mandioca denominado polvilho doce (Yoki Alimentos, Paranavaí, PR) adquiridos no comércio local do Rio de Janeiro. Glicerina P.A. e ácido acético glacial P.A. (Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, RJ) e hidróxido de sódio P.A. (Reagentes Analíticos Dinâmica, Diadema, SP) foram utilizados.

### 4.2 Equipamentos

Na Tabela 1 encontram-se os equipamentos utilizados para elaboração e caracterização dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato protéico de soja.

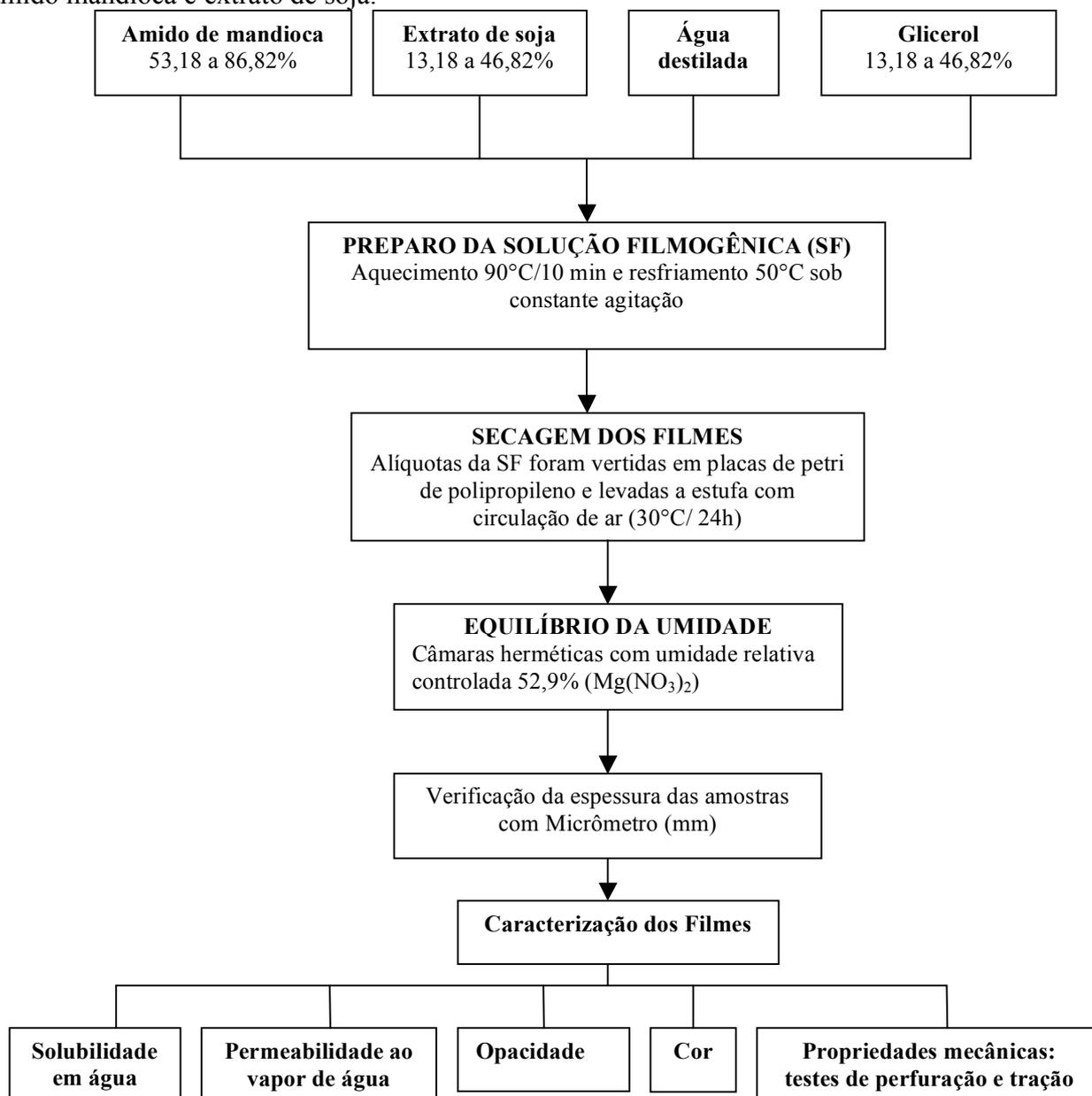
**Tabela 1** Equipamentos utilizados

Equipamento	Utilização
pHmetro de bancada PHTEK modelo PHS-3B, Brasil.	Correção do pH da água.
Viscoamilógrafo modelo N182506 (Brabender, Duisburg, Alemanha)	Aquecimento e homogeneização da solução filmogênica.
Balança semi-analítica TECNAL, modelo B-TEC-330, (Piracicaba, Brasil)	Controle das alíquotas nas placas descartáveis; controle de peso no teste de PVA
Estufa com circulação de ar forçada (ELKA, Alemanha).	Secagem da solução filmogênica na placas descartáveis; secagem das amostras no teste de solubilidade em água;
Câmaras herméticas	Armazenamento dos filmes e equilíbrio da umidade.
Micrômetro digital Fowler IP 54 (Newton, EUA)	Determinação da espessura dos filmes.
Dessecador de plástico (diâmetro 250 mm)	Permeabilidade ao vapor de água.
Incubadora tipo BOD, Hydrosan (Belo Horizonte, Brasil)	Armazenamento do conjunto célula de permeação e dessecadores no teste de PVA.
S & M Colour Computer modelo SM - 4 – CH da Suga (Tóquio, Japão)	Análise de cor.
Espectrofotômetro FEMTO modelo 700 PLUS (São Paulo, Brasil).	Determinação da opacidade aparente dos filmes
Agitador do tipo banho Dubnoff - modelo NT.232 (Piracicaba, Brasil)	Teste de solubilidade em água dos filmes.
Texture Analyser TA HDi (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra).	Propriedades mecânicas: teste de tração e teste de perfuração.

### 4.3 Elaboração dos Filmes

Experimentos preliminares foram realizados para determinar a concentração de extrato protéico de soja em relação ao teor de amido de mandioca, o teor de glicerol e o pH da solução na qual o extrato protéico foi solubilizado. Foi observado que o método de mistura "tudo de uma vez", ou seja, todos os ingredientes sólidos são adicionados à fase líquida de uma só vez produziu soluções filmogênicas com muitos grumos devido a não solubilização adequada, particularmente da fração protéica. Sendo assim, optou-se por solubilizar a proteína de soja previamente no volume de água a ser usado na formulação da solução filmogênica.

Os filmes foram elaborados segundo a técnica de espalhamento, que consiste na desidratação de uma solução filmogênica (SF) aplicada em um suporte (GONTARD et al., 1992). Na Figura 4 encontra-se o fluxograma da elaboração e caracterização dos filmes de amido mandioca e extrato de soja.



**Figura 4** Fluxograma da elaboração e caracterização dos filmes biodegradáveis.

O pH da água utilizada para elaboração dos filmes foi previamente corrigido com ácido acético glacial e hidróxido de sódio, utilizando um pHmetro de bancada PHTEK modelo PHS-3B, Brasil.

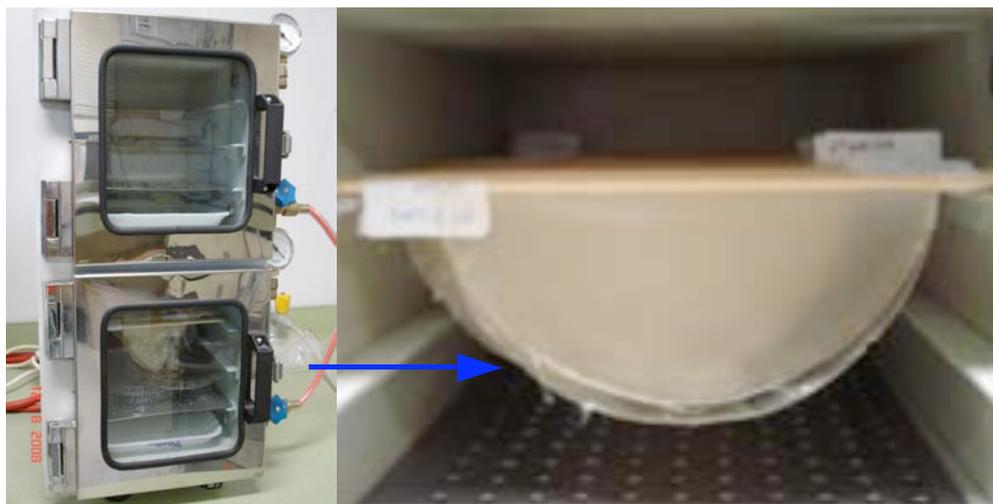
As soluções filmogênicas a 2,5% (p/p) de sólidos totais (ST) de amido mandioca, de extrato protéico de soja (13,18; 20; 30; 40 e 46,82%), de glicerol (13,18; 20; 30; 40 e 46,82%), valores calculados com base no teor de sólidos totais da mistura e pH variável (1,9; 4; 7; 10 e 12) foram preparadas em um Viscoamilógrafo modelo N182506 (Brabender, Duisburg, Alemanha) (Figura 5). Inicialmente o extrato de soja foi dissolvido manualmente com auxílio de um bastão de vidro para evitar a formação de grumos e, posteriormente, adicionou-se o amido de mandioca seguido do glicerol. As soluções filmogênicas foram aquecidas até 90°C, permanecendo nesta temperatura por 10 min e resfriadas a 50°C, sob constante agitação.



**Figura 5** Viscoamilógrafo usado na preparação das soluções filmogênicas.

#### **4.3.1 Secagem e condicionamento dos biofilmes**

Após o resfriamento da SF, o controle de peso foi feito em balança semi-analítica (TECNAL, modelo B-TEC-330), onde alíquotas de 41,7 g foram vertidas em placas de petri de polipropileno, com 142 mm de diâmetro para secagem em estufa com circulação de ar forçada (ELKA, Alemanha) a temperatura de 30°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) por 24 h. Após a secagem, os filmes foram destacados manualmente das placas e armazenados em câmaras herméticas (Figura 6) com umidade relativa do ar controlada a 52,9% obtida com o uso de uma solução saturada de nitrato de magnésio ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ) por 6 dias de forma a alcançar o equilíbrio do teor de umidade dos filmes, os quais foram então caracterizados.



**Figura 6** Câmaras herméticas onde os filmes ficaram armazenados.

#### 4.4 Planejamento Experimental

Para estudar o efeito da concentração de soja (%), da concentração de glicerol (%) e do pH da solução filmogênica sobre as propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis usou-se delineamento experimental central composto rotacional de 2º ordem com seis repetições no ponto central e seis axiais. As variáveis foram estabelecidas com três níveis codificados -1, 0, +1 (BOX, et al., 1978). O delineamento apresenta seis níveis de variáveis axiais codificadas como  $-\alpha$  e  $+\alpha$ . O valor de  $\alpha$  depende do número fatorial ( $f=2^k$ ) do delineamento e do número de variáveis independentes ( $k=3$ ), sendo definido pela equação 1:

$$\alpha = (f)^{1/4} = (2^k)^{1/4} = (2^3)^{1/4} = 1,682 \quad (1)$$

Foram realizados 20 ensaios, sendo oito fatoriais (combinação dos níveis -1 e +1), seis axiais (uma variável no nível  $\pm\alpha$  e outra no nível 0) e seis centrais servindo como estimativa do erro experimental e para determinar a precisão da equação polinomial (COCHRAN e COX, 1964). Tanto os níveis codificados (-1, 0, +1) quanto os axiais ( $-\alpha, +\alpha$ ) e os fatores têm seus valores reais apresentados na Tabela 2 e delineamento completo na Tabela 3.

**Tabela 2** Variáveis independentes e seus respectivos níveis

Variáveis independentes	Níveis				
	-1,682	-1	0	+1	+1,682
Extrato de Soja (%)	13,18	20	30	40	46,82
Glicerol (%)	13,18	20	30	40	46,82
pH	1,95	4	7	10	12,05

Na Tabela 3 apresentam-se os valores codificados e reais do delineamento experimental completo para três variáveis independentes e cinco níveis de variação. As variáveis dependentes estudadas foram: espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), opacidade, cor, solubilidade, teste de tração e perfuração.

**Tabela 3** Delineamento completo do desenho experimental do processo de elaboração de biofilme de amido de mandioca e extrato de soja.

Ensaio*	Níveis codificados das variáveis			Níveis reais das variáveis		
	Concentração Soja	Concentração Glicerol	pH	Concentração Soja	Concentração Glicerol	pH
1	-1	-1	-1	20	20	4
2	-1	-1	+1	20	20	10
3	-1	+1	-1	20	40	4
4	-1	+1	+1	20	40	10
5	+1	-1	-1	40	20	4
6	+1	-1	+1	40	20	10
7	+1	+1	-1	40	40	4
8	+1	+1	+1	40	40	10
9	-1,682	0	0	13,18	30	7
10	+1,682	0	0	46,82	30	7
11	0	-1,682	0	30	13,18	7
12	0	+1,682	0	30	46,82	7
13	0	0	-1,682	30	30	1,954
14	0	0	+1,682	30	30	12,046
15	0	0	0	30	30	7
16	0	0	0	30	30	7
17	0	0	0	30	30	7
18	0	0	0	30	30	7
19	0	0	0	30	30	7
20	0	0	0	30	30	7

\* Aleatorizados previamente à experimentação.

#### 4.5 Caracterização da matéria-prima

O extrato protéico de soja foi caracterizado quanto a sua composição centesimal: determinação de cinzas por incineração em mufla a temperatura de 550°C, segundo metodologia 923.03 descrita pela Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 2005; determinação de extrato etéreo segundo método 945.38 - AOAC 2000; determinação de nitrogênio total pelo método Kjeldahl tradicional – American Association of Cereal Chemists (AACC), 1995, método 46-13 modificado (catalisador Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub> e Se; titulante H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N); determinação da umidade em estufa à 105°C segundo método B-I 4, DGF, 1995; e carboidratos por diferença.

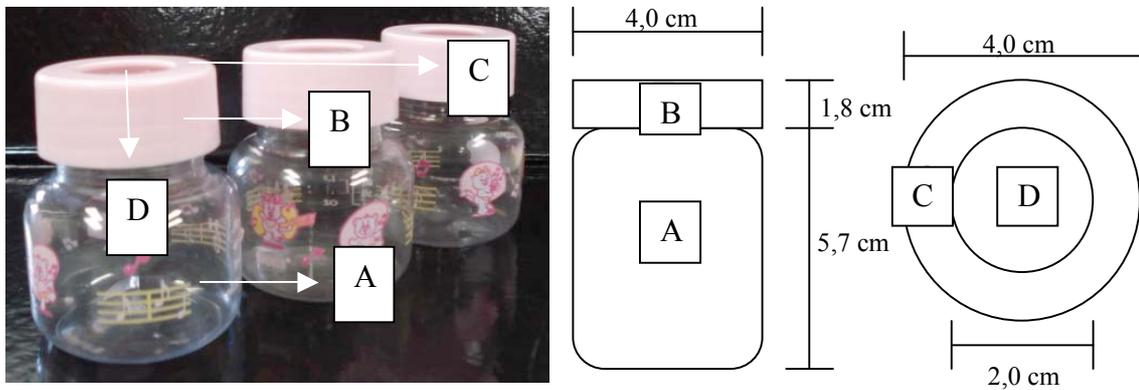
## 4.6 Caracterização dos filmes biodegradáveis

### 4.6.1 Espessura dos Filmes

A espessura dos filmes foi determinada com auxílio de um micrômetro digital Fowler IP 54 (Newton, EUA), com sensibilidade de  $\pm 0,001$  mm, em cinco pontos aleatórios, conforme a metodologia descrita por CAO; FU; HE (2007). A média de três filmes de cada tratamento foi considerada como resposta.

### 4.6.2 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente a  $25^{\circ}\text{C}$ , de acordo com o método E96-80, descrito na ASTM (*American Society for Testing and Materials*), com modificações, citado por GONTARD (1991 apud VICENTINI, 2003). Os filmes foram cortados em formato circular e aplicados em células de permeação de plástico adaptadas (Figura 7), contendo água destilada na umidade relativa de 100%.



**Figura 7** Células de permeação de plástico.

As células foram acondicionadas em dessecadores contendo sílica gel e o conjunto foi armazenado a  $25^{\circ}\text{C}$  em uma incubadora tipo BOD, Hydrosan, Belo Horizonte MG. O peso da célula e filme foi monitorado em intervalos de 24 h por 9 dias por meio de uma balança semi-analítica TECNAL, modelo B-TEC-330 (São Paulo, Brasil). O fluxo de permeabilidade ao vapor de água ( $F_{va}$ ) foi calculada de acordo com a Equação 2:

$$F_{va} = \frac{g}{tA} \quad (2)$$

onde A é a área de permeação, g é o ganho de peso e t o tempo total em horas. O termo g/t foi calculado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo, no regime permanente.

Posteriormente, a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada com a equação 3:

$$PVA = \left( \frac{g}{tA} \right) * \left( \frac{X}{\Delta P} \right) \quad (3)$$

Onde: X é a espessura média dos filmes e  $\Delta P$  é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (0 kPa, a  $25^{\circ}\text{C}$ ) e a água pura (3,167 kPa, a  $25^{\circ}\text{C}$ ).

### 4.6.3 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes foi determinada segundo a metodologia proposta por Gontard et al., (1992). Os filmes de umidade conhecida foram recortados em formato circular com 20 mm de diâmetro e pesados, sendo então mergulhados em béquer contendo 50 mL de água destilada e agitados lentamente por 24 h, a 25°C em um agitador do tipo banho Dubnoff - modelo NT.232 (Piracicaba, Brasil) Após este período as amostras foram removidas e secas (105°C por 24h) em uma estufa para determinar o peso do material que não foi solubilizado. A solubilidade é expressa pela porcentagem de material seco solubilizado conforme a Equação 4:

$$\%MS = \left( \frac{PI - PF}{PI} \right) * 100 \quad (4)$$

onde: %MS é a porcentagem de material seco solubilizado, PI é o peso inicial do material seco e PF é o peso final do material seco não solubilizado.

### 4.6.4 Propriedades Ópticas

#### 4.6.4.1 Cor

A análise instrumental de cor foi realizada por reflectância no Suga SM-4-CH (Tóquio, Japão) (Figura 8) no sistema Hunter com abertura de 30 mm de diâmetro. Os parâmetros de cor medidos em relação à placa branca (L =90,22; a =-2,34; b =1,39) foram:

- **L** = luminosidade (0 = preto e 100 = branco)
- **a** (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho)
- **b** (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo)
- **ΔE** (diferença total de cor =  $\sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$  (5))

Realizou-se 4 repetições para cada amostra disposta em placa de Petri com 5 cm de diâmetro e 2 cm de altura.



**Figura 8** Colorímetro usado na determinação da cor dos filmes.

#### 4.6.4.2 Medida da Opacidade

A opacidade aparente dos filmes foi determinada com a ajuda de um espectrofotômetro FEMTO modelo 700 PLUS (São Paulo, Brasil). Os filmes foram cortados

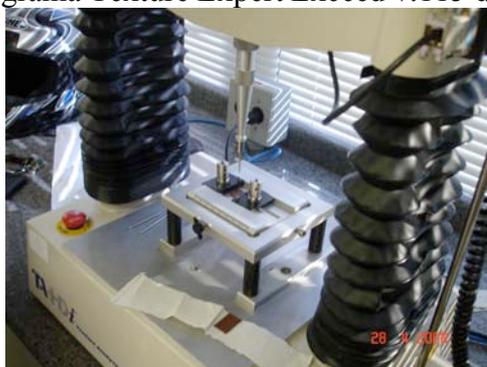
em retângulos e aderidos à parede interna da cubeta do espectrofotômetro, e o ar usado como a referência. Nessas condições, varreu-se a faixa do comprimento de onda da luz visível, a 500 nm para cada filme e a opacidade da película foi calculada de acordo com a Equação 6:

$$\text{Opacidade} = A_{500} \frac{500}{T} \quad (6)$$

onde  $A_{500}$  é a absorção a 500 nm, e  $T$  é a espessura de película (em mm) (CHO e RHEE, 2004; SHIKU, HAMAGUCHI, BENJAKUL, VISESSANGUAN, e TANAKA, 2004). Esta análise foi realizada em triplicata.

#### 4.6.5 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas de interesse foram perfuração (Figura 9a) e tração (Figura 9b). Ambos os testes foram realizados em um analisador de textura Texture Analyser TA HDi (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra). Os resultados em triplicata dos testes mecânicos foram analisados com o programa Texture Expert Exceed v.115 disponível no equipamento.



(a)



(b)

**Figura 9** Analisador de textura Texture Analyzer TA HDi (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra) utilizado na determinação nos testes de perfuração (a) e de tração (b).

##### 4.6.5.1 Teste de Perfuração

A força e a deformação na ruptura foram determinadas em testes de perfuração, segundo metodologia difundida na literatura (GONTARD, 1991, apud VICENTINI, 2003); CUQ et al., 1996 a). Os corpos de prova (20 mm de comprimento e 15 mm de largura) foram fixados em célula com garras móveis com 10 mm abertura e perfurados por uma sonda de 3 mm de diâmetro, deslocando-se a velocidade de 1 mm/s. A força ( $F$ ) na perfuração e o

deslocamento da sonda (D) na perfuração foram determinados diretamente nas curvas de força e deformação. A deformação na ruptura por perfuração ( $\Delta l / l_0$ ) foi calculada de acordo com a Equação 7 (GONTARD et al., 1992):

$$\Delta l / l_0 = (\sqrt{D^2 + l_0^2} - l_0) / l_0 \quad (7)$$

onde  $l_0$  é o comprimento inicial do filme, igual a metade da abertura célula de medida (5mm).

#### 4.6.5.2 Teste de Tração

A tensão, a deformação na ruptura e o módulo de elasticidade foram determinados baseando-se no método padrão D 828-95a da American Society for Testing and Materials (ASTM, 1995). Os filmes foram cortados em corpos de prova com 15 mm de largura e 40 mm de comprimento e fixados no aparelho. A distância inicial ( $l_0$ ) entre as garras foi de 30 mm e a velocidade de tração 0,9 mm/s. A tensão na ruptura foi calculada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme, e a deformação na ruptura, considerada como deformação linear  $[(l - l_0) / l_0]$ , foram determinadas através da curva de tensão x deformação. O módulo da elasticidade foi calculado como sendo a inclinação da região linear da curva de tensão em função da deformação.

#### 4.6.6 Análise Estatística dos Resultados

De acordo com Box; Draper, (1967), para a análise dos resultados experimentais, a metodologia de superfície de resposta descreve o comportamento de um sistema no qual estão combinados as variáveis independentes ( $X_k$ ) e variável dependente ou de resposta ( $Y_i$ ). A resposta é uma função dos níveis nos quais as variáveis independentes foram combinadas e definidas como pode ser observado na Equação 8:

$$Y_i = F(X_1, X_2, \dots, X_k) \quad (8)$$

Aplicou-se uma análise de variância (ANOVA) de regressão não-linear para o modelo polinomial de segunda ordem para estabelecer o modelo matemático preditivo das variáveis respostas, como segue na Equação 9 :

$$Y_i = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon) \quad (9)$$

Onde:

$Y_i$  = função resposta;

$X_1, X_2$  e  $X_3$  = valores das variáveis independentes;

$\beta_0$  = coeficiente relativo à interpretação do plano com o eixo resposta;

$\beta_1, \beta_2$  e  $\beta_3$  = coeficiente lineares estimados pelo método dos mínimos quadrados;

$\beta_{11}, \beta_{22}$  e  $\beta_{33}$  = coeficientes das variáveis quadráticas;

$\beta_{12}$  = coeficiente de interação entre as variáveis independentes;

$\varepsilon$  = erro experimental;

A adequação do melhor modelo estatístico para o ajuste dos dados experimentais foi realizada usando o método “Horward Selections”(passa para frente), isto é, o modelo polinomial foi escolhido em base ao menor valor da soma dos quadrados do erro, calculada pela ANOVA. Também se levou em conta o coeficiente de determinação da regressão ( $R^2$ ), e foi usado critério de Khuri e Cornell (1996), quanto mais próximo a 1 o valor  $R^2$ , menor será o erro e melhor o modelo.

Os coeficientes do modelo preditivo foram escolhidos levando em conta sua significância estatística. O critério utilizado foi o do valor da probabilidade (P) a nível de 5% de significância.

A ANOVA, o cálculo do coeficiente de regressão polinomial e os gráficos de superfície de resposta foram obtidos por meio da Metodologia de Superfície de Resposta (MRS) usando-se o programa Statistica for Windows v. 6.0 (Tulsa, EUA).

A ANOVA e os coeficientes do modelo polinomial foram calculados usando os valores codificados das variáveis independentes, já os gráficos foram gerados com os dados reais, em função de duas variáveis, mantendo-se para a outra variável o valor constante relativo ao ponto central.

Ainda conforme Khuri e Cornell (1996); e Barros Neto et al., (2001); o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) que mede a proporção da variação total da resposta explicada pelo modelo. Desse modo, quanto maior o  $R^2$ , isto é, quanto mais próximo de 1, menor será o erro e melhor o modelo. Segundo estes autores, modelos com  $R^2 < 0,60$  devem ser usados somente como indicadores de tendência, nunca para fins preditivos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição centesimal da matéria-prima

Segundo a Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões (CNNPA) Brasil, nº 14/78, extrato de soja líquido e/ou em pó é o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial.

O extrato protéico de soja em pó usado apresentou 51,44% de proteína, 6,59% de cinzas, 0,53% de extrato etéreo, 3,99% de umidade e, por diferença, 37,45% de carboidratos.

A resolução CNNPA nº 14/78 afirma que o teor de proteína para o extrato de soja deve apresentar um valor mínimo de 41,5%, o teor de cinzas deve apresentar um valor máximo de 7,0%, o teor de extrato etéreo deve apresentar um valor máximo de 13,8%, o teor de umidade deve apresentar um valor mínimo de 3,0%, e o teor de carboidrato deve apresentar um valor máximo de 34,6%. Pode-se observar que os teores de proteína e demais constituintes estão dentro da faixa definida pela CNNPA, diferindo apenas o teor de água.

### 5.2 Avaliação geral dos filmes elaborados

A Figura 10 ilustra cortes representativos dos 20 filmes de amido de mandioca e extrato de soja elaborados pela técnica do tipo *casting*.

Os filmes elaborados no presente trabalho apresentaram aproximadamente 0,116mm de espessura e 14 cm de diâmetro. Foram identificados de 1 a 20, conforme as combinações dos 20 ensaios do delineamento estatístico, sendo o amido de mandioca a base da solução filmogênica, e as variáveis, proteína de soja ( $X_1$ ), glicerol ( $X_2$ ) e pH ( $X_3$ ) avaliadas em diferentes concentrações ao longo do trabalho.

Como pode ser observado na Figura 10 os filmes de amido de mandioca e extrato de soja avaliados mostraram-se contínuos com bom aspecto, homogeneidade variável, em geral foram de fácil manuseio e sem fraturas após a secagem. Com relação à homogeneidade pode-se observar que o tratamento 5 (40% soja; 20% glicerol, pH 4) apresentou a maior opacidade, o que pode ser um atributo positivo, pois muitas vezes a proteção contra a incidência de luz é necessária, como nas embalagens de produtos sensíveis a luz. Já os tratamentos com maior teor de glicerol 4 (20% soja, 40% glicerol, pH 10), 12 (30% soja, 46,82% glicerol, pH 7) e 14 (30% soja, 30% glicerol, pH 12) apresentaram maior dificuldade em ser retirados da placa sem provocar a ruptura do filme e foram manuseados cuidadosamente para evitar que aderissem entre eles quando se sobrepusessem.



(Continua)



**Figura 10**-Imagem ilustrativa dos 20 filmes de amido de mandioca e extrato protéico de soja elaborados no presente trabalho.

### 5.3 Espessura

Os resultados experimentais da análise de espessura estão dispostos no Anexo A, nota-se que o aumento do teor de glicerol (de 13% à 46%) na formulação, levou a uma elevação da espessura dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 11 e 12. As análises estatísticas aplicadas aos resultados estão na Tabela 4.

**Tabela 4.** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a espessura, dos filmes biodegradáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>Espessura (mm)</b>
Intercepto	1,16E-01 ***
$X_1$	3,57E-04 n.s
$X_1^2$	-2,31E-03**
$X_2$	5,41E-03***
$X_2^2$	1,10E-03 n.s
$X_3$	1,45E-04 n.s
$X_3^2$	1,51E-03 n.s
$X_1 X_2$	3,58E-04 n.s
$X_1 X_3$	-1,84E-03 n.s
$X_2 X_3$	3,54E-03***
$R^2$	0,79
<b>Falta de Ajuste</b>	0,000148 n.s

$X_1$ : Proteína de soja (%)  $X_2$ : Glicerol (%)  $X_3$ : pH; -  
n.s= Não significativo;  
\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;  
\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;  
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

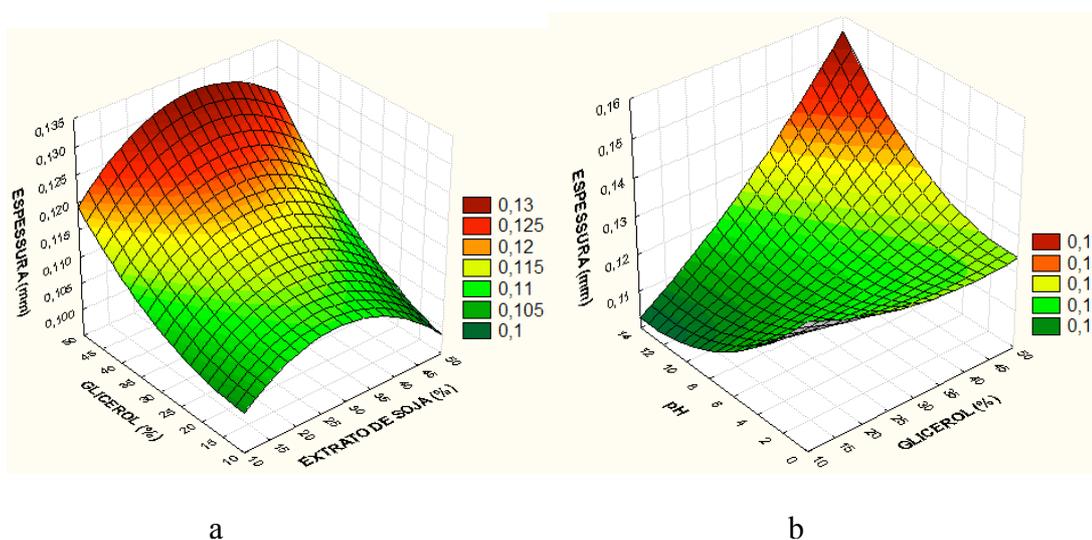
De acordo com a Tabela 4 o glicerol ( $P < 0,001$ ) possui efeito significativo variando linearmente, em sentido positivo, indicando que quanto maior a quantidade de glicerol adicionada na solução filmogênica maior a espessura do filme. Isto não aconteceu com a adição de extrato de soja ( $P < 0,01$ ), que apresentou efeito quadrático, porém, com sentido negativo, indicando a existência de um máximo na espessura do filme. Pode-se observar também que há uma interação entre pH e glicerol ( $P < 0,01$ ), onde o efeito positivo indica que o aumento de um fator ou de ambos, eleva a espessura do filme. O coeficiente de determinação indica que mais de 79% da variação dos dados se deve ao modelo de regressão aplicado e menos de 20% possivelmente se deve aos erros experimentais. A falta de ajuste não foi significativa para espessura, indicando que o modelo escolhido representa o sistema adequadamente e pode ser usado para fins preditivos (THOMPSON, 1982)

De acordo com as variáveis independentes selecionadas por meio de sua significância gerou-se a seguinte equação polinomial:

$$\text{Espessura} = 0,116377 + 0,002311 X_1^2 + 0,005407 X_2 + 0,003542 X_2 X_3 \quad (10)$$

Com base neste modelo, foram construídos gráficos superfície de resposta para a espessura, conforme Figuras 11a e 11b. Pode-se observar que com o aumento dos percentuais de extrato de soja e de glicerol, a espessura dos filmes aumenta, o efeito quadrático negativo do extrato de soja indica superfície com concavidade voltada para baixo, porém o glicerol é a variável que mais influencia na elevação da espessura e o extrato de soja foi a variável

significativa de menor influência. A interação pH e glicerol mostra que o aumento em paralelo, do valor do pH e do teor de glicerol, favorece a elevação da espessura dos filmes.



**Figura 11**-Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a espessura (mm) dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

No presente estudo a espessura dos filmes aumentou com a adição de glicerol, resultado similar foi observado por SHIMAZU; MALI; GROSSMANN (2007), que verificaram que a espessura dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca variou de 0,07 a 0,10 mm; sendo que filmes sem plastificante apresentaram espessura de 0,07 mm e, à medida que o teor de plastificante aumentou, as espessuras dos filmes chegaram a 0,10 mm. Como foi colocada a mesma quantidade de solução filmogênica nas placas para a formação dos filmes com as diferentes formulações, filmes com maior teor de plastificante, que continham maior teor de sólidos totais secos apresentaram a maior espessura.

A formação de filmes mais espessos com o aumento do teor de extrato de soja na solução filmogênica, pode ser atribuído a redução da concentração de amido, que ao se gelatinizar forma uma matriz amilácea que é parcialmente substituída pela fase de protéica, de maior expansão que o amido gelatinizado. De acordo com Paes; Yakimets; Mitchell (2008), durante a gelatinização do amido, ocorre aumento do volume, da viscosidade e exsudação de amilose para o meio formando uma matriz homogênea.

Com relação a interação entre glicerol e pH, sabe-se que o glicerol tem habilidade em reduzir as ligações de hidrogênio internas, e que quanto mais alcalino o pH do meio, menor a atividade de íons  $H^+$  efetivamente dissociados, sendo assim a capacidade do glicerol de dissociar íons  $H^+$  possivelmente foi reduzida pelo pH alcalino do meio, permitindo a formação de pontes de hidrogênio entre os outros constituintes da solução filmogênica (amido, proteína, água), formando um rede tridimensional mais espessa.

## 5.4 Permeabilidade ao vapor de água

Os resultados experimentais da análise de permeabilidade ao vapor de água (PVA) estão no Anexo A, pode-se observar que a variação foi de 0,168 a 0,374 ( $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}$ ), para esta análise trabalhou-se com 18 tratamentos, eliminou-se 2 pontos centrais, afim de reduzir o erro experimental. Na Tabela 5 encontra-se a análise estatística aplicada aos dados experimentais.

**Tabela 5.** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a permeabilidade ao vapor de água, dos filmes biodegradáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>PVA (<math>\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}</math>)</b>
Intercepto	2,71E-01***
$X_1$	9,82E-03 n.s
$X_1^2$	9,87E-03 n.s
$X_2$	2,08E-02**
$X_2^2$	-1,86E-03 n.s
$X_3$	-1,62E-02**
$X_3^2$	-1,73E-02**
$X_1 X_2$	9,50E-03 n.s
$X_1 X_3$	-2,41E-02**
$X_2 X_3$	1,23E-02 n.s
$R^2$	0,62
<b>Falta de ajuste</b>	4,52E-02**

$X_1$ : Proteína de soja (%)  $X_2$ : Glicerol (%)  $X_3$ : pH;

n.s= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

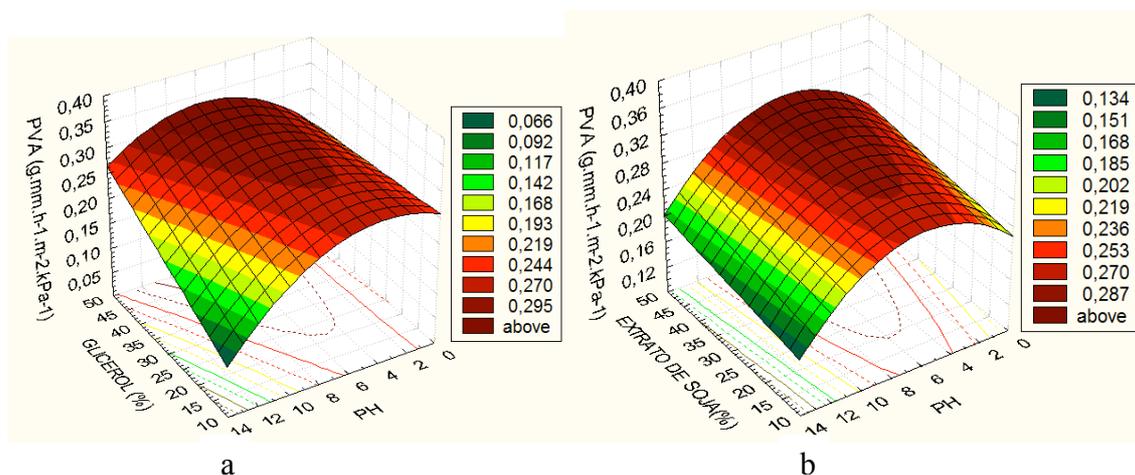
Pode-se observar na Tabela 5 que teor de glicerol ( $P<0,01$ ) apresentou efeito positivo sobre a PVA, indicando que o aumento deste fator contribui para a elevação da PVA dos filmes, já a variável pH ( $P<0,01$ ) apresentou efeito linear negativo, que indica que a elevação deste fator leva a diminuição da PVA e também efeito quadrático com o valor do sinal negativo indicando a existência de um máximo na PVA dos filmes, a interação extrato de soja e pH ( $P<0,01$ ) linear negativa mostra que a elevação destes fatores leva a diminuição da permeabilidade ao vapor de água, O coeficiente de determinação demonstra que 61% da variação dos dados se deve ao modelo da regressão aplicado e 39% possivelmente se deve aos erros experimentais. A falta de ajuste foi significativa para PVA, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes significativas é a seguinte:

$$\text{PVA} = 0,252786 + 0,026720 X_2 - 0,016169 X_3 - 0,017335 X_3^2 - 0,024125 X_1 X_3 \quad (11)$$

Foram construídos gráficos superfície de resposta (Figuras 12a e 12b) com base na equação polinomial acima, para a permeabilidade ao vapor de água, onde observou-se a redução da permeabilidade ao vapor de água com a redução do glicerol e com a elevação do pH, o efeito quadrático com valor negativo do pH indica superfície com concavidade voltada

para baixo e que existe um limite deste fator para reduzir a PVA dos filmes, porém o glicerol é a variável que mais influencia na redução da PVA, e o pH foi a variável que exerceu menor influência na PVA. A interação extrato de soja e pH mostra que, a combinação dos valores de pH alcalino com os menores teores de extrato de soja favoreceu a redução da permeabilidade ao vapor de água.



**Figura 12** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a PVA dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

A redução da permeabilidade ao vapor de água com a redução do glicerol é um resultado que vem sendo relatado na literatura, pois é comum em filmes ocorrer o aumento da permeabilidade ao vapor de água com o aumento da concentração de plastificante higroscópico (SOBRAL, OCUNO, 2000, CUQ et al., 1997). Segundo Cuq et al., (1997), possivelmente devido à incorporação de plastificante à rede de proteínas tornando-a menos densa e, conseqüentemente, mais permeável, facilitando assim a migração de moléculas de vapor de água. Mali et al., (2004), pesquisando o efeito do glicerol em filmes de amido de inhame, observou a elevação da PVA com o aumento da concentração de glicerol, e sugeriu que este comportamento pode estar relacionado com modificações estruturais da rede do amido que podem tornar-se menos densas, em combinação com o glicerol de caráter hidrofílico, que é favorável à adsorção e dessorção de moléculas de água.

O efeito do pH na permeabilidade ao vapor de água também foi relatado no trabalho de HERALD et al., (1995), que comparou filmes de glúten de trigo preparados a vários valores de pH, e observou que os filmes preparados a pH 3.3 apresentaram permeabilidade ao vapor de água mais elevada, presumivelmente devido à conformação de desdobramento de moléculas de proteína, e exposição de grupos hidrófilos. Logo observa-se que em filmes de proteína de soja elaborados com pH alcalino ocorre menor exposição dos grupos hidrofílicos protéicos, o que pode estar relacionado à menor permeação do vapor de água através dos espaços intermoleculares.

A interação extrato de soja e pH na redução da permeabilidade ao vapor de água possivelmente aconteceu devido ao efeito de valores de pH alcalino, que são valores distintos do ponto isoelétrico da proteína de soja, e sendo assim, permitiu que mais pontes de hidrogênio fossem estabelecidas entre as moléculas de água e as de proteínas, reduzindo a taxa da difusão da água dentro do filme.

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes elaborados no presente trabalho variou de 0,168 a 0,374 (g.mm.h-1.m-2.kPa-1). Segundo Robertson, (1993), os valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) de filmes de polímeros sintéticos como o PVC (cloreto de polivinilo), HDPE e LDPE encontrados na literatura são de respectivamente,

0,029, 0,005 e 0,001 gmm/m<sup>2</sup> hkPa. Pode-se observar que a permeabilidade ao vapor de água dos filmes elaborados no presente trabalho encontra-se superior à PVA dos filmes de polímeros sintéticos, limitando a utilização destes filmes, às aplicações que não exigem PVA baixa.

## 5.5 Solubilidade em água

Os resultados experimentais da análise de solubilidade em água encontram-se no Anexo A, neste caso trabalhou-se com 18 tratamentos e 4 pontos centrais, nota-se que o aumento do teor de glicerol (de 8% à 40%) na formulação, levou a uma redução da solubilidade em água dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 11 e 12. A análise estatística aplicada aos dados experimentais está apresentada na Tabela 6.

**Tabela 6.** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a solubilidade em água, dos filmes biodegradáveis.

Coeficientes	Solubilidade em água
Intercepto	5,44E+01***
X <sub>1</sub>	5,57E+00***
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-3,21E+00***
X <sub>2</sub>	8,56E-01 n.s
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-1,11E+01***
X <sub>3</sub>	3,73E+00***
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-1,59E+00 n.s
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-4,00E+00**
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	1,08E+00 n.s
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	1,53E+00 n.s
R <sup>2</sup>	0,78
Falta de ajuste	3,71E-02**

X<sub>1</sub>: Proteína de soja (%); X<sub>2</sub>: Glicerol (%); X<sub>3</sub>: pH;

n.s= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

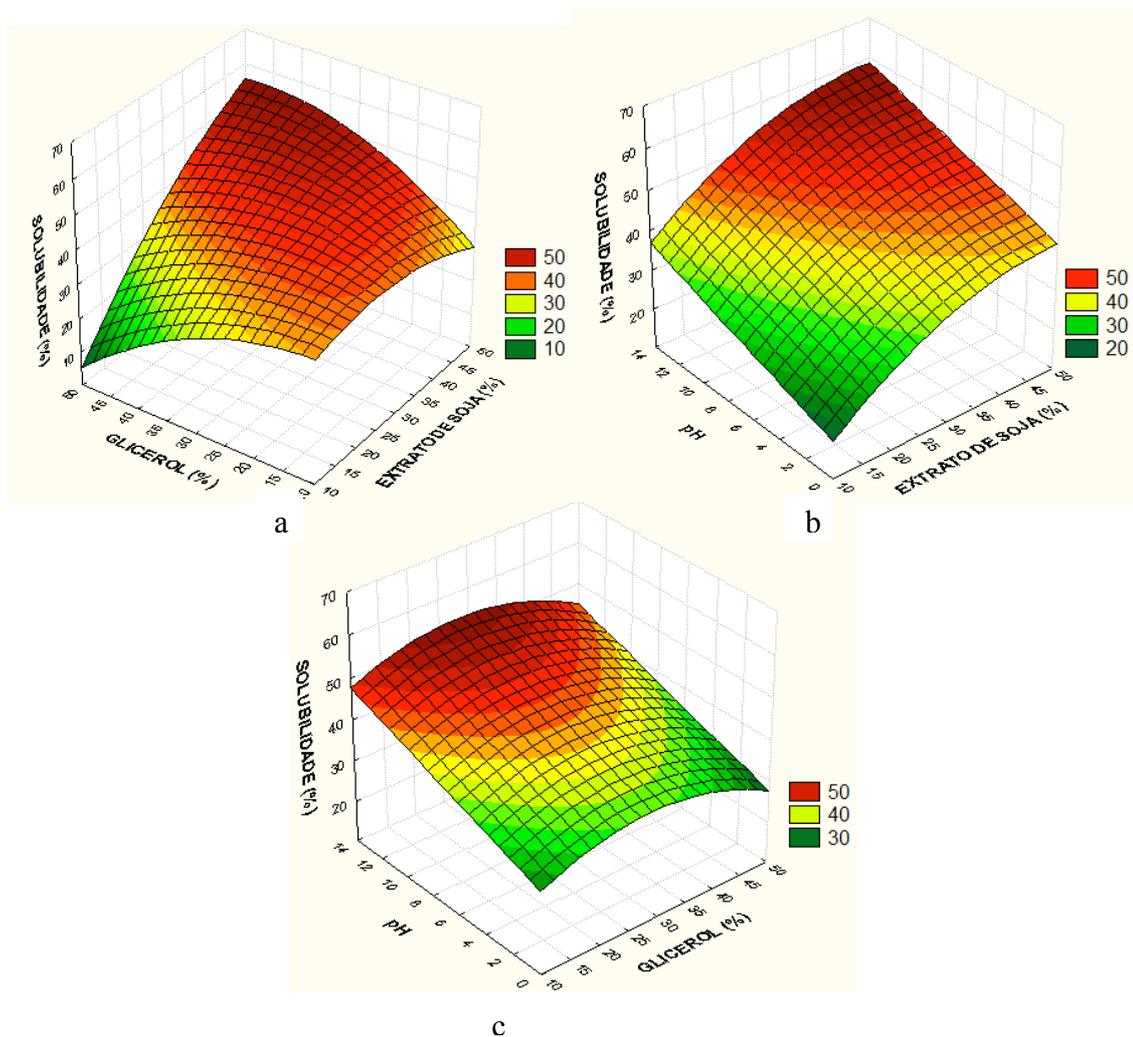
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

Na Tabela 6 pode-se observar que os parâmetros quadráticos teor de glicerol ( $P < 0,001$ ) e extrato de soja ( $P < 0,001$ ) apresentaram valores negativos, indicando a existência de um máximo na solubilidade em água dos filmes. Já os parâmetros lineares das variáveis extrato soja ( $P < 0,001$ ) e pH ( $P < 0,001$ ), apresentaram efeito positivo indicando que o aumento deste fator contribui para a elevação da solubilidade em água. Enquanto a interação linear negativa entre extrato soja e glicerol ( $P < 0,01$ ) mostra que a elevação destes fatores indica um efeito negativo, ou seja, uma redução da solubilidade em água dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja. O coeficiente de determinação da regressão ( $R^2 = 0,7826$ ) demonstra que o modelo se ajustou bem aos dados obtidos de solubilidade em água, pois explica 78,26 % da variação dos dados. A falta de ajuste foi significativa para solubilidade em água, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes com coeficientes significativos é a seguinte:

$$\text{SOLUBILIDADE} = 54,3978 + 5,5665 X_1 - 3,2110 X_1^2 - 11,0951 X_2^2 + 3,7317 X_3 - 3,9962 X_1 X_2 \quad (12)$$

Com base neste modelo, foram construídos gráficos superfície de resposta para a espessura, conforme Figuras 13a, 13b e 13c. Observa-se nas figuras citadas a interação soja e glicerol mostrando que a combinação dos maiores teores de glicerol com os menores teores de extrato de soja favoreceu a redução da solubilidade. Já o aumento no valor do pH da solução filmogênica favoreceu a elevação da solubilidade, enquanto a variável extrato de soja apresentou efeito linear positivo, que indica que a elevação deste fator leva ao aumento da solubilidade e também efeito quadrático com o valor do sinal negativo, indicando superfície de resposta com concavidade voltada para baixo, o glicerol apresentou efeito quadrático com o valor do sinal negativo indicando também superfície com concavidade voltada para baixo, onde pode-se observar que existe um limite destes fatores quadráticos para reduzir a solubilidade dos filmes.



**Figura 13** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a solubilidade dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

Com relação a interação soja e glicerol na redução da solubilidade, vale ressaltar que os filmes com maior teor de extrato de soja possuem quantidade inferior de amido, que é um polímero que apresenta a característica de hidrofiliicidade. Possivelmente o glicerol interagiu

com as moléculas de proteína de soja, dando menor mobilidade às cadeias formadoras da matriz do filme, e conseqüentemente, diminuiu a sua capacidade de interação com a água.

O efeito do pH na solubilidade de filmes também foi estudado por BOURTOOM et al., (2006), que observaram que os filmes de proteína de peixe solúvel em água apresentaram solubilidade mais alta quando o pH da solução de filme era superior a 10. O aumento do pH da solução filmogênica favorece a elevação da solubilidade dos filmes possivelmente, devido ao ponto isoelétrico da proteína de soja (pH 4,5), pois à medida que o ponto isoelétrico está mais distante a diferença de cargas entre as moléculas de proteínas aumenta; as cargas líquidas repelem-se entre si, podendo interagir com as moléculas de água; levando a maior solubilidade dos filmes.

A solubilidade média dos filmes produzidos no presente trabalho foi similar a de filmes com espessuras próximas e analisadas pelo mesmo método (GONTARD; GUILBERT; CUQ; 1992), estas (14,84 a 60,96%) foram menores do que a dos filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca contendo conservador propionato de cálcio e permanganato de potássio, que apresentaram solubilidades variando de 78 a 86% (YAMASHITA et al., 2005).

Filmes a base de gelatina, com sorbitol nas concentrações de 55 a 65%, com espessura média de 170  $\mu\text{m}$ , apresentaram solubilidades variando de 40,4 a 44,5% de matéria seca, valores semelhantes aos que foram obtidos neste trabalho (SAKANAKA, 2002).

A alta solubilidade encontrada para os filmes pode ser uma alternativa para a aplicação dos mesmos em produtos que necessitem de hidratação prévia ao consumo, ou mesmo na cobertura de sementes agrícolas que necessitem de rápida germinação no campo ou como carreadores de aditivos necessários ao crescimento das mesmas (BATISTA; TANADA-PALMU; GROSSO; 2005).

## 5.6 Diferença de Cor ( $\Delta E$ )

Os resultados experimentais da análise de diferença de cor ( $\Delta E$ ) estão dispostos no Anexo B, pode-se observar que a diferença de cor ( $\Delta E$ ) dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja elaborados neste trabalho variou de 8,14 a 17,26. As análises estatísticas aplicadas aos resultados estão na Tabela 7.

**Tabela 7** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a diferença de cor ( $\Delta E$ ), dos filmes biodegradáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>Diferença cor (<math>\Delta E</math>)</b>
Intercepto	1,27E+01***
$X_1$	2,79E+00***
$X_1^2$	-2,04E-01 n.s
$X_2$	1,06E-01 n.s
$X_2^2$	5,10E-01**
$X_3$	-4,61E-01 n.s
$X_3^2$	5,15E-01**
$X_1 X_2$	2,50E-02 n.s
$X_1 X_3$	-5,50E-02 n.s
$X_2 X_3$	1,20E-01 n.s
$R^2$	0,73
<b>Falta de ajuste</b>	<b>9,49E-03***</b>

$X_1$ : Proteína de soja (%)  $X_2$ : Glicerol (%)  $X_3$ : pH;

n.s= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

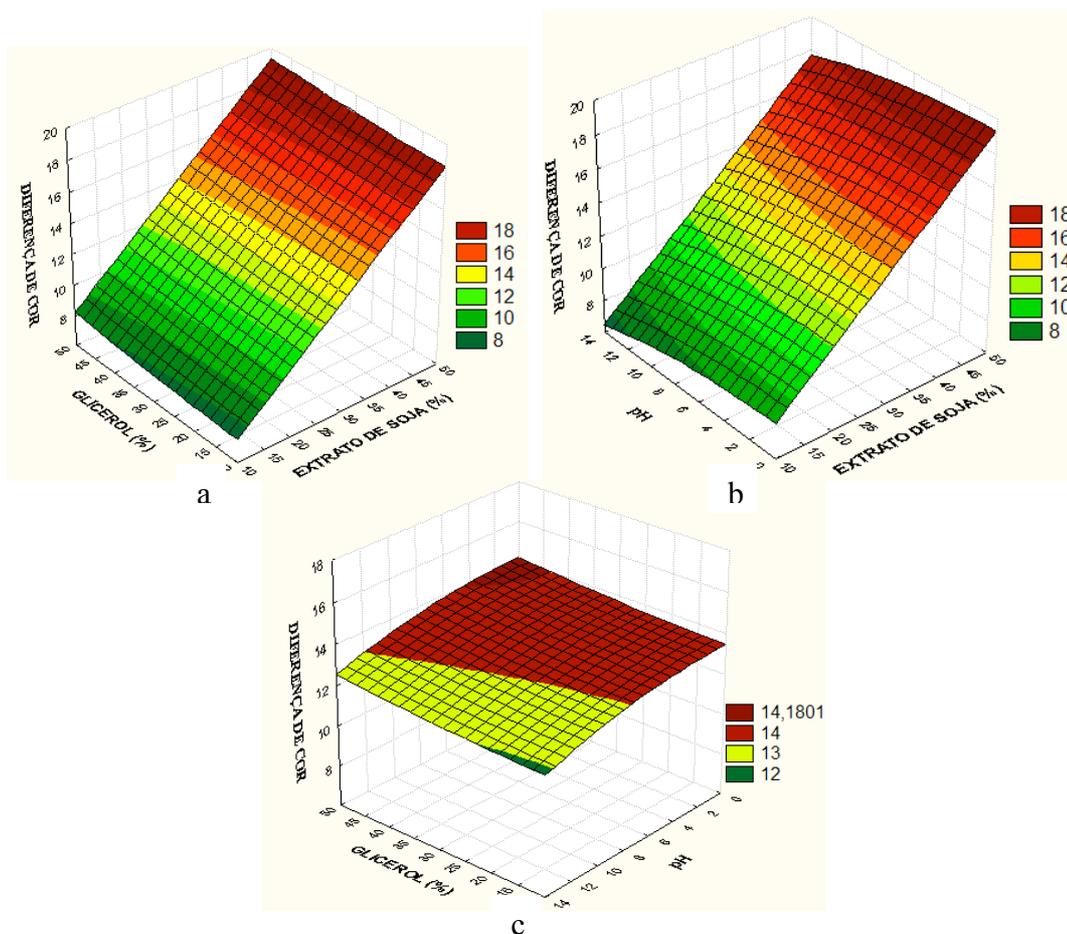
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

De acordo com a Tabela 7 nota-se que o extrato de soja ( $P < 0,001$ ) apresentou efeito linear positivo, indicando que o aumento neste fator implica no aumento da diferença de cor ( $\Delta E$ ). Enquanto os parâmetros quadráticos das variáveis pH ( $P < 0,01$ ) e glicerol ( $P < 0,01$ ) apresentaram efeitos positivos, indicando a existência de um mínimo na diferença de cor ( $\Delta E$ ) dos filmes. O coeficiente de determinação demonstra que 72% da variação dos dados se deve ao modelo da regressão aplicado e 28% possivelmente se deve aos erros experimentais. A falta de ajuste foi significativa para a variável diferença de cor, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

De acordo com as variáveis independentes selecionadas por meio de sua significância gerou-se a seguinte equação polinomial:

$$\Delta E = 12,65375 + 2,79121X_1 + 0,50988X_2^2 + 0,51518X_3^2 \quad (13)$$

Foram construídos gráficos superfície de resposta (Figuras 14a, 14b e 14c) com base na equação polinomial acima, para a diferença de cor ( $\Delta E$ ), onde observou-se maior coloração nos filmes com a elevação do extrato de soja e do valor do pH, porém vale ressaltar que o extrato de soja foi a variável que exerceu maior efeito sobre a coloração dos filmes e que o glicerol foi a variável que menos influenciou nesta variável.



**Figura 14** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a diferença de cor ( $\Delta E$ ) dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

O efeito do extrato de soja elevar a coloração dos filmes pode ser explicado pela cor amarela característica apresentada por tal matéria-prima, vale ressaltar também que paralelamente à adição de extrato de soja nos filmes, ocorre a redução do teor de amido, e esse polímero tem a propriedade de formar géis que quando desidratados, dão origem a películas transparentes. García; Sobral, (2005) observaram que a diferença de cor dos filmes de proteínas musculares foi afetada principalmente pelo teor de proteína na solução filmogênica. Em outro trabalho de Sobral et al., (2004) elaboraram filmes constituídos de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo de tilápia-do-nilo e verificaram que os filmes produzidos com 2 g de proteínas foram mais coloridos do que os filmes produzidos com 1 g.

Os filmes obtidos no presente trabalho apresentaram maior coloração que os filmes obtidos por SOBRAL (2000 a), à base de 1 g de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo/ 100 g de solução filmogênica tratada a 40°C por 30 min ( $\Delta E^* = 7-8$ ;  $x = 0,077-0,087$  mm) e do que os filmes obtidos por GENNADIOS et al., (1996), de ovoalbuminas ( $\Delta E^* = 1,7-2,3$ ;  $x = 0,099$  mm).

## 5.7 Opacidade

O Anexo B apresenta os resultados experimentais da variável de resposta opacidade, onde pode-se observar uma variação entre 2,16 e 4,88. Na Tabela 8 encontra-se a análise estatística aplicada aos dados experimentais.

**Tabela 8** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a opacidade, dos filmes biodegradáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>Opacidade</b>
Intercepto	3,74E+00***
$X_1$	3,26E-01***
$X_1^2$	1,38E-01 n.s
$X_2$	-3,94E-01***
$X_2^2$	5,57E-03 n.s
$X_3$	-1,35E-01 n.s
$X_3^2$	-2,95E-01***
$X_1 X_2$	9,63E-02 n.s
$X_1 X_3$	5,63E-02 n.s
$X_2 X_3$	-1,04E-01 n.s
$R^2$	0,69
<b>Falta de ajuste</b>	3,26E-02**

$X_1$ : Proteína de soja (%)  $X_2$ : Glicerol (%)  $X_3$ : pH; -

n.s= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

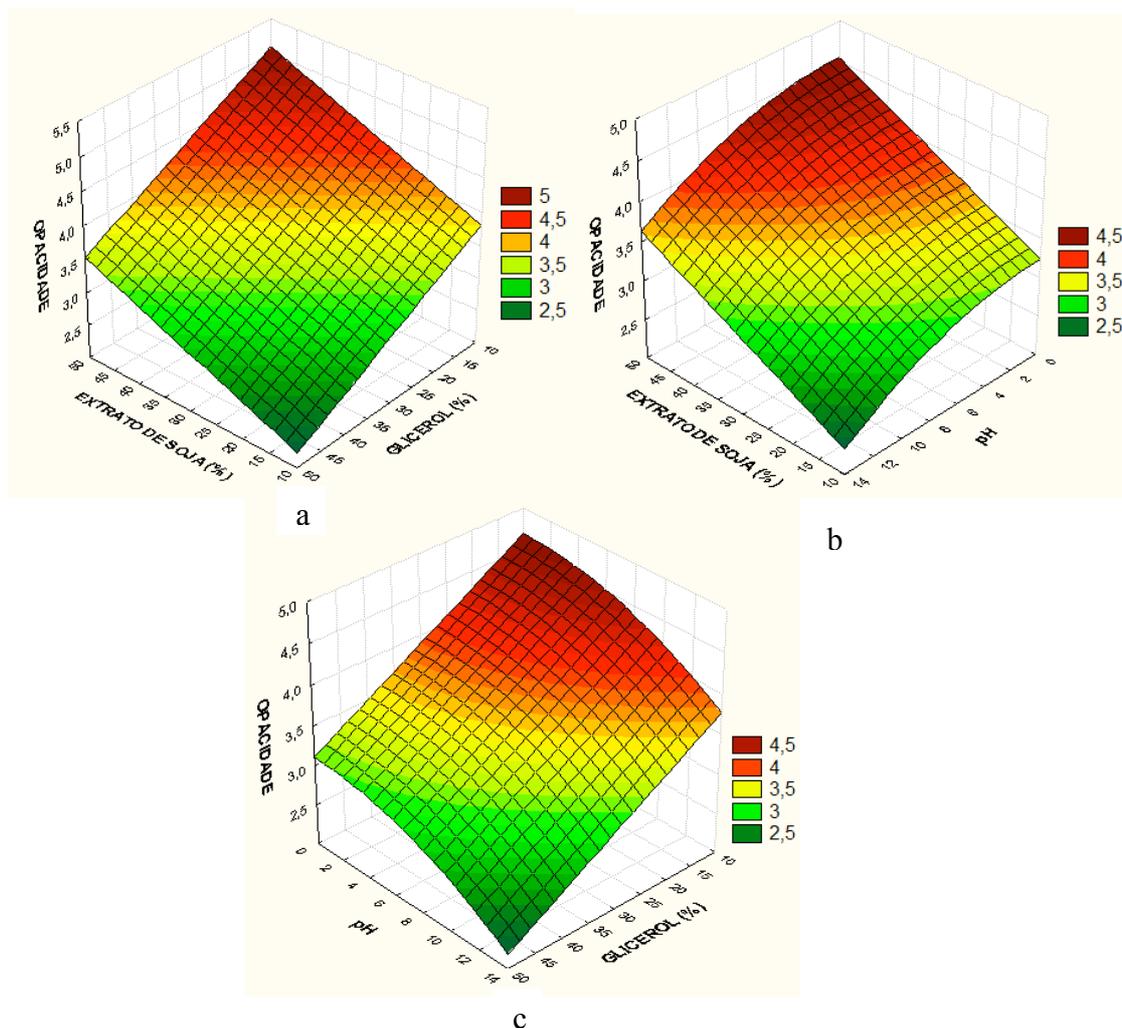
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

Pode-se observar na Tabela 8 que a variável de soja ( $P<0,001$ ) apresentou efeito positivo, indicando que o aumento neste fator implica no aumento da opacidade, já o teor de glicerol ( $P<0,001$ ) apresentou efeito negativo, que indica que a elevação deste fator reduz a opacidade, enquanto o pH ( $P<0,001$ ) apresentou efeito quadrático com sentido negativo, indicando a existência de um máximo na opacidade dos filmes. O coeficiente de determinação demonstra que 69% da variação dos dados se deve ao modelo da regressão aplicado e 31% possivelmente se deve aos resíduos. Pode-se observar também que a falta de ajuste foi significativa para opacidade, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes significativas é a seguinte:

$$\text{OPACIDADE} = 3,739738 + 0,325743X_1 - 0,393958X_2 - 0,294872X_3^2 \quad (14)$$

Com base na equação polinomial foram construídos gráficos de superfície de resposta para a opacidade (Figuras 15a, 15b e 15b), onde observa-se a redução da opacidade com a redução do teor de soja, e com a elevação do teor de glicerol, porém o glicerol é a variável que mais influencia na redução da opacidade, o efeito quadrático com valor negativo do pH indica superfície de resposta com concavidade voltada para baixo e que existe um limite deste fator para reduzir a opacidade dos filmes.



**Figura 15** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a opacidade dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

Com relação ao efeito da soja, resultados similares foram encontrados por Cao et al., (2006), que verificaram que a opacidade dos filmes compostos de isolado protéico de soja e gelatina diminui com a redução da concentração de soja e com o aumento do pH. Este resultado pode ser atribuído ao tratamento da proteína de soja com o álcali, tornando esta mais solúvel, levando a formação de filmes mais homogêneos e transparentes, pela redução de partículas insolúveis.

Com a adição de glicerol pode-se perceber a redução da opacidade dos filmes, resultados similares foram encontrados por Sobral et al., (2004), que verificaram que a opacidade dos filmes diminuiu com o aumento da concentração de glicerina, provavelmente pelo efeito de diluição provocado pela glicerina (PASCHOALICK et al., 2003), que é um produto incolor e transparente. Possivelmente com o aumento da concentração de glicerol afeta a sua incorporação na rede de amido/extrato de soja, favorecendo a redução das interações intermoleculares e da proximidade das ligações entre amido/extrato de soja, o que pode ter sido responsável pela redução da opacidade dos filmes.

## 5.8 Força no teste de perfuração

O Anexo C apresenta os resultados experimentais da variável força na ruptura no teste de perfuração, para esta análise trabalhou-se com 18 tratamentos, sendo 4 pontos centrais, nota-se que a redução do teor de glicerol (de 46% à 13%) na formulação, levou a uma elevação da força no teste de perfuração dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 12 e 11. A análise estatística aplicada aos dados experimentais está apresentada na Tabela 9.

**Tabela 9** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a força no teste de perfuração, dos filmes biodegradáveis.

Coeficientes	Força no teste de perfuração
Intercepto	2,34E+00***
X <sub>1</sub>	-2,01E-01 n.s
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-4,68E-01**
X <sub>2</sub>	-2,40E-01 n.s
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-6,28E-01**
X <sub>3</sub>	2,35E-01 n.s
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-6,07E-01**
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	1,31E-01 n.s
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-1,78E-01 n.s
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	-2,67E-01 n.s
R <sup>2</sup>	0,80
Falta de ajuste	1,78E-01 n.s

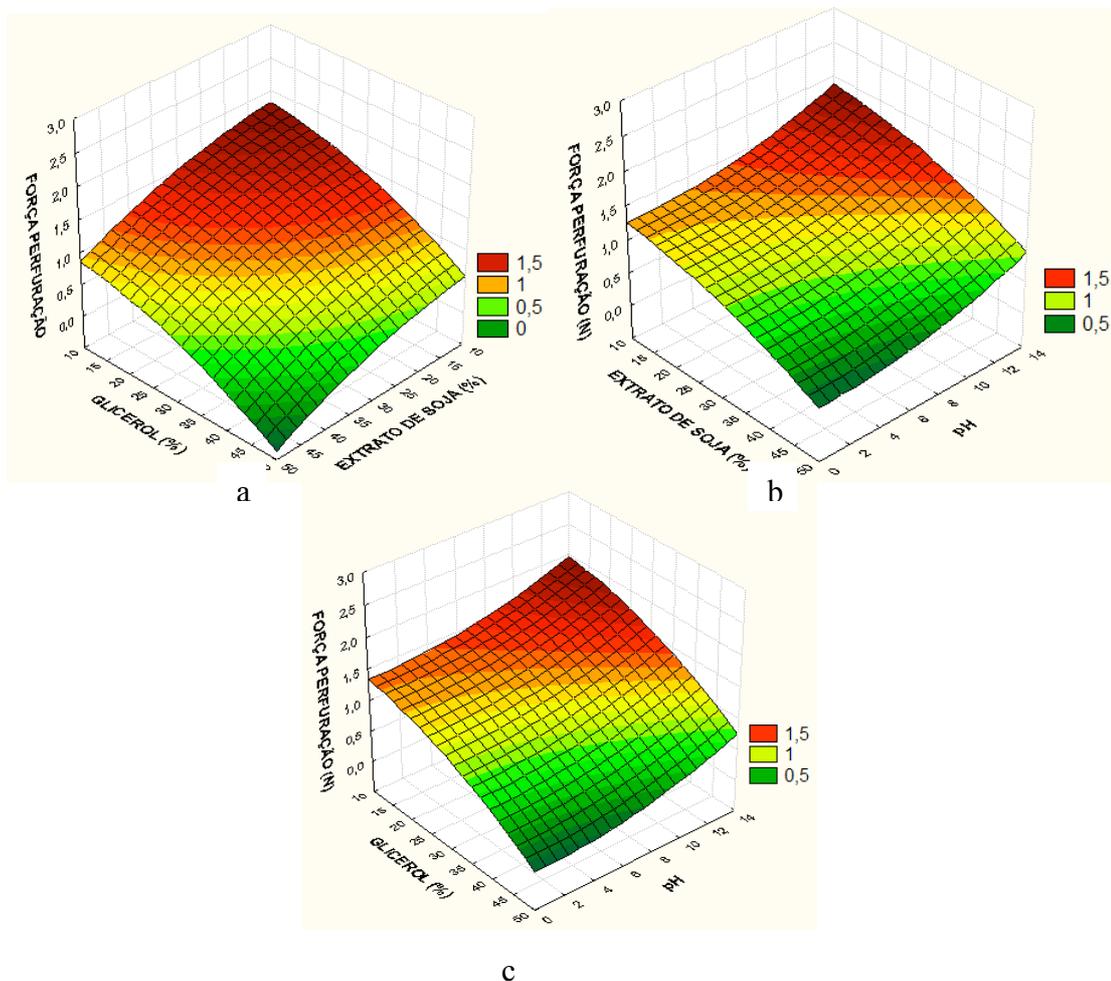
X<sub>1</sub>: Proteína de soja (%); X<sub>2</sub>: Glicerol (%); X<sub>3</sub>: pH;  
n.s= Não significativo;  
\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;  
\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;  
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

Na Tabela 9 pode-se observar que os parâmetros quadráticos do teor de proteína (P < 0,01), teor de glicerol (P < 0,01) e do pH (P < 0,01) apresentaram valores negativos, indicando a existência de um máximo na força no teste de perfuração dos filmes. O coeficiente de determinação da regressão (R<sup>2</sup> = 0,8048) demonstra que o modelo se ajustou bem aos dados obtidos de solubilidade em água, pois explica 80,48 % da variação dos dados. A falta de ajuste não foi significativa para força no teste de perfuração, indicando que o modelo escolhido representa o sistema adequadamente e pode ser usado para fins preditivos (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes significativas é a seguinte:

$$\text{FORÇA NA PERFURAÇÃO} = 2,335664 - 0,468471X_1^2 - 0,627619X_2^2 - 0,606735X_3^2 \quad (15)$$

Com base na equação polinomial acima, foram construídos gráficos de superfície de resposta para a força na perfuração, conforme Figuras 16a, 16b e 16c. Observa-se nas figuras citadas o efeito quadrático das 3 variáveis, extrato de soja, glicerol e pH, indicando superfície com concavidade voltada para baixo, onde a redução dos teores de extrato de soja e do glicerol e o aumento do valor do pH, favoreceram o aumento da força na perfuração dos filmes.



**Figura 16** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a força na perfuração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

Possivelmente com o aumento da concentração de glicerol de 30% a 50%, houve maior incorporação de glicerol na rede de amido/extrato de soja, favorecendo a redução das interações intermoleculares e da proximidade das ligações entre amido/extrato de soja, e o aumento da mobilidade das cadeias de polímero. Reduzindo assim a força na perfuração dos filmes. O efeito do plastificante em reduzir a força de ruptura na perfuração também foi relatado por diversos autores (VICENTINI, 2003; SOBRAL et al., 1998; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000). O efeito da adição de glicerol (%) na redução da força de perfuração na ruptura foi confirmado nos trabalhos de Mali (2002), o qual elaborou filmes com 3,3% de amido de cará e espessura de 0,07 mm. Este autor observou que o aumento da concentração de glicerina de 1,3 para 2% causou a redução da força na ruptura da perfuração de 8,02 para 6,03 N. Vicentini (2003), verificou que o incremento de glicerina, sorbitol e dietilenoglicol de 10% para 25% provocou uma redução linear da força de ruptura na perfuração de 7,25 para 4,28 N, de 10,04 para 8,45 N e de 7,02 para 4,16 N, respectivamente.

O efeito da adição de extrato de soja na redução da força na ruptura dos filmes pode está relacionado ao efeito do pH da solução filmogênica, pois sabe-se que valores de pH distintos do ponto isoelétrico da proteína favorece a sua dispersão e também o estabelecimento de pontes de hidrogênio, entre as moléculas de água da solução filmogênica e as da proteína, que são ligações mais fracas.

Vicentini (2003), verificou que o incremento na concentração de glúten reduziu linearmente de 7,32 para 0,97 N a força necessária para a ruptura dos filmes fécula de mandioca no teste de perfuração.

### 5.9 Deformação no teste de perfuração

O Anexo C apresenta os resultados experimentais da variável deformação na ruptura no teste de perfuração, para esta análise trabalhou-se com 18 tratamentos, sendo 4 pontos centrais, nota-se que o aumento do teor de glicerol (de 13% à 46%) na formulação, levou a uma elevação da deformação no teste de perfuração dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 11 e 12. Na Tabela 10 encontra-se a análise estatística aplicada aos dados experimentais.

**Tabela 10** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a deformação na ruptura no teste de perfuração, dos filmes biodegradáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>Deformação no teste de perfuração</b>
Intercepto	2,45E+00***
X <sub>1</sub>	-2,97E+00***
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	2,12E+00***
X <sub>2</sub>	3,65E+00***
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	7,12E-01***
X <sub>3</sub>	2,56E-01***
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	3,38E+00***
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-2,43E+00***
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	8,82E-01***
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	-2,53E+00***
R <sup>2</sup>	0,92
<b>Falta de Ajuste</b>	1,23E-09***

X<sub>1</sub>: Proteína de soja (%); X<sub>2</sub>: Glicerol (%); X<sub>3</sub>: pH;

n.s.= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

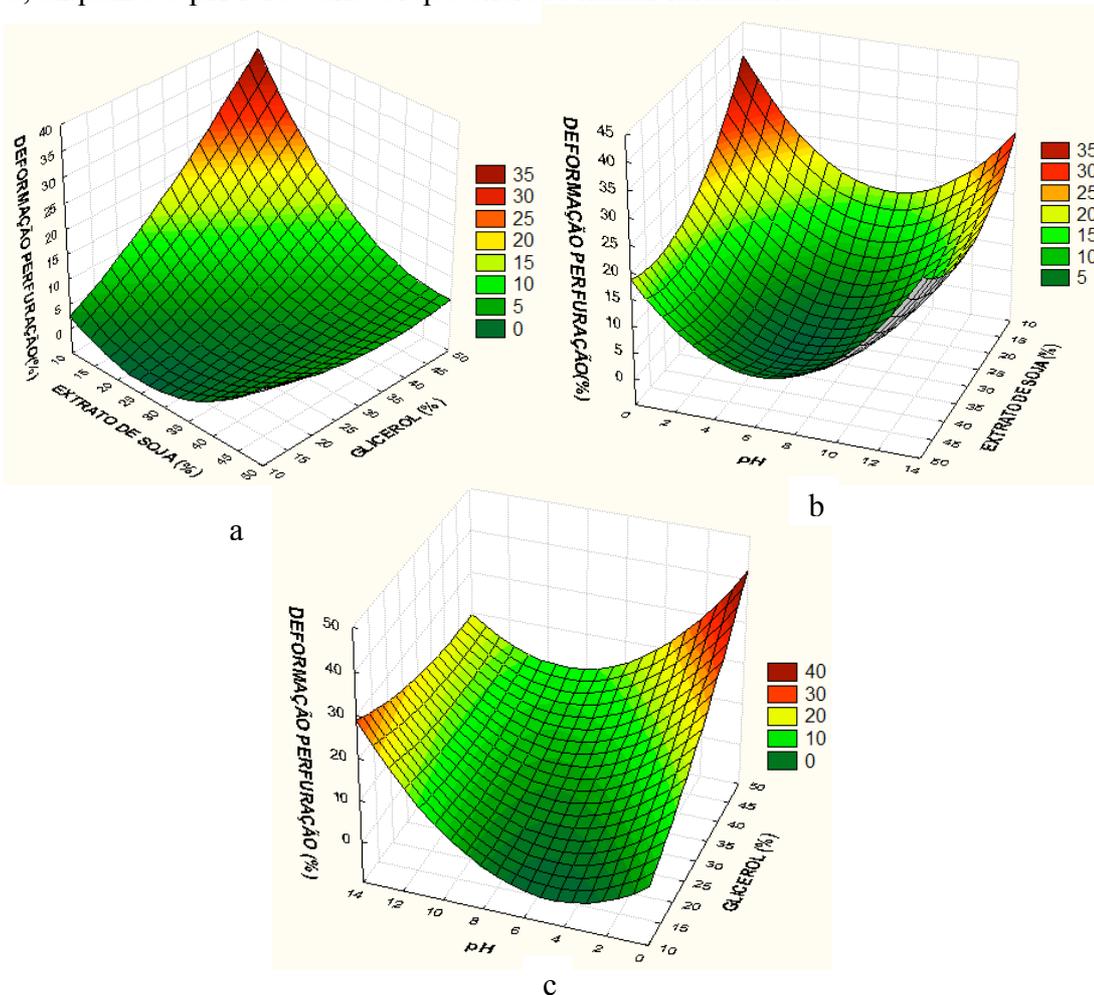
Na Tabela 10 pode-se observar que os parâmetros lineares das variáveis glicerol ( $P < 0,001$ ) e pH ( $P < 0,001$ ) apresentaram efeitos positivos, indicando que um aumento de qualquer um destes fatores implica no aumento da deformação na perfuração dos filmes, enquanto a variável extrato de soja apresentou efeito negativo, indicando que a elevação deste fator favorece a redução da deformação na perfuração. Os parâmetros pH ( $P < 0,001$ ), extrato de soja ( $P < 0,001$ ) e teor de glicerol ( $P < 0,001$ ) (quadráticos), apresentaram efeitos com valores absolutos positivos, indicando a existência de um mínimo na deformação na perfuração e que um aumento em qualquer um destes fatores contribui para a elevação da deformação na perfuração. As interações entre o extrato de soja e glicerol ( $P < 0,001$ ) e entre o teor de glicerol e pH ( $P < 0,001$ ) apresentaram efeitos negativos que indicam que a elevação destes fatores, leva a uma redução da resposta deformação na perfuração, já a interação linear positiva extrato de soja e pH ( $P < 0,001$ ) mostra que a elevação destes fatores leva ao aumento da deformação na perfuração. O coeficiente de determinação da regressão ( $R^2 = 0,92$ ) demonstra que o modelo se ajustou bem aos dados obtidos de deformação na perfuração (%), indicando que ele explica 92% da variação dos dados. A falta de ajuste foi significativa

para deformação na perfuração, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes com coeficientes significativos é a seguinte:

$$\text{DEFORMAÇÃO NA PERFURAÇÃO} = 2,45 - 2,97X_1 + 7,12X_1^2 + 2,12X_2 + 2,56X_2^2 + 3,65X_3 + 3,38X_3^2 - 2,43X_1X_2 + 8,82X_1X_3 - 2,53X_2X_3 \quad (16)$$

Com base neste modelo, foram construídos gráficos de superfície de resposta para a deformação na perfuração (%), conforme Figuras 17a, 17b e 17c. Observa-se nas figuras citadas o aumento da deformação na perfuração com a adição de glicerol e a redução do teor de extrato de soja, já o pH apresentou efeito quadrático com o valor do sinal positivo, indicando superfície de resposta com concavidade voltada para cima, onde pode-se observar que existe um limite deste fator quadrático para aumentar a deformação na perfuração dos filmes. O glicerol foi a variável que exerceu maior influência na deformação no teste de tração, enquanto o pH foi a variável que exerceu menor influência.



**Figura 17** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a deformação na perfuração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

O efeito do plastificante em aumentar a deformação na ruptura no teste de perfuração também foi encontrado por diversos autores (VICENTINI, 2003; SOBRAL et al., 1998;

MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000). Monterrey e Sobral (1999), também verificaram o aumento da deformação na ruptura no teste de perfuração com o aumento do plastificante. E justificaram que a presença de plastificantes diminui a densidade das interações proteína-proteína, aumentando a mobilidade das cadeias polipeptídicas e consequentemente, tornando os filmes menos resistentes e mais elásticos.

Já o efeito da redução do extrato de soja influenciando no aumento da deformação na perfuração, pode estar relacionado ao aumento do teor de amido no filme. Sabe-se que após a retrogradação as pontes de hidrogênio do amido são estabelecidas, e a macromolécula reorganizada, em paralelo a adição do glicerol favoreceu a formação de um filme menos rígido, superando assim a fragilidade provocada pelas altas forças intermoleculares.

O efeito do pH na deformação no teste de perfuração dos filmes pode ser explicado pelo ponto isoelétrico da proteína de soja. As condições ácidas avaliadas neste estudo (pH 1.0-3.0) e as condições alcalinas (pH 10-14) estavam distantes do ponto isoelétrico (pH 4.5) da soja, pois a este pH a proteína de soja é estável, e com uma maior desnaturação e solubilidade das proteínas ocorre uma maior interação intermolecular (proteína, amido, glicerol). Essa maior interação entre os biopolímeros possivelmente favoreceu a elevação da deformação no teste de tração como pode ser observado na Figura 17.

## 5.10 Tensão no teste de tração

Os resultados experimentais da análise de tensão na ruptura no teste de tração estão no Anexo D, para esta análise trabalhou-se com 18 tratamentos, sendo 4 pontos centrais, nota-se que a redução do teor de glicerol (de 46% à 13%) na formulação, levou a uma elevação da tensão no teste de tração dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 12 e 11. Na Tabela 11 encontra-se a análise estatística aplicada aos dados experimentais.

**Tabela 11** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a tensão no teste de tração, dos filmes biodegradáveis.

Coeficientes	Tensão no teste de tração
Intercepto	3,62E+00***
X <sub>1</sub>	-1,57E-02 n.s
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-2,66E-01 n.s
X <sub>2</sub>	-2,56E+00***
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	5,11E-02 n.s
X <sub>3</sub>	-1,58E-02 n.s
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-6,55E-01 n.s
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-2,84E-01 n.s
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-9,61E-02 n.s
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	2,24E-03 n.s
R <sup>2</sup>	0,74
Falta de ajuste	3,61E-01**

X<sub>1</sub>: Proteína de soja (%) X<sub>2</sub>: Glicerol (%) X<sub>3</sub>: pH;

n.s= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

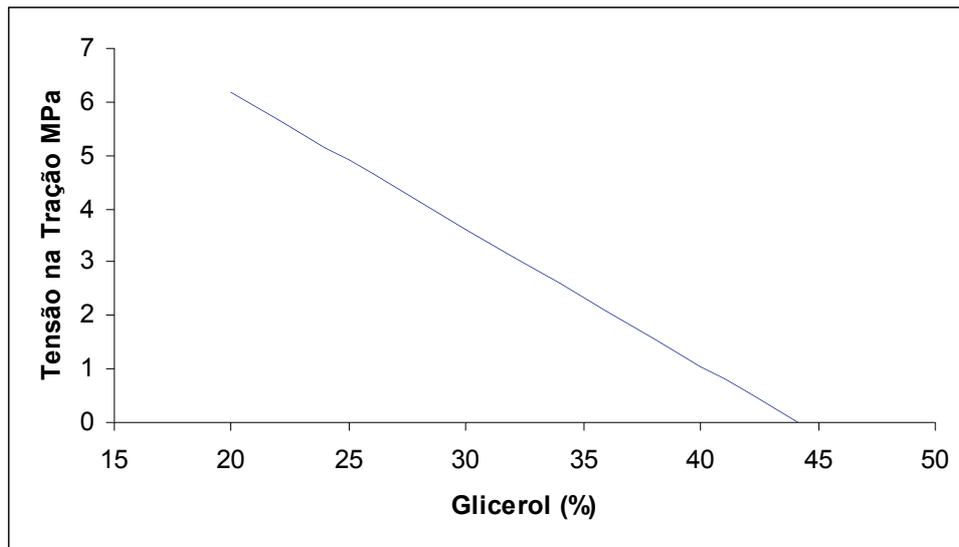
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

Pode-se observar na Tabela 11 que teor de glicerol apresentou efeito com valores absolutos negativos, e sendo assim, a elevação deste fator indica um efeito negativo, ou seja, uma diminuição da tensão na tração e foi o único efeito significativo ( $P < 0,001$ ). O coeficiente de determinação demonstra que 74% da variação dos dados se deve ao modelo da regressão aplicado e 26% possivelmente se deve aos erros experimentais. A falta de ajuste foi significativa para tensão na tração, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes significativas é a seguinte:

$$\text{TENSÃO NA TRAÇÃO} = 3,62160 - 2,56179X_2 \quad (17)$$

Foi construído o gráfico linear (Figura 18) com base na equação polinomial acima, para a tensão na tração, onde observa-se a elevação da tensão na tração com a redução do teor de glicerol.



**Figura 18** Gráfico linear da tensão na tração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja em função do teor de glicerol (%).

Possivelmente as concentrações menores de glicerol (20 – 25%) favoreceram atração entre as cadeias macromoleculares, impedindo assim seu movimento e contribuindo assim para a elevação da tensão na tração dos filmes. Resultados similares foram encontrados por Lima; Andreani; Soldi (2007), que verificaram que a tensão na tração para filmes de alginato puro aumentou de 18 para 49 MPa com a redução na concentração de sorbitol de 30 para 0%.

Palmu, (2003), avaliou o efeito de diferentes valores de pH e concentrações de glúten, etanol e glicerol em filmes de glúten de trigo, onde verificou-se que a tensão na tração diminuiu com um aumento em concentração de glicerol.

Ziani et al., (2008), elaboraram filmes de quitosana sem glicerol e verificaram que estes apresentaram maior tensão na tração. Assim, a presença de glicerol em filmes de quitosana resultou em uma diminuição da tensão na tração em torno de 65%.

## 5.11 Deformação no teste de tração

O Anexo D apresenta os resultados experimentais da análise de deformação na ruptura no teste de tração, neste caso trabalhou-se com 18 tratamentos, sendo 4 pontos centrais, nota-se que o aumento do teor de glicerol (de 13% à 46%) na formulação, levou a uma elevação da deformação no teste de tração dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 11 e 12. A análise estatística aplicada aos dados experimentais está apresentada na Tabela 12.

**Tabela 12** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada a deformação no teste de tração, dos filmes biodegradáveis.

Coeficientes	Deformação no teste de tração
Intercepto	2,02E+01***
X <sub>1</sub>	-4,50E+00**
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	6,62E+00***
X <sub>2</sub>	2,71E+01***
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-1,30E+00 n.s
X <sub>3</sub>	5,23E+00***
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	2,74E+01***
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-6,28E+00***
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	3,39E+00 n.s
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	5,06E+00***
R <sup>2</sup>	0,8377
Falta de ajuste	1,83E-03***

X<sub>1</sub>: Proteína de soja (%); X<sub>2</sub>: Glicerol (%); X<sub>3</sub>: pH;

n.s= Não significativo;

\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;

\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;

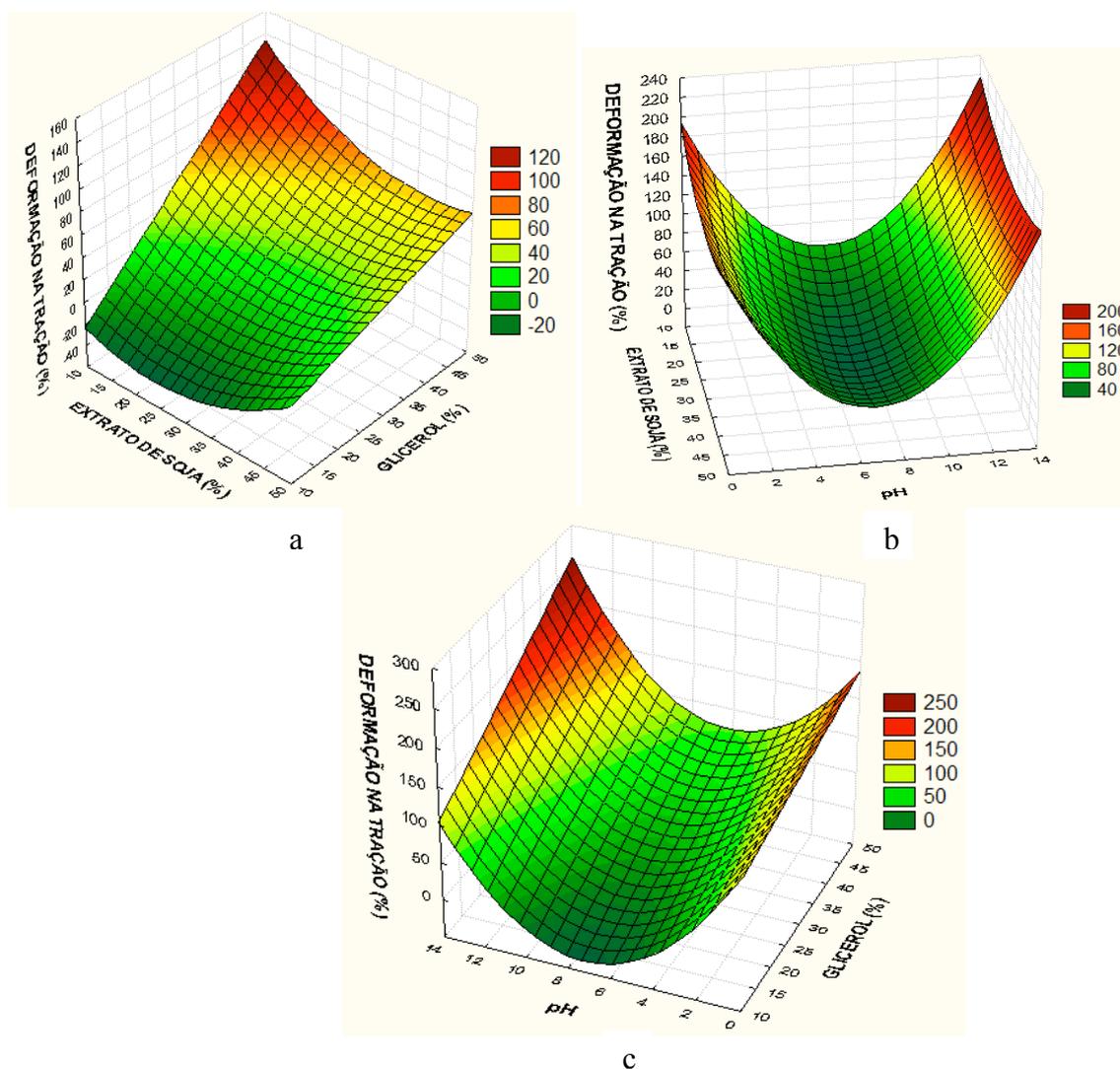
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

De acordo com a Tabela 12 o teor de glicerol ( $P < 0,001$ ) e o pH ( $P < 0,01$ ) (parâmetros lineares) bem como a interação teor de glicerol e pH ( $P < 0,01$ ), apresentaram efeito positivo sobre deformação na ruptura, indicando que um aumento em qualquer um destes fatores contribui para a elevação da resposta deformação na ruptura no teste de tração. Enquanto que os parâmetros lineares das variáveis independentes, teor de soja ( $P < 0,01$ ) e da interação entre o teor de soja e glicerol ( $P < 0,01$ ), apresentaram efeitos com valores absolutos negativos, indicando que a elevação de qualquer um destes fatores indica um efeito negativo, ou seja, uma diminuição da resposta deformação no teste de tração. Os parâmetros pH ( $P < 0,001$ ) e teor de soja ( $P < 0,001$ ) (quadráticos) apresentaram efeitos positivos sobre a deformação na tração, indicando a existência de um mínimo na deformação na ruptura no teste de tração. O coeficiente de determinação indica que mais de 84% da variação dos dados se deve ao modelo de regressão aplicado e menos de 16% possivelmente se deve aos erros experimentais. A falta de ajuste foi significativa para deformação na tração, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

De acordo com as variáveis independentes selecionadas por meio de sua significância gerou-se a seguinte equação polinomial:

$$\text{DEFORMAÇÃO NA TRAÇÃO} = 20,24398 - 4,50118X_1 + 6,61809X_1^2 + 27,05153X_2 + 5,23296X_3 + 27,36993X_3^2 - 6,28103X_1X_2 + 5,05811X_2X_3 \quad (18)$$

Com base neste modelo, foram construídos gráficos de superfície de resposta para a deformação na tração, conforme Figuras 19a, 19b e 19c. Observa-se nas figuras citadas que o aumento do percentual de glicerol favorece a elevação da deformação no teste de tração dos filmes, e que o glicerol é a variável que mais tem influencia na variável resposta. O efeito quadrático positivo do extrato de soja e do pH indica superfície com concavidade voltada para cima, onde pode-se observar que existe um limite destes fatores que favorece o aumento da deformação na tração.



**Figura 19** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre a deformação no teste de tração dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

O efeito da adição glicerol favorecendo a elevação da deformação na tração dos filmes também foi encontrado por outros autores. Possivelmente a presença de plastificantes diminui a densidade das interações proteína-proteína, aumentando a mobilidade das cadeias polipeptídicas e conseqüentemente, tornando os filmes menos resistentes e mais elásticos (MONTERREY; SOBRAL, 1999).

Ziani et al., (2008), elaboraram filmes de quitosana sem glicerol e verificaram que estes apresentaram menor deformação na tração. Assim, a presença de glicerol em filmes de quitosana resultou em um aumento da deformação na tração em torno de 70%. O Glicerol

interferiu nas cadeias de quitosana, diminuindo a atração de intermolecular e aumentando a mobilidade do polímero que facilita a deformação do filme.

Segundo Lima; Andreani; Soldi (2007), o efeito do plastificante foi bem definido com relação à deformação na tração de filmes de alginato de sódio puro. Variando-se a quantidade de sorbitol de 0 para 30%, a deformação aumentou de 6,5 para 13%. O aumento da deformação na ruptura em função do conteúdo de plastificante também foi observado no trabalho de VICENTINI, (2003). De acordo com este autor a deformação na ruptura na tração nos filmes de fécula de mandioca aumentou linearmente, de 3,28 para 7,34% e de 2,64 para 4,03 com o incremento da concentração de glicerina e sorbitol de 10 para 25% respectivamente, sendo o aumento mais acentuado para glicerina.

O fato de a redução de extrato de soja favorecer o aumento da deformação no teste de tração dos filmes pode estar relacionado com ao aumento do teor de amido no filme e ao restabelecimento das pontes de hidrogênio após a retrogradação, permitindo a formação de um filme menos rígido, devido a adição em paralelo do glicerol que reduz o efeito provocado pelas altas forças intermoleculares do amido, tornando assim o filme mais flexível. Já que os filmes com maior teor de proteína apresentam maior possibilidade de interações moleculares, por possuírem em sua estrutura até 20 aminoácidos diferentes com alto potencial de interações, resultando em filmes mais fortes, porém, menos flexíveis.

Palmu (2003), avaliou o efeito das concentrações de glúten, etanol, glicerol e pH em filmes glúten de trigo e verificou o aumento da propriedade mecânica de deformação na tração com a elevação da concentração de glicerol, enquanto que o aumento da concentração de glúten reduziu a deformação na tração.

Com relação ao pH, sabe-se que quanto mais alcalino o pH do meio, menor a atividade de íons  $H^+$  efetivamente dissociados, e sendo assim a formação de pontes de hidrogênio entre os constituintes da solução filmogênica (amido, proteína, água) favorece a formação de uma rede tridimensional espessa, porém, como foi observado no presente trabalho, mais flexível.

Handa et al., (1999), determinaram as propriedades mecânicas, dos filmes de proteínas da clara do ovo e verificaram que a deformação na ruptura no teste de tração variou de 26,4 a 55,1%, sendo que os filmes de soluções aquecidas tiveram uma deformação maior do que filmes de soluções não aquecidas, no intervalo de pH estudado (10,5-11,5). Os autores verificaram aumento da deformação com a elevação do valor do pH.

## 5.12 Módulo de Elasticidade

Os resultados experimentais do módulo de elasticidade (Mpa) encontram-se no Anexo D, neste caso trabalhou-se com 18 tratamentos, sendo 4 pontos centrais, nota-se que o aumento do teor de glicerol (de 13% à 46%) na formulação, levou a uma redução do módulo de elasticidade dos filmes, como pode ser observado nos tratamentos 11 e 12. A análise estatística aplicada aos dados experimentais está apresentada na Tabela 13.

**Tabela 13.** Coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (p) do modelo de regressão quadrática aplicada ao módulo de elasticidade (Mpa), dos filmes biodegradáveis.

Coeficientes	Módulo de Elasticidade
Intercepto	3,30E+01***
$X_1$	1,34E+01***
$X_1^2$	1,02E+01***
$X_2$	-4,51E+01***
$X_2^2$	1,76E+01***
$X_3$	7,89E+00***
$X_3^2$	7,03E+00***
$X_1 X_2$	1,43E+01***
$X_1 X_3$	9,16E+00***
$X_2 X_3$	2,56E+01***
$R^2$	0,4962
<b>Falta de ajuste</b>	<b>8,20E-06***</b>

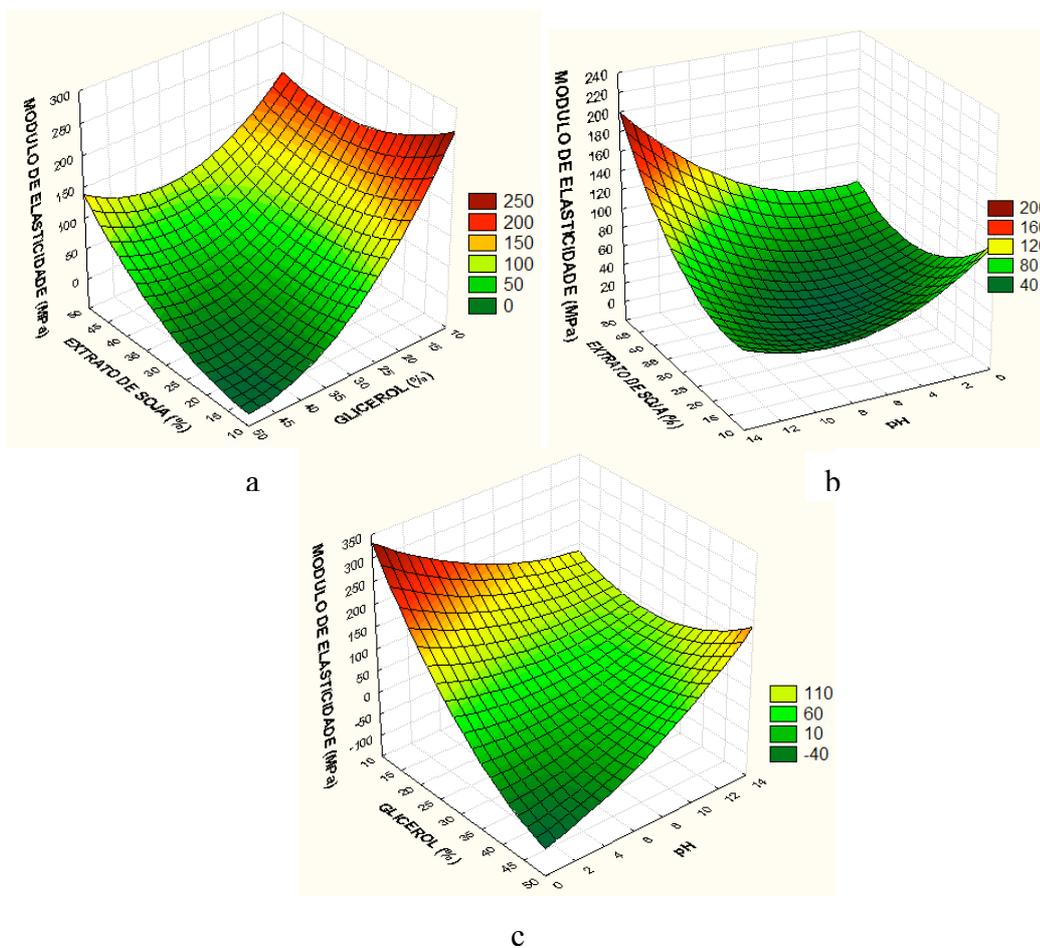
$X_1$ : Proteína de soja (%);  $X_2$ : Glicerol (%);  $X_3$ : pH;  
n.s.= Não significativo;  
\* = Significante ao nível de 5% de probabilidade;  
\*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade;  
\*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

Na Tabela 13 pode-se observar que o teor de glicerol ( $P < 0,001$ ) apresentou efeito linear negativo, indicando assim que elevando-se este fator ocorre a redução do módulo de elasticidade. Os parâmetros lineares das variáveis extrato de soja ( $P < 0,001$ ), pH ( $P < 0,001$ ), bem como as interações entre teor de glicerol (%) e pH ( $P < 0,001$ ), entre extrato de soja (%) e glicerol (%) e entre extrato de soja (%) e pH, apresentaram efeitos positivos sobre o módulo de elasticidade, indicando que um aumento em qualquer um destes fatores contribui para a elevação do módulo de elasticidade no teste de tração. Já os parâmetros pH ( $P < 0,001$ ), extrato de soja ( $P < 0,001$ ) e glicerol ( $P < 0,001$ ) (quadráticos) apresentaram efeitos positivos sobre o módulo de elasticidade, indicando a existência de um mínimo no módulo de elasticidade dos filmes. O coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,49$ ) demonstra que o modelo não se ajustou bem aos dados obtidos de módulo de elasticidade. A variável resposta módulo de elasticidade apresentou falta de ajuste significativa, indicando que o modelo escolhido não representa o sistema adequadamente. Porém, este modelo pode ser usado para análise de tendência (THOMPSON, 1982).

A equação polinomial gerada pela seleção das variáveis independentes com coeficientes significativos é a seguinte:

$$\text{MÓDULO DE ELASTICIDADE} = 32,9990 + 13,4304X_1 + 10,2379X_1^2 - 45,0945X_2 + 17,5790X_2^2 + 7,8913X_3 + 7,0253X_3^2 + 14,3087X_1X_2 + 9,1592X_1X_3 + 25,5563X_2X_3 \quad (19)$$

Foram construídos gráficos superfície de resposta (Figuras 20 a, 20b e 20c) com base na equação polinomial acima, para o módulo de elasticidade, onde observa-se a redução do módulo de elasticidade com a elevação do teor de glicerol e com a redução do extrato de soja, porém o glicerol foi a variável que mais influenciou na redução da variável e seu efeito quadrático com valor positivo indica superfície com concavidade voltada para cima e que existe um limite deste fator para reduzir o módulo de elasticidade dos filmes. A interação glicerol e pH mostra que a combinação dos valores de pH ácido com os teores mais elevados de glicerol favoreceu a redução do módulo de elasticidade. O efeito quadrático do pH foi a variável que menos influenciou no módulo de elasticidade dos filmes



**Figura 20** Superfície de resposta dos efeitos das variáveis independentes sobre o módulo de elasticidade dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca e extrato de soja.

O efeito da adição glicerol na redução do módulo de elasticidade também foi relatado por LIMA; ANDREANI; SOLDI (2007). Estes autores observaram que aparentemente, a adição de sorbitol até 30%, de reduziu as interações polímero-polímero, aumentando o volume livre entre as cadeias, promovendo a diminuição no módulo de elasticidade.

Comportamento similar foi observado por Meier et al., (2004), no estudo do efeito da poli (caprolactona triol) nas propriedades mecânicas de filmes de acetato de celulose. Para os filmes de alginato reticulados, o módulo de elasticidade diminui de 524 para 420 MPa com a quantidade de sorbitol variando de 0 para 10%, respectivamente, permanecendo praticamente constante na faixa de 10 a 30% de sorbitol, sugerindo a formação de filmes mais resistentes.

Alterações no módulo de elasticidade de acordo com o ajuste do nível de glicerol também foram observadas no trabalho de ZHANG; MUNGARA; JANE (2001). De acordo

com estes autores, para as folhas que contêm 10 e 20 partes de glicerol, o módulo de elasticidade foi alto e quando o conteúdo de glicerol aumentou para 30 partes, o módulo de elasticidade de folhas de proteína de soja diminuiu significativamente, indicando que os plásticos de soja foram amolecidos e ficaram semi-rígidos.

Com relação a interação entre glicerol e pH, sabe-se que o glicerol tem habilidade em reduzir as ligações de hidrogênio internas e as interações polímero-polímero, aumentando o volume livre entre as cadeias, já o efeito do pH está relacionado ao ponto isoelétrico, quando o valor do pH da solução é diferente do ponto isoelétrico da proteína, (soja- 4,5) maior a diferença de cargas entre as moléculas de proteína e conseqüentemente essas cargas líquidas repelem-se entre si, favorecendo assim a redução do módulo de elasticidade e a formação de filmes mais resistentes.

## 6 CONCLUSÕES

Este estudo permite afirmar que é possível elaborar filmes biodegradáveis utilizando-se amido de mandioca e extrato protéico de soja pela técnica de espalhamento.

Os filmes produzidos a partir de soluções mais concentradas de glicerol levaram ao aumento da espessura, da deformação na ruptura nos testes de perfuração e de tração, e a redução da opacidade e do módulo de elasticidade. Por outro lado concentrações elevadas de extrato de soja promoveram a redução da permeabilidade ao vapor de água e do módulo de elasticidade, bem como ao aumento da solubilidade em água, enquanto que a elevação do pH da solução filmogênica promoveu o aumento da força no teste de perfuração e da deformação no teste de tração.

Dentre as variáveis independentes estudadas, o glicerol foi a que exerceu maior efeito significativo sobre as propriedades físicas dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.

## **7 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS**

1. Avaliar a substituição do extrato protéico de soja por isolado protéico de soja.
2. Estudar o comportamento reológico das soluções filmogênicas.
3. Utilizar a microscopia eletrônica de varredura para justificar a nível molecular, possíveis efeitos das interações entre a proteína, glicerol e pH nas características físicas dos filmes.
4. Avaliar a vida útil dos filmes em várias condições de umidade relativa do ar, por meio da análise dinâmico-mecânicas e difração de raios-x.
5. Em paralelo, uma educação do consumidor é indispensável para evitar a dispersão do material na natureza, mesmo se biodegradável.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9.ed. St Paul: AACC, 1995.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 828-95a) In: **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, 1995. (CD ROOM).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-80) In: **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, p. 730–739, 1989.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, Designation D 882-91, **ASTM Book of Standards**, ASTM, Philadelphia, PA, p. 316, 1993.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standard test method for water vapor transmission of materials. Designation E-96-90, **ASTM Book of Standards**, ASTM, Philadelphia, PA, p. 834-841, 1990a.

ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E., NAKAYAMA, A. **Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol**, Carbohydrate Polymers, v.31, p.179-192, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17.ed. v.1. Gaithersburg: AOAC, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 18 ed. Maryland, USA, AOAC, 2005.

BANKER, G.S.; GORE, A.Y.; SWARBRICK, J. Water vapor transmission properties of free polymer films. **Journal of pharmaceutical sciences**, v.18, p.457-466, 1966. apud Park, H. J.; Chinnan, M. S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**. v.25, n.4, p. 497-507., 1995.

BANKER, G. S. Film coating, theory and practice. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 55, p. 81, 1966. apud MAHMOUD, R.; SAVELLO, P A. Mechanical Properties of and Water Vapor Transferability Through Whey Protein Films. **J Dairy Sci** v.75 p.942-946, 1992

BARRETO, P. L. M. **Propriedades Físico-Químicas de Soluções Formadoras e de Filmes de Caseinato de Sódio Plastificados com Sorbitol** .[Doutorado] Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências. Florianópolis, 114 folhas, 2003.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 299 p., 1995.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: EDUNICAMP, 2001.

BATISTA, J. A. **Desenvolvimento, caracterização e aplicações de biofilmes a base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos**. Campinas, 2004, 137 p. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2004.

BATISTA, J. A. TANADA-PALMU, P. S. GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 781-788, 2005.

BAUMANN, M.G. et al.; **Plastics solid waste management the role of source reduction, re-use, biodegradability and incineration in future**, Antec'98, vol.2, Conference Proceedings, SPE, Atlanta, USA, 1998.

BAYER, E. A.; LAMED, R. The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource? **Biodegradation**, v. 3, n. 2-3, p. 171-188, 1992.

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

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P.; R. SANGUANDEEKUL Effect of select parameters on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.39, p. 405-418, 2006.

BOX, G.E.P., DRAPER, N.R. **Empirical model-building with response surface, a book be published**, 1967.

BOX, G.E.P., HUNTER, W.G., HUNTER, J.S. **Statistics for experimenters: An introduction to desing, data analysis and model building**, New York: John Wiley & Sons, 1978.

BRASIL. Resolução nº 12/78 da **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos**. Diário Oficial, Brasília, 24 de julho de 1978. (Seção1, parte1).

BRASIL. Resolução nº 14/78 da **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos**. Diário Oficial, Brasília, (Seção1, parte1), 28 de agosto de 1978.

BRASILPLAST 2003 - Feira Internacional da Indústria do Plástico. 9. **Plástico Moderno**, n. 340, fevereiro de 2003.

BROTHER, G.H.; MCKINNEY, L.L. Protein Plastics from Soybean Products. **Ind. Eng. Chem**, v. 31, n.1, p. 84-87, 1939. apud ROUILLY, A. & RIGAL, L. Agro-Materials: A Bibliographic Review. **Journal of Macromolecular Science**. Part C-Polymer Reviews. v. C42, n. 4, p. 441-479, 2002.

BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L. F. M.; ROITMAN, T. Monitoramento Tecnológico e Mercadológico de Biopolímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 3, p. 256-261, 2008

BUTLER, B.L., VERGANO, P.J., TESTIN, R.F., BUNN, J.M., WILES, J.L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 5, p.953- 955+961, 1996.

CALLEGARIN, F. et al. Lipids and Biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 74, n. 10, p. 1183-1192, 1997.

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

CEPEA/ABAM - **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, da Esalq/USP/ Associação Brasileira dos Produtos de Amido de Mandioca**. Acesso pela internet <http://www.mandioca.agr.br/portal/index.php?option=content&task=view&id=5863&Itemid=74> feito em 19 de fevereiro de 2009.

CEREDA, M. P., BERTOLINI, A.C., EVANGELISTA, R.M. Uso de amido em substituição às ceras na elaboração de “filmes” na conservação pós-colheita de frutas e hortaliças : Estabelecimento de curvas de secagem. **In: Congresso Brasileiro de Mandioca**, 7, 1992, Recife. Resumos... Recife: Sociedade Brasileira de Mandioca. p.107, 1992.

CEREDA, M.P.; CASTRO, T.M.R.; HENRIQUE, C.M.; Embalagens de materiais biodegradáveis. **In: WORKSHOP SOBRE TECNOLOGIAS EM AGROINDÚSTRIAS DE TUBEROSAS TROPICAIS**, 1., 2003, Botucatu, Anais... Botucatu: CERAT/UNESP, 124p, 2003.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Prog. Polym. Sci.**, New York, v. 23, p. 1273-1335, 1998 a.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers, Elsevier Science Ltd. Grã-Bretanha. 23, p. 1276 1998 b.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L. y LORIENT, D. **Proteínas Alimentarias**. Acribia S. A. Zaragoza, Cap. 3, p.42-43, 1989.

CHEN, H. Functional properties and application of edible films made of milk protein. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p.2563-2583, 1995.

CHO, S. Y., RHEE, C. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 37, n.8, p. 833–839, 2004.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. Fabricação de amido e sua utilização. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, (**Série Tecnológica Agroindustrial**), 152 p., 1982.

**Conselho Nacional de Abastecimento.** (CONAB) Acesso pela internet <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/SojaSerieHist.xls> feito em 19 de fevereiro de 2009.

COUPLAND, J. N.; SHAW, N. B.; MONAHAN, F. J.; O'RIORDAN, E. D. & O'SULLIVAN, M. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films, **Journal of Food Engineering**, v. 43, p. 25, 2000.

COCHRAN, B.Y.; COX, G.M. **Experimental Design**. 2ª edição. New York: John Wiley, 1964.

CRANK, W.M. **The mathematics of diffusion**. London: Oxford University Press, 1975. apud HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231-24, 2008.

CRIPPA, A. **Estudo do desempenho de filmes multicamadas em embalagens termoformadas**. Curitiba, 2006. 136p. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia). Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, 2006.

CUQ, B., GONTARD, N., CUQ, J.L., GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 3, p. 622-626, 1997.

CUQ, B., GONTARD, N., GUILBERT, S. Protein as agricultural polymers for packaging production. **Cereal Chemistry**, v.75, n.1, p.1-9, 1998.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as effected by film tkickness. **Journal of Food Science**, v.61, n.3, p.580-584, 1996 a.

CUQ, B., GONTARD, N., CUQ, J. L., e GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n.3, p.580–584, 1996 b.

CURVELO, A.A.S.; CARVALHO, A.J.F.; AGNELLI, J.A.M. Thermoplastic starch-cellulosic fibers composites: preliminary results. **Carbohydrate Polymers**, v.45, n. 2, p. 183-188, 2001.

DAMODARAN, S. **Food Proteins: An Overview**. In **Food Proteins and Their Applications**; Paraf, S.D.A., Ed.; Marcel Dekker: New York, 1–24, 1996a.

DAMODARAN, S. Amino Acids, **Peptides and Proteins**. In: **Food Chemistry**; Fennema, O.R., Ed.; Marcel Dekker: New York, 321–431, 1996 b.

DAVAÇO, T. **Desenvolvimento e Caracterização de Biofilmes à base de Gelatina, Triacetina, Ácido esteárico ou Ácido caprótico e Surfactantes**. Campinas, 2006. 130p. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2006.

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P.; GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou caprónico: 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.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J.-A. e VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J.-A.; DELPORTE, B.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. **Journal of membrane Science**, v. 180, p.47-55, 2000.

DESRUMAUX, A.; BOUVIER, J. M. AND J. BURRI. Corn grits particle size and distribution effects on the characteristics of expanded extrudates. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 5, p. 857-863, 1998.

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FUR FETTEWISSENSCHAFT, (Metodologia padrão alemã) DGF, 1995.

ELLIS, R.P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M. F. B.; DUFFUS, C. M.; LYNN, A.; MORRISON, I. M.; PRENTICE, R. D. M.; SWANSTON, J. S.; TILLER, S. A. Starch production and industrial use (Review). **Journal of Science Food and Agriculture**, v.77, n.3, p. 289-311, 1998.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; 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.

FERREIRA, V.L.P. **Princípios e aplicações da colorimetria em alimentos**. Campinas: Ital, 5p. (Intruições Técnicas, n.19), 1981.

FERREIRA, A.B.H. **Novo dicionário de Língua Portuguesa**, 2ª ed., 35ª impressão, Editora Nova Fronteira, 1986.

FILHO, R.P. *et al.* Avaliação da biodegradação de PHB, PHB-V e PCL em solo compostado. **In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS**, 6., 2001, Gramado-RS, Brasil. *CD-Rom...* 2001. Trabalho nº.442, p.1244-1247.

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.

GARCÍA, F. T.; SOBRAL, P. J. A. Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v. 38, p. 289–296, 2005.

GARCÍA, M. A., MARTINO, M. N., & ZARITZKY, N. E. Microstructural characterization of plasticized starch-based films. **Starch/Stärke**, v. 52, n. 4, p. 118–124, 2000.

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

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, v.61, p.585-589, 1996.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: étude amélioration des propriétés filmogènes du glúten**. 1991. 174p. Tese (Dotoract Biochime, Biologie, Cellulaire et moleculaire/ Sciecens dès aliments), Université des Sciecens et techniques du Languedoc, Montpeller, 1991. apud VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.

GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main processes variables on films properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p. 190-195, 1992.

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

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.3- 15, 1996.

GRIFFIN, G.J.L. US PATENT no 4.021.388, 1977.apud MALI, S., GROSSMANN, M.V.E., GARCÍA, M.A., MARTINO, M.M., ZARITZKY, N.E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 129-135, 2004.

GUILBERT, S.; BIQUET, B. Les films et enrobage comestibles. In: BUREAU, G.; MULTON, J. L. **L'Emballage des Denrées Alimentaires de Grande Consommation**, Technique et documentation. France, Lavoisier, Apria, p. 320, 1989.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GOSSIS, L. G. M. **Food Science & Technology – Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v. 29, p. 10 1996.

HANDA, A.; GENNADIOS, A.; FRONING, G.W.; KURODA, N.; HANNA, M.A. Tensile, solubility, and electrophoretic properties of egg white films as affected by surface sulphydryl groups. **Journal of Food science**, v.64, n.1, p.82-85, 1999.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P. & SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; & DUPUY, N. Análise de cor, transparência e infravermelho dos filmes de fécula modificada de mandioca. **Agronomia Tropical**, v. 57, n.1, p. 25-30, 2007.

HERALD, T. J.; GNANASAMBANDAM, R.; MCGUIRE, B. H. and HACHMEISTER, K. A. 1995. Degradable wheat gluten films: preparation, properties and applications, **Journal of Food Science**, v.60, n.5, p. 1147- 1150, 1156, 1995.

HUANG, J. **Function-Structure Relationships of Acetylated Pea Starches**. The Netherlands, 2006. 152p. Ph.D. thesis. Wageningen University. 2006.

HUANG, J.-C.; SHETTY, A.S.; WANG, M.S. Biodegradable Plastics: A Review. **Advances in Polymer Technology**, New York, v.10, n.1, p.23- 30, 1990.

IWATA, K.; ISHIZAKI, S.; HANDA, A.; TANAKA, M. Preparation and characterization of edible films from fish water-soluble proteins. **Fisheries Science**, v.66, p.372-378, 2000.

JANGCHUD, A. e CHINNAN, M. S. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. **Lebensm. Wiss. U. Technolo**, v.32, p. 89-94, 1999.

KHURI, A. I.; CORNELL, J. A. **Response surface: design and analyses**. 2 ed. New York: Marcel Dekker Inc., 1996.

KROCHTA, J.M. **Edible protein films and coatings in food proteins and their applications in foods**. New York : Marcel Dekker, p. 529-550, 1997.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**. v.51, p. 61, 1997.

KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Cast Films from Soy Protein Isolates and Fractions. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 2, p.115–118, 1997.

KUUTTI, L.; PELTONEN, J.; MYLLÄRINEN, P.; TELEMAN, O.; FORSELL, P. AFM in studies of thermoplastic starches during ageing, **Carbohydrate Polymers**, v.37, p. 7, 1998.

LAWTER, M. FISHER, G. Potential of starch based packaging for the food industry. Conference Proceedings. **Food Biopack Conference**, 2000, Copenhagen Proceedings...Copenhagen, 2000.p.8-11; apud VILPOUX, O.; AVEROUS, L. **Série Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. Plásticos a base de amido. v.3, p.499-529, 2002.

LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, Absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 832-837, 2007.

MALI, S. **Produção, caracterização e aplicação de filmes plásticos biodegradáveis a base de amido de cará**. 2002. 150p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2002.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, p.7055-7011, 2003.

MALI, S., GROSSMANN, M.V.E., GARCÍA, M.A., MARTINO, M.M., ZARITZKY, N.E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 129-135, 2004.

MANO, E. B., MENDES, L. C. **Avaliação das propriedades dos polímeros**. In: Introdução a Polímeros. Editora Edgard Blucher Ltda. São Paulo, Brasil, p.58-64, 1999.

11

MARTINS, A. M.; MOTHÉ, C. G. & LEITE, S. – **Plástico Moderno**, p.20, 1997.

MAUER, L.J.; SMITH, D.E.; LABUZA, T.P. Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible  $\beta$ -casein films. **Internacional Dairy journal**, v. 10, p.353-358, 2000.

MAURI, A.N.; AÑÓN, M. Effect of solution Ph on solubility and some structural properties os soybean protein isolate films. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 1064-1072, 2006.

McHUGH, T.H.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, v.58 n.4, p.899-903, 1993.

MCHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Sorbitol vs. glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841-845, 1994.

MEIER, M. M.; KANIS, L. A.; DE LIMA, J. C.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V.; **Polym.Adv.. Technol.**, v. 15, p. 593, 2004.

MICHAELI, W. et al.; **Tecnologia dos Plásticos**. Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, Introdução e Lição 1, p. 1-13, 1995.

MILLER, K.S.; KROCHTA, J.M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v.81, p.228-237, 1997.

MONTERREY-QUINTERO E. S. **Caracterização físico-química de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes**. 1998. 83p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1998. apud VICENTINE, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.

MONTERREY-QUINTERO, E. S., SOBRAL, P. J. A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilapia-do-nilo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p. 179-189, 2000.

MONTERREY, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19 n.2, 1999.

NUNES, L.R.; RODOLFO Jr., A. **Tecnologia do PVC**. 2ª ed. São Paulo: ProEditores / Braskem. 448p, 2006.

OKAMOTO, S. Factors affecting protein film formation. **Cereal Foods World**, v. 23, p. 256-262, 1978.

OLIVATO, J. B.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito de embalagem biodegradável de amido no armazenamento de queijo processado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 81-88, jan./mar. 2006.

OLIVEIRA, C. S.; GRDEN, L.; RIBEIRO, M. C. O. Utilização de filmes comestíveis em alimentos. **Série em ciência e tecnologia de alimentos: desenvolvimentos em tecnologia de alimentos**. v. 1, p. 52 - 57, 2007.

OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULIS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas e flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 216p, 1996.

OLIVEIRA, M.A. **Utilização de película de fécula de mandioca como alternativa à cera comercial na conservação pós-colheita de frutos de goiaba (*Psidium guajava*)**. 1996. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996

OLIVEIRA, T.M. **Desenvolvimento e avaliação de filme biodegradável de polietileno incorporado de amido de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.)**. Viçosa, 2007. 108p. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, 2007.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnologia de Alimentos/Componentes dos Alimentos e Processos**, v. 1, Trad. Fátima Murad - Porto Alegre: ARTMED, - Cap. 4, p.51-54, 2005.

PAES, S. S. ;YAKIMETS,I.; MITCHELL, J. R. Influence of gelatinization process on functional properties of cassava starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 788–797, 2008.

PALMU, P. S. T. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis à base de glúten de trigo**. [Tese Doutorado] Campinas, SP: [s.n], 2003. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2003.

PASCHOALICK, T.M.; GARCIA, F.T.; SOBRAL, P.J. do A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p.419-427, 2003.

PATIL, R. T.; BERRIOS, J. J.; TANG, J.; PAN, J.; SWANSON, B. **Physical Characteristics of Food Extrudates - A Review**. Written for presentation at the 2005 ASAE Annual International Meeting Sponsored by ASAE Tampa Convention Center Tampa, Florida, p. 17-20 July 2005.

PERONI, F.H.G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de deferentes fontes botânicas**. São José do Rio Preto, 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 2003.

PIMENTEL-GOMES, L. **Curso de estatística experimental**. 14ed. 447p. Piracicaba: Desgapari, 2000.

PRADELLA, J. G. C. - **“Biopolímeros e Intermediários Químicos”**, relatório técnico nº 84396-205, Centro de Tecnologia de Processos e Produtos, Laboratório de Biotecnologia Industrial – LBI/CTPP (2006).

ROBERTSON, G. **Food packaging: principles and practice**, Marcel Dekker, 1993.

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.

ROUILLY, A.; RIGAL, L. Agro-Materials: A Bibliographic Review. **Journal Of Macromolecular Science**. Part C-Polymer Reviews. c.42, n. 4, p. 441–479, 2002.

ROY, S.; WELLER, C. L.; GENNADIOS, A.; ZEECE, M. G.; TESTIN, R. F. Physical and molecular properties of wheat gluten films cast from heated film-forming solutions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 1, p. 57-60, 1999.

RÓZ, A.L. O Futuro dos Plásticos: Biodegradáveis e Fotodegradáveis. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, 2003.

SANTOS, P. V. **Elaboração, aditivação e caracterização de biofilmes À base de fécula de mandioca**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos. UNICAMP, 2004.

SAKANAKA L. S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, 2002.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L., ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis. Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades**. 267 p., 2002.

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

SHIKU, Y., HAMAGUCHI, P. Y., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., & TANAKA, M. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska Pollack. **Food Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 493–499, 2004.

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

SILVA, L.F. Ensaios para avaliação da biodegradabilidade de plásticos. **In: SEMINÁRIO DAS COMISSÕES TÉCNICAS DA ABPOL**, 4., 2000, São Paulo. *Anais...* São Paulo: ABPOL. p.10-12, 2000.

SOBRAL, P. J. A., OCUNO, D. Permeabilidade ao Vapor de Água de Biofilmes à Base de Proteínas Miofibrilares de Carne. **Braz. J. Food Technol.**, 3:11-16, 2000.

SOBRAL, P. J. A.; GARCÍA, F. T.; HABITANTE, A. M. Q. B. & MONTERREY-QUINTERO, E. S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nylo. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.3, p.255-262, 2004.

SOBRAL, P. J. do A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, jan. 2000.

SOBRAL, P.J.A.; OCUNO, D.; SAVASTANO JUNIOR, H. Preparo de proteínas miofibrilares de carne e elaboração de biofilmes com dois tipos de ácidos: propriedades mecânicas. **Braz. J. Food Technol.**, v.1, n.1-2, p.44-52, 1998.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24–30, 2000.

SWAIN, S. N., BISWAL, S. M., NANDA, P. K., AND NAYAK, P. L. Biodegradable Soy-Based Plastics: Opportunities and Challenges. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 12, n. 1, 2004.

THIRÉ, R. M. S. M.; SIMÃO, R. A.; ARAÚJO, P. J. G.; ACHETE, C. A.; ANDRADE, C. T. Redução da Hidrofilicidade de Filmes Biodegradáveis à Base de Amido por meio de Polimerização por Plasma. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 14, nº 1, p. 57-62, 2004.

THOMPSON, D. R. Response surface experimentation. **Journal of Food Process and Preservation**, v.6, p. 155, 1982.

TORRES, J.A. Edible films and coatings from proteins. **In: HETTIARACHY, N.S.; ZIEGLER, G.R. (Ed.). Protein functionality in food systems.** New York : M. Dekker, p.467-507, 1994.

VEIGA, P., VILPOUX, O., CEREDA, M.P. Possíveis usos da fécula de mandioca: critérios de qualidade. **Boletim Técnico do CERAT**, 28p, 1995.

VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.

VILPOUX, O.; AVEROUS, L. Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas. **Série Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. Plásticos a base de amido, 2002. apud CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. *Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas*. São Paulo: Cargill, v.3, p.500-530, 2003.

WARD, I.M.; HARDLEY, D.W. **An introduction to the mechanical properties of solid polymers**. Ed. John Wiley & Sons, Great Britain, 1998.

WURZBURG, O. B. Cross-linked starches. In: WURZBURG, O. B. (ed.) **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC Press, Cap. 3, p. 41-53, 1986.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A. VEIGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Filmes Biodegradáveis para Aplicação em Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas. **Braz. J. Food Technol.**, v.8, n.4, p. 335-343, 2005.

YOUNG, H. Fractionation of starch. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. (Ed). **Starch chemistry and technology**. 2.ed. Orlando: Academic Press, p.249-283, 1984.

ZHANG, J.; MUNGARA, P.; JANE, J. Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. **Polymer**, v.42, p. 2569–2578, 2001.

ZIANI, K.; OSES, J.; COMA, V.; MATE, J. I. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 2159-2165, 2008.

## ANEXOS

---

<b>Anexo A</b>	Resultados experimentais das análises de espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.
<b>Anexo B</b>	Resultados experimentais das análises de diferença de cor e opacidade dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.
<b>Anexo C</b>	Resultados experimentais das análises de força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.
<b>Anexo D</b>	Resultados experimentais das análises de tensão e deformação e módulo de elasticidade no teste de tração dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.

---

**Anexo A** Resultados experimentais das análises de espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.

<b>Ensaio</b>	<b>Soja (%)</b>	<b>Glicerol (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Espessura (mm)</b>	<b>PVA (g.mm.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.kPa<sup>-1</sup>)</b>	<b>Solubilidade (%)</b>
1	20	20	4	0,116	0,239	32,35
2	20	20	10	0,111	0,177	22,12
3	20	40	4	0,112	0,249	38,61
4	20	40	10	0,132	0,287	43,98
5	40	20	4	0,112	0,275	48,19
6	40	20	10	0,111	0,168	51,76
7	40	40	4	0,122	0,374	47,95
8	40	40	10	0,123	0,264	48,15
9	13,18	30	7	0,107	0,309	35,82
10	46,82	30	7	0,111	0,312	45,95
11	30	13,18	7	0,108	0,286	22,32
12	30	46,82	7	0,129	0,268	14,84
13	30	30	1,95	0,124	0,227	30,01
14	30	30	12,04	0,116	0,240	60,96
15	30	30	7	0,118	0,271	53,87
16	30	30	7	0,117	0,256	56,23
17	30	30	7	0,118	0,261	59,72
18	30	30	7	0,119	0,294	51,52
19	30	30	7	0,115		
20	30	30	7	0,112		

**Anexo B** Resultados experimentais das análises de diferença de cor e opacidade dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.

<b>Ensaio</b>	<b>Soja (%)</b>	<b>Glicerol (%)</b>	<b>pH</b>	<b><math>\Delta E</math></b>	<b>Opacidade</b>
<b>1</b>	20	20	4	8,65	3,12
<b>2</b>	20	20	10	8,14	3,38
<b>3</b>	20	40	4	8,81	2,77
<b>4</b>	20	40	10	9,57	2,16
<b>5</b>	40	20	4	16,21	4,18
<b>6</b>	40	20	10	16,27	4,21
<b>7</b>	40	40	4	17,26	3,76
<b>8</b>	40	40	10	17,01	3,83
<b>9</b>	13,18	30	7	11,17	4,39
<b>10</b>	46,82	30	7	15,06	4,33
<b>11</b>	30	13,18	7	15,71	4,88
<b>12</b>	30	46,82	7	14,56	3,09
<b>13</b>	30	30	1,95	17,04	3,61
<b>14</b>	30	30	12,04	13,26	2,66
<b>15</b>	30	30	7	13,02	3,95
<b>16</b>	30	30	7	12,91	3,95
<b>17</b>	30	30	7	12,51	2,96
<b>18</b>	30	30	7	11,82	3,36

**Anexo C** Resultados experimentais das análises de força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.

<b>Ensaio</b>	<b>Soja (%)</b>	<b>Glicerol (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Força Perfuração (N)</b>	<b>Deformação Perfuração (%)</b>
<b>1</b>	20	20	4	0,126	0,092
<b>2</b>	20	20	10	2,406	6,890
<b>3</b>	20	40	4	0,078	21,882
<b>4</b>	20	40	10	0,480	13,179
<b>5</b>	40	20	4	0,514	0,142
<b>6</b>	40	20	10	1,271	5,097
<b>7</b>	40	40	4	0,179	6,854
<b>8</b>	40	40	10	0,678	7,046
<b>9</b>	13,18	30	7	1,577	15,156
<b>10</b>	46,82	30	7	0,208	4,662
<b>11</b>	30	13,18	7	0,554	2,020
<b>12</b>	30	46,82	7	0,330	9,804
<b>13</b>	30	30	1,95	0,717	13,386
<b>14</b>	30	30	12,04	0,285	13,533
<b>15</b>	30	30	7	1,853	2,333
<b>16</b>	30	30	7	2,303	2,333
<b>17</b>	30	30	7	2,784	2,327
<b>18</b>	30	30	7	2,444	2,329

**Anexo D** Resultados experimentais das análises de tensão e deformação e módulo de elasticidade no teste de tração dos filmes de amido de mandioca e extrato de soja.

<b>Ensaio</b>	<b>Soja (%)</b>	<b>Glicerol (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Tensão na tração (MPa)</b>	<b>Deformação na tração (%)</b>	<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>
<b>1</b>	20	20	4	6,340	9,239	147,6900
<b>2</b>	20	20	10	6,742	6,405	166,4517
<b>3</b>	20	40	4	0,171	92,918	0,1710
<b>4</b>	20	40	10	0,335	99,587	0,4840
<b>5</b>	40	20	4	7,761	4,601	211,6380
<b>6</b>	40	20	10	7,531	4,596	146,3630
<b>7</b>	40	40	4	0,208	52,426	0,6800
<b>8</b>	40	40	10	0,235	83,383	158,3037
<b>9</b>	13,18	30	7	2,281	50,890	16,4531
<b>10</b>	46,82	30	7	0,876	51,880	5,3040
<b>11</b>	30	13,18	7	4,723	9,350	62,3871
<b>12</b>	30	46,82	7	0,226	48,592	0,9077
<b>13</b>	30	30	1,95	0,648	99,189	2,8720
<b>14</b>	30	30	12,04	0,304	121,000	0,7070
<b>15</b>	30	30	7	4,152	20,966	38,5028
<b>16</b>	30	30	7	2,835	22,495	36,9057
<b>17</b>	30	30	7	3,408	17,136	35,2691
<b>18</b>	30	30	7	4,532	16,136	38,7768