UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MANUEL FERNANDO CORONADO JORGE

**Caracterização de filmes nanocompósitos biodegradáveis a base de gelatina produzidos
com um aplicador automático de filmes**

Pirassununga
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MANUEL FERNANDO CORONADO JORGE

**Caracterização de filmes nanocompósitos biodegradáveis a base de gelatina produzidos
com um aplicador automático de filmes**

**Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da Universidade de
São Paulo como parte dos requisitos para a
obtenção de Título de Doutor em Zootecnia.**

**Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal.**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo José do Amaral
Sobral**

Dedico este trabalho, a minha esposa, Maria Elena com amor, e meus filhos, Carolina e Rodrigo, por seu esforço, paciência e compreensão. Amo a vocês.

AGRADECIMENTOS

À República Federativa do Brasil pela generosidade e hospitalidade durante minha estadia de estudos de doutorado. Foi uma experiência grande e uma bênção de Deus de ter compartilhado o esforço de seus profissionais no cenário mundial da Ciência e Tecnologia.

Ao Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral, por seu exemplo de trabalho, disciplina espartana e oportunidade de compartilhar com sua equipe de pesquisa gerando conhecimento na ciência brasileira e no mundo.

À Prof. Dra. Izabel Moraes, Prof. Dra. Rosemary Carvalho, Prof. Dra. Fernanda Vanin pelo apoio no desenvolvimento dos procedimentos, soluções aos problemas apresentados, aportes valiosos na condução do trabalho experimental.

À Professora Dra. Samantha de Pino, pelo uso do Laboratório de Colóides e Funcionalidade de Macromoléculas.

À Ana Monica Bittante, pelo auxílio valioso de cada uma das técnicas empregadas no desenvolvimento do trabalho experimental.

À Samira Nassar e Nayla Souki por sua colaboração e esforço em cada uma das dificuldades que conseguimos superar durante a etapa experimental do trabalho.

Aos meus pais Manuel e Simona e familiares pelo amor e valor fornecido durante minha estadia no Programa de Doutorado.

A meu tio Fernando Kleberg Hidalgo, colegas Oscar e Mari pelo apoio e por ter acreditado minha presença e conclusão do Curso de Doutorado.

À Facultad de Ingenieria Agroindustrial da Universidad Nacional de San Martín (Tarapoto-Perú) pelo apoio recibido durante minha permanencia no Programa de Doutorado.

Aos colegas da Pós-graduação: Noemi, Guillermo, Eliane, Roseli, Flavia, Graziely, Josiane, Alessandra, Gilmar, Gisele e Tiara pela sua companhia e amizade.

À seção de Pós-graduação, Layla Denófrio e funcionários, que sempre me atenderam com muita gentileza.

Ao Comitê de Relações Internacionais, Prof. Dr. Raul Franzolin e Clélia de Godoy, pelo apoio administrativo e a organização dos encontros internacionais que permitiram conhecer a historia brasileira e nossos países.

Aos funcionários de FZEA, que participaram de uma maneira direta ou indireta na execução dos trabalhos experimentais.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

À CAPES por ter confiado em mim, ser parte da historia brilhante da gestão brasileira na educação superior como instrumento fundamental do desenvolvimento dos povos. Não

poderia ter chegado aonde cheguei sem o apoio do governo brasileiro, através da CAPES. Muito obrigado pela bolsa de doutorado, no programa PEC-PG.

À FAPESP (Programa Multiusuário, 2009/53992-5, e Apoio a Infraestrutura, 2010/50643-7) e ao CNPq (Edital Universal de 2008), pelos auxílios financeiros que permitiram o desenvolvimento das pesquisas no Laboratório de Tecnologia de Alimentos.

Muito obrigado a todos.

“Caminhante, são tuas pegadas o caminho e nada mais; caminhante, não há caminho, se faz caminho ao andar”.

Antonio Machado

RESUMO

CORONADO JORGE, M.F. Caracterização de filmes nanocompósitos biodegradáveis a base de gelatina produzidos com um aplicador automático de filmes. 2012. Teses de Doutorado - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

O desenvolvimento de filmes à base de biopolímeros tem sido bastante estudado devido aos problemas ambientais causados pelas embalagens de plásticos sintéticos. Dentre os biopolímeros, merece destaque a gelatina, que tem excelente propriedade filmogênica. Entretanto, até o presente momento, os filmes de gelatina apresentam limitações de propriedades mecânicas e, tem elevada sensibilidade à umidade. Uma alternativa para melhorar as propriedades desses filmes pode ser a utilização de nanopartículas como carga de reforço. Assim, os objetivos desta tese foram o desenvolvimento e a caracterização de filmes à base de gelatina, reforçados com nanopartículas. Especificamente, foram objetivos os seguintes estudos: avaliação do efeito da concentração de gelatina sobre as propriedades reológicas das soluções formadoras de filmes e de algumas propriedades físicas de filmes de gelatina, preparados com essas soluções formadoras de filmes com um aplicador automático de filmes; e estudo dos efeitos das concentrações de gelatina e de montmorilonita sobre as propriedades físicas de filmes nanocompósitos e de suas soluções formadoras. Em ambos os estudos, os filmes foram caracterizados imediatamente após a secagem e depois de 7 dias de acondicionamento. As soluções formadoras de filmes (SFF) foram preparadas com gelatina e glicerol, e as soluções formadoras de nanocompósitos (SFN), pela mistura de uma solução de gelatina com uma dispersão de montmorilonita em água, em ambos os estudos, em proporções e temperaturas convenientes. Após a homogeneização, as SFF ou SFN foram resfriadas até a temperatura adequada para aplicação em suportes de plexiglass com a ajuda de um espalhador automático de filmes, acoplado a um banho ultratermostatizado. A altura do espalhador foi mantida constante em 1,5 mm, e a velocidade de espalhamento foi fixada em 35 mm/segundo. Em seguida, as SFF ou SFN foram desidratadas a 30°C por 24h, em estufa com circulação de ar. No primeiro estudo, as SFF foram preparadas com 5, 8, 11 e 14g de gelatina/100g de SFF e 30 g de glicerol/100g de gelatina, e na segunda parte da tese, as SFN foram preparadas com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN, 30 g de glicerol/100g de gelatina e 0, 5, 10 e 15g de montmorilonita/100g de gelatina. As propriedades reológicas das SFF e SFN foram estudadas com testes estacionários e dinâmicos. As propriedades reológicas das

dispersões de montmorilonita em água também foram estudadas, bem como a determinação do tamanho médio das partículas e do potencial zeta. Os filmes foram caracterizados para conhecimento da espessura, umidade, propriedades mecânicas (testes de tração e perfuração), transições de fase, microestrutura das superfícies e da criofratura, cristalinidade, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), hidrofobicidade, isoterma de sorção de vapor de água, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, ao O₂ e CO₂, cor, opacidade, brilho e propriedade de barreira a luz/UV, segundo os objetivos específicos de cada estudo. Em relação ao primeiro estudo, observou-se que a concentração de gelatina na SFF influenciou fortemente todas as propriedades reológicas e inclusive, as transições sol-gel e gel-sol, determinadas nos testes dinâmicos com varredura de temperatura. A concentração de gelatina na SFF aumentou linearmente a espessura dos filmes, sem, contudo afetar nitidamente a umidade, as transições de fases e nem as propriedades mecânicas obtidas nos testes de tração. A força na perfuração aumentou, mas esse efeito foi devido ao aumento da espessura dos filmes. Em relação ao estudo sobre nanocompósitos de gelatina, observou-se inicialmente que a montmorilonita dispersa em água apresentou diâmetro médio entre 204 e 344 nm, e potencial zeta variando em torno de -43mV. A carga de nanopartícula não afetou a viscosidade da dispersão em água, mas influenciou fortemente as propriedades reológicas e de transições de fases das SFN. A carga de nanopartículas também influenciou a espessura, as propriedades mecânicas e a hidrofobicidade dos filmes nanocompósitos, sem uma função nítida. Comportamento similar foi observado nos resultados da calorimetria diferencial de varredura, embora o padrão de cristalinidade, os espectros de FTIR e as microestruturas dos filmes tenham variado com a carga de montmorilonita. O filme nanocompósito produzido com 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina apresentou melhores propriedades mecânicas e menor solubilidade em água. Esse filme foi submetido a caracterizações complementares com resultados típicos de filmes de gelatina. No geral, pode-se concluir que a montmorilonita pode melhorar as propriedades dos filmes de gelatina, porém, mais estudos serão necessários para se garantir perfeita dispersão da nanopartícula na matriz do filme.

Palavras-chave: filmes comestíveis, proteína, montmorilonita, nanopartícula, propriedades físicas, propriedades reológicas.

ABSTRACT

CORONADO JORGE, M.F. Characterization of gelatin-based biodegradable nanocomposite films produced using an automatic film spreader. 2012. PhD Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

The development of films based on biopolymers has been widely studied due to the environmental problems caused by synthetic plastic packaging. Among biopolymers, gelatin has to be outlined as it has excellent filmogenic properties. However, until now, the gelatin films have mechanical properties limitations and, high humidity sensitive. An alternative to improve the properties of these films may be the use of nanoparticles as load. Thus, the objectives of this thesis were the development and characterization of gelatin-based films, charged with nanoparticles. Specifically, the objectives were the following studies: evaluation of the effect of gelatin concentration on the rheological properties of the film-forming solutions and on some physical properties of the gelatin films prepared with those film forming solutions using a automatic spreader; and the study of the effect of the gelatin and montmorillonite concentrations on the physical properties of nanocomposite films and their film forming solutions. In both studies, the films were characterized immediately after drying and then after 7 days of conditioning. The film forming solutions (FFS) were prepared with gelatin and glycerol, and the nanocomposite film forming solutions (NFS), by blending the gelatin solution with the montmorillonite dispersion in water, for both studies, in convenient proportions and temperatures. After homogenization, the FFS or NFS were cooled to a proper temperature and applied on plexiglass plates with the help of an automatic spreader, attached to an ultra thermostated bath. The height of the spreader was kept constant at 1.5 mm, and the spreading speed fixed at 35 mm/second. After that, the FFS or NFS were dehydrated at 30°C for 24h, in an oven with air circulation. In the first study, the FFS were prepared with 5, 8, 11 and 14g of gelatin/100g of FFS and 30g of glycerol/100g of gelatin, and in the second part of the thesis, the NFS were prepared with 5 and 8g of gelatin/100g of NFS, 30 g of glycerol/100g of gelatin and 0, 5, 10 and 15g of montmorillonite/100g of gelatin. The rheological properties of the FFS and NFS were studied by steady and dynamic tests. The rheological properties of the montmorillonite dispersions in water were also studied, along with the average particle size and zeta potential determinations. The films were characterized to determine thickness, water content, mechanical properties (tensile and puncture tests), phase transitions, surface and cryo-fracture microstructure, crystallinity, Fourier transform

infrared spectroscopy (FTIR), hydrophobicity, water vapor sorption isotherm, solubility in water, water vapor, O₂ and CO₂ permeabilities, color, opacity, gloss, and light/UV barrier properties, according to the objectives of each study. Regarding the first study, it was observed that the gelatin concentration in the FFS strongly influenced the rheological properties and even the sol-gel and gel-sol transitions, determined by the dynamic temperature scanning tests. The gelatin concentration provoked linear increasing of films thickness without, however, affecting discernibly the water content, the phase transitions neither the mechanical properties determined by the tensile tests. The puncture force increased, but this effect was due to the thickness increasing of the films. Regarding the gelatin nanocomposites study, it was initially observed that the montmorillonite dispersed in water had average diameter between 204 and 344 nm, and zeta potential varying around -43mV. The nanoparticle filling did not affect the viscosity of the water dispersion, but strongly influenced the rheological properties and the phase transitions of the NFS. The nanoparticle filling also affected the thickness, the mechanical properties and the hydrophobicity of the films, without a clear function. Similar behavior was observed for the differential scanning calorimetry results, although the crystalline pattern, the FTIR spectra and the microstructure of the films varied with the montmorillonite filling. The nanocomposite film produced with 5g of gelatin/100g of NFS and 5g of montmorillonite/100g of gelatin showed better mechanical properties and lower solubility in water. That film was submitted to further characterizations rendering results typical of gelatin films. In general, it can be concluded that the montmorillonite can improve the properties of gelatin films, however more studies will be necessary to guarantee the perfect dispersion of the nanoparticles within the film matrix.

Keyword: edible films, protein, montmorillonite, nanoparticle, physical properties, rheological properties.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura da montmorilonita (HOFMANN et al., apud LUCKHAM e ROSSI, 1999).....	9
Figura 2 - Princípio de formação de nanocompósitos (baseado em WEISS; TAKHISTOV; McCLEMENTS, 2006).....	10
Figura 3 - Aplicador automático de filmes do Laboratório de Tecnologia de Alimentos.....	15
Figura 4 - Fluxograma de produção dos filmes nanocompósitos produzidos com gelatina suína, glicerol e montmorilonita.....	16
Figura 5 - Soluções formadoras de filmes sem e com nanopartículas.....	18
Figura 6 - Solução formadora de filme em uma cuba para medida de potencial zeta.....	19
Figura 7 - Reômetro TA AR 2000 (TA Instruments).....	20
Figura 8. Micrometro digital Mitutoyo para medida de espessura de filmes.....	22
Figura 9 - Texturômetro TA.XT2i (SMS, Surrey, U.K) para testes de tração e perfuração dos filmes.....	23
Figura 10. Calorímetro diferencial de varredura (modelo DSC TA2010).....	25
Figura 11 - Microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM30000).....	26
Figura 12 - Espectrofotômetro Spectrum-One (Perkin-Elmer).....	27
Figura 13 - Tensiômetro óptico (Optical Tensiometer, Finlândia).....	27
Figura 14 - Mesa agitadora orbital Marconi MA-141.....	29
Figura 15 - Filmes fixados em células contendo sílica para a determinação de permeabilidade ao vapor de água.....	30
Figura 16 – Esquema (em cima) e equipamentos de permeação e cromatógrafo gasoso (embaixo).....	32
Figura 17 - Colorímetro HunterLab.....	33
Figura 18 - Glossímetro Rhodopoint.....	34
Figura 19 - Espectrofotômetro UV-Visível (Biochrom Modelo Libra S22).....	35

Figura 20 - Exemplo de curvas de módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') em função da deformação (%) para soluções formadoras de filmes : 5g de gelatina/100g de SFF (a) 50°C, (b) 5°C e 14g de gelatina/100g de SFF (c) 50°C; (d) 5°C.....	37
Figura 21 - Exemplos de curvas obtidos nos testes de varredura de temperatura para diferentes concentrações de gelatina: — 5, — 8, — 11 e — 14g de gelatina/100g de SFF. Taxas de resfriamento (a), (b) e de aquecimento (c), (d) de 1°C/min.....	39
Figura 22 - Temperaturas de transições de fases em função da concentração de gelatina: ♦ $T_{\text{sol-gel}}$ ■ $T_{\text{gel-sol}}$	40
Figura 23 – Diferença de temperaturas gel-sol e sol-gel ($\Delta T = T_{\text{gel-sol}} - T_{\text{sol-gel}}$) em função da concentração da gelatina.....	42
Figura 24 - Exemplo de curva de viscosidade complexa em função da temperatura para 5g de gelatina/100g de SFF.....	43
Figura 25 - Temperatura de resfriamento das soluções formadoras de filmes em função da concentração de gelatina.....	44
Figura 26 - Curvas de fluxo da solução formadora de filme para diferentes concentrações de gelatina: — 5, — 8, — 11 — 14g de gelatina/100g de SFF.....	45
Figura 27 - Viscosidade da solução formadora de filme em função da concentração de gelatina.....	46
Figura 28 - Fotos ilustrativas dos filmes de gelatina produzidos por “spreading” a diferentes concentrações de gelatina: a) 5% b) 8% c) 11% d) 14% (g/100g de SFF).....	47
Figura 29 - Valores médios de espessura dos filmes em função da concentração de gelatina. Filmes ♦ sem acondicionamento (E_{sa}) e ■ com acondicionamento (E_{ca}).....	48
Figura 30 - Exemplos de curvas obtidas no teste de tração para os filmes formulados com diferentes concentrações de gelatina: — 5, — 8, — 11,— 14g/100g de SFF. Filmes (a) sem acondicionamento; (b) com acondicionamento.....	51
Figura 31 - Valores médios de tensão na ruptura (T_R , MPa) em função da espessura do filme. Filmes (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	53
Figura 32 - Valores médios de módulo de elasticidade (MPa/%) em função da espessura do filme. Filmes (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	53
Figura 33 - Valores médios de alongação na ruptura (E_R , %) em função da espessura do filme. Filmes (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	54

Figura 34 - Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes formulados com diferentes concentrações de gelatina: — 5, — 8, — 11, — 14g de gelatina/100g de SFF. Filmes: a) sem acondicionamento b) com acondicionamento.....	55
Figura 35 – Força (a) e deformação na perfuração (b) dos filmes em função da concentração de gelatina (C_G). Filmes ♦ sem acondicionamento (F_{sa}) e ■ com acondicionamento (F_{ca}).....	56
Figura 36 – Força (a) e deformação na perfuração (b) dos filmes em função da espessura (E) Filmes ♦ sem acondicionamento (F_{sae}) e ■ com acondicionamento (F_{cae}). 57	57
Figura 37 - Curvas de DSC de filmes preparados com diferentes concentrações de gelatina: (a) 5, (b) 8, (c) 11, e (d) 14g de gelatina/100g de SFF. Filmes (A) sem acondicionamento, (B) com acondicionamento: linha contínua: 1ª varredura; linha pontilhada: 2ª varredura.....	58
Figura 38 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície interna dos filmes: seção transversal (coluna à esquerda), seção longitudinal (coluna à direita), formulados com diferentes concentrações de gelatina (a),(e) 5%; (b),(f) 8%; (c),(g) 11%; (d),(h) 14% (g/100g de SFF).....	62
Figura 39 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das superfícies dos filmes em contato com ar (coluna à esquerda) e em contato com a placa (coluna à direita) para as concentrações de 8 (a,b) e 11(c,d) g de gelatina/100g SFF.....	63
Figura 40 - Curvas de fluxo para dispersão de montmorilonita formuladas com valores referenciais de concentração de gelatina (a) 5 e (b) 8g/100g de SFN em função da concentração de nanopartículas: — 0% — 5% — 10% — 15% (g de montmorilonita/100g de gelatina).....	67
Figura 41 - Exemplo de curvas de módulos viscoelásticos em função da deformação (%) para 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina: (a) 50°C, (c) 5°C; 8g de gelatina/100g de SFN e 15g de montmorilonita/100g de gelatina: (b) 50°C, (d) 5°C.....	70
Figura 42 - Exemplo de curvas de módulos viscoelásticos em função da temperatura para a solução formadora de nanocompósito com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10, — 15g de montmorilonita/100g de gelatina. Taxas de resfriamento (a,b) e de aquecimento (c,d) de 1°C/min.....	72

Figura 43 - Exemplo de curvas de módulos viscoelásticos em função da temperatura para a solução formadora de nanocompósito com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10, — 15g de montmorilonita/100g de gelatina. Taxas de resfriamento (a,b) e de aquecimento (c,d) de 1°C/min.....	73
Figura 44 - Temperaturas de gelificação da solução formadora de nanocompósito com ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN em função da concentração de nanopartícula.....	74
Figura 45 - Temperaturas de fusão da solução formadora de nanocompósito com ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN em função da concentração de nanopartícula.....	75
Figura 46 - Histerese ($\Delta T = T_{\text{gel-sol}} - T_{\text{sol-gel}}$) em função da concentração de nanopartículas na solução formadora de nanocompósito para as concentrações de ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.....	76
Figura 47 - Viscosidade complexa em função da temperatura para a solução formadora de nanocompósito com 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.....	77
Figura 48 - Temperatura de resfriamento das soluções formadoras de nanocompósitos de 5 e 8% de gelatina em função da concentração de nanopartícula. ♦ 5, e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.....	78
Figura 49 - Curvas de fluxos das soluções formadoras de nanocompósitos à base de gelatina: (a) 5% (b) 8% e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10, — 15g de montmorilonita/100g de gelatina.....	79
Figura 50 - Efeito das concentrações de nanopartículas sobre o índice de consistência (k). ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.....	81
Figura 51 - Efeito das concentrações de nanopartículas sobre o índice de comportamento (n). ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.....	81
Figura 52 - Efeito das concentrações de nanopartículas sobre a viscosidade aparente (μ_{aparente}) (a 100 s ⁻¹) ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.....	82
Figura 53 - Fotos ilustrativas dos filmes nanocompósitos à base de gelatina, produzidos por “spreading”: 5g de gelatina/100g de SFN e: (a) 5, b) 10, c) 15g de montmorilonita/100g de gelatina; 8g de gelatina/100g de SFN e (d) 5, e) 10, f) 15g de montmorilonita/100g de gelatina.....	84

Figura 54 - Exemplos de curvas obtidas no teste de tração para os filmes formulados com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina. (a) sem acondicionamento; b) com acondicionamento.....	87
Figura 55 - Exemplos de curvas obtidas no teste de tração para os filmes formulados com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina. (a) sem condicionamento; b) com condicionamento.....	87
Figura 56 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa) para filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	90
Figura 57 - Valores médios de módulo de elasticidade (ME, MPa/%) para filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	90
Figura 58 - Valores médios de alongação na ruptura (ER, %) para filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	91
Figura 59 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa) para filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	92
Figura 60 - Valores médios de módulo de elasticidade (ME, MPa/%) para filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	93
Figura 61 - Valores médios de alongação na ruptura (ER, %) para filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.....	93
Figura 62 - Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina a) sem acondicionamento b) com acondicionamento.....	94

Figura 63 - Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina a) sem acondicionamento b) com acondicionamento.....	95
Figura 64 – Força na perfuração de filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ♦ sem acondicionamento e ■ com acondicionamento.....	96
Figura 65 – Deformação na ruptura de filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ♦ sem acondicionamento e ■ com acondicionamento.....	97
Figura 66 – Força na perfuração de filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ♦ sem acondicionamento e ■ com acondicionamento.....	97
Figura 67 – Deformação de filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ♦ sem acondicionamento e ■ com acondicionamento..	98
Figura 68 -Termograma DSC de filmes de 5% de gelatina e diferentes concentrações de nanopartículas. 0% (a,d); 5% (b,e) e 10% (c,f) de amostras sem acondicionamento (a,b,c) e com acondicionamento (d,e,f). Primeira (a) e segunda (b) varreduras.....	99
Figura 69 -Termograma DSC de filmes de 8% de gelatina e diferentes concentrações de nanopartículas. 0% (a,d); 5% (b,e) e 10% (c,f) de amostras sem acondicionamento (a,b,c) e com acondicionamento (d,e,f). Primeira (a) e segunda (b) varreduras.....	99
Figura 70 - Difractogramas de Raios X: a) montmorilonita em pó, b) gelatina em pó...	103
Figura 71 - Difractogramas de Raios X de filmes nanocompósitos de 5% (a,b,c) e 8% (d,e,f) (g de gelatina/100g de SFN) com 0% (a,d), 5% (b,e) e 10% (c,f) (g de montmorilonita/100g de gelatina).....	104
Figura 72 - Espectroscopia de infravermelho: a) gelatina em pó, b) montmorilonita em pó.....	105
Figura 73 - Espectroscopia de infravermelho de filmes nanocompósitos de 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: (a) 0%, (b) 5%, c) 10% (g de montmorilonita/100g de gelatina).....	107
Figura 74 - Espectroscopia de infravermelho de filmes nanocompósitos de 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: (a) 0%, (b) 5%, c) 10% (g de montmorilonita/100g de gelatina).....	107

Figura 75 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes nanocompósitos: seção transversal (a-c) e longitudinal (d-e), com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 0% (a,d), 5% (b,e), 10% (c).....	109
Figura 76 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes nanocompósitos, seção transversal (a-c) e longitudinal (d-f), com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 0% (a,d), 5% (b,e), 10% (c,f)....	110
Figura 77 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de filmes nanocompósitos em contato com ar (a-b) e com a placa (c-d): 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 5% (a,c), 10% (b,d).....	111
Figura 78 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes nanocompósitos da superfície em contato com o ar (a-c) e com a placa (d-f), com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 0% (a,d), 5% (b,e), 10% (c,f).....	112
Figura 79 – Isoterma de sorção de vapor de água a 25°C de filme nanocompósito (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina): ○ dados experimentais, — curva obtida com modelo GAB.....	115
Figura 80 - Espectro UV-visível dos filmes: (a) gelatina padrão e (b) filme nanocompósito (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina).....	121

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição de aminoácidos de gelatina suína (g de aminoácidos por 100g de proteína). Fonte: Sobral, et al., (2001).....	6
Tabela 2 – Relação dos sais e respectivas atividades de água usada na determinação da isoterma de sorção de vapor de água a 25°C.....	28
Tabela 3 - Valores médios de umidade de filmes sem e com acondicionamento em NaBr em função da concentração de gelatina na solução formadora de filme.....	50
Tabela 4 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa), alongação na ruptura (ER, %) e módulo de elasticidade (ME, MPa/%) de filmes sem e com acondicionamento, formulados com diferentes concentrações de gelatina.....	52
Tabela 5 - Propriedades térmicas de filmes de diferentes concentrações de gelatina na solução formadora de filme e tipo de acondicionamento, obtidas por análises de DSC..	60
Tabela 6 - Diâmetro médio da partícula e potencial zeta em função de valores referenciais de 5 e 8g gelatina/100g SFN para diferentes concentrações de nanopartículas.....	65
Tabela 7 - Valores médios de viscosidade de dispersões de montmorilonita formulados com valores referenciais de gelatina de 5 e 8g/100g de SFN.....	68
Tabela 8 - Temperaturas das soluções formadoras de nanocompósitos em função das concentrações de gelatina e de nanopartícula.....	78
Tabela 9 - Valores médios de espessura para 5 e 8 g de gelatina/100 g SFN a diferentes concentrações de montmorilonita sem e com acondicionamento.....	85
Tabela 10 - Valores médios de umidade para 5 e 8 g de gelatina/100 g SFN a diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.....	86
Tabela 11 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa), módulo de elasticidade (ME, MPa/%) e alongação na ruptura (ER, %) para 5 e 8g de gelatina/100 g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.....	89
Tabela 12 - Valores médios de força (F,N) e deformação na perfuração (%) para 5 e 8g de gelatina/100 g de SFN a diferentes concentrações de montmorilonita sem e com acondicionamento.....	96
Tabela 13 - Valores médios de propriedades de transições de fase de 5g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.....	101

Tabela 14 - Valores médios de propriedades de transições de fase de 8g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.....	102
Tabela 15 - Ângulo de contato médio na superfície de secagem dos filmes com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas.....	113
Tabela 16 - Ângulo de contato médio na superfície em contato com a placa dos filmes com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas.....	113
Tabela 17 - Parâmetros estimados do modelo de GAB para filme nanocompósito de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.....	116
Tabela 18 - Valores de permeabilidade ao vapor de água, oxigênio e dióxido de carbono de filme nanocompósito produzidos a partir de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.....	117
Tabela 19 - Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*), diferença de cor (ΔE^*) e opacidade de filme de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.....	119
Tabela 20 - Valores de brilho (20° e 60°) de filme de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.....	120

Sumário

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Filmes à base de gelatina.....	5
<i>3.1.1. Gelatina.....</i>	<i>5</i>
<i>3.1.2. Filmes de gelatina.....</i>	<i>6</i>
3.2. Filmes nanocompósitos à base de biopolímeros.....	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1. Material.....	14
4.2. Produção de filme à base de gelatina por “spreading”.....	14
4.3. Produção de filme nanocompósito por “spreading”.....	15
4.4. Caracterização de dispersões aquosas de montmorilonita.....	18
<i>4.4.1. Diâmetro médio de partícula e potencial zeta.....</i>	<i>19</i>
<i>4.4.2. Comportamento reológico.....</i>	<i>19</i>
4.5. Propriedades reológicas da solução formadora de filme: condições de espalhamento.....	20
<i>4.5.1. Testes oscilatórios.....</i>	<i>20</i>
<i>4.5.2. Testes estacionários.....</i>	<i>21</i>
4.6. Caracterizações dos filmes.....	22
<i>4.6.1. Espessura.....</i>	<i>22</i>
<i>4.6.2. Umidade.....</i>	<i>23</i>
<i>4.6.3. Propriedades mecânicas.....</i>	<i>23</i>
<i>4.6.3.1. Teste de tração.....</i>	<i>24</i>
<i>4.6.3.2. Teste de perfuração.....</i>	<i>24</i>
<i>4.6.4. Propriedades de transição de fase.....</i>	<i>25</i>
<i>4.6.5. Microestrutura dos filmes.....</i>	<i>25</i>

4.6.6. Cristalinidade por difração de raio X.....	26
4.6.7. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	26
4.6.8. Hidrofobicidade superficial.....	27
4.6.9. Isoterma de sorção de vapor de água.....	28
4.6.10. Solubilidade em água.....	29
4.6.11. Permeabilidade ao vapor de água, oxigênio e dióxido de carbono..	30
4.6.12. Cor e opacidade.....	32
4.6.13. Brilho.....	34
4.6.14. Propriedade de barreira à luz/UV.....	34
4.7. Análise estatística.....	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1. Produção e caracterização de soluções formadoras de filmes à base de gelatina e de seus filmes preparados com aplicador automático de filmes....	36
5.1.1. Propriedades reológicas da solução formadora de filme em função da concentração de gelatina.....	36
5.1.1.1. Varredura de deformação em ensaio oscilatório.....	36
5.1.1.2. Varredura de temperatura com teste oscilatório.....	38
5.1.1.3. Curvas de fluxos.....	44
5.1.2. Propriedades físicas dos filmes de gelatina.....	46
5.1.2.1. Espessura.....	47
5.1.2.2. Umidade.....	49
5.1.2.3. Propriedades mecânicas.....	50
5.1.2.3.1. Teste de tração.....	50
5.1.2.3.2. Teste de perfuração.....	54
5.1.2.4. Propriedades de transição de fase.....	57
5.1.2.5. Microscopia eletrônica de varredura.....	61
5.2. Produção e caracterização da solução formadora de nanocompósito (SFN) e de seus filmes nanocompósitos preparados com aplicador automático de filmes.....	63
5.2.1. Efeitos da concentração de nanopartículas nas propriedades físicas das soluções formadoras de nanocompósitos.....	64
5.2.1.1. Estudo da dispersão de nanopartículas em água e glicerol...	64

5.2.1.1.1. <i>Tamanho médio das partículas, potencial zeta e pH.....</i>	64
5.2.1.1.2. <i>Curvas de fluxo para dispersão de montmorilonita em água e glicerol.....</i>	67
5.2.1.2. <i>Propriedades reológicas de soluções formadoras de filmes à base de gelatina e de montmorilonita.....</i>	68
5.2.1.2.1. <i>Testes de varredura de deformação.....</i>	68
5.2.1.2.2. <i>Testes de varredura de temperatura.....</i>	71
5.2.1.2.3. <i>Curvas de fluxo.....</i>	79
5.2.2. <i>Propriedades de filmes nanocompósitos.....</i>	83
5.2.2.1. <i>Espessura.....</i>	85
5.2.2.2. <i>Umidade.....</i>	85
5.2.2.3. <i>Propriedades mecânicas.....</i>	86
5.2.2.3.1. <i>Teste de tração.....</i>	86
5.2.2.3.2. <i>Teste de perfuração.....</i>	94
5.2.2.4. <i>Propriedades de transição de fase.....</i>	98
5.2.2.5. <i>Difração de Raio X.....</i>	103
5.2.2.6. <i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.....</i>	105
5.2.2.7. <i>Microscopia eletrônica de varredura.....</i>	108
5.2.2.8. <i>Hidrofobicidade superficial.....</i>	113
5.3. <i>Propriedades físicas do filme nanocompósito escolhido.....</i>	114
5.3.1. <i>Sorção de vapor de água.....</i>	114
5.3.2. <i>Solubilidade em água.....</i>	116
5.3.3. <i>Propriedades de barreira.....</i>	116
5.3.4. <i>Cor e opacidade.....</i>	118
5.3.5. <i>Brilho.....</i>	119
5.3.6. <i>Barreira à luz/UV.....</i>	120
6. CONCLUSÕES.....	123
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	125
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126

1. INTRODUÇÃO

O acúmulo de embalagens plásticas na natureza é uma situação cada vez mais preocupante e representa um desafio para a gestão dos resíduos em termos de tratamento e de reciclagem. Uma das alternativas possíveis, particularmente no setor de embalagens de alimentos, é o desenvolvimento de filmes à base de biopolímeros, que poderão substituir os materiais sintéticos.

De acordo com Gontard e Guilbert (1996), os biopolímeros de origem agropecuária podem ser utilizados de três maneiras na produção de materiais comestíveis e/ou biodegradáveis: (i) por mistura de biopolímeros com polímeros sintéticos, o que provocaria um aumento da biofragmentação do material, e conseqüentemente, o seu desaparecimento no ambiente seria mais rápido (ex.: polietileno oxidado com amido); (ii) pela utilização de produtos, ou subprodutos, da indústria de alimentos como substrato para a produção de biopolímeros por fermentação (ex.: poli(hidroxi-butirato), PHB e poli(hidroxi-valerato), PHV); e (iii) a utilização de biopolímeros diretamente na produção dos filmes.

Os principais biopolímeros utilizados na elaboração de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são os polissacarídeos (NISPEROS-CARRIEDO, 1994) e as proteínas (GENNADIOS et al., 1994; TORRES, 1994). As proteínas são macromoléculas particularmente interessantes, porque possuem na sua estrutura até 20 monômeros diferentes (resíduos de aminoácidos), com elevado potencial de interações intermoleculares (GONTARD; GUILBERT, 1996), das quais dependem as propriedades funcionais ou físicas (propriedades mecânicas, barreira aos gases, etc.) do material produzido.

Dentre as proteínas mais estudadas, a gelatina é reconhecida pela excelente propriedade filmogênica (ARVANITOYANNIS, 2002). No entanto, como para todas as proteínas, vários fatores como pH, tratamentos térmicos, adição de plastificantes, concentração iônica, concentração de proteína e a sua conformação molecular podem afetar as propriedades dos filmes (GENNADIOS et al., 1994; TORRES, 1994). De um modo geral, os filmes à base de gelatina apresentam boa resistência mecânica, porém reduzida barreira ao vapor de água.

Uma alternativa, ainda pouco estudada, para melhorar as propriedades dos filmes à base de biopolímeros é a utilização de nanopartículas como reforço, produzindo-se assim, um tipo de material denominado nanocompósitos (LAGARÓN et al., 2005; HEDENQVIST et al., 2006). Na grande área da Ciência e Tecnologia dos Alimentos, consideram-se como nanopartículas, materiais que tenham pelo menos uma dimensão nanométrica (LAGARÓN et al., 2005).

A perfeita dispersão das nanopartículas numa matriz polimérica, ou biopolimérica, pode aumentar as propriedades mecânicas e térmicas e a estabilidade à umidade dos materiais produzidos com aqueles biopolímeros (LAGARÓN et al., 2005; WEISS; TAKHISTOV; McCLEMENTS, 2006; HEDENQVIST et al., 2006). Desta forma, a produção de embalagens biodegradáveis nanocompósitos utilizando-se a montmorilonita como reforçador da matriz polimérica se apresenta como uma alternativa viável, para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes à base de gelatina.

Assim, esta tese foi realizada neste contexto, isto é, na busca da melhoria das propriedades de filmes de gelatina empregando-se uma nanopartícula, a montmorilonita. Entretanto, houve também o interesse em se mudar de técnica de elaboração dos filmes.

A equipe do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), onde esta tese foi realizada, tem larga experiência na produção de filmes pela técnica chamada de “casting”, que consiste no preparo de uma solução formadora de filmes (SFF) e sua aplicação em um suporte, simplesmente vertendo-se a SFF, ou seja, a SFF flui pela ação da gravidade. Assim, nesses casos, é de suma importância a utilização de SFF de baixa viscosidade, que tem sido obtida empregando-se 1 ou 2 g de gelatina/100 g de SFF (MENEGALLI et al., 1999; SOBRAL, 1999; SOBRAL et al., 2001, 2011; THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, et al., 2005; VANIN et al., 2005, BERGO et al., 2006, 2007, 2010; SILVA; FERREIRA, 2008; MORAES et al., 2008, 2009; MARIA et al., 2008, TABOADA et al., 2008; CARVALHO; GROSSO; SOBRAL, 2008; CARVALHO, et al., 2009; ALVES et al., 2011). Dessa forma, como o aumento da concentração de gelatina na SFF implicará certamente no aumento da sua viscosidade, faz-se necessária a utilização de um aplicador.

O equipamento utilizado nesta tese é um aplicador automático de filmes, similar ao utilizado por Larotonda (2008), em sua tese sobre desenvolvimento de filmes à base de goma

carragenana e amido, que foi desenvolvida sob a orientação do Prof. Dr. Alberto Sereno, no Departamento de Engenharia Química, da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

Por causa dessa mudança de técnica, foi necessária a realização de testes para a escolha das melhores condições de operação desse equipamento. Isso constituiu, portanto, a primeira parte da tese. Em seguida, pôde-se desenvolver filmes nanocompósitos de gelatina com montmorilonita, sempre utilizando o aplicador automático de filmes, que já estava perfeitamente incorporado nas competências da equipe do LTA. Esta tese é, portanto, o primeiro trabalho realizado nesse Laboratório utilizando tal técnica.

2. OBJETIVOS

Os objetivos desta tese foram o desenvolvimento e a caracterização de filmes à base de gelatina, reforçados com nanopartículas, para futura aplicação como embalagem de alimentos.

Especificamente, foram objetivos os seguintes estudos:

- Avaliação do efeito da concentração de gelatina sobre as propriedades reológicas das soluções filmogênicas e de algumas propriedades físicas de filmes de gelatina, preparados com essas soluções filmogênicas por “spreading”;
- Estudo dos efeitos das concentrações de gelatina e de montmorillonita sobre as propriedades físicas de filmes nanocompósitos e de suas soluções filmogênicas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Filmes à base de gelatina

3.1.1. Gelatina

A gelatina, proteína de origem animal, é obtida através da dissociação térmica ou química de cadeias polipeptídicas de colágeno. De acordo com o tipo de pré-tratamento utilizado para retirar impurezas e iniciar a hidrólise do colágeno, a gelatina é classificada em: gelatina do tipo A, quando o pré-tratamento é realizado com um ácido, possuindo esta um ponto isoelétrico entre 7,0 e 9,4, e tipo B, no caso do pré-tratamento ser básico, sendo que neste caso o ponto isoelétrico se encontra situado entre 4,5 e 5,3 (POPPE, 1997). As propriedades da gelatina, tais como, ponto isoelétrico, granulometria, viscosidade, propriedades viscoelásticas, e poder de gelificação (ou Bloom), são de grande interesse para a ciência dos alimentos (géis; filmes comestíveis) (ARVANITOYANNIS, 2002).

A estrutura primária (seqüência de aminoácido) da gelatina de pele suína é composta de 17 aminoácidos diferentes (Tabela 1). A gelatina é rica em aminoácidos polares (iônicos e não iônicos) constituindo aproximadamente um 50% dos aminoácidos. Esta característica é muito importante para um maior número de interações de hidrogênio de polímeros e os aminoácidos polares da matriz. A gelatina é uma proteína hidrofílica, que se solubiliza em líquidos polares em temperatura moderada (ARVANITOYANNIS, 2002).

A nível molecular, a formação do gel de gelatina envolve uma reestruturação das proteínas, implicando na passagem de um estado desordenado para um estado mais ordenado, formado por estruturas tripla-hélice características do colágeno no estado nativo, sendo que a estrutura e as propriedades físicas desses géis são resultado do nível de formação de junções microcristalinas (ACHET; HE, 1995; ZIEGLER; FOEGEDING, 1990).

Tabela 1 - Composição de aminoácidos de gelatina suína (g de aminoácidos por 100g de proteína). Fonte: Sobral, et al., (2001).

Aminoácido	Valores (%)
Alanina	10,08
Arginina	4,01
Acido aspártico	6,76
Acido glutâmico	11,12
Fenilalanina	1,99
Glicina	22,60
Histidina	0,72
Isoleucina	1,33
Leucina	2,54
Lisina	3,50
Metionina	0,68
Prolina	2,21
Serina	7,63
Tirosina	0,62
Treonina	1,35
Valina	4,84
Amônia	9,60

3.1.2. Filmes de gelatina

A gelatina é uma proteína capaz de formar uma rede tridimensional, com zonas de junções intermoleculares microcristalinas. A desidratação deste sistema pode produzir filmes quebradiços (ARVANITOYANNIS, 2002). Assim, a adição de um plastificante é necessária para impedir esse caráter quebradiço, possibilitando a formação de um material fino e flexível (SOBRAL et al., 2001).

Em função de sua excelente propriedade filmogênica, além de ser produzida em larga escala e a baixo custo praticamente em todo o mundo, a gelatina tem sido amplamente utilizada em estudos sobre filmes comestíveis e/ou biodegradáveis. Sobral et al. (2001),

Thomazine et al. (2005), Vanin et al. (2005), Jongjareonrak et al. (2006 a,b), dentre outros, estudaram as propriedades físicas e funcionais de filmes à base de gelatina, em função da origem da gelatina, do tipo e concentração de plastificantes, das condições de secagem ou da espessura dos filmes.

O plastificante deve ter baixo peso molecular, alto ponto de ebulição, compatibilidade com o polímero e solubilidade no solvente (BANKER, 1966). A incorporação à matriz polimérica reduz as forças intermoleculares, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas, melhorando as características mecânicas do filme (MALI et al., 2005). Oligossacarídeos, polióis e lipídios são diferentes tipos de plastificante e o mais frequentemente utilizado é o glicerol (SÁNCHEZ et al., 1998). O tipo e a concentração do plastificante influenciam nas propriedades funcionais dos filmes (SOBRAL et al., 2004; MCHUGH, KROCHTA, 1994; VANIN et al., 2005).

De maneira geral, os filmes de gelatina produzidos com glicerol são muito sensíveis às condições ambientais, notadamente à umidade relativa, porém apresenta boa resistência mecânica e alta elasticidade. Uma característica particular é que os filmes de gelatina, apesar de resistentes, apresentam-se extremamente fracos ao rasgamento.

A produção de filmes pela técnica “spreading-casting” consiste na solubilização de uma macromolécula em um solvente, na aplicação dessa solução, que também deve conter o plastificante, sobre um suporte com o auxílio de um aplicador de filmes, e posterior evaporação do solvente. A formação de filme ocorre devido à capacidade da macromolécula a formar uma matriz contínua e coesa.

Muitos pesquisadores têm investigado diferentes maneiras de melhorar as propriedades funcionais de filmes de gelatina para uma aplicação prática desses materiais na área de alimentos. Dentre esses estudos destacam-se a utilização reticulantes para obtenção de gelatinas com ligação cruzada (ALVES et al., 2011; CARVALHO, GROSSO, 2004), o uso de substâncias hidrofóbicas (JONGJAREONRAK et al., 2006b; BERTAN et al., 2005), substituição do plastificante hidrofílico pelo hidrofóbico (APARECIDA, SOBRAL, CARVALHO, 2009; ANDREUCETTI, CARVALHO, GROSSO, 2009, 2010; TALIANI et al., 2011), blendas de gelatina com outros polímeros (SILVA et al., 2008; TABOADA et al.,

2008) ou nanocompósitos (ZHENG et al., 2002; MARTUCCI, VÁZQUEZ, RUSECKAITE, 2007; BAE et al., 2009; TEIXEIRA, 2011; VANIN et al., 2011).

3.2. Filmes nanocompósitos à base de biopolímeros

Nanocompósitos são materiais híbridos de compostos orgânicos e inorgânicos, onde pelo menos um de seus componentes tem dimensões nanométricas (1-100 nm) (KIM et al., 2003; TEIXEIRA, 2011).

O emprego de nanopartículas na tentativa de se melhorar e/ou controlar as propriedades físicas e funcionais de filmes à base de biopolímeros pode ser considerado como a mais recente alternativa do ponto de vista tecnológico. Dessa forma, pode-se considerar que os filmes nanocompósitos são, ou serão, materiais de embalagens flexíveis de última geração. Certamente por causa disso, as pesquisas sobre esse tema começaram muito recentemente.

As nanopartículas podem ser orgânicas, normalmente desenvolvidas a partir de biopolímeros, ou inorgânicas, como as de argilas (WEISS; TAKHISTOV; McCLEMENTS, 2006). Recentemente, pesquisadores franceses desenvolveram partículas cristalinas de escala nanométrica com morfologia bem definida, por hidrólise ácida de amido “waxy” nativo (ANGLÈS; DUFRESNE, 2000). Por outro lado, as argilas mais comuns são os filosilicatos ou esmectitas. As esmectitas naturais, chamadas de montmorilonitas, são facilmente encontradas em qualquer parte do mundo e são as mais utilizadas em estudos sobre nanocompósitos à base de proteínas (CHEN; ZHANG, 2006; HEDENQVIST et al., 2006, TUNC et al., 2007, ANGELLIER-COUSSY et al., 2008). Vários outros tipos de nanopartículas de interesse na área de embalagens foram descritos no trabalho de Lagarón et al. (2005).

A montmorilonita, argila pertencente ao grupo estrutural dos filosilicatos 2:1 (grupo das esmectitas), possui partículas com tamanhos que podem variar de 2-1µm, podendo apresentar formato de placas ou lâminas (FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2011). Suas unidades estruturais são constituídas por duas folhas tetraédricas de sílica e uma folha central octaédrica de alumina, que se mantém unidas por átomos de oxigênio comuns a ambas as folhas (Figura 1) (ALEXANDRE; DUBBOIS, 2000). As camadas de montmorilonita

possuem espessura inferior ao comprimento de luz visível, não desviam a luz, sendo então transparentes, resistentes a solvente e altas temperaturas, características que são desejáveis para a produção de nanocompósitos para a aplicação em embalagens (GARCIA, 2003; FARIA;VERCELHEZE; MALI, 2011).

Figura 1 - Estrutura da montmorilonita (HOFMANN et al. apud LUCKHAM, ROSSI, 1999)

A montmorilonita dioctaédrica tem a sua carga estrutural proveniente da substituição de Mg^{2+} por Al^{3+} na folha octaédrica (Figura 1). A carga negativa é balanceada por cátions intercalados entre as unidades estruturais e estes cátions podem ser íons alcalinos terrosos (cálcio, Ca^{2+} , e magnésio, Mg^{2+}) ou metal alcalino de sódio (Na^{+}). No caso da substituição por cátions de Na^{+} , ela é denominada de montmorilonita Na^{+} , também conhecida como bentonita sódica (LUCKHAM; ROSSI, 1999).

Dentre os métodos de obtenção de nanocompósitos de polímero e argila destacam-se: polimerização *in situ*, intercalação de polímero fundido ou “melt blending” e dispersão aquosa (SOUZA; PESSANI, 2006; COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007; FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2011). Nesse trabalho foi usado o método de dispersão aquosa, que consiste em um sistema bifásico, no qual a montmorilonita é dispersa em fase aquosa e misturada ao polímero em solução aquecida.

As nanopartículas são estruturas que podem ser dispersas numa matriz polimérica, podendo ocorrer três tipos de dispersões das nanopartículas na matriz polimérica (Figura 2). No caso particular de nanopartículas de argilas, as dispersões ideais são do tipo intercalação ou esfoliação (OYA; KUROKAWA; YASUDA, 2000). A intercalação é o estado em que as cadeias do polímero estão intercaladas entre camadas da nanopartícula, resultando numa estrutura multicamada bem ordenada que se repete em escala nanométrica, enquanto a esfoliação é um estado em que as camadas da nanopartícula se encontram completamente separadas e dispersas na matriz contínua do polímero, maximizando as interações polímero-argila (OYA; KUROKAWA; YASUDA, 2000). Na estrutura de fase separada, as cadeias poliméricas não intercalam as camadas de argila, o que não proporciona melhoria nas propriedades do material reforçado com nanopartículas em comparação ao material sem reforço (RAY; BOUSMINA, 2005).

Figura 2 - Princípio de formação de nanocompósitos (baseado em WEISS; TAKHISTOV, McCLEMENTS, 2006)

As estruturas dos nanocompósitos têm sido caracterizadas principalmente pelas técnicas de Difração de Raio X (DRX) e microscopia eletrônica de transmitância. A análise microscópica fornece informação qualitativa da estrutura interna, distribuição parcial de várias fases e visão de defeito estrutural através da visualização direta, enquanto que os picos de baixo ângulo em DRX permitem uma qualificação de mudanças no espaçamento

interlamelar (TEIXEIRA, 2011; RAY; OKAMOTO, 2003). O perfil de difração obtido é característico para cada fase cristalina, o que permite a análise de materiais compostos por uma mistura de fases (ALBERS et al., 2002).

Anglès e Dufresne (2000) desenvolveram materiais nanocompósitos à base de amido de milho, plastificado com glicerol, como matriz, e filamentos de celulose de “tunicina” (celulósico), como carga de reforço. Estes autores mostraram que a matriz do material apareceu como um sistema heterogêneo complexo composto de uma fase rica em glicerol dispersa numa outra fase contínua, rica em amilopectina, sendo que cada fase tinha sua própria transição vítrea. Por outro lado, observou-se que o reforço de filmes de amido com filamentos de quitina melhorou as propriedades mecânicas dos filmes (ANGLÈS, DUFRESNE, 2001). Lu, Weng e Cao (2006) desenvolveram filmes à base de amido de trigo reforçado com nanopartículas de “ramie” (celulósico) e observaram um comportamento inverso ao do efeito plastificante: o aumento da concentração da nanopartícula provocou aumento da resistência mecânica e redução da elasticidade dos filmes. Entretanto, a presença das nanopartículas aumentou a resistência dos filmes à água, isto é, esses filmes foram menos sensíveis à umidade.

Outro tipo de nanopartícula à base de biopolímero foi obtido por hidrólise ácida da parte amorfa do amido (ANGELLIER et al., 2006). Esse nanomaterial foi empregado como enchimento de filmes à base de amido de milho (ANGELLIER et al., 2006) e de pululano (KRISTO; BILIADERIS, 2007), melhorando suas propriedades mecânicas, de maneira idêntica ao observado no trabalho de Lu, Weng e Cao (2006). Segundo Angellier et al. (2006), esse comportamento foi consequência da redução na mobilidade molecular da amilopectina nos materiais reforçados com os nanocristais de amido, devido à formação de pontes de hidrogênio entre os nanocristais e o amido termoplástico. Além disso, Kristo e Biliaderis (2007) observaram que o aumento da concentração das nanopartículas nos filmes à base do pululano reduziu a sensibilidade dos filmes à água, embora tenha provocado aumento da difusividade de água no filme.

Lu, Weng e Zhang (2004) desenvolveram nanocompósitos termoplásticos biodegradáveis utilizando uma suspensão coloidal de filamentos de quitina para reforçar filmes de isolado protéico de soja (IPS). Estes autores observaram que as fortes interações entre as nanopartículas (filamentos de quitina), bem como entre essas e a matriz de IPS,

desempenharam um papel importante no reforço do material, sem, contudo afetar sua biodegradabilidade. Os filamentos de quitina contribuíram para o aumento da resistência à tração e do módulo de Young de 3,3 a 8,4 MPa e 26 a 158 MPa, respectivamente, aumentando ainda a resistência dos filmes à água. A quitina formou arranjos microfibrilares incluídos numa matriz de proteína, com diâmetros de 2,5 a 2,8 nm (LU; WENG; ZHANG, 2004). A região ligeiramente cristalina da quitina foi dissolvida por hidrólise ácida, de forma que a região fortemente cristalina pôde ser convertida numa suspensão estável por cisalhamento mecânico, formando os nanofilamentos de quitina.

Hedenqvist et al. (2006) aplicaram a montmorilonita para o desenvolvimento de filmes à base de isolado protéico de soro de queijo em blenda com o poli(vinil pirrolidona), mas observaram por microscopia eletrônica de varredura, que as nanopartículas não se encontravam perfeitamente esfoliadas.

Mais recentemente, Tunc et al. (2007) desenvolveram filmes de glúten (WG) carregados com montmorilonita (MM) não modificada, em concentrações variando de 0 a 10% (MM/WG) e observaram que a permeabilidade ao vapor de água pôde, em princípio, ser controlada: a permeabilidade ao vapor de água foi alta, no caso do filme com baixa umidade ($\leq 2,5\%$), mas foi reduzida pela metade para umidades maiores ($\geq 5\%$), apesar do fato dessas nanopartículas não se apresentarem completamente esfoliadas na matriz de glúten. Angellier-Coussy et al. (2008) também observaram importantes melhorias nas propriedades de filmes à base de glúten com montmorilonita (0-5%), produzidos por termoprensagem.

Chen e Zhang (2006) também prepararam filmes compósitos à base de proteínas de soja com montmorilonita e observaram que a estrutura desses nanocompósitos foi fortemente dependente da concentração das nanopartículas: em concentrações menores que 12% em relação à proteína, a montmorilonita se encontrava altamente esfoliada em camadas de aproximadamente 1-2 nm, enquanto que a estrutura tipo intercalada predominou quando a concentração foi maior que 12%.

Filmes à base quitosana contendo agentes antimicrobianos, como a nano-prata e Ag-zeolita (Ag-ion), foram desenvolvidas com nanopartículas mais convencionais, como a montmorilonita (Na-MMT) e uma montmorilonita modificada quimicamente (Cloisita 30B) (RHIM et al., 2006). Assim, pode-se sugerir que os biopolímeros reforçados com

nanopartículas podem ser interessantes para o desenvolvimento de embalagens ativas, seja devido ao caráter antimicrobiano, como no caso dos filmes desenvolvidos por Rhim et al. (2006), seja pela possibilidade de se controlar a atmosfera dentro da embalagem, em função da permeabilidade aos gases, ao vapor de água e ao etileno dos filmes nanocompósitos. Pôde-se perceber que um controle das propriedades de barreiras poderia ser esperado, tendo em conta que a presença de nanopartículas bem dispersas na matriz do biopolímero, pode constituir obstáculos à migração dos gases, ou seja, as nanopartículas esfoliadas aumentariam a tortuosidade do sistema. Por definição, uma embalagem pode ser considerada como ativa, quando tiver a propriedade de selecionar, liberar progressivamente, absorver ou transformar um composto, ou um gás (GONTARD, 2000).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

O biopolímero empregado nesta tese foi gelatina de pele suína do Tipo A comercial, fornecida pela empresa GELITA do Brasil Ltda. (São Paulo, Brasil), e o agente plastificante utilizado foi glicerol bidestilado (Synth). Foram utilizadas nanopartículas de montmorilonita (Nanomer®clay, Aldrich).

4.2. Produção de filme à base de gelatina por “spreading”

As soluções formadores de filmes (SFF) foram preparadas com diferentes concentrações de gelatina (C_G), 5-14 g de gelatina/100g de SSF, mantendo-se constante a concentração do plastificante, 30 g de glicerol/100g de gelatina. Inicialmente, a gelatina foi hidratada em água destilada a temperatura ambiente por 30 minutos e solubilizada a 70°C por 30 minutos em banho termostático (Marconi, modelo MA 179). Durante a etapa de solubilização (70°C/15min), a eliminação das bolhas da solução (60°C/5 minutos) foi feita em banho ultrasom (Unique, modelo MaxiClean 1400). Na sequência, a solução permaneceu 13 minutos no banho termostático e então, o plastificante foi adicionado e a massa final da solução foi corrigida, quando necessária. A solução permaneceu nesse banho (70°C) por mais 2 minutos sob agitação mecânica, para sua homogeneização. Em seguida, a solução foi colocada em banho ultrasom (60°C) por dez minutos. Uma massa padronizada (80g) de solução formadora de filme foi pesada, resfriada (banho termostático, Marconi, modelo TE 184) e dispersa em placa de acrílico (26x30x0,2cm) utilizando-se um aplicador automático de filmes (TKB Erichsen, modelo Speed II) (Figura 3), acoplado a um banho ultratermostatizado (Marconi, modelo MA 184/20) para controle da temperatura da superfície de espalhamento. A altura do dispositivo do aplicador foi mantida em 1,5 mm e a velocidade de espalhamento foi fixada em 35mm/segundos. Após o espalhamento, a solução formadora de filme foi submetida à secagem por 24h a 30°C, em estufa com circulação forçada de ar (Marconi, modelo MA 035), para a obtenção dos filmes. As temperaturas da superfície de

espalhamento e de resfriamento das soluções formadoras de filmes foram definidas após análises reológicas das soluções.

Figura 3 - Aplicador automático de filmes do Laboratório de Tecnologia de Alimentos.

O efeito da concentração de gelatina na solução formadora de filme foi avaliado sobre a espessura, a umidade, as propriedades mecânicas (testes de tração e perfuração) e propriedades de transição de fase dos filmes produzidos. Essas análises foram realizadas imediatamente após a secagem e também após o acondicionamento dos filmes em dessecadores contendo solução salina saturada de NaBr (umidade relativa de 58%) por 7 dias. Micrografias desses filmes, formulados com diferentes concentrações de gelatina, foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura após acondicionamento dos filmes em sílica gel.

4.3. Produção de filme nanocompósito por “spreading”

Os filmes à base de gelatina reforçados com montmorilonita foram preparados a partir de uma solução de gelatina, preparada de acordo com as etapas descritas no item 4.2: hidratação da gelatina em água destilada (temperatura ambiente/30min), solubilização parcial da gelatina (70°C/15 min) e eliminação de bolhas da solução (60°C/5min). Simultaneamente, a montmorilonita (Figura 4) era dispersa em água de acordo com as seguintes etapas:

hidratação das nanopartículas em água destilada à temperatura ambiente, durante 43 minutos, juntamente com o plastificante; agitação da solução a 25.000 rpm por 10 minutos, utilizando-se agitador ultraturrax (Ika, modelo T18basic); eliminação de bolhas da solução (60°C/10min), utilizando-se um banho ultrassom. Em seguida, a dispersão de montmorilonita era misturada com a solução de gelatina e homogeneizada, sob agitação mecânica (70°C/2minutos) (Tecnal, modelo TE 039).

Figura 4 - Fluxograma de produção dos filmes nanocompósitos produzidos com gelatina suína, glicerol e montmorilonita.

Após a homogeneização, a solução formadora de filme foi mantida em banho ultrassom por 10 minutos, sendo em seguida resfriada em banho ultratermostatizado (Marconi, modelo MA 184) até a temperatura adequada para o seu espalhamento. A solução formadora de filme foi dispersa em placas de acrílico (26x30x0,2cm) utilizando o aplicador automático de filmes (Figura 3). Os filmes são obtidos após a desidratação das soluções formadoras de filme em estufa (30°C/ 24h).

Foram preparadas soluções formadoras de filmes com diferentes concentrações de gelatina (5 e 8g de gelatina/100g de SFF) e de montmorilonita (0, 5, 10 e 15g de montmorilonita/100g de gelatina). Em testes preliminares, observou-se que os filmes nanocompósitos produzidos com concentração de gelatina superior a 8% não foram homogêneos, devido ao aparecimento de aglomerados. Além disso, resultaram em filmes muito espesso (espessura > 0,190 mm).

O comportamento reológico das soluções formadoras de filmes e suas temperaturas de transições de fases (sol-gel e gel-sol) em função das diferentes concentrações de gelatina e montmorilonita foram determinados por análises reológicas, em cisalhamento estacionário e oscilatório (TALIANI et al., 2011).

A caracterização dos filmes com 15% de montmorilonita (g/100g de gelatina) não foi feita pela falta de repetibilidade no aspecto visual dos materiais, avaliado subjetivamente em relação à homogeneidade (cor, presença de partículas insolúveis, separação de fases, etc).

Imediatamente após a secagem dos filmes nanocompósitos, e após o acondicionamento dos filmes nanocompósitos em dessecadores com NaBr (58% de UR) à temperatura ambiente por sete dias, foram avaliados os efeitos das concentrações de gelatina e de montmorilonita sobre a espessura, a umidade, as propriedades mecânicas e as propriedades de transições de fase. Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), cristalinidade por difração de raio X (DRX), de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e de hidrofobicidade superficial, também foram realizadas na caracterização desses materiais, após o seu condicionamento em dessecadores contendo sílica gel.

Foi feita a escolha do filme baseada nas propriedades mecânicas do mesmo. O filme assim selecionado foi caracterizado com as seguintes análises: isoterma de sorção de vapor de

água, solubilidade em água, cor e opacidade, brilho a 20 e 60°, permeabilidade ao vapor de água e aos gases (O_2 e CO_2). Para essas análises, as amostras foram acondicionadas em dessecadores contendo NaBr (UR 58%) por 7 dias, com exceção da determinação de isoterma de sorção.

4.4. Caracterização de dispersões aquosas de montmorilonita

As dispersões aquosas de nanopartículas foram preparadas com diferentes concentrações de montmorilonita (5, 10 e 15g de montmorilonita/100g de gelatina) e com 30g de glicerol/100g de gelatina). A base de cálculo para a preparação das amostras foram 5 e 8g de gelatina/100g de dispersão). As nanopartículas foram dispersas em água deionizada e hidratadas sob agitação magnética por 12 horas, juntamente com o glicerol. Posteriormente, as etapas seguintes foram: agitação da dispersão a 25000 rpm por 10 minutos, utilizando-se agitador ultraturrax, eliminação de bolhas em banho de ultrassom (60°C/10min) e centrifugação a 4500 rpm por 30 minutos. O material precipitado foi descartado e as amostras (Figura 5) foram analisadas em relação ao pH (pHgâmetro Marte, modelo MB10), diâmetro médio, potencial zeta e comportamento reológico.

Figura 5 - Soluções formadoras de filmes sem e com nanopartículas.

4.4.1. Diâmetro médio de partícula e potencial zeta

A determinação do tamanho médio das partículas das amostras foi feita utilizando-se o equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments Company, EUA) (Figura 6), por espectroscopia de correlação de fótons (GOMES, 2011). O potencial zeta das amostras foi obtido usando-se o mesmo equipamento, através de medidas de mobilidade eletroforética a 25°C, as medidas foram realizadas 24 horas após preparação das dispersões (GUNISTER et al., 2007).

4.4.2. Comportamento reológico

As curvas de escoamento das dispersões de montmorillonita foram obtidas a 40°C, no intervalo de taxa de deformação de 0 a 100s⁻¹, utilizando-se um reômetro rotacional AR 2000 (TA Instruments) (Figura 7) com geometria de cilindros concêntricos ($r_i = 14\text{mm}$, $r_e = 15\text{ mm}$, $h = 42\text{ mm}$ e gap 5920 μm)

Figura 6 - Solução formadora de filme em uma cuba para medida de potencial zeta.

Figura 7 - Reômetro TA AR 2000 (TA Instruments).

4.5. Propriedades reológicas da solução formadora de filme: condições de espalhamento

Os ensaios reológicos das soluções formadoras de filme foram realizados com o reômetro TA AR 2000 (Figura 7), com geometria cone-placa (4° , 60 mm de diâmetro). A temperatura foi controlada através do sistema peltier e a evaporação do solvente das amostras foi evitada através do uso do dispositivo “solvent trap”. Foram realizadas análises reológicas para as amostras sem e com adição de nanopartículas, sendo avaliados os efeitos das concentrações de gelatina e de montmorilonita sobre as propriedades reológicas, temperaturas de transições e de resfriamento da solução (etapa “spreading”). O programa Rheology Advantage Data Analysis V.5.3.1 (TA Instruments) foi usado para obter e analisar os resultados dos testes reológicos (TALIANI et al., 2011).

4.5.1. Testes oscilatórios

Os ensaios reológicos das soluções formadoras de filme foram realizados com o reômetro TA AR 2000 (Figura 7) com geometria cone-placa (4° , 60 mm de diâmetro). Para a realização dos ensaios oscilatórios, determinou-se previamente, a região de viscoelasticidade linear, realizando-se uma varredura de deformação, no intervalo de 0,07 a 20%, a frequência constante de 1 Hz. Esse procedimento foi repetido em duas temperaturas diferentes, 5 e 50°C,

para estabelecer um valor de deformação na região linear no teste de varredura de temperatura. Em seguida, foram feitos experimentos de varredura de temperatura no intervalo de 5 a 50°C, mantendo-se constantes a frequência (1 Hz) e a deformação (7,5%).

A solução formadora de filme, à 50°C, foi colocada na geometria do reômetro, onde permaneceu em repouso por 2 minutos, para relaxamento das tensões (Peressini et al., 2003). Em seguida, a solução foi submetida a uma rampa de resfriamento, de 50 a 5°C, e de aquecimento, de 5 a 50°C, a taxa de 1°C/min. As respostas dos testes de varredura de deformação e de temperatura foram a viscosidade complexa (η^*), e os *móduli* de armazenamento (G') e de perda (G''). As temperaturas de transições sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$) e gel-sol ($T_{\text{gel-sol}}$) foram obtidas como a primeira derivada do módulo de armazenamento em função da temperatura, nas rampas de resfriamento e aquecimento, respectivamente (PERESSINI et al., 2003, MORAES et al., 2009).

Na etapa de “spreading”, a determinação da temperatura de resfriamento das soluções formadoras de filmes foi baseada na temperatura “onset” do aumento drástico da viscosidade complexa em função da temperatura, na rampa de resfriamento. A temperatura “onset” foi obtida como a intersecção das tangentes de duas linhas base da viscosidade complexa vs temperatura. A temperatura da superfície do aplicador automático de filme foi mantida abaixo da temperatura de transição sol-gel da solução formadora de filme.

As amostras experimentais testadas foram soluções filmogênicas em função da concentração de gelatina e soluções filmogênicas à base de gelatina reforçadas com nanopartículas de montmorilonita. Estes estudos permitiram determinar as condições de operação do espalhador automático de filmes e efeito da concentração de nanopartículas nas propriedades físicas das soluções filmogênicas.

4.5.2. Testes estacionários

Os ensaios estacionários foram realizados para determinar as curvas de fluxo e as propriedades reológicas das soluções formadoras de filmes. Essas análises foram realizadas a 40°C, no intervalo de taxa de deformação de 0 a 100s⁻¹, onde foram impostas três rampas de

taxa de deformação: crescente, decrescente e crescente, com duração de dois minutos cada uma. A resposta desse teste foi tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação e as propriedades reológicas (viscosidade, μ ; viscosidade aparente, μ_{aparente} ; índice de consistência, k e índice de comportamento de escoamento, n) foram calculadas de acordo com o comportamento reológico apresentado pela amostra. A temperatura selecionada para esse teste foi para garantir que as amostras estivessem no domínio sol.

4.6. Caracterizações dos filmes

4.6.1. Espessura

A espessura foi determinada utilizando um micrometro digital ($\pm 0,001$ mm) com sensor de ponta, marca Mitutoyo (Osaka, Japão) (Figura 8), em 10 pontos diferentes em cada amostra, considerando-se a espessura do filme como a média das dez leituras, expressa em milímetros (mm).

Figura 8 - Micrometro digital Mitutoyo para medida de espessura de filmes.

4.6.2. Umidade

A umidade (U, %) dos filmes foi determinada por secagem em estufa a 105°C por 24 horas (SOBRAL et al., 2001) e calculada com Equação (1).

$$U(\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (1)$$

Onde: m_i e m_f são as massas inicial e final, respectivamente.

4.6.3. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinados pelos testes de tração e de perfuração, utilizando-se um Texturômetro TA.XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, U.K.) (Figura 9) e o programa Exponent Lite Express Software v.4.0.13.0 (2007), de acordo com metodologia descrita em Thomazine, Carvalho e Sobral (2005) e Gontard, Guilbert e Cuq. (1992).

Figura 9 - Texturômetro TA.XT2i (SMS, Surrey, U.K) para testes de tração e perfuração dos filmes.

4.6.3.1. Teste de tração

As amostras dos filmes foram cortadas em tiras (15 mm de largura e 100 mm de comprimento), fixadas em sonda específica (garras, Figura 9) e tracionadas a uma velocidade de 0,9 mm/s. A separação inicial das garras foi de 50 mm. As propriedades mecânicas obtidas pelos testes de tração foram: tensão (TR, MPa) e alongação (ER, %) na ruptura, obtidas diretamente da curva de tensão versus alongação, e o módulo de elasticidade (ME, MPa/%), determinado como o coeficiente angular da parte linear da curva de tensão versus alongação.

4.6.3.2. Teste de perfuração

Nos testes de perfuração foram obtidos os valores de força (F, N) e deformação na perfuração (D, %). Os filmes foram fixados em uma célula com 52,6 cm de diâmetro e perfurados por uma sonda de 3 mm de diâmetro, que se deslocando a 1 mm/s. A força na perfuração foi determinada diretamente das curvas de força (N) x deslocamento (mm) da sonda (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992). A deformação na perfuração foi calculada com a Equação (2), considerando que a tensão foi distribuída em toda a superfície do filme e a deformação uniforme.

$$D(\%) = \frac{\sqrt{d^2 + l_0^2} - l_0}{l_0} \times 100 \quad (2)$$

Onde: l_0 é o comprimento inicial do filme (26,3 mm); d, o deslocamento da sonda cilíndrica na perfuração (mm).

4.6.4. Propriedades de transição de fase

A determinação das propriedades térmicas dos filmes de gelatina e de nanocompósitos foram analisados com calorímetro diferencial de varredura (modelo DSC TA2010) (Figura 10) controlado por um sistema TA5000 (TA Instruments, New Castle, DE, USA). As amostras, pesadas ($\pm 0,01$ mg) em balança de precisão (Ohaus, Analytical Plus) em cápsulas de alumínio, seladas hermeticamente, foram aquecidas a $5^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$, entre -50 e 200°C em corrida dupla, sempre após resfriamento com nitrogênio líquido, em atmosfera inerte ($45\text{ mL}/\text{minuto}$ de N_2) (SOBRAL; HABITANTE, 2001; GONTARD; RING, 1996). A referência era uma cápsula vazia. O equipamento foi calibrado com uma amostra de Índio ($T_m=156,6^{\circ}\text{C}$, $\Delta H_m=28,71\text{ J.g}^{-1}$) (TA Instruments). A temperatura de transição vítrea (T_g) foi calculada como o ponto de inflexão da linha de base e a temperatura de fusão, como o pico endotérmico na curva de fluxo do termograma, utilizando-se em ambas o programa Universal Analysis V1.7F (TA Instruments).

Figura 10 - Calorímetro diferencial de varredura (modelo DSC TA2010).

4.6.5. Microestrutura dos filmes

Analizou-se a microestrutura (superficial e interna) dos filmes à base de gelatina e de nanocompósitos utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Hitachi, TM30000) (Figura 11) a 15kV , de acordo com Lu et al. (2006). As amostras foram

previamente condicionadas em dessecadores contendo sílica gel, sob vácuo. Para a análise da microestrutura interna, os filmes foram criofraturados, após imersão em nitrogênio líquido.

Figura 11 - Microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM30000).

4.6.6. Cristalinidade por difração de raio X

A cristalinidade dos filmes nanocompósitos, formulados com 5 e 8g de gelatina/100g de solução formadora de nanocompósito (SFN) e 0, 5 e 10g de montmorilonita/100g de gelatina, e das amostras de gelatina e de montmorilonita em pó, foram caracterizados por difração de Raio-X (X-ray difratometer RU200B, Rigaku Rotaflex), conforme descrito por Angellier et al. (2006).

4.6.7. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em filmes nanocompósitos, em gelatina e em montmorilonita em pó, foram realizadas utilizando-se um espectrofotômetro Spectrum-One (Perkin-Elmer) (Figura 12), de acordo com Vicentini et al. (2005). Foram realizadas 20 varreduras na faixa espectral de 650 a 4000 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} . Os espectros de varredura foram coletados e analisados com o programa FTIR Spectrum Software (Perkin-Elmer).

Figura 12 - Espectrofotômetro Spectrum-One (Perkin-Elmer).

4.6.8. Hidrofobicidade superficial

A hidrofobicidade superficial dos filmes nanocompósitos foi avaliada por medidas de ângulo de contato em um tensiômetro (Optical Tensiometer, Finlândia) (Figura 13). Uma gota de água destilada, aproximadamente 10 μ L, foi colocada sobre o filme (3 x 4 cm²) fixado no equipamento com uma seringa de pistão automática (Hamilton Gastight ® Syringes, USA) e imediatamente fotografada. Um analisador de imagem (programa Attension Theta lite Óptica Tensiometer Software) foi usado para medir o ângulo formado entre a base, superfície do filme em contato com a gota de água, e a tangente à gota de água. As medidas de ângulo de contato foram obtidas nas duas faces do filme: superfície filme-suporte (placa de acrílico) e superfície filme-ar secagem (estufa). Essa análise foi realizada em triplicata.

Figura 13 - Tensiômetro óptico (Optical Tensiometer, Finlândia).

4.6.9. Isoterma de sorção de vapor de água

A isoterma de sorção de vapor de água para o filme selecionado (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina) foi determinada a 25°C pelo método estático gravimétrico (DOLE et al. 2004). Foram usadas sete soluções salinas saturadas que forneceram ambientes de diferentes umidades relativas, conferindo ao produto, atividades de água no intervalo de 0,11-0,85 (Tabela 2).

Tabela 2 - Relação dos sais e respectivas atividades de água usadas na determinação da isoterma de sorção de vapor de água a 25°C.

Sal	Atividade de água
Cloreto de lítio (LiCl)	0,113
Cloreto de magnésio (MgCl ₂)	0,328
Carbonato de potássio (K ₂ CO ₃)	0,432
Nitrato de magnésio Mg(NO ₃) ₂	0,529
Nitrito de sódio (NaNO ₂)	0,645
Cloreto de sódio (NaCl)	0,753
Cloreto de potássio (ClK)	0,850

(Fonte: Rizvi, 1986 e Ross, 1975)

Os filmes foram inicialmente equilibrados em dessecador, contendo Pentóxido de Fósforo (P₂O₅) a temperatura ambiente por três semanas. Em seguida, os filmes foram colocados em pesa-filtros (10 mL) e pesados em balança analítica (Scientech, modelo AS210, $\pm 0,0001$ g), entre 0,22-0,25g. A massa do pesa filtro vazio foi previamente determinada. Três pesa-filtros com tampa semi-aberta foram colocados em recipientes herméticos, contendo soluções salinas saturadas, que foram fechados sob vácuo a 400 mmHg. Esses recipientes herméticos foram colocados em estufa (BOD TE 390, Tecnal) a 25°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$). O equilíbrio foi alcançado após três semanas quando as amostras apresentaram peso constante. A umidade das amostras (base seca) foi determinada em estufa a 105°C por 24 horas. O modelo matemático de GAB (Guggenheim-Anderson-De Bôer) (Equação 3) foi ajustado aos pontos experimentais.

$$\frac{X}{X_m} = \frac{C_{GAB} K_{GAB} A_w}{(1 - K_{GAB} A_w)(1 + (C_{GAB} - 1)K_{GAB} A_w)} \quad (3)$$

Onde: A_w é a atividade de água (UR/100); X , a umidade de equilíbrio (g água/100 g de matéria seca); X_m , a umidade da monocamada (g de água/100g de matéria seca); C_{GAB} e K_{GAB} , constantes do modelo de GAB relacionadas a monocamada e a multicamada, respectivamente.

4.6.10. Solubilidade em água

A solubilidade em água do filme selecionado foi determinada com metodologia proposta por Gontard, Guilbert e Cuq (1992). As amostras no formato de discos (2 cm de diâmetro) foram imersas em água destilada (50 mL) e mantidas sob agitação mecânica (mesa agitadora Marconi MA-141, Figura 14) por 24 horas, à 25°C. Após esse período, foi determinada a umidade da amostra não solubilizada (105°C/24 horas). A solubilidade (S , g/100g de filme), expressa em termos de matéria seca dissolvida, foi calculada com a Equação 4.

Figura 14 - Mesa agitadora orbital Marconi MA-141.

$$S(\%) = \frac{m_{si} - m_{sf}}{m_{si}} \times 100 \quad (4)$$

Onde: m_{si} (gramas) é a massa seca inicial dos filmes; determinada conhecendo-se a umidade inicial da amostra e m_{sf} (gramas), a massa seca final do material não solubilizado.

4.6.11. Permeabilidade ao vapor de água, oxigênio e dióxido de carbono

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente, segundo o método ASTM (1989) modificado por Gontard, Guilbert e Cuq (1992). O filme foi fixado em célula de alumínio (Figura 15), contendo sílica gel (UR ~ 0%; pressão de vapor ~ 0 Pa), com área de permeação de 32,17 cm². Essa célula foi acondicionada em dessecador contendo água destilada (UR=100%; pressão de vapor de 2642 Pa) e mantida em estufa (BOD TE 390, Tecnal) a 25°C. O ganho de peso do sistema (célula+filme) foi determinado em balança semi-analítica (Marte, AS2000) a cada 24 horas. A permeabilidade foi calculada com a Equação (5).

Figura 15 – Filmes fixados em células contendo sílica para a determinação de permeabilidade ao vapor de água.

$$P_v = \frac{G}{t} \frac{e}{A(P_1 - P_2)} \quad (5)$$

onde P_v é a permeabilidade ao vapor de água (g mm/m² h Pa); G/t , o coeficiente angular obtido por regressão linear da reta de ganho de massa do sistema em função do tempo (g/h); e ,

a espessura média do filme (mm); A , a área de permeação do filme ($0,0032 \text{ m}^2$); P_1-P_2 = diferença de pressão de vapor entre as superfícies do filme (2642 Pa).

A permeabilidade ao oxigênio (O_2) e ao gás carbônico (CO_2), do filme selecionado foi avaliada pelo método dinâmico e isostático, usando cromatografia gasosa (MUJICA-PAZ; GONTARD, 1997). O dispositivo de permeação consistiu de uma célula de permeação em aço inox, formada por dois compartimentos separados pelo filme a ser analisado (Figura 16): o superior, por onde foi alimentado o gás inerte (Hélio), e o inferior, por onde escoou o gás permeante (O_2 ou CO_2). Estas análises foram realizada no IATE de MontpellierSupAgro, França.

O gás permeante (O_2 ou CO_2) e o gás inerte (Hélio) escoaram a uma vazão de 30mL/min através da célula de permeação. O gás foi umedecido pela passagem de uma corrente gasosa (mL/h) através de um frasco de borbulhamento, contendo água, e localizado em um criotermostato, visando-se manter a temperatura da análise constante. O gradiente de temperatura imposto entre a célula de permeabilidade e o criotermostato permitiu estabelecer a umidade relativa desejada na câmara, onde estava o módulo de permeação (Figura 16). A célula de permeabilidade foi conectada a um cromatógrafo gasoso GC3800 (Varian; Les Ulis/France) e a quantidade de gás (1mL de amostra), proveniente do compartimento superior da célula, analisada “on line” em função de tempos pré-determinados foi controlada por uma válvula automática, presente nessa linha. Previamente, os filmes foram fixados na célula de permeação, e o gás hélio escoou através dos dois compartimentos da célula, para a dessorção total do O_2 ou do CO_2 e estabilização da umidade relativa.

Uma coluna (2m de comprimento, 0,32m de diâmetro) da Porapak-Q (Chrompack, Les Ulis/France) foi usada no cromatógrafo gasoso, para a separação do O_2 e CO_2 , com um detector de condutibilidade térmica (TCD). A permeabilidade (P , mol/Pa.s m) do gás (O_2 ou CO_2) através do filme foi determinada com a Equação 6.

$$P_x = \frac{\Delta Q_x e}{\Delta t x A x \Delta P} . \quad (6)$$

Onde: o índice x se refere ao O_2 ou CO_2 , ΔQ é o número de mol de gás que passa através do filme, e , a espessura da amostra, Δt , intervalo de tempo que ocorreu a permeação, A , a área de permeação do filme e ΔP , a diferença de pressão exercida pelo gás em cada compartimento da célula.

Figura 16 – Esquema (em cima) e equipamentos de permeação e cromatógrafo gasoso (embaixo).

4.6.12. Cor e opacidade

A cor do filme nanocompósito selecionado foi determinada de acordo com Sobral et al. (2001), utilizando-se um colorímetro HunterLab (modelo Miniscan XE) (Figura 17),

operando com D₆₅ e célula de medida com abertura de 30 mm. Foram usados os parâmetros de cor CIELab, sendo L*, variando de 0 (preto) a 100 (branco); a*, do verde (-) ao vermelho (+); b*, do azul (-) ao amarelo (+). Os parâmetros L*, a* e b* da amostra foram determinados sobrepondo-se o filme sobre uma placa branca padrão e a diferença total de cor (ΔE^*) foi calculada com a Equação 7 (Vanin et al., 2005).

Figura 17 - Colorímetro HunterLab.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (7)$$

Onde: $\Delta L^* = (L^*_{\text{padrão}} - L^*_{\text{amostra}})$, $\Delta a^* = (a^*_{\text{padrão}} - a^*_{\text{amostra}})$, $\Delta b^* = (b^*_{\text{padrão}} - b^*_{\text{amostra}})$.

A opacidade dos filmes foi determinada de acordo com Sobral (2000), utilizando-se o mesmo colorímetro e o programa Universal Software 3.2 (Hunterlab Associates Laboratory). A opacidade (Y) da amostra foi calculada como a relação entre a opacidade da amostra colocada sobre o padrão preto (Y_p) e a opacidade da amostra colocada sobre o padrão branco (Y_b), com a Equação 8.

$$Y(\%) = \frac{Y_p}{Y_b} 100 \quad (8)$$

4.6.13. Brilho

O brilho dos filmes nanocompósitos foi determinado utilizando-se um Glossímetro Rhodopoint NGL 20/60 (Figura 18), nos ângulos de 20° e 60°, de acordo com Villalobos et al. (2005). Analisaram-se 10 posições diferentes na superfície superior dos filmes, aquela em contato com o ar de secagem e na superfície em contato com a placa. As medidas foram realizadas em triplicata.

Figura 18 - Glossímetro Rhodopoint.

4.6.14. Propriedade de barreira à luz/UV

Amostras do filme padrão (5 g de gelatina/100g de SFF) e do filme escolhido (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina), de 3 x 1 cm, foram avaliados com relação à transmissão de luz total, ou transmitância (%T), definida como a porcentagem total da luz incidente que é transmitida através do material (SOBRAL; CARVALHO; TRINDADE, 2011). A porcentagem de transmissão de luz foi determinada empregando-se um espectrofotômetro UV-Visível da marca Biochrom Modelo Libra S22 (Figura 19), equipado com detector de esfera integrada, na faixa de 190-800nm, com velocidade de 1800 nm/min.

Figura 19 - Espectrofotômetro UV-Visível (Biochrom Modelo Libra S22).

4.7. Análise estatística

Os resultados experimentais das caracterizações dos filmes foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas através do teste de Tuckey com nível de probabilidade de 5%, usando o programa estatístico “Statistical Analysis Systems” (SAS, versão 9.2).

5. , RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Produção e caracterização de soluções formadoras de filmes à base de gelatina e de seus filmes preparados com aplicador automático de filmes

Neste tópico foi estudado o efeito da concentração de gelatina (C_G) sobre as propriedades reológicas e as temperaturas de transições de fases, determinadas por reologia, das soluções formadoras de filme à base de gelatina. Esse estudo foi útil para o controle do processo “spreading” na produção de filmes. Além disso, os efeitos da concentração de gelatina e do condicionamento dos filmes também foram avaliados sobre algumas propriedades físicas dos filmes produzidos a partir dessas soluções por “spreading”.

5.1.1. *Propriedades reológicas da solução formadora de filme em função da concentração de gelatina*

5.1.1.1. *Varredura de deformação em ensaio oscilatório*

Exemplos de curvas obtidas nos testes para a determinação do intervalo de viscoelasticidade linear, em testes dinâmicos de varredura de deformação, para as soluções formadoras de filmes à base de gelatina, são apresentados na Figura 20. O intervalo linear é definido quando os valores dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') são independentes dos valores de deformação, isto é quando um “patamar” é observado nas curvas de G' e G'' em função da deformação e/ou da tensão. À 50°C, não foi possível determinar esse intervalo para as soluções formadoras de filmes com diferentes concentrações de gelatina (5-14g gelatina/100g de SFF), pois os valores de G' foram muito baixos e muito menores que G'' (Figuras 20a,c), indicando que o comportamento viscoelástico dessas soluções era desprezível. Na temperatura de 5°C, este patamar pôde ser observado para todo o intervalo de deformação (0,01-20%) na concentração de 5g de gelatina/100g de SFF (Figura 20b) e no máximo até 7,5% de deformação para a solução com 14g de gelatina/100g de SFF

(Figura 20d). Então, o valor de 7,5% de deformação foi aplicado nos testes oscilatórios de varredura de temperatura, realizados para a determinação das temperaturas de transições de fase, para todas as amostras.

Figura 20 - Exemplo de curvas de módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') em função da deformação (%) para soluções formadoras de filme: 5g de gelatina/100g de SFF (a) 50°C, (b) 5°C e 14g de gelatina/100g de SFF (c) 50°C; (d) 5°C.

5.1.1.2 Varredura de temperatura com teste oscilatório

Curvas representativas do comportamento dos módulos viscoelásticos (G' , G'') obtidos nos testes de varredura de temperatura para as soluções formadoras de filmes a diferentes concentrações de gelatina são mostrados na Figura 21. Nesse Figura, observou-se um comportamento característico independente da concentração de gelatina: ambos os módulos (G' e G'') tiveram altos valores em baixas temperaturas, que diminuíram em temperaturas relativamente altas. Esse comportamento é típico de gel físico termoreversível, sendo observado uma transição sol-gel e gel-sol para as rampas de resfriamento (Figuras 21a,b) e de aquecimento (Figuras 21c,d), respectivamente, como uma inflexão em ambos os módulo. Resultados similares foram observados por Gilsenan e Ross-Murphy (2000); Cho, Gu e Kim, (2005); Cheow et al. (2007), Moraes et al. (2008; 2009); Gómez-Estaca et al. (2009; 2011), que trabalharam com soluções à base de gelatina.

As cadeias de gelatina formam espirais aleatórias (estado desordenado “coil”) quando solubilizadas em água quente e em solução (domínio sol), conferem pouca elasticidade à solução formadora de filme ($G' < 1$ Pa) (Figura 21). No entanto, quando a solução é resfriada, zonas de junção são formadas por pequenos segmentos de duas ou três cadeias polipeptídicas revertendo à estrutura de tripla hélice do colágeno, formando uma rede tridimensional desordenada, com aumento significativo da elasticidade do sistema. No domínio gel, observou-se que quanto maior a concentração de gelatina maiores os valores das propriedades viscoelásticas (G' , G'') (Figura 21).

As transições sol-gel e gel-sol são processos termodinâmicos de múltiplos passos, com reestruturação da rede tridimensional envolvendo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas (GENNADIOS et al., 1994). A nível molecular, essas transições envolvem modificação das zonas de junção tripla hélice dos peptídeos, fenômeno chamado de re-naturação ou transição “coil-helix”, quando induzida pelo resfriamento de uma solução aquecida de gelatina (GILSENAN, ROSS-MURPHY 2000).

Figura 21 - Exemplos de curvas obtidos nos testes de varredura de temperatura para diferentes concentrações de gelatina: — 5, — 8, — 11 e — 14g de gelatina/100g de SFF. Taxas de resfriamento (a), (b) e de aquecimento (c), (d) de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

As temperaturas de transição sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$) e gel-sol ($T_{\text{gel-sol}}$), calculadas como a temperatura no vale da curva da primeira derivada de G' em função da temperatura, está apresentada na Figura 22. Na mesma concentração de gelatina, a $T_{\text{sol-gel}}$ foi menor que a $T_{\text{gel-sol}}$. O aumento da concentração de gelatina de 5 para 14% (g/100gde SFF) promoveu um aumento

linear da $T_{\text{sol-gel}}$ (Equação 9) e da $T_{\text{gel-sol}}$ (Equação 10). Esse comportamento também foi verificado em Taliani et al. (2011), para formulações filmogênicas à base de gelatina suína com plastificante hidrofóbico no intervalo de concentração de 2-10g de gelatina/100g de solução. Peressini et al (2003), trabalhando com soluções de metilcelulose, também observou que a concentração de metilcelulose tinha um efeito significativo nas propriedades viscoelásticas dessas soluções. Menegalli et al. (1999) também observou o efeito da concentração de gelatina sobre a temperatura de transição gel-sol dos géis de gelatina, estudada por calorimetria de varredura diferencial.

Figura 22 - Temperaturas de transições de fases em função da concentração de gelatina $\blacklozenge T_{\text{sol-gel}}$
 $\blacksquare T_{\text{gel-sol}}$

$$T_{\text{sol-gel}} = 0,65C_G + 18,9 \quad (R^2 = 0,98) \quad (9)$$

$$T_{\text{gel-sol}} = 0,30C_G + 29,2 \quad (R^2 = 0,99) \quad (10)$$

onde $T_{\text{sol-gel}}$ e $T_{\text{gel-sol}}$ são as temperaturas de transições de fase das SFF e C_G é a concentração de gelatina.

Gudmundsson (2002) trabalhando com soluções de gelatina suína com concentração de 6,67% (m/m) determinou uma $T_{\text{sol-gel}}$ da ordem de 24,7°C e a $T_{\text{gel-sol}}$ em 32,2°C, comparáveis aos valores obtidos para 8g de gelatina/100g de SFF (Figura 21). Entretanto, Cheow et al. (2007), que trabalharam com solução de gelatina bovina com 6,67% (m/m) obtiveram valores menores ($T_{\text{sol-gel}} = 19^\circ\text{C}$ e $T_{\text{gel-sol}} = 28,8^\circ\text{C}$) que os determinados nesta tese. A composição química da proteína, massa molecular e modificações no ambiente como pH, íons e outros aditivos são fatores que podem influenciar seu arranjo tridimensional e, consequentemente nas temperaturas de transições (BARRETO; PIRES; SOLDI, 2003).

O efeito da concentração de gelatina na diferença entre as temperaturas de transições gel-sol e sol-gel e ($\Delta T = T_{\text{gel-sol}} - T_{\text{sol-gel}}$), histerese entre as rampas de aquecimento e de resfriamento, está mostrado na Figura 23. Observou-se que com o aumento da concentração de gelatina de 5 para 14g/100g SFF houve uma redução linear (Equação 11) em ΔT , isto é, que a histerese diminuiu com o aumento da concentração de gelatina. Gudmundsson (2002) obteve um valor de 7,6°C para a diferença de temperaturas gel-sol e sol-gel em soluções com 6,67% (m/m) de gelatina suína, que é muito próximo ao encontrado para 8g de gelatina/100g de SFF (Figura 23).

Figura 23 – Diferença de temperaturas gel-sol e sol-gel ($\Delta T = T_{\text{gel-sol}} - T_{\text{sol-gel}}$) em função da concentração da gelatina.

$$\Delta T = - 0,35 C_G + 10,35 \quad (R^2 = 0,97) \quad (11)$$

onde ΔT é a diferença de temperaturas de transições de fase gel-sol e sol-gel das SFF e C_G é a concentração de gelatina.

Com o aumento da concentração de gelatina na solução formadora de filme tem-se maior conteúdo de glicina, prolina e hidroxiprolina. Esses aminoácidos são importantes na formação de regiões de tripla hélice, pois durante o processo de gelificação, as zonas de junção são muito ricas em tripletos Gly-Pro-Hyp (JOHNSTON-BANKS, 1990). Então, um aumento no conteúdo desses aminoácidos promove uma transição sol-gel em temperaturas mais altas. Quanto maior o conteúdo de prolina e hidroxiprolina, maior será a propensão para a formação de hélices mais compactadas, resultando em maiores temperaturas de fusão (BUENO, 2011).

Além disso, baseado nesses resultados reológicos, a temperatura do suporte do aplicador automático de filmes foi mantida a 20°C, isto é, abaixo da temperatura sol-gel mais baixa (~22°C para $C_G=5\%$, Figura 22) e para o espalhamento, a temperatura de resfriamento (T_R) das soluções formadoras de filmes foi mantida acima da transição sol-gel. Essa temperatura foi função da concentração de gelatina e sua determinação foi feita conforme exemplificado na Figura 24. O ponto onde foi verificado um aumento drástico da viscosidade complexa (η^*) foi definido como a temperatura de resfriamento (T “onset” = T_R), calculado como a interseção entre duas tangentes. Foi observado um aumento linear (Equação 12) na temperatura de resfriamento em função do aumento da concentração de gelatina de 5 para 14g/100g de SFF (Figura 25).

As temperaturas da superfície do aplicador e de resfriamento das soluções formadoras de filmes são importantes para a qualidade do filme devido à cinética de formação do gel e o encolhimento do filme de solução depositado no suporte durante o processo de secagem, que são dependentes da concentração de gelatina e das temperaturas da camada de amostra em contato com o suporte e da superfície do aplicador automático de filme.

Figura 24 - Exemplo de curva de viscosidade complexa em função da temperatura para 5g de gelatina/100g de SFF.

Figura 25 - Temperatura de resfriamento das soluções formadoras de filme em função da concentração de gelatina.

$$T_R = 0,8C_G + 21,9 \quad (R^2 = 0,98) \quad (12)$$

onde T_R é a temperatura de resfriamento das SFF e C_G é a concentração de gelatina.

5.1.1.3. Curvas de fluxos

As curvas de fluxo a 40°C da solução formadora de filme à base de gelatina apresentaram comportamento Newtoniano (Figura 26) para todas as concentrações de gelatina. A temperatura de 40°C foi escolhida para garantir o domínio sol para todas as soluções analisadas em cisalhamento estacionário. A gelatina suína, além de ser um polímero com alta solubilidade em água a 40°C, apresenta-se como espirais desordenadas em solução o que resulta em seu comportamento newtoniano observado por diferentes autores (GUDMUNDSSON, 2002; FITZSIMONS; MULVIHILL, MORRIS, 2008). Nessa conformação, esse comportamento está relacionado principalmente com as interações macromoléculas-água do que macromolécula-macromolécula (BARRETO et al., 2003).

Figura 26 - Curvas de fluxo da solução formadora de filme para diferentes concentrações de gelatina: — 5 — 8 — 11 — 14g de gelatina/100g de SFF.

A viscosidade, calculada como o coeficiente angular da reta obtida entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação ($R^2 \geq 0,99$), aumentou com o aumento da concentração de gelatina nas soluções, apresentando um comportamento do tipo exponencial (Figura 27, Equação 13). Um aumento não linear da viscosidade com a concentração de gelatina também foi observado por Gudmundsson (2002), que estudou o comportamento de diversas gelatinas, obtidas de diferentes fontes e processo.

Figura 27 - Viscosidade da solução formadora de filme em função da concentração de gelatina.

$$\mu = 1,79e^{0,25C_G} \quad (R^2 = 0,99) \quad (13)$$

onde μ é a viscosidade das SFF e C_G é a concentração da gelatina.

5.1.2. Propriedades físicas dos filmes de gelatina

Os filmes produzidos a partir de SFF com diferentes concentrações de gelatina e aplicadas por “spreading” apresentaram-se homogêneos e brilhantes (Figura 28).

Figura 28 - Fotos ilustrativas dos filmes de gelatina produzidos por “spreading” a diferentes concentrações de gelatina: (a) 5%, (b) 8% (c) 11%, (d) 14% (g/100g de SFF).

A espessura, umidade, propriedades mecânicas e propriedades de transição de fase dos filmes de gelatina foram analisadas em função da concentração de gelatina na SFF e do acondicionamento do filme. Esses ensaios foram realizados imediatamente após a etapa de secagem (filmes sem acondicionamento) e após o acondicionamento em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, por uma semana (filmes com acondicionamento).

5.1.2.1. Espessura

Os valores médios de espessura dos filmes sem (E_{sa}) e com acondicionamento (E_{ca}), obtidos das soluções formadoras de filmes com diferentes concentrações de gelatina, são mostrados na Figura 29. A espessura dos filmes aumentou linearmente com a concentração de gelatina (Equações 14 e 15), entre 5 e 14% de gelatina na solução formadora de filme, independente do acondicionamento. O desvio padrão entre a maior e menor espessura dos

filmes para ambos os tratamentos variou de 10^{-2} a 10^{-3} , o que pode ser considerado como muito satisfatório (Sobral, 2000).

Figura 29 - Valores médios de espessura dos filmes em função da concentração de gelatina. Filmes $\blacklozenge$ sem acondicionamento (E_{sa}) e $\blacksquare$ com acondicionamento (E_{ca}).

$$E_{sa} = 0,016C_G - 0,010 \quad (R^2 = 0,99) \quad (14)$$

$$E_{ca} = 0,015C_G - 0,005 \quad (R^2 = 0,98) \quad (15)$$

onde E_{sa} e E_{ca} são as espessuras (mm) dos filmes de gelatina sem e com acondicionamento respectivamente e C_G é a concentração de gelatina (g/100h de SFF).

Considerando que a altura do dispositivo do aplicador automático de filme foi mantida constante, o aumento na concentração de sólidos na solução formadora de filme proporcionou uma maior quantidade de sólidos aplicada por cm^2 no suporte e consequentemente, em

espessuras maiores. Além disso, o aumento linear da espessura significa que a densidade do material foi constante (SOBRAL, 1999), isto é, o aplicador não afetou a estrutura dos filmes, sob as condições estudadas. Esta sugestão está de acordo com os resultados encontrados por Stojanoff (2006), que trabalhou com o desenvolvimento de uma tecnologia para produção em série de filmes à base de gelatina usando um equipamento de cobertura programável.

5.1.2.2. Umidade

Na Tabela 3 estão apresentados os valores médios de umidades para os filmes de gelatina. Houve um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores médios de umidade dos filmes condicionados quando comparados com os materiais sem acondicionamento, como uma consequência da higroscopicidade da matriz filmogênica (SOBRAL et al., 2001; GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993). A gelatina é um biopolímero que tem alta quantidade de aminoácidos polares, que proporcionam o caráter higroscópico dessa proteína (SOBRAL; HABITANTE, 2001). Além disso, o glicerol, usado como plastificante, é altamente higroscópico (SOBRAL et al., 2001; ARVANITOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998; GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993; THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, 2005). Em relação ao efeito da concentração de gelatina na solução formadora de filme, a variação nos valores de umidade obtida para os filmes foi pequena (~3%) no intervalo de concentração estudado, independente do tipo de acondicionamento. Apesar das diferenças em formulação das SFF, a composição da matéria seca dos filmes é a mesma, portanto, não deveria haver diferenças na sua higroscopicidade em função do aumento da concentração de gelatina na SFF.

Tabela 3 - Valores médios de umidade de filmes sem e com acondicionamento em NaBr em função da concentração de gelatina na solução formadora de filme.

C _G (g de gelatina/100g de SFF)	Umidade (% bu)	
	Sem acondicionamento	Com acondicionamento
5	12,7 ^{aA} ± 1,1	20,4 ^{aB} ± 1,4
8	13,1 ^{aA} ± 0,8	17,4 ^{bB} ± 1,0
11	10,4 ^{bA} ± 1,5	17,8 ^{bB} ± 1,0
14	11,1 ^{bA} ± 0,8	18,7 ^{bB} ± 1,5

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para diferentes concentrações de gelatina; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para o tipo de acondicionamento. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

5.1.2.3. Propriedades mecânicas

5.1.2.3.1. Teste de tração

Exemplos de curvas obtidas no teste de tração, com os filmes de gelatina, são observados na Figura 30. Pode-se observar que a variação da concentração da gelatina na SSF não implicou em mudanças no comportamento dessas curvas, apesar de se perceber pontos finais. De modo geral, pode-se sugerir que as curvas de tensão versus elongação apresentadas na Figura 30 foram típicas de materiais flexíveis (Miltz, 1992) com bom grau de plastificação, tendo inclusive, apresentado um pico (“yield point”) após o fim do período de linearidade entre a tensão e a deformação. Comportamentos similares foram observados por Debeaufort e Voilley (1997), em testes de tração de filmes a base de metilcelulose.

Figura 30 - Exemplos de curvas obtidas no teste de tração para os filmes formulados com diferentes concentrações de gelatina: — 5 — 8 — 11 — 14g/100g de de SFF. Filmes (a) sem acondicionamento; (b) com acondicionamento.

Os valores de tensão na ruptura (TR, MPa), módulo de elasticidade ($ME, MPa/\%$) e alongação na ruptura ($ER, \%$), calculados a partir das curvas de tensão versus deformação (Figura 30), foram afetados pela concentração de gelatina e pelo acondicionamento (Tabela 4). De maneira geral, o acondicionamento dos filmes provocou a diminuição da TR e do ME , e aumento da ER , tornando os filmes menos resistentes e rígidos e mais elásticos que os filmes sem acondicionamento. Esses comportamentos, típico de efeito plastificante de moléculas de baixo peso molecular (SOBRAL et al., 2001; GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992, 1993), podem ser creditados ao ganho de umidade dos filmes durante o período de acondicionamento (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa), alongação na ruptura (ER, %) e módulo de elasticidade (ME, MPa/%) de filmes sem e com acondicionamento, formulados com diferentes concentrações de gelatina.

C _G (g de gelatina/100g de SFF)	Propriedades mecânicas dos filmes	
	Sem acondicionamento	Com Acondicionamento
TR (MPa)		
5	46,8 ^{aA} ± 4,5	23,5 ^{aB} ± 3,1
8	54,2 ^{bA} ± 4,3	34,8 ^{bB} ± 3,0
11	58,3 ^{bA} ± 5,1	26,1 ^{acB} ± 3,8
14	49,3 ^{aA} ± 3,0	27,7 ^{cB} ± 3,5
ME (MPa/%)		
5	9,3 ^{aA} ± 2,2	2,5 ^{aB} ± 0,7
8	10,3 ^{aA} ± 1,9	4,4 ^{bB} ± 1,7
11	10,1 ^{aA} ± 1,8	3,6 ^{bB} ± 0,7
14	6,5 ^{bA} ± 1,6	3,7 ^{bB} ± 0,9
ER (%)		
5	25,7 ^{aA} ± 4,5	48,7 ^{aB} ± 5,5
8	43,1 ^{bA} ± 3,7	52,8 ^{abB} ± 5,1
11	40,0 ^{bA} ± 3,2	56,6 ^{bB} ± 3,9
14	59,1 ^{cA} ± 4,5	66,4 ^{cB} ± 4,9

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para diferentes concentrações de gelatina; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para o tipo de acondicionamento. A diferença entre as médias foram obtidas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Em relação ao efeito da concentração de gelatina na SFF, observou-se que houve diferenças significativas entre os valores (Tabela 4), tanto na tensão na ruptura quanto no módulo de elasticidade, mas sem um efeito nítido da concentração de gelatina. De maneira geral, os valores de T_R foram maiores nos filmes produzidos com 8 e 10 g de gelatina/100g de SFF, nos filmes sem acondicionamento, e maior nos filmes feitos com 8 g de gelatina/100 g de SFF, no caso dos filmes condicionados. Por outro lado, a alongação na ruptura aumentou com o aumento da C_G , no caso dos filmes sem e com acondicionamento. Entretanto, considerando-se que as soluções formadoras de filmes com diferentes concentrações de gelatina resultaram em filmes com diferentes espessuras (Figura 29), pode-se sugerir que o efeito da C_G nas propriedades mecânicas seria consequência das diferentes espessuras dos filmes (Sobral, 1999). Para se verificar essa hipótese, as propriedades mecânicas obtidas nos testes de tração foram graficadas contra as respectivas espessuras dos filmes (Figuras 31, 32, 33). A similaridade dos comportamentos das propriedades mecânicas em função da espessura

(Figuras 31, 32, 33) em relação à C_G (Tabela 4) pode sugerir tratar-se de simples efeito da espessura, isto é, o efeito do aumento da concentração na SFF nos respectivos filmes foi devido ao efeito da C_G nas respectivas espessuras dos filmes.

Figura 31 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa) em função da espessura do filme. Filmes (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Figura 32 - Valores médios de módulo de elasticidade (MPa/%) em função da espessura do filme. Filmes (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Figura 33 - Valores médios de elongação na ruptura (ER, %) em função da espessura do filme. Filmes (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

5.1.2.3.2. *Teste de perfuração*

Similarmente ao observado nos resultados dos testes de tração, as curvas de força versus distância, determinadas nos testes de perfuração (Figura 34), não sofreram efeito da variação da concentração de gelatina nas SFF, isto é, as formas dessas curvas foram similares para as diversas amostras. Nesses testes, as curvas foram típicas de materiais pouco flexíveis, com concavidade para cima, em todo domínio de concentração de gelatina estudado. Comportamento similar foi observado por Sobral (2000), em testes de perfuração de filmes de gelatina bovina ou suína.

Figura 34 - Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes formulados com diferentes concentrações de gelatina: — 5 — 8 — 11 — 14g de gelatina/100g de SFF. Filmes: (a) sem acondicionamento, (b) com acondicionamento.

Diferentemente das propriedades mecânicas determinadas nos testes de tração, a força na perfuração (Figura 35a) dos filmes aumentou linearmente (Equações 16 e 17) com a concentração de gelatina, independentemente do acondicionamento, mas sendo visível o efeito plastificante da umidade. Os valores da força e da deformação na perfuração dos filmes acondicionados foram menores e maiores, respectivamente, que no caso dos filmes sem acondicionamento. Este comportamento foi observado por Sobral (1999, 2000), que observou que a força necessária à perfuração aumentou devido ao aumento da quantidade de matéria seca por superfície, isto é, do número de cadeias de proteínas por superfície, o que conduz ao aumento do número potencial de interações intermoleculares.

Figura 35 - Força (a) e deformação na perfuração (b) dos filmes em função da concentração de gelatina (C_G). Filmes: ♦ sem acondicionamento (F_{sa}) e ■ com acondicionamento (F_{ca}).

$$F_{sa} = 3,74C_G + 12,16 \quad (R^2 = 0,94) \quad (16)$$

$$F_{ca} = 2,13C_G + 6,23 \quad (R^2 = 0,94) \quad (17)$$

onde F_{sa} e F_{ca} são as forças na ruptura dos filmes de gelatina sem e com acondicionamento respectivamente e C_G é a concentração de gelatina.

Similarmente ao discutido em relação aos resultados dos testes de tração, as propriedades mecânicas obtidas nos testes de perfuração foram graficadas contra as espessuras dos filmes (Figura 36). A força na perfuração dos filmes de gelatina aumentou linearmente em função da espessura (Equações 18 e 19), em ambas situações, isto é, sem e com acondicionamento. E, mais uma vez, pôde-se perceber que os comportamentos foram similares, isto é, o comportamento em relação à C_G (Figura 35) foi muito parecido ao comportamento em relação à espessura (Figura 36), o que permite sugerir tratar-se de simples efeito da espessura. Sobral (1999), estudando filmes de gelatina bovina e suína, observou que a espessura dos filmes (0,020-0,120mm) aumentou linearmente a força na perfuração dos filmes. E mais, uma vez, devido ao efeito plastificante da umidade, os filmes acondicionados

apresentaram maiores valores de deformação que os respectivos filmes sem acondicionamento.

Figura 36 - Força (a) e deformação na perfuração (b) dos filmes em função da espessura (E). Filmes $\blacklozenge$ sem acondicionamento (F_{sae}) e $\blacksquare$ com acondicionamento (F_{cae}).

$$F_{sae} = 240,09E + 14,59 \quad (R^2 = 0,94) \quad (18)$$

$$F_{cae} = 144,26E + 6,99 \quad (R^2 = 0,96) \quad (19)$$

onde F_{sae} e F_{cae} são as forças na ruptura dos filmes de gelatina sem e com acondicionamento respectivamente e E é a espessura.

5.1.2.4. Propriedades de transição de fase

Os filmes de gelatina, sem e com acondicionamento, foram analisados por calorimetria diferencial de varredura, para se verificar possíveis efeitos das diferentes concentrações de gelatina, e do acondicionamento, nas transições de fases dos filmes estudados. Observou-se que as curvas de DSC obtidas na primeira varredura dos filmes sem e com acondicionamento, foram típicas de material parcialmente cristalino (Figura 37). Foi observada uma transição vítrea (T_g) ocorrendo em muito baixas temperaturas: entre -57 e -60°C nos filmes sem

acondicionamento e em torno de -73°C no caso dos filmes acondicionados (Tabela 5). Essas T_g podem ser associadas a uma fração rica no plastificante (SOBRAL et al., 2001, 2004). Com o aumento da temperatura, outra transição vítrea, certamente associada a uma fração rica em gelatina, ocorreu em torno de 67 e 44°C (Tabela 5), nos filmes sem e com acondicionamento, respectivamente. A ocorrência dessas duas T_g pode significar que houve separação de fases entre a gelatina e o plastificante. Esse comportamento tem sido observado em filmes à base de gelatina (SOBRAL et al., 2001, VANIN et al., 2005).

Em ambas as situações de acondicionamento, um pico endotérmico foi observado entre 76 e 79°C , no caso dos filmes sem acondicionamento, e em torno de 65°C , nos filmes acondicionados. Essas endotermas foram consequência da fusão dos cristais da gelatina (SOBRAL et al., 2001, VANIN et al., 2005). Em ambas as situações, as entalpias associadas a essas endotermas permaneceram em torno de 20 J/g de proteína.

Figura 37 - Curvas de DSC de filmes preparados com diferentes concentrações de gelatina: (a) 5, (b) 8, (c) 11 e (d) 14g de gelatina/100g de SFF. Filmes (A) sem acondicionamento, (B) com acondicionamento: linha contínua: 1ª varredura; linha pontilhada: 2ª varredura.

Por outro lado, as curvas de DSC da segunda varredura, corresponderam a materiais completamente amorfos, observando-se apenas transições vítreas (Figura 37). A T_g da fração rica no plastificante ocorreu na mesma faixa de temperatura observada na primeira varredura

(Tabela 5). A Tg da fração rica em gelatina foi deslocada para menores temperaturas: entre 41 e 64°C, no caso dos filmes sem acondicionamento e em torno de 32°C, no caso dos filmes com acondicionamento (Tabela 5). Curiosamente, uma Tg foi observada em temperatura intermediária: entre 12 e 20°C para os filmes sem acondicionamento, e em torno de -12°C, no caso dos filmes com acondicionamento. O aparecimento dessa Tg pode sugerir que a gelatina era composta de frações com pesos moleculares bastantes distintos (SOBRAL et al., 2001). Por outro lado, a redução de Tg na segunda varredura em relação à primeira varredura foi devido à eliminação dos cristais da amostra, que diminuiria a mobilidade molecular (SLADE; LEVINE, 1987). Assim, as macromoléculas sem cristais, isto é, sem junções microcristalinas entre cadeias polipeptídicas adjacentes, teria maior mobilidade e, portanto, a ocorrência da transição vítrea seria facilitada e conseqüentemente, ocorreu em menores temperaturas. Entretanto, os valores de temperatura de transição da fração rica em glicerol, obtidos na primeira e segunda varredura, para filmes sem e com acondicionamento, foram muito próximos porque a fração rica em glicerol não foi afetada pela cristalinidade de gelatina.

Em relação ao efeito do acondicionamento, de modo geral, todos os fenômenos observados nas curvas de DSC (Figura 37) dos filmes acondicionados ocorreram em temperatura menores em relação aos filmes acondicionados. Isso foi consequência do bem conhecido efeito plastificante da água absorvida durante o acondicionamento (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992), que inclusive, favoreceu a separação de fases (SOBRAL et al., 2001). Por outro lado, a falta de um efeito nítido da concentração de gelatina sobre as propriedades de fases pode ser explicado pelo fato dos filmes, depois de secos, apresentarem praticamente a mesma composição em termos de matéria seca, ou seja, a concentração de gelatina nos filmes secos deve ser praticamente a mesma.

Tabela 5 - Propriedades térmicas de filmes de diferentes concentrações de gelatina na solução formadora de filme e tipo de acondicionamento, obtidas por análises de DSC.

C _G (g de gelatina/100g de SFF)	Sem acondicionamento	Com Acondicionamento
1ª varredura		
Transição vítrea (Tg ₁ , °C)		
5	-65,3±7,6 ^{aA}	-74,3±1,2 ^{aA}
8	-59,1±7,0 ^{aA}	-72,5±3,1 ^{aB}
11	-56,9±7,0 ^{aA}	-72,7±1,6 ^{aB}
14	-57,4±0,6 ^{aA}	-73,4±2,7 ^{aB}
Transição vítrea (Tg ₂ , °C)		
5	N.I.	43,1±0,9 ^a
8	67,2±3,5 ^{aA}	44,4±0,7 ^{aB}
11	65,6±4,2 ^{aA}	44,9±1,3 ^{aB}
14	68,8±3,8 ^{aA}	43,6±0,6 ^{aB}
Temperatura de fusão (T _m , °C)		
5	71,2±5,5 ^{aA}	66,8±0,6 ^{aA}
8	79,2±3,6 ^{aA}	66,3±1,1 ^{aB}
11	76,8±1,1 ^{aA}	64,7±1,4 ^{aB}
14	75,7±2,3 ^{aA}	64,5±0,9 ^{aB}
Entalpia (J/g)		
5	18,5±1,6 ^{aA}	20,0±0,6 ^{aA}
8	20,5±2,6 ^{aA}	21,5±0,8 ^{aA}
11	18,6±0,4 ^{aA}	20,1±0,7 ^{aA}
14	20,4±0,6 ^{aA}	19,9±1,6 ^{aA}
2ª varredura		
Transição vítrea (Tg ₁ , °C)		
5	-66,7±10,8 ^{aA}	-74,2±3,8 ^{aA}
8	-55,8±2,0 ^{aA}	-71,8±0,8 ^{aB}
11	-53,2±7,4 ^{aA}	-73,8±2,5 ^{aB}
14	-56,8±1,2 ^{aA}	-75,6±2,2 ^{aB}
Transição vítrea (Tg _{intermediária} , °C)		
5	N.I.	-11,6±4,3 ^a
8	19,77±8,00 ^{aA}	-11,4±2,8 ^{aA}
11	18,83±4,35 ^{aA}	-14,9±3,2 ^{aA}
14	12,10±6,93 ^{aA}	-12,2±2,9 ^{aA}
Transição vítrea (Tg ₂ , °C)		
5	40,8±8,9 ^{aA}	31,5±1,5 ^{aA}
8	53,1±5,7 ^{aA}	30,9±4,4 ^{aB}
11	57,2±9,6 ^{aA}	33,4±1,7 ^{aB}
14	63,5±21,5 ^{aA}	32,5±1,7 ^{aA}

onde Tg ,T_m e Tg_{intermediária} são temperaturas de transição vítrea, fusão e vítrea intermediária dos filmes de gelatina sem e com acondicionamento respectivamente e N.I. são dados não indicados.

5.1.2.5. Microscopia eletrônica de varredura

A microestrutura (da fratura e da superfície) dos filmes de gelatina pode ser visualizada nas Figuras 38 e 39, respectivamente. Analisando-se ambas superfícies estudadas, observou-se que os filmes apresentaram uma estrutura homogênea, densa e coesa, típica de filmes de proteína (DENAVI et al., 2009), sem nítido efeito nem das concentrações de gelatina e nem do acondicionamento dos filmes.

As fraturas longitudinais dos filmes, em relação ao espalhamento das soluções formadoras de filmes, permitiram se observar que houve, em alguns casos (Figuras 38e,h) certa orientação na estrutura da matriz filmogênica, provavelmente devido ao esforço do aplicador automático.

Figura 38 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície interna dos filmes: seção transversal (coluna à esquerda), seção longitudinal (coluna à direita), formulados com diferentes concentrações de gelatina: (a),(e) 5%; (b),(f) 8%; (c),(g) 11%; (d),(h) 14% (g/100g de SFF).

Figura 39 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das superfícies dos filmes em contato com ar (coluna à esquerda) e em contato com a placa (coluna à direita) para as concentrações de 8 (a, b) e 11 (c, d) g de gelatina/100g de SFF.

5.2. Produção e caracterização da solução formadora de nanocompósito (SFN) e de seus filmes nanocompósitos preparados com aplicador automático de filmes

Nesta segunda parte da teses foram desenvolvidos filmes nanocompósitos a partir de gelatina, glicerol e nanopartículas de montmorilonita. Esses materiais foram produzidos com duas concentrações de gelatina (5 e 8g de gelatina/100g de solução formadora de nanocompósitos) e com 0, 5, 10 e 15g de montmorilonita/100g de gelatina. O glicerol foi usado como plastificante (30g/100g de gelatina). Foram realizadas caracterizações reológicas das dispersões de montmorilonita e das soluções formadoras de nanocompósitos (SFN). Os efeitos das concentrações da montmorilonita e da gelatina, e do acondicionamento dos filmes, foram avaliados sobre as propriedades físicas dos filmes nanocompósitos.

Em testes preliminares, as concentrações de 11 e 14g de gelatina/100g de SFN resultaram em soluções muito viscosas e em filmes com presença de bolhas e precipitação de nanopartículas de montmorilonita. Por outro lado, as concentrações de gelatina de 5 e 8g de gelatina/100g de SFN com montmorilonita resultaram em filmes mais resistentes e foram selecionadas para o desenvolvimento dos filmes nanocompósitos.

Após avaliação dos resultados da análise visual, propriedades mecânicas e de transição de fase, e repetibilidade do processo, foi selecionada uma formulação para uma caracterização mais completa, para aplicação na área de alimentos em trabalhos futuros.

5.2.1. Efeitos da concentração de nanopartículas nas propriedades físicas das soluções formadoras de nanocompósitos

5.2.1.1. Estudo da dispersão de nanopartículas em água e glicerol

Inicialmente, foi avaliado o efeito da concentração de montmorilonita sobre as propriedades físicas e físico-químicas (tamanho médio das partículas, potencial zeta, pH, comportamento reológico e propriedades reológicas) das dispersões de montmorilonita. Essas dispersões foram preparadas com água deionizada e glicerol, usando como base de cálculo 5 e 8g de gelatina/100g de SFN. Então, foram preparadas dispersões no intervalo de 0 a 0,8g de montmorilonita/100g de dispersão com 1,5g de glicerol/100g de dispersão e de 0 a 1,4g de montmorilonita/100g de dispersão com 2,4g de glicerol/100g de dispersão.

5.2.1.1.1. Tamanho médio das partículas, potencial zeta e pH

A Tabela 6 mostra os resultados das determinações do tamanho médio das partículas, potencial zeta e pH da dispersão de nanopartículas em água deionizada e glicerol em função da concentração de montmorilonita. A concentração de montmorilonita alterou significativamente o diâmetro médio das partículas. Para as dispersões preparadas com base

em 5% de gelatina, observou-se um ponto de máximo para 10g de montmorilonita/100g de gelatina, enquanto que para a base de 8% de gelatina, observou-se que o tamanho diminuiu com o aumento da concentração de nanopartículas. Quando dispersa em um solvente, o inchamento (ou absorção do solvente) pelas nanoargilas depende de fatores como pH, temperatura, pressão, constante dielétrica do meio, polaridade do solvente, esses fatores influenciam na estabilidade das partículas em suspensão, e, conseqüentemente influencia na interação partícula-partícula, que podem agregar-se em tamanhos diferentes (DEIBER; PEIROTTI; OTTONE, 2011).

Tabela 6 - Diâmetro médio da partícula e potencial zeta em função de valores referenciais de 5 e 8g gelatina/100g SFN para diferentes concentrações de nanopartículas.

C _N (%)	Diâmetro médio (nm)		Potencial Zeta (mV)		pH	
	5%	8%	5%	8%	5%	8%
0	0,0±0,0 ^{aA}	0,0±0,0 ^{aA}	0,0±0,0 ^{aA}	0,0±0,0 ^{aA}	6,7±0,1 ^{aA}	6,6±0,0 ^{aA}
5	204,2±1,9 ^{bA}	344,0±1,3 ^{bB}	-45,3±2,5 ^{bcA}	-43,3±1,7 ^{bB}	8,3±0,0 ^{bA}	8,6±0,0 ^{bB}
10	267,8±4,5 ^{cA}	284,4±0,8 ^{cB}	-47,2±2,4 ^{cA}	-43,5±3,1 ^{bB}	8,5±0,1 ^{cA}	9,0±0,0 ^{cB}
15	222,6±0,5 ^{dA}	250,1±0,7 ^{dB}	-42,0±2,2 ^{bA}	-43,0±2,6 ^{bA}	8,7±0,0 ^{cA}	8,9±0,0 ^{dB}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para as concentrações de gelatina referenciais. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS

Por outro lado, os valores de potencial zeta, na menor concentração referencial de gelatina, oscilaram entre -42 e -47mV, para as diferentes concentrações de montmorilonita, e apresentaram diferença significativa entre as dispersões com 5 e 10g de montmorilonita/100g de gelatina (Tabela 6). Contudo, não foi observado o efeito da concentração de montmorilonita no potencial zeta para as dispersões com a maior concentração referencial de gelatina, que foi em média de $-43 \pm 0,3$ mV. Esses resultados foram similares aos obtidos para dispersão de 2% de montmorilonita preparadas por Gunister et al., (2007) e por Isci, Uslu e Ece (2009). Silva et al. (2008) observaram que o potencial zeta aumentou com o aumento do tamanho das partículas de sílica (SiO₂) em suspensão. No entanto, espera-se que a carga média superficial seja proporcional à área da superfície, isto é, mais negativa para partículas menores. Esses autores justificaram esse comportamento sugerindo que a superfície das

partículas de sílica poderia diferir em composição, com algum grau de porosidade/rugosidade da superfície, exercendo um papel importante na determinação da carga da superfície e, então, na interação com outros compostos (não sílicas). Na Tabela 6, observa-se que para a dispersão 5% de gelatina referencial foi obtido um valor médio de potencial zeta estimado em -45mV e um diâmetro médio de 231,5 nm, e para 8% de gelatina referencial, calculou-se um potencial zeta médio de -43mV e um diâmetro médio de 292,8 nm, isto é, para um menor tamanho médio um valor ligeiramente maior para o potencial zeta.

A estabilidade de suspensões é dada pela força das interações partícula/partícula e partícula/solvente e pode ser avaliada por medidas de potencial zeta (AMIRI; OYE; SJOBLUM, 2011). Os valores de potencial zeta foram maiores para as dispersões com 5-10% de montmorilonita e com menor concentração de glicerol. Esse resultado está de acordo com os obtidos por Amiri, Oye e Sjoblom (2011) quando compararam a suspensão de sílica em água e de sílica em solvente água/glicerol (50/50). Esses autores justificaram esse resultado baseado na propriedade dielétrica do solvente, que é reduzida pelo glicerol, conduzindo a uma dissociação menor da carga da superfície. Baseado nesse argumento, pode-se verificar que o aumento de 1,5 para 2,4% de glicerol nas dispersões diminuiu o potencial zeta de -45 para -43 mV, respectivamente. A redução da carga superficial pode facilitar a formação de aglomerados e, conseqüentemente o aumento do tamanho médio das partículas em suspensão. Esse resultado também pode ser observado na Tabela 7, onde as partículas apresentaram maiores valores de tamanho médio para a dispersão com maior quantidade de glicerol e, também nos valores de viscosidade (item 5.2.1.1.2).

Finalmente, quando a concentração de montmorilonita aumentou de 0 a 15g/100g de gelatina, o valor de pH da dispersão aumentou de 7,0 para 9,0 (Tabela 6). Este comportamento também foi observado por Chen e Zhang (2006), quando estudaram suspensões de isolado protéico de soja e montmorilonita. Zheng et al. (2002) observaram que, trabalhando com gelatina bovina e montmorilonita, a obtenção de estruturas intercaladas e esfoliadas são mais facilmente obtidas em pH acima do ponto isoelétrico. Martucci, Vázquez e Ruseckaite (2007) observaram que o pH 7 foi suficiente para resultar em boa dispersão da montmorilonita em soluções formadoras de nanocompósitos com gelatina bovina (PI= 5,3).

5.2.1.1.2 Curvas de fluxo para dispersão de montmorilonita em água e glicerol

As curvas de tensão de cisalhamento (Pa) versus taxa de cisalhamento ($1/s$) das dispersões de montmorilonita em água e glicerol, estão mostradas na Figura 40. Todas as dispersões de montmorilonita apresentaram um comportamento Newtoniano. Esse resultado foi similar ao obtido por Günister et al. (2007), que trabalharam com dispersões de 1 a 6% de montmorilonita e não observaram valores de tensão de cisalhamento residual, indicando a existência de poucas interações entre as partículas.

Figura 40 - Curvas de fluxo para dispersão de montmorilonita formuladas com valores referenciais de concentração de gelatina (a) 5 e (b) 8g/100g de SFN em função da concentração de nanopartículas: — 0% — 5% — 10% — 15% (g de montmorilonita/100g de gelatina).

A viscosidade das dispersões de montmorilonita foi 2,7 mPa.s (Tabela 7) para as diferentes concentrações de nanopartículas nas SFN, considerando-se 5% de gelatina referencial. Por outro lado, no caso de 8% de gelatina referencial, a viscosidade oscilou ligeiramente, entre 2,7 e 3,2 mPa.s, nas dispersões preparadas entre 0-15g de nanopartículas/100g de dispersão (Tabela 7). Entranto, pode-se considerar que o efeito da concentração de montmorilonita sobre a viscosidade das SFN é desprezível. Muito

possivelmente, essa variação nos valores de viscosidade pode ter sido consequência do aumento da concentração de glicerol na dispersão.

Tabela 7 - Valores médios de viscosidade de dispersões de montmorilonita formulados com valores referenciais de gelatina de 5 e 8g/100g de SFN

C _N (g de nanopartículas/100g de gelatina)	Viscosidade (mPa.s)	
	5%	8%
0	2,7 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,1 ^{aA}
5	2,7 ± 0,1 ^{aA}	3,2 ± 0,1 ^{bB}
10	2,7 ± 0,1 ^{aA}	2,8 ± 0,1 ^{abA}
15	2,7 ± 0,0 ^{aA}	3,0 ± 0,1 ^{abB}

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Radojevic e Mitrovic (2007), trabalhando com dispersões de 6% de montmorilonita, obtiveram viscosidade de 5 mPa.s. Por outro lado, os resultados encontrados por Isci et al. (2009) estudaram uma concentração de 2% de montmorilonita e observaram um comportamento não newtoniano.

5.2.1.2. Propriedades reológicas de soluções formadoras de filmes à base de gelatina e de montmorilonita

5.2.1.2.1. Testes de varredura de deformação

Exemplos de curvas obtidas nos testes de varredura de deformação para as soluções formadoras de nanocompósitos de 5g de gelatina/100g SFN e 5g montmorilonita/100g gelatina e de 8g de gelatina/100g de SFN e 15g montmorilonita/100g gelatina são apresentadas na Figura 41. Na temperatura de 50°C, que corresponde ao estado sol, os valores

dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') oscilaram bastante, abaixo de 6% de deformação, devido à sensibilidade de leitura do equipamento para amostras com baixa viscoelasticidade. No intervalo de 6 a 20%, observou-se que G' e G'' manteve-se praticamente constante, caracterizando o intervalo linear, que não foi observado na Figura 20 (item 5.1.1.1) para soluções formadoras de filme sem montmorilonita, sugerindo que há interações entre a gelatina e a montmorilonita, tais como interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio, estruturando o sistema.

Figura 41 - Exemplo de curvas de módulos viscoelásticos em função da deformação (%) para 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g gelatina: (a) 50°C, (c) 5°C; 8g de gelatina/100g de SFN e 15g de montmorilonita/100g gelatina: (b) 50°C, (d) 5°C.

A 5°C, observou-se que G' foi maior que G'' e que foram independentes da deformação para o intervalo de 0 a 20% de deformação (Figura 42 c,d). Nos experimentos de varredura de temperatura (5-50°C), foi selecionado um valor dentro desse intervalo, 7,5% de deformação, igual à deformação aplicada para as soluções formadoras de filme à base de gelatina (item 5.1.1.1). Nos dois extremos de temperatura, verificou-se que o comportamento

no domínio sol ($G'' > G'$) e no domínio gel ($G' > G''$) foram influenciados pela concentração de gelatina, sendo obtidos maiores valores dos módulos viscoelásticos para as amostras com maior concentração de gelatina.

5.2.1.2.2. Testes de varredura de temperatura

As curvas de módulos viscoelásticos obtidas nos testes de varredura de temperatura para as soluções formadoras de nanocompósitos com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita, estão apresentadas nas Figuras 42 e 43, respectivamente. O aumento da concentração de gelatina promoveu aumento nos módulos viscoelásticos para o intervalo de temperatura estudado, porém o comportamento viscoelástico (G' e G'') foram similares para ambas concentrações de gelatina: altos valores de G' a baixas temperaturas e baixos valores de G' a altas temperaturas. Esse comportamento é típico de géis físicos que apresentam transição sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$) e gel-sol ($T_{\text{gel-sol}}$), quando as soluções formadoras de nanocompósitos são resfriadas e aquecidas, respectivamente. Comportamento reológico similar foi obtido por Silva e Ferreira (2008), que trabalharam com géis de nanosilica/k-carragena. O efeito da presença de montmorilonita na matriz polimérica permitiu obter valores para os viscoelásticos (G' e G'') maiores em relação aos obtidos nas soluções formadoras à base de gelatina (Figura 21) ocasionado pela grande superfície específica da montmorilonita que permitiu formar diversas interações com a gelatina.

Figura 42 - Exemplo de curvas de módulos viscoelásticos em função da temperatura para a solução formadora de nanocompósito com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10 — 15g de montmorilonita/100g de gelatina. Taxas de resfriamento (a, b) e de aquecimento (c,d) de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Figura 43 - Exemplo de curvas de módulos viscoelásticos em função da temperatura para a solução formadora de nanocompósito com 8g de gelatina/100g SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10 — 15g de montmorilonita/100g de gelatina. Taxas de resfriamento (a, b) e de aquecimento (c, d) de 1°C/min.

A temperatura de transição sol-gel, calculada conforme descrito no item 5.1.1.2, aumentou com o aumento da concentração de montmorilonita (Figura 44), porém esse aumento foi mais acentuado para a concentração de 8g de gelatina/100g de SFN (Equação 20) do que para a concentração de 5g de gelatina/100g SFN (Equação 21). Observou-se uma variação de 1°C (22 a 23°C) e de 4°C (24 a 28°C) na temperatura de transição sol-gel quando

a concentração montmorilonita aumentou de 0 a 15% (g/100g de gelatina) para as concentrações de 5 e 8% de gelatina, respectivamente.

Figura 44 - Temperaturas de gelificação da solução formadora de nanocompósito com $\blacklozenge$ 5 e $\blacksquare$ 8g de gelatina/100g de SFN em função da concentração de nanopartícula.

$$T_{sol-gel} (5\%) = 0,07C_N + 21,78 \quad (R^2 = 0,84) \quad (20)$$

$$T_{sol-gel} (8\%) = 0,27C_N + 24,01 \quad (R^2 = 0,94) \quad (21)$$

onde $T_{sol-gel}$ é a temperatura de gelificação da SFN e C_N é a concentração de montmorilonita.

Para o processo de fusão, observou-se também um comportamento linear entre a temperatura de transição gel-sol em função da concentração de montmorilonita e diferentes concentrações de gelatina (Figura 45, Equações 22-23). Variações de 3°C (31-34°C) e de 6°C (32-38°C) foram observadas quando a concentração de montmorilonita aumentou de 0 a 15% (g/100g de gelatina) para as soluções formadoras de nanocompósitos com 5 e 8% de gelatina, respectivamente. Esta temperatura sugere que géis mais compactos foram obtidos para a

amostra com maiores concentrações de gelatina e de montmorilonita, devido à interação entre a gelatina e montmorilonita. A perda da estrutura da gelatina ocorre por dissociação das triplas hélices no aquecimento, e sua maior compactação promove maiores temperaturas de fusão (FITZSIMONS; MULVIHILL; MORRIS, 2008).

Figura 45 - Temperaturas de fusão da solução formadora de nanocompósito com $\blacklozenge$ 5 e $\blacksquare$ 8g de gelatina/100g de SFN em função da concentração de nanopartícula.

$$T_{\text{gel-sol}} (5\%) = 0,19C_N + 30,52 \quad (R^2 = 0,95) \quad (22)$$

$$T_{\text{gel-sol}} (8\%) = 0,40C_N + 31,08 \quad (R^2 = 0,95) \quad (23)$$

onde $T_{\text{sol-gel}}$ é a temperatura de fusão da SFN e C_N é a concentração de montmorilonita.

A histerese, diferença entre a $T_{\text{gel-sol}}$ e $T_{\text{sol-gel}}$, aumentou linearmente com o aumento da concentração de montmorilonita (Figura 46, Equações 24-25), praticamente com a mesma inclinação para as duas concentrações de gelatina, 5 e 8g de gelatina/100g de SFN. Pode-se sugerir que houve interações entre as nanopartículas e gelatina, tais como interações

eletrostáticas entre os sítios positivos da gelatina (isto é NH_3^+) e sítios negativos nas “galerias” de nanoargilas, ligações de hidrogênio, entre os grupos carbonil na gelatina e os grupos de hidroxilas dentro das “galerias” de argilas (MARTUCCI, VÁZQUEZ, RUSECKAITE, 2007), contribuindo para a formação de um gel mais estruturado/compactado. A histerese foi maior para a menor concentração de gelatina, independente da concentração de montmorilonita. Esse resultado corrobora com os obtidos para soluções formadoras de filmes à base de gelatina

Figura 46 - Histerese ($\Delta T = T_{\text{gel-sol}} - T_{\text{sol-gel}}$) em função da concentração de nanopartículas na solução formadora de nanocompósito para as concentrações de ◆ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.

$$\Delta T (5\%) = 0,12C_N + 8,74 \quad (R^2 = 0,98) \quad (24)$$

$$\Delta T (8\%) = 0,13C_N + 7,08 \quad (R^2 = 0,96) \quad (25)$$

onde ΔT é a histerese, diferença entre a $T_{\text{gel-sol}}$ e $T_{\text{sol-gel}}$ da SFN e C_N é a concentração de montmorilonita.

Além disso, baseado nesses resultados reológicos, a temperatura do suporte do aplicador automático de filmes foi mantida a 20°C, isto é, abaixo da temperatura sol-gel mais baixa (~22°C para 5% de gelatina e 0% de montmorilonita). Para o espalhamento, a temperatura de resfriamento (T_R) das soluções formadoras de nanocompósitos foi mantida acima da transição sol-gel. Essa temperatura foi função das concentrações de montmorilonita e da gelatina e sua determinação foi feita conforme exemplificado na Figura 47. As temperaturas de resfriamento, determinada conforme descrito no item 5.1.1.2, são apresentadas na Tabela 8. Observou-se que a temperatura de resfriamento, para as soluções formadoras de nanocompósitos com 5% de gelatina não apresentaram diferenças significativas entre as concentrações de 5 e 10% de montmorilonita (g/100g de gelatina). Por outro lado, o comportamento da temperatura de resfriamento para o intervalo de 0-15% de montmorilonita foi linear (Figura 48, Equação 26). Esse comportamento também foi observado para as amostras com 8% de gelatina (Figura 48, Equação 27)

Figura 47 - Viscosidade complexa em função da temperatura para a solução formadora de nanocompósito com 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.

Tabela 8 - Temperaturas das soluções formadoras de nanocompósitos em função das concentrações de gelatina e de nanopartícula.

C _N (g de nanopartícula/100g de gelatina)	Temperatura de resfriamento (°C)	
	5%	8%
0	26,0 ± 0,7 ^{aA}	28,5 ± 0,5 ^{aB}
5	26,2 ± 0,3 ^{abA}	29,5 ± 0,6 ^{abB}
10	26,8 ± 0,5 ^{abA}	31,6 ± 0,2 ^{bbB}
15	27,5 ± 0,5 ^{baA}	36,0 ± 0,7 ^{cbB}

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foram obtidas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Figura 48 - Temperatura de resfriamento das soluções formadoras de nanocompósitos de 5 e 8% de gelatina em função da concentração de nanopartícula. ♦ 5, ■ 8g de gelatina/ 100g de SFN.

$$T_{R-CN}(5\%) = 0,10C_N + 25,9 \quad (R^2 = 0,95) \quad (26)$$

$$T_{R-CN}(8\%) = 0,49C_N + 27,7 \quad (R^2 = 0,91) \quad (27)$$

onde T_R é a temperatura de resfriamento das soluções formadoras de nanocompósitos e C_N é a concentração de montmorilonita.

5.2.1.2.3. Curvas de fluxo

As curvas de fluxo de soluções formadoras de nanocompósitos de 5 e 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita a 40°C estão mostradas na Figura 49. De maneira geral, os comportamentos dessas curvas puderam ser consideradas como não-newtonianos. Esse comportamento deve ter sido consequência das interações intermoleculares dos peptídeos de gelatina, uma vez que a montmorilonita em água, manteve o comportamento newtoniano daquele solvente (5.2.1.1.2).

Figura 49 - Curvas de fluxos das soluções formadoras de nanocompósitos à base de gelatina: (a) 5% (b) 8% e diferentes concentrações de montmorilonita: — 0, — 5, — 10, — 15g de montmorilonita/100g de gelatina.

Assim, foi usado o modelo Lei da potência para obtenção das propriedades reológicas das amostras, por regressão não-linear: k , índice de consistência (Pa.s^n) e n , índice de comportamento de escoamento (adimensional). Dessa forma, pôde-se observar que a nanopartícula também teve efeito sobre as propriedades reológicas, diferentemente do caso das dispersões em água. O índice de consistência (k) aumentou exponencialmente com a concentração de montmorilonita nas soluções formadoras de nanocompósitos de 5% e 8% de

gelatina (Equações 28 e 29, respectivamente). Por outro lado, o índice de comportamento (n) diminuiu, com o aumento da concentração de montmorilonita em 5 e 8g de gelatina/100g de SFN (Figura 51), também seguindo um comportamento do tipo exponencial (Equação 30 e 31, respectivamente).

$$k(5\%) = 5,609e^{0,034C_N} \quad (R^2=0,99) \quad (28)$$

$$k(8\%) = 11,546e^{0,085C_N} \quad (R^2=0,92) \quad (29)$$

$$n(5\%) = 1,003e^{-0,004C_N} \quad (R^2=0,97) \quad (30)$$

$$n(8\%) = 1,013e^{-0,009C_N} \quad (R^2=0,81) \quad (31)$$

onde k é o índice de consistência e n é o índice de comportamento nas soluções formadoras de nanocompósitos e C_N é a concentração de montmorilonita.

O efeito conjunto do aumento nas concentrações de gelatina e de montmorilonita sobre os parâmetros reológicos estudados podem ser melhor visualizado através das Figura 50 e 51. Fica nítido que o efeito da nanopartícula é mais forte na SFN com maior concentração de gelatina, sugerindo que existe algum tipo de interação entre ambos componentes, apesar da enorme diferença de dimensões.

Figura 50 - Efeito das concentrações de nanopartículas sobre o índice de consistência (k). ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.

Figura 51 - Efeito das concentrações de nanopartículas sobre o índice de comportamento (n). ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.

O comportamento da viscosidade aparente, calculada a 100s^{-1} , de SFN de 5 e 8g de gelatina/100g de SFN em função de diferentes concentrações de montmorilonita está apresentado na Figura 52. Observou-se que a viscosidade aparente de todas as soluções formadoras de nanocompósitos estudadas aumentou exponencialmente com a concentração de montmorilonita. Sendo que, as soluções formadoras de filmes nanocompósitos de maior concentração de gelatina foram mais afetadas pelas concentrações de montmorilonita, apresentando as maiores viscosidades aparentes. Os valores de coeficiente de determinação (R^2) para ambas as soluções formadoras de nanocompósitos de 5 e 8% de gelatina foi 0,99, expressados nas Equações 32 e 33, respectivamente.

Figura 52 - Efeito das concentrações de nanopartículas sobre a viscosidade aparente ($\mu_{aparente}$) (100s^{-1}). ♦ 5 e ■ 8g de gelatina/100g de SFN.

$$\mu_{aparente}(5\%) = 5,551e^{0,018C_N} \quad (R^2 = 0,99) \quad (32)$$

$$\mu_{aparente}(8\%) = 12,282e^{0,042C_N} \quad (R^2 = 0,99) \quad (33)$$

Onde μ_{aparente} é a viscosidade aparente nas soluções formadoras de nanocompósitos e C_N é a concentração de montmorilonita.

5.2.2. Propriedades de filmes nanocompósitos

Após testes preliminares para o preparo de filmes nanocompósitos e, considerando os resultados obtidos para as dispersões de montmorilonita, a concentração de 15g de montmorilonita/100g de gelatina foi descartada, por resultar em soluções com alta viscosidade, dificultando o processo “spreading” e produzindo filmes não homogêneos e pouco flexíveis (Figura 53). Martucci, Vásquez, e Ruseckaite (2007) observaram que nas suspensões produzidas com 10% (m/v) de gelatina bovina e uma carga alta de montmorilonita (>10%) também resultavam em nanocompósitos não homogêneos, com estrutura aglomerada, devido à dificuldade de dispersão da montmorilonita em água. Os filmes nanocompósitos produzidos por “spreading”, com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN, e com 5-10g de montmorilonita/100g de gelatina foram homogêneos, brilhantes e com bom aspecto visual (Figura 53).

Figura 53 - Fotos ilustrativas dos filmes nanocompósitos à base de gelatina, produzidos por “spreading”: 5g de gelatina/100g de SFN e: (a) 5, (b) 10, (c) 15g de montmorilonita/ 100g de gelatina; 8g de gelatina/100g de SFN e: (d) 5, (e) 10, (f) 15g de montmorilonita/ 100g de gelatina.

Os filmes nanocompósitos de gelatina e montmorilonita foram produzidos e acondicionados em NaBr por sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, foram caracterizados para determinação da espessura, umidade, propriedades mecânicas e propriedades de transição de fase, difração de raios X, espectroscopia de infravermelho de Fourier, microscopia de varredura e hidrofobicidade superficial.

5.2.2.1. Espessura

As espessuras dos filmes de 5 e 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita, sem e com acondicionamento em UR de 58%, estão apresentadas na Tabela 9. O aumento na concentração de montmorilonita provocou um aumento na espessura dos filmes, independente da concentração de gelatina. Esse aumento foi ligeiramente mais importante para os filmes acondicionados em NaBr, do que para os filmes sem acondicionamento (Tabela 9). Estes resultados sugerem que as nanopartículas devem ter influenciado na densidade dos nanocompósitos. Resultados diferentes foram obtidos por Jang, Lim e Song (2010), que trabalhando com a técnica “casting”, não observaram efeito significativo das nanopartículas na espessura dos filmes à base de gelatina e de agar. Porém, Sothornvit, Rhim e Hong (2009), trabalhando com nanocompósito à base de isolado protéico de soro, também observaram que a espessura aumentou com a adição de nanopartículas.

Tabela 9 - Valores médios de espessura para 5 e 8g de gelatina/100g SFN a diferentes concentrações de montmorilonita sem e com acondicionamento.

C _N (%)	Espessura (mm)			
	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
0	0,065±0,003 ^{aA}	0,110±0,010 ^{aB}	0,071±0,007 ^{aA}	0,114±0,003 ^{aB}
5	0,074±0,006 ^{abA}	0,128±0,010 ^{bB}	0,077±0,005 ^{bA}	0,119±0,009 ^{aB}
10	0,078±0,009 ^{bA}	0,141±0,012 ^{cB}	0,080±0,010 ^{bA}	0,146±0,014 ^{bB}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. As diferenças entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

5.2.2.2. Umidade

Na Tabela 10 estão mostrados os valores da umidade (bu) dos filmes de 5 e 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita. A montmorilonita reduziu a sensibilidade do material à umidade ambiente. O aumento na concentração de montmorilonita reduziu a umidade dos filmes sem e com acondicionamento, sendo que essa

diferença em função do acondicionamento deve ser creditada à absorção de umidade pela gelatina e glicerol, sendo ambos higroscópicos.

Tabela 10 - Valores médios de umidade para 5 e 8g de gelatina/100g SFN a diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.

C _N (%)	Umidade (% ,bu)			
	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
0	12,7±1,1 ^{aA}	13,1±0,8 ^{aA}	20,4±1,4 ^{aA}	17,4±1,0 ^{aB}
5	11,2±0,8 ^{aA}	9,3±1,3 ^{bB}	18,3±1,1 ^{bA}	15,2±1,5 ^{bB}
10	7,4±1,9 ^{bA}	10,2±1,4 ^{bB}	17,3±0,9 ^{bA}	15,4±0,3 ^{bB}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foram obtidas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Tunc et al.(2007) também observaram comportamento similar, trabalhando com nanocompósitos produzidos com glúten e montmorilonita. Esses autores explicaram que a redução na sensibilidade de água com o aumento da concentração de montmorilonita pode ser explicada pela tortuosidade, limitando a penetração das moléculas de água no nanocompósito, quando elas estão dispersas corretamente na matriz.

5.2.2.3. Propriedades mecânicas

5.2.2.3.1. Teste de tração

Exemplos de curvas obtidas nos testes de tração com os filmes nanocompósitos formulados com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita estão apresentados nas Figuras 54 e 55. Pode-se observar que, de modo geral, o aumento da concentração de montmorilonita alterou o formato das curvas de tensão versus

deformação, inclusive com a tendência de desaparecimento do pico (“yield point”), melhor observado nos filmes sem acondicionamento (Figuras 54a e 55a). A partir dessas curvas foram obtidas as propriedades mecânicas mostradas na Tabela 11.

Figura 54 - Exemplos de curvas obtidas no teste de tração para os filmes formulados com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina. (a) sem acondicionamento; (b) com acondicionamento.

Figura 55 - Exemplos de curvas obtidas no teste de tração para os filmes formulados com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina. (a) sem acondicionamento; (b) com acondicionamento.

Os filmes sem acondicionamento mostraram maior resistência à tração, porém menores valores de alongação (%), quando comparados com os filmes acondicionados em UR de 58% (Tabela 11). No caso dos filmes de 5% de gelatina, a tensão na ruptura e o módulo de elasticidade aumentaram com o aumento da concentração de montmorilonita, indicando que houve reforço da matriz polimérica pela carga de nanopartículas. Esses resultados podem sugerir que as nanopartículas estão bem dispersa na matriz de gelatina de acordo com Cyras et al. (2008) e Rao (2007), que também observaram melhora nas propriedades mecânicas de nanocompósitos à base de amido e de gelatina, respectivamente. Rao (2007) observou que uma carga de 5% de montmorilonita aumentou em 75% o módulo de elasticidade e em 25% a tensão na ruptura. O aumento na tensão de ruptura e de módulo de elasticidade para os filmes produzidos nesta tese foram de 24% e 68%, respectivamente, para os filmes sem acondicionamento e reforçados com 10% de montmorilonita.

Tabela 11 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa), módulo de elasticidade (ME, MPa/%) e elongação na ruptura (ER, %) para 5 e 8g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.

C _N (%)	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
TR (MPa)				
0	46,8±4,5 ^{aA}	54,2±4,3 ^{aB}	23,5±3,1 ^{aA}	34,8±3,0 ^{aB}
5	52,5±3,5 ^{bA}	41,6±1,4 ^{bB}	31,7±1,8 ^{bA}	27,0±3,2 ^{bB}
10	58,3±2,6 ^{cA}	46,2±5,1 ^{cB}	31,1±1,9 ^{bA}	31,7±3,9 ^{cA}
ME (MPa/%)				
	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
0	9,3±2,2 ^{aA}	10,3±1,9 ^{aA}	2,1±0,6 ^{aA}	4,4±1,7 ^{aB}
5	14,1±0,9 ^{bA}	2,5±1,7 ^{bB}	5,5±1,0 ^{bA}	2,4±0,9 ^{bB}
10	16,9±1,7 ^{cA}	4,9±2,2 ^{cB}	6,6±0,2 ^{cA}	3,8±1,7 ^{aB}
ER (%)				
	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
0	25,7±4,5 ^{aA}	43,1±3,7 ^{aB}	48,7±5,5 ^{aA}	52,8±5,1 ^{aB}
5	29,4±3,9 ^{aA}	52,3±5,8 ^{bB}	40,4±3,4 ^{bA}	60,1±11,9 ^{aB}
10	34,1±6,1 ^{bA}	42,3±7,8 ^{aB}	38,0±3,4 ^{bA}	58,5±7,4 ^{aB}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Por outro lado, a elongação na ruptura dos nanocompósitos formulados com 5% de gelatina, também aumentou com a concentração de montmorilonita para os filmes caracterizados sem acondicionamento (Figura 58a) e diminuiu, para os filmes acondicionados em UR de 58% (Figura 58b). Esse comportamento inverso sugere que o efeito plastificante da umidade foi maior que o efeito do reforço das cargas de nanopartículas. Provavelmente, esse efeito também predominou na determinação dos valores baixos de resistência e rigidez para os filmes acondicionados, quando comparados aos materiais sem condicionamento (Tabela 11).

Entretanto, o aumento da concentração de montmorilonita aumentou a espessura dos filmes, pode-se considerar que o comportamento discutido acima, foi consequência desse

aumento da espessura. Assim, graficando-se as propriedades mecânicas dos nanocompósitos contra as respectivas espessuras, no caso dos filmes produzidos com SFF com 5% de gelatina, pôde-se perceber que existiu uma relação crescente entre a espessura dos filmes e a tensão na ruptura (Figura 56), o módulo de elasticidade (Figura 57) e a elongação na ruptura, nesse caso, dos filmes sem acondicionamento (Figura 58). Portanto, a melhoria dessas propriedades não pode ser creditada unicamente ao reforço pelas nanopartículas.

Figura 56 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa) para filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Figura 57 - Valores médios de módulo de elasticidade (ME, MPa/ %) para filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Figura 58 - Valores médios de elongação na ruptura (ER, %) para filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Bae et al. (2009) observaram que o aumento da quantidade de montmorilonita aumentou a tensão na ruptura dos filmes nanocompósitos à base de gelatina de peixe. Por outro lado, nos trabalhos onde foram avaliados efeitos da concentração de montmorilonita de 0 a 9%, foi observado que os maiores valores de tensão de ruptura foram obtidos para uma carga de 5% de montmorilonita (RAO, 2007, CYRAS et al., 2008, BAE et al., 2009). Similarmente, Luecha, Sozer e Kokini (2010), trabalhando com 0 a 10% de montmorilonita em filmes de zeína, observaram tensão de ruptura máxima para as amostras com carga de 5% de montmorilonita (duas vezes maior que em filmes com 0% de montmorilonita) e Tunç et al. (2007) também observaram valor máximo dessa propriedade em 5% de montmorilonita em uma matriz de glúten. Jang, Lim e Song (2010), trabalhando com nanocompósitos de gelatina e agar, obtiveram o máximo da tensão de ruptura com 3% de montmorilonita. Esses resultados indicam que a técnica “casting” tem uma porcentagem de montmorilonita crítica, para a obtenção de estruturas intercaladas ou esfoliadas, em filmes produzidos por “casting”.

Por outro lado, no caso dos filmes produzidos a partir de SFF com 8% de gelatina, o aumento da concentração de montmorillonita não necessariamente melhorou as propriedades mecânicas (Tabela 11) do material, comportamento esse que pôde ser confirmado através das Figuras 59, 60 e 61. Muito possivelmente esses resultados foram consequência da dificuldade em se dispersar as nanopartículas na matriz de gelatina. Entretanto, deve-se atentar que

resultados não necessariamente positivos podem ser encontrados na literatura especializada. Assim, Sothornvit, Rhim e Hong (2009) observaram que as propriedades mecânicas de filmes nanocompósitos de isolado protéico de soro leite e montmorilonita diminuíram significativamente e explicaram esses resultados pela dispersão incompleta da montmorilonita dentro da matriz protéica, devido à incompatibilidade de nanopartículas hidrofóbicas com o biopolímero hidrofílico. Zheng et al. (2002), trabalhando com filmes nanocompósitos à base de gelatina bovina, com concentrações de montmorilonita acima de 17%, observaram redução nas propriedades mecânicas devido ao alto conteúdo de montmorilonita, que proporcionou a agregação das partículas de montmorilonita.

Figura 59 - Valores médios de tensão na ruptura (TR, MPa) para filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Figura 60 - Valores médios de módulo de elasticidade (ME, MPa/%) para filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Figura 61 - Valores médios de elongação na ruptura (ER, %) para filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura: (a) sem acondicionamento (b) com acondicionamento.

Os filmes nanocompósitos produzidos com 5g de gelatina/100g de SFN e 5-10g de montmorilonita/100g de gelatina apresentaram melhores propriedades mecânicas, obtidas pelo teste de tração, provavelmente devido a uma interação interfacial mais forte entre a matriz e as camadas de nanopartículas em função da grande área superficial exposta das camadas de nanopartículas, com formação de estruturas intercaladas e/ou esfoliadas. Para os filmes

nanocompósitos com 8% de gelatina, esse comportamento não foi observado provavelmente pela má dispersão da carga.

5.2.2.3.2 Teste de perfuração

Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes com 5% e 8% de gelatina com diferentes concentrações de montmorilonita podem ser observados nas Figuras 62 e 63. Diferentemente dos testes de tração, nesse caso, o aumento da concentração de nanopartículas não influenciou o comportamento das curvas, que apresentou concavidade para cima, similarmente ao observado no estudo da concentração de gelatina. A partir dessas curvas, foram obtidas a força (N) e a deformação na perfuração (%), apresentadas na Tabela 12.

Figura 62 – Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina a) sem acondicionamento b) com acondicionamento.

Figura 63 - Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração para os filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: — 0, — 5, — 10g de montmorilonita/100g de gelatina a) sem acondicionamento b) com acondicionamento.

De maneira geral, independentemente das diferenças significativas observadas, pode-se sugerir que a carga de montmorilonita não apresentou efeito positivo sobre os filmes de gelatina, com exceção do caso dos filmes obtidos de SFF com 8% de gelatina e acondicionados (Tabela 12). Além disso, analisando-se as Figuras 64, 65, 66 e 67, pode-se sugerir que não houve nítido efeito da espessura dos filmes sobre as propriedades mecânicas obtidas nos testes de perfuração. Sobral (1999) observou que a força na perfuração de filmes de gelatina aumentou linearmente em função da espessura, sem entretanto, efeito sobre a deformação na perfuração.

Tabela 12 - Valores médios de força (F,N) e deformação na perfuração (%) para 5 e 8g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de montmorilonita sem e com acondicionamento.

C _N (%)	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
F (N)				
0	33,5±3,1 ^{aA}	35,8±1,4 ^{aA}	15,5±1,1 ^{aA}	26,0±3,3 ^{aB}
5	25,2±1,4 ^{bA}	44,0±1,5 ^{bB}	15,7±0,8 ^{aA}	21,8±1,0 ^{bB}
10	26,0±2,1 ^{bA}	46,4±1,7 ^{bB}	15,6±0,8 ^{aA}	26,2±0,8 ^{aB}
D (%)				
	Sem acondicionamento		Com acondicionamento	
	5%	8%	5%	8%
0	2,4±0,2 ^{aA}	3,5±0,6 ^{aB}	5,3±0,5 ^{aA}	4,9±0,6 ^{aA}
5	3,0±0,4 ^{bA}	3,1±0,2 ^{aB}	7,3±0,6 ^{bA}	6,8±0,6 ^{bA}
10	2,5±0,5 ^{aA}	3,4±0,3 ^{aB}	5,8±1,1 ^{aA}	6,8±0,2 ^{bB}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina.. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foram obtidas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Figura 64 - Força na perfuração de filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ♦ sem acondicionamento, ■ com acondicionamento.

Figura 65 - Deformação na ruptura de filmes nanocompósitos com 5g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ◆ sem acondicionamento, ■ com acondicionamento.

Figura 66 - Força na perfuração de filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ◆ sem acondicionamento e ■ com acondicionamento.

Figura 67 - Deformação de filmes nanocompósitos com 8g de gelatina/100g de SFN em função da espessura. Filmes ♦ sem acondicionamento e ■ com acondicionamento.

5.2.2.4. Propriedades de transição de fase

De maneira geral, as curvas de DSC dos filmes nanocompósitos, sem e com acondicionamento, com 5 (Figura 68) e 8% (Figura 69) de gelatina foram muito similares ao observado no estudo da concentração de gelatina (5.1.2.4). As curvas de DSC da primeira varredura foram típicas de material parcialmente cristalino e as da segunda varredura, de material amorfo, observando-se também, separações de fases entre uma fração rica em glicerol e a fração rica em gelatina, e também separação de frações distintas da gelatina, observada na segunda varredura. Esses termogramas foram similares aos obtidos com filmes de gelatina (SOBRAL et al., 2001, VANIN et al., 2005) e com nanocompósito à base de gelatina (RAO, 2007).

Figura 68 -Termograma DSC de filmes de 5% de gelatina e diferentes concentrações de nanopartículas. 0% (a,d); 5% (b,e) e 10% (c,f) de amostras sem acondicionamento (a,b,c) e com acondicionamento (d,e,f). Primeira (a) e segunda (b) varreduras.

Figura 69 -Termograma DSC de filmes de 8% de gelatina e diferentes concentrações de nanopartículas. 0% (a,d); 5% (b,e) e 10% (c,f) de amostras sem acondicionamento (a,b,c) e com acondicionamento (d,e,f). Primeira (a) e segunda (b) varreduras.

Também de maneira similar ao estudo anterior (5.1.2.4), pôde-se observar o efeito plastificante da água absorvida durante o acondicionamento, reduzindo as temperaturas de transições em relação aos filmes sem acondicionamento (Tabelas 13 e 14). Por outro lado, não se percebe um nítido efeito da concentração de nanopartículas nas propriedades térmicas, como se pode observar comparando-se os dados apresentados nas Tabelas 13 e 14. A título de exemplo, a transição vítrea da fração rica em gelatina, que em princípio deve influenciar fortemente as propriedades físicas do material, variou em torno de 32°C para ambos os filmes. Rao (2007) também observou que a Tg de nanocompósitos à base de gelatina foi semelhante à do filme de gelatina pura, e Luecha, Sozer e Kokini (2010) observaram que a Tg dos nanocompósitos de zeína com montmorilonita permaneceram em torno de 36°C. Mas, Rao (2007), trabalhando com nanocompósitos à base de gelatina, observou que a temperatura de fusão aumentou ligeiramente com a adição de montmorilonita, diferentemente do que pôde ser observado nesta tese. Entretanto, pode-se considerar que esses resultados podem sugerir que as nanopartículas não estavam bem dispersas na matriz de gelatina, ou que houve perda de dispersão durante a secagem da SFN.

Tabela 13 - Valores médios de propriedades de transições de fase de filmes de 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.

Varredura	C _N	5%	
		Sem acondicionamento	Com acondicionamento
1 ^a varredura		Transição vítrea (T _{g1} , °C)	
	0	-65,3±7,6 ^{aA}	-74,3±1,2 ^{aA}
	5	-54,5±2,1 ^{aA}	-73,8±2,2 ^{aB}
	10	-58,1±0,1 ^{aA}	-75,3±1,1 ^{aB}
		Transição vítrea (T _{g2} , °C)	
	0	N.I.	43,1±1,0 ^a
	5	40,0±1,0 ^{aA}	45,7±0,5 ^{abB}
	10	28,2±1,2 ^{bA}	45,8±1,3 ^{bB}
		Entalpia (J/g)	
	0	18,5±1,6 ^{aA}	20,0±0,6 ^{aA}
	5	19,3±1,2 ^{aA}	20,6±0,5 ^{aA}
	10	16,8±0,4 ^{aA}	17,7±1,3 ^{bA}
		Temperatura de fusão (T _m , °C)	
	0	71,2±5,5 ^{aA}	66,8±0,6 ^{aA}
	5	82,1±1,1 ^{bA}	69,1±0,4 ^{aB}
	10	76,9±1,5 ^{abA}	68,9±1,0 ^{abB}
2 ^a varredura		Transição vítrea (T _{g1} , °C)	
	0	-66,7±10,8 ^{aA}	-74,2±3,8 ^{aA}
	5	-52,3±9,4 ^{aA}	-75,7±2,2 ^{aB}
	10	-58,4±1,3 ^{aA}	-74,3±4,0 ^{aB}
		Transição vítrea (T _{gintermediária} , °C)	
	0	6,9±0,2 ^{aA}	-14,0±1,7 ^{abB}
	5	N.I.	-9,9±0,2 ^b
	10	8,4±2,3 ^{aA}	-14,7±0,4 ^{aB}
		Transição vítrea (T _{g2} , °C)	
	0	40,8±9,0 ^{aA}	31,5±1,5 ^{aA}
	5	N.I.	33,6±1,3 ^a
	10	42,1±0,2 ^{aA}	32,0±2,3 ^{aB}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foram obtidas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

onde T_g, T_m e T_{intermediária} são temperaturas de transição vítrea, fusão e intermediária dos filmes de gelatina sem e com acondicionamento respectivamente e N.I. são dados não indicados.

Tabela 14 - Valores médios de propriedades de transições de fase de 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas sem e com acondicionamento.

Varredura	C _N	8%	
		Sem acondicionamento	Com acondicionamento
1 ^a varredura		Transição vítrea (T _{g1} , °C)	
	0	-55,1±0,7 ^{aA}	-74,2±1,2 ^{aB}
	5	-55,3±2,2 ^{aA}	-76,8±0,1 ^{bB}
	10	-69,8±3,4 ^{bA}	-74,2±0,6 ^{aA}
		Transição vítrea (T _{g2} , °C)	
	0	41,8±0,5 ^A	44,4±0,7 ^B
	5	N.I.	N.I.
	10	N.I.	N.I.
		Entalpia (J/g)	
	0	22,0±0,4 ^{aA}	21,5±0,8 ^{aA}
	5	19,1±0,1 ^{bA}	18,1±2,9 ^{aA}
	10	16,4±1,6 ^{bA}	18,1±0,3 ^{aA}
		Temperatura de fusão (T _m , °C)	
	0	81,3±0,0 ^{aA}	65,7±0,5 ^{aB}
	5	74,1±1,4 ^{bA}	67,1±0,5 ^{aB}
	10	67,9±2,4 ^{bA}	66,2±0,8 ^{aA}
2 ^a varredura		Transição vítrea (T _{g1} , °C)	
	0	-54,8±1,5 ^{aA}	-72,0±1,1 ^{aB}
	5	-55,8±0,5 ^{aA}	-68,9±0,4 ^{bB}
	10	-73,4±4,0 ^{bA}	-75,8±0,4 ^{cA}
		Transição vítrea (T _{gintermediária} , °C)	
	0	24,1±4,1 ^{aA}	-13,0±1,3 ^{aB}
	5	7,3±3,1 ^{bA}	-12,5±0,2 ^{aB}
	10	N.I.	-14,2±2,3 ^a
		Transição vítrea (T _{g2} , °C)	
	0	49,9±6,8 ^{aA}	33,2±3,1 ^{aA}
	5	42,8±2,9 ^{aA}	30,5±1,6 ^{aB}
	10	34,0±4,9 ^{aA}	30,2±0,8 ^{aA}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foram obtidas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

onde T_g, T_m e T_{intermediária} são temperaturas de transição vítrea, fusão e vítrea intermediária dos filmes de gelatina sem e com acondicionamento respectivamente e N.I. são dados não indicados.

5.2.2.5. Difração de Raio X

Para efeito de explicação dos resultados dos filmes nanocompósitos, foram feitas análises de difração de raios X da montmorilonita e da gelatina (sem nenhum tratamento), cujos resultados estão apresentados na Figura 70. A montmorilonita apresentou um espectro de cristalinidade diferenciado, observando-se diversos tipos de cristais, com destaque para os picos em $2\theta = 7^\circ$ e 20° (Figura 70a). Faria, Vercelheze e Mali (2011) e CYRAS et al. (2008), estudando amostras de montmorilonita, observaram que o primeiro pico ocorreu entre $2\theta=7$ e 8° . Por outro lado, o espectro da gelatina foi típico dessa proteína, com pico predominante em $2\theta = 20^\circ$ (Figura 70b).

Figura 70 - Difractogramas de Raios X: a) montmorilonita em pó, b) gelatina em pó.

Os espectros de difração de raios X de filmes de 5 e 8% de gelatina com diferentes concentrações de montmorilonita estão apresentados na Figura 71. Pode-se observar nessa Figura que o aumento da nanopartícula alterou ligeiramente os espectros de difração, embora no geral, o perfil de difração dos filmes nanocompósitos tenha sido similar ao da gelatina pura. Filmes de gelatina normalmente exibem um pico de difração em $2\theta = 7^\circ$, atribuído à estruturas tripla-hélice cristalina da gelatina (Figuras 71a,d) (YAKIMETS et al., 2005, 2007; PEREDA et al., 2011; MARTUCCI; RUSECKAITE, 2010) e outro largo em $2\theta = 20^\circ$, característica de uma fase amorfa (PEREDA et al., 2011). O principal efeito da nanopartícula foi o desaparecimento do pico observado em $2\theta = 7^\circ$ (Figuras 71b,c,e,f).

Figura 71 - Difractogramas de Raios X de filmes nanocompósitos de 5% (a,b,c) e 8% (d,e,f) (g de gelatina/100g de SFN) com 0% (a,d), 5% (b,e) e 10% (c,f) (g de montmorilonita/100g de gelatina).

Assim, pode-se sugerir que a presença da montmorillonita dificultou a formação dessas estruturas cristalinas, corroborando com os resultados das análises térmicas (5.2.2.4).

5.2.2.6. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

De maneira similar ao estudo de difração de raios X, também foram feitas análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) nas matérias primas (montmorillonita e gelatina), sem nenhum tratamento prévio. Os espectros de FTIR da gelatina e montmorillonita em pó, na região de 650-4000 cm^{-1} , estão apresentados na Figura 72, onde se podem observar bandas bastante distintas, com predominância na região da amida III (3283 cm^{-1}), da amida II (1523 cm^{-1}) e da amida I (1629 cm^{-1}) para a gelatina, e na região de interações entre carbono e hidroxilas (800-1100 cm^{-1}), mas que para a montmorillonita de estar associada ao estiramento de Si-O.

Figura 72 - Espectroscopia de infravermelho: a) gelatina em pó, b) montmorillonita em pó.

Os espectros de FTIR dos filmes de 5 e 8% de gelatina com diferentes concentrações de montmorilonita, na região $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, estão mostrados nas Figuras 73 e 74, respectivamente. De maneira geral, observou-se que os espectros de ambos filmes são similares entre si, e com o da gelatina, embora haja deslocamento das bandas nos filmes em gelação à gelatina in natura. Puderam-se observar, nos espectros dos filmes, sinais da banda da amida III ($3286\text{-}3289\text{ cm}^{-1}$), da amida II ($1538\text{-}1548\text{ cm}^{-1}$) e da amida I ($1630\text{-}1633\text{ cm}^{-1}$), sem efeito nítido nem da concentração de gelatina e nem da concentração de nanopartícula.

Por outro lado, pode-se perceber uma nítida influência na montmorilonita nos sinais da banda que pode corresponder ao estiramento do COH (do plastificante) ou do Si-O (da nanopartícula). Observou-se que o pico, que apareceu bastante pronunciado em 979 cm^{-1} , no espectro da montmorilonita, não apareceu nos espectros dos nanocompósitos, mas muito provavelmente, influenciando o pico que se observou entre $1034\text{-}1035\text{ cm}^{-1}$, nos filmes sem nanopartículas, diminuindo para $1029\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$, nos filmes com 10% de montmorilonita. Os picos observados em 921 cm^{-1} podem ser atribuídos ao estiramento de Si-O, que poderia ser tomado como evidência para uma fase de sílica amorfa tridimensional. Espectros similares foram observados por Silva et al. (2008); Gennadios (2002) e Yin et al. (2005).

Figura 73 - Espectroscopia de infravermelho de filmes nanocompósitos de 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: (a) 0%, (b) 5%, (c) 10% (g de montmorilonita/100g de gelatina)

Figura 74 - Espectroscopia de infravermelho de filmes nanocompósitos de 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de nanopartículas: (a) 0%, (b) 5%, (c) 10% (g de montmorilonita/100g de gelatina).

5.2.2.7. Microscopia eletrônica de varredura

Os filmes de gelatina sem nanopartículas apresentaram estrutura interna homogênea, densa e coesa (Figuras 75a,d; 76a,d), similar ao observado no estudo da concentração de gelatina (5.1.2.5). A incorporação da montmorilonita nas formulações, tanto de 5 quanto de 8% de gelatina, produziu filmes nanocompósitos com estruturas diferentes. As estruturas internas dos nanocompósitos (Figuras 75b,c,e; 76b,c,e,f) foram menos lisas, isto é, apresentaram certa rugosidade, muito possivelmente devido a formação de aglomerados de gelatina. E esse efeito foi aumentando com o aumento da concentração de nanopartículas.

Figura 75 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes nanocompósitos: seção transversal (a-c) e longitudinal (d-e), com 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 0% (a, d), 5% (b,e), 10% (c).

Figura 76 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes nanocompósitos: seção transversal (a-c) e longitudinal (d-f), com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 0% (a, d), 5% (b, e), 10% (c, f).

A seção longitudinal de alguns nanocompósitos (Figura 76e) apresentou uma superfície descontínua, caracterizada por rachaduras distribuídas ao longo de comprimento da rede, com aglomerações, provavelmente devido ao processo de secagem. Comportamento similar foi observado por Carvalho e Grosso (2004).

As estruturas da superfície de filme em contato com o ar de secagem e com a placa também sofreram efeito a incorporação de nanopartículas nas formulações com ambas as concentrações de gelatina (Figura 77 e 78). O aumento da concentração de nanopartículas provocou aumento da rugosidade superficial, isto é, os nanocompósitos deixaram de ter as superfícies lisas, típicas dos filmes de gelatina pura (Figura 78a,d). Comportamento similar foi observado por Rhim (2011). Isso pode ter ocorrido devido a formação de aglomerados, o que provocou estruturas menos homogêneas, mas também pela eventual elutriação de material para a superfície durante o processo de secagem.

Figura 77 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de filmes nanocompósitos em contato com ar (a-b) e com a placa (c-d): 5g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 5% (a,c), 10% (b,d).

Figura 78 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes nanocompósitos da superfície em contato com o ar (a-c) e com a placa (d-f), com 8g de gelatina/100g de SFN e diferentes concentrações de montmorilonita: 0% (a,d), 5% (b,e), 10% (c,f).

5.2.2.8. Hidrofobicidade superficial

A hidrofobicidade superficial dos filmes nanocompósitos foi determinada pelo método da gota, que consiste na medida do ângulo de contato da gota, normalmente de água, com a superfície da amostra. Portanto, esse ângulo mede de certa forma, a hidrofobicidade do material, sendo que para ângulo maior que 65°, considera-se o material como hidrofóbico, e para ângulo menor ou igual a 65°, considera-se como hidrofílico (KARBOWIAK; DEBEAUFORT; CHAMPION; VOILLEY, 2006). Os resultados dessas medidas nos filmes nanocompósitos estão apresentados nas Tabelas 15, para a superfície de secagem, e 16, para a superfície de contato com a placa.

Tabela 15 - Ângulo de contato médio na superfície de secagem dos filmes com 5 e 8g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas.

C _N (%)	Ângulo de contato médio com água (superfície superior)	
	5%	8%
0	90,3±10,7 ^{aA}	88,8±5,9 ^{aA}
5	94,6±2,2 ^{aA}	73,4±12,3 ^{aB}
10	82,9±8,0 ^{aA}	85,4±5,7 ^{aA}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

Tabela 16 - Ângulo de contato médio na superfície em contato com a placa dos filmes com 5 e 8 g de gelatina/100g de SFN a diferentes concentrações de nanopartículas.

C _N (%)	Ângulo de contato médio com água (inferior)	
	5%	8%
0	97,0±1,3 ^{aA}	93,8±8,3 ^{aA}
5	102,5±4,3 ^{bA}	81,0±11,3 ^{aB}
10	80,3±11,7 ^{aA}	90,4±2,7 ^{aA}

C_N = g de nanopartículas/100g de gelatina. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para diferentes concentrações de nanopartículas; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias para a concentração de gelatina. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

De maneira geral, pôde-se observar que a incorporação das nanopartículas nas formulações, tanto com 5 como com 8% de gelatina, reduziu a hidrofobicidade dos filmes, com exceção dos filmes com 5% de montmorilonita e 5% de gelatina, em ambas superfícies (Tabela 16 e 17), embora não se tenha observado diferenças significativas entre os valores médios. Ainda de maneira geral, esses resultados estão de acordo com os resultados das análises de microestrutura das superfícies dos filmes (5.2.2.7), onde se observou a perda de homogeneidade superficial devido a presença das nanopartículas. Segundo Mohan et al. (2011), o comportamento hidrofílico de um material pode ser afetado pela rugosidade da sua superfície. Mas, diferentemente desta tese, Rhim et al. (2006) observaram que filmes de quitosana reforçados com montmorilonita diminuíram a hidrofilicidade, ou seja, aumentou a hidrofobicidade, quando comparada com filmes à base de quitosana.

5.3. Propriedades físicas do filme nanocompósito escolhido

O filme nanocompósito escolhido para uma caracterização mais completa para uma possível utilização como embalagem de alimentos, em trabalhos futuros, foi produzido com a formulação com 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de nanopartícula/100g de gelatina. Esse filme foi homogêneo, transparente e brilhante. Em relação às propriedades mecânicas, apresentou-se mais resistente e mais rígido quando comparado com o filme sem reforço e com os filmes nanocompósitos produzidos com 8% de gelatina. Neste filme, também se observou um aumento da hidrofobicidade da superfície quando comparada as demais amostras, o que provavelmente o torna menos susceptíveis às condições ambientais.

5.3.1. Sorção de vapor de água

A isoterma de sorção de vapor de água a 25°C obtida para o filme nanocompósito de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina esta apresentada na Figura 79. Observou-se que o comportamento da isoterma foi sigmoidal, típico de filmes de gelatina (TANIOKA et al., 1974; YAKIMETS et al., 2005; AL-HASSAN; NORZIAH, 2012).

Figura 79 - Isoterma de sorção de vapor de água a 25°C de filme nanocompósito (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina): $\circ$ dados experimentais, — curva obtida com o modelo de GAB.

O modelo de GAB (Equação 3) foi ajustado aos pontos experimentais da isoterma de adsorção de vapor de água do filme (Figura 79), com excelente coeficiente de correlação ($R^2 \sim 0,999$). As constantes do modelo de GAB, calculadas por regressão não linear, usando-se o método Gauss-Newton, estão apresentadas na Tabela 17. A umidade da monocamada (X_m) foi 0,07g água/g matéria seca, similar aos valores obtidos para filmes de gelatina de pele suína (SABLANI et al., 2002), gelatina de peixe (CHIOU et al., 2009), amido de mandioca e montmorilonita (MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2011) e gelatina suína e montmorilonita (RIBEIRO et al., 2011).

Tabela 17 - Parâmetros estimados do modelo de GAB para filme nanocompósito de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.

Parâmetros	Valores
X_m (g/g de matéria seca)	0,07
C	30,67
K	0,94

As constantes da monocamada (C) e da multicamada (k) determinadas nesta tese (Tabela 17) também foram similares ao determinado por outros autores (SOBRAL; HABITANTE, 2001; SABLANI et al., 2002).

5.3.2. Solubilidade em água

Segundo Rhim et al. (1997), a solubilidade em água de um material é definida como uma sensibilidade à água líquida. A solubilidade em água do filme nanocompósito com 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina foi de $27,3 \pm 1,1\%$. Chung et al. (2011) e Carvalho e Grosso (2004) determinaram solubilidade em água de 35,8%, em filmes de gelatina suína feito por “spreading”, e de 31%, para filmes de gelatina bovina, respectivamente. Portanto, pode-se sugerir que o reforço de montmorilonita na matriz de gelatina proporcionou uma ligeira redução na solubilidade do filme.

5.3.3. Propriedades de barreira

As propriedades de barreira em filmes correspondem, na realidade, às permeabilidade a diversos tipos de vapores e gases. Nesta tese, o interesse está no conhecimento das permeabilidades ao vapor de água e aos gases (O_2 e CO_2) do filme nanocompósito selecionado, sempre a temperatura ambiente (22-25°C), cujos resultados estão apresentados na Tabela 18.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) do filme nanocompósito (Tabela 18) continuou similar às permeabilidades de filmes similares, inclusive carregados com nanopartículas. A título de exemplo, Sobral et al. (2001) determinou a PVA de filmes de gelatina de pele suína com 65g de sorbitol/100g de gelatina com valor de $3,8 \times 10^{-8} \text{ g mmh}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$ (espessura 0,041mm), enquanto Chung et al. (2011) obtiveram $7,6 \times 10^{-8} \text{ g mmh}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$ em filmes de gelatina e glicerol, com 0,071mm de espessura. Rhim et al. (2006) determinaram valores de $352,8 \times 10^{-8} \text{ g mmh}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$ em filmes nanocompósitos de quitosana e montmorilonita sódica e Rhim (2011) determinou PVA igual a $38,5 \times 10^{-8} \text{ g mmh}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$ em filmes nanocompósitos de Agar e nanoargila (Cloisite-Na), com a incorporação de 20% de montmorilonita. Por outro lado, a PVA determinada nesta tese foi menor que a de filmes de isolado proteico de soja, sem e com reforço de montmorilonita, produzidos por Tang et al. (2005) e Kumar et al (2010), respectivamente, cujo valor foi de $3 \times 10^{-7} \text{ g mmh}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$.

A carga de nanopartícula na matriz de gelatina não melhorou a PVA, como era de se esperar, uma vez que, a presença de nanopartículas perfeitamente dispersas numa matriz polimérica aumentaria a tortuosidade do sistema, diminuindo portanto a difusividade da água (Tunc et al., 2007). Além disso, a presença da nanopartícula no filme de gelatina também não diminuiu consideravelmente, a sensibilidade do material à água, outro fator importante no conceito da PVA.

Tabela 18 - Valores de permeabilidade ao vapor de água, oxigênio e dióxido de carbono de filme nanocompósito produzidos a partir de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.

Propriedades de barreira	Valores
Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g mm h}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$)	$3,3 \pm 0,37 \times 10^{-8}$
Permeabilidade ao oxigênio ($\text{mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$)	$1,18 \pm 0,11 \times 10^{-15}$
Permeabilidade ao dióxido de carbono ($\text{mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$)	$5,30 \pm 0,86 \times 10^{-15}$

Por outro lado, a permeabilidade ao O_2 (PO_2) do filme nanocompósito produzido nesta tese foi similar ao determinado por Tunc et al. (2007), que determinou PO_2 de $1,2 \times 10^{-15} \text{ mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$ em filmes de glúten, independente da concentração de montmorilonita. Entretanto,

a PO_2 do filme nanocompósito desta tese (Tabela 18) foi maior que a determinada por Chiou et al. (2008), trabalhando com filmes de gelatina suína sem plastificante, com 0,050 mm de espessura, cujo valor foi $2,45 \times 10^{-18} \text{ mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$, e por Carvalho e Grosso (2004), que produziram filmes de gelatina bovina com 0,080mm de espessura, que determinaram PO_2 igual a $1,17 \times 10^{-17} \text{ mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$. Entretanto, Bae et al. (2009) produziram filmes nanocompósitos à base de gelatina de peixe e 5% de montmorilonita que foram mais permeáveis ($\text{PO}_2 = 2 \times 10^{-13} \text{ mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$) que o filme obtido nesse trabalho (Tabela 18).

Em relação à permeabilidade ao CO_2 (PCO_2), observou-se que o valor obtido nesta tese foi da mesma ordem de grandeza que o determinado por Arvanitoyannis, Nakayama e Aiba (1998), que desenvolveram filmes à base de blenda de gelatina e quitosana, plastificados com glicerol, cujos valores foram de cerca de $1 \times 10^{-15} \text{ mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$, e da PCO_2 determinando por Tunc et al. (2007), trabalhando com filmes a base de glúten com e sem montmorilonita, cujos valores ficaram em torno de $2,3 \times 10^{-15} \text{ mol Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1}$, isto é, também neste último caso, a nanopartícula não melhorou essa propriedade, e esses autores explicaram esses resultados pela deficiência na dispersão da carga na matriz de glúten.

Arvanitoyannis, Nakayama e Aiba (1998) observaram que a maior cristalinidade dos filmes a base de biopolímeros, isto é, o aumento da região cristalina pode resultar em redução de uma ou duas ordem de grandeza na permeabilidade aos O_2 e CO_2 . Portanto, isso pode embasar uma explicação para os resultados desta tese, corroborando com os resultados de difração de raios X e da calorimetria diferencial de varredura: a presença da nanopartícula não implicou, necessariamente, em aumento da cristalinidade dos filmes.

5.3.4. Cor e opacidade

Os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) e a opacidade do filme nanocompósito escolhido estão mostrados na Tabela 19. O filme produzido nesta tese foi mais colorido (maior ΔE^*) que os filmes à base de gelatina suína e bovina (Sobral et al., 1999) e a base de blenda de gelatina e PVA (Silva et al., 2008), cujos ΔE^* foi sempre menor que 3. Esse resultado foi similar ao comportamento observado por Sothornvit et al. (2010), que

verificaram que o aumento da montmorilonita em filmes nanocompósitos de isolado protéico de soro aumentou a diferença total de cor e reduziu a transparência quando comparada com os filmes à base de isolado protéico de soro. Por outro lado, o filme obtido nesta tese foi menos colorido (menor ΔE^*) que os filmes feitos com proteínas de soja (KUNTE, et al., 1997). Considerando-se os valores de L^* , a^* e b^* , pode-se considerar que o filme em questão apresentou uma coloração amarelada (por causa do b^*) clara (por causa do L^*).

Tabela 19 - Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*), diferença de cor (ΔE^*) e opacidade de filme de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.

Parâmetros	Valores
ΔE^*	7,64±1,7
L^*	86,18±1,8
a^*	-0,97±0,0
b^*	3,03±0,2
Opacidade	2,03±0,1

Em relação à opacidade, observou-se que o filme produzido nesta tese foi ligeiramente mais opaco (Tabela 19) que os filmes à base de gelatina suína e glicerol, produzidos por Vanin et al. (2005) e de blendas de gelatina e PVA, produzidos por Silva et al. (2008). Nesses dois casos, a opacidade foi sempre menor que 0,5. O aumento da coloração e da opacidade nesse filmes nanocompósito, em relação ao filme de gelatina pura, foi devido à presença da montmorilonita na matriz do filme, que provocou alteração na difração e na transmissão da luz pelo material (VILLALOBOS et al., 2005).

5.3.5. Brilho

O brilho é uma propriedade de superfície que tem escala arbitrária e é adimensional (MORAES et al., 2008). Ele é relacionado à textura superficial, isto é, ao grau de polimento da superfície do filme, que, portanto permite refletir a luz mais facilmente. Segundo

Villalobos et al. (2005), os ângulos menores (ex.: 20°) são mais adequados para caracterizar material com maior brilho, enquanto que ângulos maiores (ex.: 60°), diferenciam melhor amostras com menos brilho. Pode-se observar na Tabela 20, que apenas as medidas realizadas com o ângulo de 60° foram diferentes entre a superfície em contato com o ar de secagem e aquela contato com a placa. O menor brilho na superfície de secagem pode ter sido provocado pela maior rugosidade dessa superfície, como observado nos resultados da microscopia eletrônica de varredura (5.2.2.7) das superfícies dos filmes.

Tabela 20 - Valores de brilho (20° e 60°) de filme de 5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina.

Brilho	Contato placa	Contato ar
20°	26,5±9,2 ^{aA}	23,9±10,4 ^{aA}
60°	92,7±3,1 ^{bA}	88,1±5,6 ^{bB}

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias para cada ângulo; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para cada tipo de contato. A diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey, utilizando-se o software SAS.

O filme produzido nesta tese apresentou menor brilho, independente do ângulo de medida, quando comparado aos filmes de blenda de gelatina e PVA, produzidos por Silva et al. (2008), cujos valores de brilho foram $234,6 \pm 13,3$ e $180,2 \pm 5,2$ com 20° e 60°, respectivamente.

5.3.6. Barreira à luz/UV

Os espectros de transmitância obtidos por espectrofotometria (190-750 nm) de um filme de gelatina (5g de gelatina/100g de SFF), analisado como padrão para efeito de comparação, e do filme nanocomposto escolhido (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina) estão apresentados na Figura 80. Maiores valores de transmitância significam menor barreira à luz. Assim, inicialmente considerando-se a região que compreende a luz UV (190-280 nm), observou-se que a presença de montmorilonita na

matriz de gelatina reduziu a transmitância do nanocompósito em relação ao filme de gelatina pura (Figura 80).

Figura 80 - Espectro UV-visível dos filmes: (a) gelatina padrão e (b) filme nanocompósito (5g de gelatina/100g de SFN e 5g de montmorilonita/100g de gelatina).

O filme de gelatina pura pode ser considerado como tendo excelente propriedade de barreira à luz UV. A elevada barreira desses filmes pode ser explicada pela presença de aminoácidos contendo anéis aromáticos nos seus resíduos, que possuem a capacidade de absorver a luz UV (Sobral et al., 2011). Por outro lado, a presença da nanopartícula no material aumenta a barreira devido à sua presença física, como se provocasse uma sombra à luz.

Também em relação à luz visível, observou-se que o filme de gelatina sem nanopartículas mostrou uma porcentagem de transmitância maior, aproximadamente 83% para o intervalo de comprimento de onda de 350 a 750 nm, do que no filme nanocompósito, devido à ausência de corpos (nanopartículas) que impeçam a passagem da luz. Esse comportamento foi similar ao observado por Kampeerapappun et al. (2007), para filmes de amido com e sem argila, e por Tunç e Duman (2011), para filmes à base de metilcelulose sem

e com montmorilonita. Esses resultados permitem sugerir que o filme nanocompósito pode ser indicado (se a legislação permitir) para embalagens de alimentos ricos em lipídeos e/ou vitaminas susceptíveis à oxidação pela luz UV e visível (Bekbolet, 1990).

6. CONCLUSÕES

Em virtude dos resultados obtidos e das discussões promovidas no corpo desta tese, pretende-se apresentar as conclusões por pontos.

Sobre os efeitos da concentração de gelatina em filmes de gelatina sem carga, acondicionados e sem acondicionamento:

A concentração de gelatina na solução filmogênica tem efeito positivo na viscosidade, nos módulos viscoelásticos (G' e G'') e nas temperaturas de transições sol-gel e gel-sol das soluções formadoras de filmes. Isso foi muito importante para o estabelecimento dos parâmetros de operação do aplicador automático de filmes.

A concentração de gelatina teve efeito sobre as propriedades mecânicas dos filmes, mas que pode ter sido consequência do aumento da espessura dos filmes, em virtude do aumento da massa da matéria seca/cm² do suporte, com o aumento da concentração de gelatina na solução filmogênica aplicada no suporte.

As temperaturas de transição de fases, bem como a microestrutura dos filmes, não foram influenciadas pelo aumento da concentração de gelatina na solução formadora de filmes.

O efeito do acondicionamento dos filmes de gelatina sobre suas propriedades mecânicas e suas temperaturas de transições de fases foi devido ao efeito plastificante da umidade absorvida.

Sobre os efeitos da concentração de montmorilonita e da gelatina em filmes nanocompósitos de gelatina, acondicionados e sem acondicionamento:

As propriedades reológicas e viscoelásticas das soluções formadora de nanocompósitos (SFN) foram fortemente influenciadas pela concentração de nanopartículas, principalmente no caso de maior concentração de gelatina na SFN. O conhecimento das

temperaturas de transição sol-gel e gel-sol desses sistemas foi importante para o controle do processo de aplicação da SFN.

Os filmes nonocompósitos de gelatina apresentaram-se homogêneos visualmente. Entretanto, os nanocompósitos produzidos com concentração de montmorillonitas de 15% não foram homogêneos e não puderam ser trabalhados.

A montmorillonita contribuiu para o aumento da espessura dos filmes e para uma ligeira diminuição da sensibilidade do material nanocompósito de gelatina à umidade ambiente. Entretanto, o efeito da nanopartícula sobre as propriedades mecânicas não foi tão evidente, isto é, houve situações que elas melhoraram e outras em que pioraram, em função da variação da concentração de montmorillonita.

A concentração da montmorillonita nos filmes nanocompósitos de gelatina não apresentou nítido efeito sobre a solubilidade em água e nem sobre as propriedades de fase dos filmes, embora tenha tido efeito sobre os perfis dos espectros de difração de raios X e dos espectros de infravermelho com transformada de Fourier.

A presença da montmorillonita na matriz de gelatina implicou em estrutura interna e superficial cada vez menos homogênea, como observado nos resultados da microscopia eletrônica de varredura. Talvez em função disso, a hidrofobicidade dos filmes praticamente diminuiu com o aumento da concentração de montmorillonita.

Os filmes nanocompósitos com 5 g de gelatina/100g SFN e 5% g montmorillonita/100g gelatina foi considerado o melhor, sobretudo pelos melhores resultados de propriedades mecânicas e de solubilidade. Essa formulação foi, então, escolhida para testes complementares.

O filme nanocompósito descrito acima foi submetido a caracterizações complementares, podendo-se observar que a montmorillonita influenciou a solubilidade em água, a coloração, a opacidade, o brilho e na barreira à luz e UV em relação a filmes de gelatina pura, cujas características foram encontradas na literatura, mas não teve efeito na isoterma de sorção de vapor de água e nem nas permeabilidades ao vapor de água, O₂ e CO₂, que continuaram sendo típicos de filmes a base de proteínas.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Considerando que realmente, a melhora das propriedades dos filmes nanocompósitos depende da qualidade da dispersão das nanopartículas na matriz polimérica, é necessário se estudar mais profundamente a dispersão das nanopartículas na matriz biopolimérica. Entretanto, como a perfeita dispersão pode ser deteriorada durante a secagem da solução formadora de nanocompósito, é necessário também se garantir uma perfeita dispersão das nanopartículas na água. Portanto, isso também deve ser estudado a fundo.

- O efeito da concentração de nanopartícula nas propriedades de filmes de gelatina merece ser estudado com variações menores das respectivas concentrações. Nesta tese, por ser a primeira no Laboratório, optou-se por variar a concentração de nanopartículas de 5 e 15%, que pode ser muito.

- Também parece interessante se tentar aumentar a concentração de gelatina na SFN, mesmo conhecendo-se as dificuldades encontradas (formação excessiva de bolhas de ar e de espuma e dificuldade de dispersão das nanopartículas).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHET, D. C., HE, X.W. Determination of the renaturation level in gelatin film. **Polymer**, Leics, v. 36, n. 4, p.787-791, 1995.

ALBERS; A. P. F; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O.; Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, São Paulo, v.48, n. 305, p 34-37, 2002.

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P.; Polymer-layered silicate nanocomposites: Preparation, properties and uses of a new class materials. **Materials Science and Engineering: R. Reports**, Lausanne, v. 28, n.1-2, p. 1-63, 2000.

AL-HASSAN, A.A.; NORZIAH, M.H. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 108-117, 2012.

ALVES, P.M.A; CARVALHO, R.A.; MORAES, I.C.F.; LUCIANO, C.G.; BITTANTE, A.M.Q.B.; SOBRAL, P.J.A. Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.25, p. 1751-1757, 2011.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL (ASTM)(Philadelphia, Estados Unidos). **Standard test methods for water vapour transmission of materials**: designation E - 96- 80. In: ----- Annual Book of ASTM standards. Philadelphia 1989. p.730-739.

AMIRI, A.; OYE, G.; SJOBLUM, J. Temperature and pressure effects on stability and gelation properties of silica suspensions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 378, n. 1-3, p. 14-21, 2011.

ANDREUCETTI A.; CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Gelatin-based films containing hydrophobic plasticizers and saponin from *Yucca schidigera* as the surfactant. **Food Research International**, Barking, v.43, n.6, p.1710-1718, 2010.

ANDREUCETTI, C.; CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-base films. **Food Research International**, Barking, v. 42, n.8, p. 1113-1121, 2009.

ANGELLIER, H.; MOLINA-BOISSEAU, S.; DOLE, P.; DUFRESNE, A. Thermoplastic Starch-Waxy Maize Starch Nanocrystals Nanocomposites. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, n. 2, p. 531-539, 2006.

ANGELLIER-COUSSY, H; TORRES-GINER, S; MOREL, MH; GONTARD, N.; GASTALDI, E. Functional properties of thermoformed wheat gluten/montmorillonite materials with respect to formulation and processing conditions. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 107, n.1, p. 487-496, 2008.

ANGLÈS, M.N.; DUFRESNE, A. Plasticized Starch/Tunicin Whiskers Nanocomposites. 1. Structural Analysis. **Macromolecules**, Easton, v. 33, n.22, p. 8344-8353, 2000.

ANGLÈS, M.N.; DUFRESNE, A. Plasticized Starch/Tunicin Whiskers Nanocomposite Materials. 2. Mechanical Behavior. **Macromolecules**, Easton, v. 34, n. 9, p. 2921-2931, 2001.

APARECIDA, G.L.; SOBRAL, P.J.A., CARVALHO, R.A. Gelatin films with hydrophobic plasticizers: Mechanical properties, water vapour permeability and water solubility. ZEA-FZEA-USP. Pirassununga (SP), Brazil. 2009.

ARVANITOYANNIS, I.S. Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings. In: GENNADIOS, A. **Protein-based films and coatings**, Boca Raton: CRC Press, 2002. Cap. 11, p. 275-304.

ARVANITOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatine and plasticized by polyols and water. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 36, p. 105-119, 1998.

BAE, H.J., PARK, H.J., HONG, S.I., BYUN, Y.J., DARBY D.O., KIMMEL, R.M., WHITESIDE, W.S. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite. **LWT-Food Science and Technology**, London, v. 42, n.6, p. 1179-1186, 2009.

BANKER, G. S. Film coating theory and practice. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, Bethesda, v. 55, n. 1, p. 81-89, 1966.

BARRETO, P.L.M.; ROEDER, J.; CRESPO, J.S.; MACIEL, G.R.; TERENCE, H.; PIRES, A.T.N.; SOLDI, V. Effect of concentration temperature, and plasticizer content on rheological properties of sodium caseinate and sodium caseinate/sorbitol solutions and glass transition of their films. **Food Chemistry**, London, v. 82; n. 3; p. 425-431, 2003.

BARRETO, P.L.M., PIRES, A.T.N., SOLDI, V. Thermal degradation of edible films based on milks proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v.79, n. 1, p.147-152, 2003.

BEKBOLET, M. Light effects on food. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.53, n.5, p. 430-440, 1990.

BERGO, P.; SOBRAL, P.J.A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.21, n.8, p.1285-1289, 2007.

BERGO, P. ; CARVALHO, R.A.; SOBRAL, P. J. A.; BEVILACQUA, F.R.S.; PINTO, J.K.C.; SOUZA, J.P. Microwave transmittance in gelatin-based films. **Measurement Science and Technology**, Bristol, v. 17, p. 1-4, 2006.

BERGO, P. ; CARVALHO, R.A.; VADALA, A.C.S.; GUEVARA, V.C.I.; SOBRAL, P. J. A. Physical properties of gelatin films plasticized with glycerol, studied by spectroscopic methods. **Materials Science Forum**, Zurich, v. 636-637, p. 753-758, 2010.

BERTAN, L.C.; TANADA-PALMU, P.S.; SIANI, A.C.C.; GROSSO, R.F. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, Oxford v. 19, n. 1, p. 73-82, 2005.

BUENO, C.M. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.14, n.1, p.65-73, 2011.

CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 717-726, 2004.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. ; SOBRAL, P. J. A. Effect of chemical treatment on the mechanical properties, water vapour permeability and sorption isotherms of gelatin-based films. **Packaging Technology and Science**, Malden, v. 21, n.3, p. 165-169, 2008.

CARVALHO , R. A.; MARIA, T.M.C.; MORAES, I.C.F.; BERGO, P.V.A.; KAMIMURA, E.S.; HABITANTE, A.M.Q.B.; SOBRAL, P.J.A. Study of some physical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol) using a response-surface methodology. **Materials Science & Engineering C**, Laussane, v. 29, n. 2, p. 485-491, 2009.

CHEN, P., ZHANG, L. Interaction and properties of highly exfoliated soy protein/montmorillonite nanocompósitos. **Biomacromolecules**, Washington, v.7, n. 6, p.1700-1706, 2006.

CHEOW, C.S.; NORIZAH, M.S. ; KYAW, Z.Y.; HOWELL, N.K. Preparation and characterizations of gelatins from the skin of sin croaker (*Johnius dussumien*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). **Food Chemistry**, London, v.101, n. 1, p.386-391, 2007.

CHO, S.M.; GU, Y.S.; KIM, S.B. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, n.2, p. 221-229, 2005.

CHIOU, B.S.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; BECHTEL, P.J.; JAFRI, H.; NARAYAN, R.; IMAM, S.H.; GLENN, G.M.; ORTS, W.J. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier and biodegradation properties. **European Polymer Journal**, New York, v. 44, n.11, p. 3748-3753, 2008.

CHIOU, B.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; BECHTEL, P.J.; IMAM, S.H.; GLENN, G.M.; ORTS, W.J. Effects of drying temperature on barrier and mechanical properties of cold-water fish gelatin films. **Journal of Food Engineering**, Westport, v. 95, n. 2, p. 327-331, 2009.

CHUNG, M.M.S.; SOBRAL, P.J.A.; VELLOSO, W.F.; MORAES, I.C.F. Permeabilidade ao vapor de água e difusividade de filmes de gelatina. Anais do XIX Congresso de Iniciação Científica SIICUSP, Piracicaba, CD ROM, 2011.

COELHO; A. C. V.; SANTOS; P. S.; SANTOS; H. S. Argilas Especiais: Argilas Quimicamente Modificadas – Uma Revisão. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5; p. 1282-1294, 2007.

CYRAS, V.P.; MANFREDI, L.B.; TON-THAT, M-T.; VAZQUEZ, A. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 73, n. 1, p. 55-63, 2008.

DEBEAUFORT, F., VOILLEY, A. Methylcellulose-based edible films and coatings: 2. Mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.45, n.3, p.685-689, 1997.

DEIBER, J.A.; PEIROTTI, M.B.; OTTONE, M.L. Rheological characterization of edible films made from collagen colloidal particle suspensions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 25, n. 5, p. 1382-1392, 2011.

DENAVI, G.; TAPIA-BLACIDO, D.R.; ANON, M.C.; SOBRAL, P.J.A.; MAURI, A.N.; MENEGALLI, F.C. **Journal of Food Engineering**, Westport, v.90, n.3, p.341-349, 2009.
DOLE, P.; JOLY, C.; ESPUCHE, E.; ALRIC, I.; GONTARD, G. Gas transport properties of starch based films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.58, n. 3, p. 335–343, 2004.

FARIA, F.O.; VERCELHEZE, A.E.S.; MALI, S. (Impress) Propriedades físicas de filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita. **Química Nova**, São Paulo, 2011.

FITZSIMONS, S.M., MULVIHILL D.M., MORRIS, E.R. Segregative interactions between gelatin and polymerized whey protein. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.22, n.3, p.485-491, 2008.

GARCIA; E. E. C. Nanocompósitos: Novas Opções em Materiais de Embalagens. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, Campinas, Instituto de Tecnología de Alimentos; v. 15; n.1, p. 1-6, 2003.

GENNADIOS, A. Protein-based films and coatings. In: GENNADIOS, A, **Protein-based films and coatings**, Boca Raton: CRC Press, 2002, p. 123-138.

GENNADIOS, A.; McHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. Edible coatings and films based on proteins. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Boca Raton: CRC Press LLC, 1994. Cap.9, p. 201-278.

GILSENAN, P.M.; ROSS-MURPHY, S.B. Viscoelasticity of thermoreversible gelatine gels from mammalian and piscine collagens. **Journal of Rheology**, New York, v. 44, n. 4, p. 871-883, 2000.

GOMES, G. V.L. Produção e caracterização microestrutural de sistemas lipídicos sólidos micro e nanoparticulados utilizados na encapsulação de beta-caroteno. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

GÓMEZ-ESTACA, J.; GÓMEZ-GUILLEN, M.C.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; MONTERO, P. Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin, on the properties of compound gelatin-chitosan filmes. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 25, n. 6, p. 1461-1469, 2011.

GÓMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; GÓMEZ-GUILLEN, M.C. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. **Journal of Food Engineering**, Westport, v. 90, n. 4, p. 480-486, 2009.

GONTARD, N. **Panorama des emballages alimentaires actifs**. In: GONTARD, N. (Cord.) Les emballages actifs. Tec & Doc, p.1 (2000), Paris.

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.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten film : Influence of the main variable on film properties using response methodology. **Journal of Food Science**, Chicago, v.57, n. 1, p. 190-195, 1992.

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

GONTARD, N.; RING, S. Edible wheat gluten film: influence of water content on glass transition temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.44, n. 11, p. 3474-3478, 1996.

GUDMUNDSSON, M. Rheological properties of fish gelatins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 6, p. 2172-2176, 2002.

GÜNISTER, E.; PESTRELI, D.; ÜNLÜ, C.H.; ATICI, O.; GÜNGÖR, N. Synthesis and characterization of chitosan-MMT biocomposite systems. **Carbohydrate Polymers**, Barking, 67, n. 3, p. 358-365, 2007.

HEDENQVIST, M.S., BACKMAN, A; GALLSTEDT, M., BOYD, R.H., GEDDE, U.W. Morphology and diffusion properties of whey/montmorillonite nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Barking, V. 66, n. 3, p. 2350–2359, 2006.

ISÇI, Y.; USLU, Y.O.; ECE, O.I. The characterizations of rheological, electrokinetical and structural properties of ODTA Br/MMT and HDTA Br/MMT organoclays. **Materials characterization**, New York, v.60, n.5, p.432-436, 2009.

JANG, S.A.; LIM, G.O.; SONG, K.B. Use of nanoclay (Cloisite Na+) improves tensile strength and vapour permeability in agar rich red algae (*Gelidium corneum*)-gelatin composite films. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.45, n. 9, p.1883-1888, 2010.

JOHNSTON-BANKS, F.A. Gelatin. In: HARRIS, P. **Food Gels**, London: Elsevier Applied Food Science Publisher, 1990. p. 233-289.

JONGJAREONRAK, A., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., PRODPRAN, T., TANAKA, M. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 492–501, 2006a.

- JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; T., TANAKA M. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. **European Food Research Technology**, Benjakul, v.222, n. 3-4, p. 229–235, 2006b.
- KAMPEERAPAPPUN, P.; AHTONG, D.; PENTRAKOON, D.; SRIKULKIT, K. Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.67, n.2. p. 155-163, 2007.
- KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; CHAMPION, D.; VOILLEY, A. Wetting properties at the surface of iota-carrageenan-based edible films. **Journal of Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 294, n. 2, p.400-410, 2006.
- KIM, J.T., LEE, D.Y., OH, T., LEE, D. Characteristics of Nitrile–Butadiene Rubber Layered Silicate Nanocomposites with Silane Coupling Agent. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 89, p. 2633–2640, 2003.
- KRISTO, E.; BILIADERIS, C.G. Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 68, n. 1, p. 146-158, 2007.
- KUMAR, P.; SANDEEP, K.P.; ALAVI, S.; TRUONG, V.D.; GORGA, R.E. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. **Journal of Food Engineering**, Wesport, v. 100, n. 3, p. 480-489, 2010.
- KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Cast films from soy protein isolates and fraction. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 74, n. 2, p. 115-118, 1997.
- LAGARÓN, J. M.; CABEDO, L.; CAVA, D.; FEIJOO, J.L.; GAVARA, R.; GIMENEZ, E. Improving packaged food quality and safety. Part 2: Nanocomposites. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 22, n. 10, p. 994–998, 2005.
- LAROTONDA, F.D.S. **Biodegradable films and coatings obtained from carrageenan from *Mastocarpus stellatus* and starch from *Quercus suber***. Tese de Doutorado em Engenharia Química – Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Porto, 2008.
- LU, Y.; WENG, L.; CAO, X. Morphological, thermal and mechanical properties of ramie crystallites-reinforced plasticized starch biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 63, n. 2, p. 198–204, 2006.
- LU, Y.; WENG, L.; ZHANG, L. Morphology and Properties of Soy Protein Isolate Thermoplastics Reinforced with Chitin Whiskers. **Biomacromolecules**, Washington, v. 5, n. 3, p. 1046-1051, 2004.
- LUECHA, J.; SOZER, N.; KOKINI, J.L. Synthesis and properties of corn zein/montmorillonite nanocomposite films. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 45, n.13, p. 3529-3537, 2010.

LUCKHAM, P.F.; ROSSI, S. The colloidal and rheological properties of bentonite suspensions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 82, n. 1-3, p. 43-92, 1999.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Milk-protein-based edible films and coatings-favorable barrier and mechanical properties of milk-protein films warrant exploration for controlling mass transfer in food systems. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.1, p. 97-103, 1994.

MALI, S.; SAKANAKA, L. S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E.; Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 60, p. 283-289, 2005.

MARIA, T. M. C.; CARVALHO, R.A.; SOBRAL, P.J.A.; HABITANTE, A.M.B.Q.; SOLORZA-FERIA, J. The effect of the degree of hydrolysis of the PVA and the plasticizer concentration on the color, opacity, and thermal and mechanical properties of films based on PVA and gelatin blends. **Journal of Food Engineering**, Wesport, v. 87, n. 2, p. 191-199, 2008.

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

MARTUCCI, J.F., RUSECKAITE, R. Three-layer sheets based on gelatin and poly(lactic acid), Part 1: Preparation and properties. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v.118, n.5, p.3102-3110, 2010.

MENEGALLI, F.C.; SOBRAL, P.J.A.; ROQUES, M.; LAURENT, S. Characteristics of gelatin biofilms in relation to drying process conditions near melting. **Drying Technology**, New York, v. 17, n. 7-8, p. 1697-1706, 1999.

MILTZ, J. Food packaging. In: HELDMAN, D.R., LUND, D.B. (Ed); **Handbook of Food Engineering**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. p. 667-718.

MOHAN, T.; KARGL, R., DOLISKA, A.; VESEL, A.; KOSTLER, S.; RIBITSCH, V.; STANA-KLEINSCHKE, K. Wettability and surface composition of partly and fully regenerated cellulose thin films from trimethylsilyl cellulose. **Journal of Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 358, n.2, p.604-610, 2011.

MORAES, I.C.F.; SILVA, G.G.D.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B.; BERGO, P.V.A.; SOBRAL, P.J.A. Influência do grau de hidrólise do poli(vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli (vinil álcool) plastificados com glicerol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p. 738-745, 2008.

MORAES, I.C.F.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B.; FERIA, J.S.; SOBRAL, P.J.A. Film forming solutions based on gelatin and poly(vinyl alcohol) blends: thermal and rheological characterizations. **Journal of Food Engineering**, Westport, v. 95, n. 4, p. 588-596, 2009.

MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B. YAMASHITA, F. Effect of nanoclay incorporation on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 33, n. 3, p. 605-610, 2011.

MUJICA-PAZ, H.; GONTARD, N. Oxygen and carbon dioxide permeability of wheat gluten film: effect of relative humidity and temperatura. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n.10, p. 4101-4105, 1997.

NISPEROS-CARRIEDO, M.O. Edible coatings and films based on polysaccharides. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Boca Raton: CRC Press LLC, 1994. Cap. 11, p. 305-336.

OYA, A.; KUROKAWA, Y.; YASUDA, H. Factors controlling mechanical properties of clay mineral/ polypropylene nanocomposites. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 35, n.5, p. 1045–1050, 2000.

PEREDA, M. ; PONCE, A. ; MARCOVICH, N. ; RUSECKATIE, R. ; MARTUCCI, J. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.25, n.5, p.1372-1381, 2011.

PERESSINI, D.; BRAVIN, B.; LAPASIN, R.; RIZZOTTI, C.; SENSIDONI, A. Starch-methylcellulose based edible films: rheological properties of film-forming dispersions. **Journal of Food Engineering**, Westport, v. 59, n. 1, p. 25-32, 2003.

POPPE, J. Gelatin. In: IMESON, A. **Thickening and Gelling Agents for Food**, New York, **Blackie Academic & Professional**, 1997. Cap. 7, p. 144-168.

RADOJEVIC, Z.; MITROVIC, A. Study of montmorillonite and cationic activators system rheological characteristic change mechanism. **Journal of the European Ceramic Society**, Oxford, v. 27, n. 2-3, p.1691-1695, 2007.

RAO, R. Gelatin clay nanocomposites of improved properties. **Polymer**, Leics, v.48, n.18, p. 5369-5375, 2007.

RAY,S.S.; BOUSMINA, M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21 st century materials world. **Progress in Materials Science**, London, v.50, n.8, p. 962-1079, 2005.

RAY, S.S., OKAMOTO, M. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 28, n.11, p. 1539-1641, 2003.

RIBEIRO, R.A.; VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A.; MORAES, I.C.F. Filme nanocompósito à base de gelatina: Permeabilidade ao vapor de água e isoterma de sorção. 2011. Anais do XIX Congresso de Iniciação Científica SIICUSP, Piracicaba, CD ROM, 2011.

RIZVI, S.S.H. Thermodynamic properties of foods in dehydration. In: RAO, M.A.; RIZVI, S.S.H. **Engineering properties of foods**. New York: Marcel Dekker Inc, 1986. p. 223-309.

RHIM, J.H.; PARK, J.W.; JUNG, S.T.; PARK, H.J. Formation and properties of corn zein coated k-carrageenan films. **Korean Journal of Food Science and Technology**, Seoul, v.29, p.1184-1190, 1997.

RHIM, J.W.; HONG, S.I.; PARK H.M.; NG, P.K.W. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 16, p.5814-5822, 2006.

RHIM, J.W. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 86, n. 2, p. 691-699, 2011.

ROSS, K.D. Estimation of water activity in intermediate moisture foods. **Food Technology**, Chicago, v.29, n.3, p. 26-34, 1975.

SABLANI, S.S.; KASAPIS, S.; AL-RAHBI, Y.;AL-MUGHEIRY, M. Water sorption isotherms and glass transition properties of gelatin. **Drying Technology**, New York, v. 20, n. 10, p. 2081-2092, 2002.

SÁNCHEZ, A.C.; POPINEAU, Y.; MANGAVEL, C.; LARRÉ, C.; GUÉGUEN. Effect of different plasticizers on the mechanical and surface properties of wheat gliadin films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. p. 4539 – 4544, 1998.

SILVA; A. R. V.; FERREIRA; H. C. Argilas bentoníticas: conceitos, estruturas, propriedades, usos industriais, reservas, produção e produtores/fornecedores nacionais e internacionais; **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v.3, n.2, p 26-35, 2008.

SILVA, G.G.D.; SOBRAL, P.J.A., CARVALHO, R.A., BERGO, P.V.A., MENDIETA-TABOADA, O., HABITANTE, A.M.Q.B. Biodegradable films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol): Effect of PVA type or concentration on some physical properties of films. **Journal of Polymers and the Environment**, New York, v. 16, n.4, p. 276-285, 2008.

SLADE, L., LEVINE, H. Polymer-chemical properties of gelatin in foods. In: Pearson A.M. Dutson T.R., Bailey A.J. (Eds): *Advances in meat research*, V.4, Collagen as a food. AVI Pub., New York, 1987, p. 251-266.

SOBRAL, P.J.A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência e Engenharia**, Uberlândia, v. 8, n. 1, p. 60-67, 1999.

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

SOBRAL, P.J.A.; GARCIA, F.T.; HABITANTE, A.M.Q.B.; MONTEREY-QUINTERO, E.S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e proteínas do músculo de tilapia do nilo. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 3, p. 255-262, 2004.

SOBRAL, P.J.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Phase transitions of pigskin gelatine. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 15, n. 4-6, p. 377-382, 2001.

SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. HUBINGER, M.D.; ROQUES, M.A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.15, n.4-6, p.423-432, 2001.

SOBRAL, P.J.A.; CARVALHO, R.A.; TRINDADE, C.S.F. Physical Properties of Edible Gelatin Films Colored with Chlorophyllide. In: Aguilera, J.M.; Simpson, R.; Welti-Chanes, J.; Bermudez Aguirre, D.; Barbosa-Canovas, G. (Org.). *Food Engineering Interfaces*. 1st ed. Nova York: Springer, 2011, v.1 , p. 661-678.

SOTHORNVIT, R.; RHIM, J.W. HONG,S.I. Effect of nanoclay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 91, n.3, p.468-473, 2009.

SOTHORNVIT, R.; HONG,S.I.; AN, D.J.; RHIM, J.W. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 2, p. 279-284, 2010.

STOJANOFF, C.J. The effects of the film manufacturing techniques of the exposure procedures and of the development and post-treatment thermochemical process on the holographic properties of HOEs in DCG. *Holography*, 2005: International Conference on Holography, optical Recording and Processing of information, Varna, Bulgaria, Proceedings, p.1-10, 2006.

SOUZA, M.A.; PESSAN, L.A. Nanocompósitos de Poli(cloreto de vinilo) (PVC)/Argilas Organofílicas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 16; n. 4; p. 257-262, 2006.

TABOADA, O.W.M., SOBRAL, P.J.A., CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Thermomechanical properties of biodegradable filmes based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol). **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1485-1492, 2008.

TALIANI, C.C.; SOBRAL, P.J.A.; CARVALHO, R.A.; BITTANTE, A.M.B.Q.; MORAES, I.C.F. Caracterização reológica de soluções filmogênicas de gelatina com plastificante hidrofóbico e propriedades funcionais dos filmes. In: VIII CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS, TEMA 2, PA-055., 2011, Lima. **Resúmenes de Propiedades de los Alimentos**, Lima: CIBIA8, 2011.

TANG, C.H.; JIANG, Y.; WEN Q.B.; YANG, X.Q. Effects of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 120, n. 3, p. 296-307, 2005.

TANIOKA, A.; TAZAWA, T.; MIYASAYA, K.; ISHIKAWA, K. Effects of water on the mechanical properties of gelatina films. **Biopolymers**, New York, v.13, n. 4, p. 753-764, 1974.

TEIXEIRA, A.M. **Nanocompósitos de argila montmorilonita, amido, gelatina, isolado protéico de soja e quitosana**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R.A.; SOBRAL, P.J.A. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 3, p 172-176, 2005.

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. 1994. p. 467-507.

TUNC, S.; ANGELLIER, H.; CAHYANA, Y.; CHALIER, P.; GONTARD, N.; GASTALDI, E. Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v. 289, n. 1-2, p. 159-168, 2007.

TUNÇ, S.; DUMAN, O. Preparation of active antimicrobial methyl cellulose/carvacrol/montmorillonite nanocomposite films and investigation of carvacrol release. **LWT- Food Science and Technology**, London, v. 44, n. 2, p. 465-472, 2011.

VANIN, F.M.; HIRANO, M.H.; GONÇALVES, E.; CARVALHO, R.A.; MORAES, I.C.F.; SOBRAL, P.J.A. Response surface methodology in the development of actives and biodegradable nanocomposite films reinforced with montmorillonite. In: 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF 11), 2011, Atenas. Proceedings of ICEF 11, 2011.

VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.M.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 899-907, 2005.

VICENTINI, N.M.; DUPUY, N.; LEITZELMAN, M.; CEREDA, M.P.; SOBRAL, P.J.A. Prediction of Cassava Starch Edible Film Properties by Chemometric Analysis of Infrared Spectra. **Spectroscopy Letters**, New York, v. 38, n. 6, p. 749-767, 2005.

VILLALOBOS, R.; CHANONA, J.; HERNÁNDEZ, P.; GUTIÉRREZ, G.; CHIRALT, A. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 53-61, 2005.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; McCLEMENTS, J.D. Functional Materials in Food Nanotechnology. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 7, n. 9, p. R107- R116, 2006.

YAKIMETS, I.; WELLNER.; SMITH, A.C.; WILSON, R.H.; FARHAT, I.; MITCHELL, J. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, Leics, v. 46, n. 26, p. 12577-12585, 2005.

YAKIMETS, I.; PAES, S.S.; WELLNER, N.; SMITH, A.C.; WILSON, R.H.; MITCHELL, J.R. Effect of water content on the structural reorganization and elastic properties of biopolymer films: a comparative study. **Biomacromolecules**, Washington v.8, n.5, 1710-1722.2007.

YIN, Y.; LI, J.; LIU, Y.; LI, Z. Starch crosslinked with poly(vinylalcohol) by boric acid. **Jornal of Applied Polymer Science**, New York, v.96, n.4; p.1394-1397, 2005.

ZHENG, J.P.; LI, P.; MA, Y.L., YAO, K.D. Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposite. I. preparation and properties. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v.86, n. 5, p. 1189-1194, 2002.

ZIEGLER, G.R., FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. **Advances in Food and Nutrition Research**, San Diego, v. 34, p. 203-298, 1990.