UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS À BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA PARA USO EM PÓS-COLHEITA

NÍVEA MARIA VICENTINI

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Horticultura

BOTUCATU - SP
Fevereiro - 2003

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS À BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA PARA USO EM PÓS-COLHEITA

NÍVEA MARIA VICENTINI

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Marney Pascoli Cereda
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Horticultura

BOTUCATU-SP
Fevereiro – 2003

Deus me dê a serenidade
para aceitar as coisas que
não posso modificar,
a coragem para modificar
as que posso,
e a sabedoria para
distinguir a diferença

- Oração da Serenidade -

*Aos meus pais **Nelson** e **Maria Hermínia**, pelo amor incondicional, pelo apoio constante e pelo exemplo de honestidade e caráter que conduziram à minha formação pessoal e intelectual.*

À Noeli, Nelsinho, Célia, Antonio Carlos e Aliane, pela torcida em todos os momentos.

*E ao meu sobrinho **João**, que acaba de chegar....*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Em ***especial à Deus***, pelo dom da vida, da coragem e da vontade de aprender e querer ensinar ...

Aos meus orientadores ***Prof.ª Dr.ª Marney Pascoli Cereda*** e ***Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral*** pela orientação valiosa, compartilhando seus conhecimentos, pela amizade, confiança e incentivos constantes durante todo o desenvolvimento deste trabalho e por serem exemplos de profissionais dedicados.

À ***Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)*** pela concessão da Bolsa de Doutorado (Proc. 98/16179-8).

À ***Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu***, na pessoa do seu Diretor Prof. Dr. Carlos Antonio Gamero pela realização deste curso e em especial à todos os professores do curso de pós-graduação em Agronomia pelos ensinamentos e amizade.

Ao ***Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Horticultura*** da Faculdade de Ciências Agronômicas, Prof. Dr. Lin Chau Ming

Aos amigos do ***Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT)*** em especial à Yara Pinto Chaves e Alessandra Batista, e aos amigos do ***Departamento de Horticultura*** pelos bons momentos de convivência.

Aos ***Funcionários da seção de pós-graduação e da biblioteca da FCA*** pela dedicação às suas funções.

`A ***Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - Campus de Pirassunuga***, na pessoa do Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral, pela utilização do Laboratório de Tecnologia de Alimentos para a realização deste trabalho.

À ***Ana Mônica Quinta Barbosa Habitante,*** do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (FZEA-USP), pelos ensinamentos, pela ajuda nas análises, e sobretudo pela amizade ao longo de todo o período do doutorado.

Ao estagiário ***Rodolfo Maldonado Campoy dos Santos*** (FZEA-USP), pela realização das análises dos filmes plastificados com polióis, e pela amizade e oportunidade de começar a ensinar....

À ***Equipe do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (FZEA-USP)***, em especial à Edneli, pelo carinho, Rosemary, Thaís, Verônica, Farah, Fernanda, Gisele e Eduardo pela amizade, descontração, apoio e estímulo.

Aos ***Funcionários do Departamento de Zootecnia (ZAZ) da FZEA-USP***, pela atenção e dedicação.

À ***Prof.a. Dr.a Silene Bruder Silveira Sarmento***, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq), USP, pela realização das análises de viscosidade.

Ao ***Prof. Dr. Stéphane Guilbert*** da Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, França, pelo fornecimento das amostras de glúten.

Ao ***Dr. D. Bougeard***, diretor do Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR)/Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Lille, França, por ter permitido o desenvolvimento das análises espectroscópicas naquela instituição.

À ***Dra. Nathalie Dupuy***, do LASIR/CNRS - Université des Sciences et Technologie de Lille (USTIL), pela paciência, confiança, amizade, e pela grande contribuição na forma de orientação para realização das análises através de espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e quimiometria.

Às minhas grandes amigas e companheiras de "moradia" ***Ana Cristina do Amaral Camossa***, ***Angélica Simone Cravo Pereira e Márcia Coalho***, que me apoiaram em momentos difíceis no decorrer do doutorado, obrigada pela paciência, compreensão e pelos momentos alegres...

Aos ***colegas*** do curso de pós-graduação da UNESP, em especial a Celina, Érica, Luiz Fernando, Susy, Lizieli, Madalena, Erval e Paulo César Costa, pela amizade.

Aos ***grandes amigos de Botucatu*** Daniela, Mosca, Tarcísio e Keila pelo constante apoio, carinho e amizade sem medidas e aos ***novos amigos de Pirassununga*** Cecília, Fabiana, Mônica, Ione, Márcia Saladine, Adriana, Juliana, "Minhoca", Saulo, "Sancho", Paula, Luciane, Érica, Rosane, Laura, Roberta e aos demais amigos da pós-graduação da FZEA que tornaram esta jornada mais agradável.

À todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho,

Muito obrigada!!!!

SUMÁRIO **Página**

RESUMO 01
SUMMARY 04
1 INTRODUÇÃO 07
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 08
2.1 Matéria-prima 09
2.1.1 Amido 09
2.1.2 Glúten 13
2.2 Biofilmes: Propriedades Funcionais 15
2.2.1 Propriedades organolépticas..... 16
2.2.2 Solubilidade em água..... 16
2.2.3 Propriedades mecânicas..... 17
2.2.4 Propriedades de barreira..... 26
2.2.5 Propriedades óticas..... 33
2.3 Aplicações dos Biofilmes de Fécula de Mandioca em Pós-colheita 34
3 MATERIAL E MÉTODOS.....37
3.1 Matéria-prima 37
3.2 Reagentes..... 37
3.3 Caracterização da Matéria-prima 37
3.3.1 Umidade 38
3.3.2 Cinzas 38
3.3.3 Matéria graxa..... 38
3.3.4 Proteína 38
3.3.5 Fibras 39
3.3.6 Amido 39
3.3.7 Teor de amilose..... 39
3.3.8 Densidade 39
3.3.9 Difração de raios X..... 40
3.3.10 Viscosidade aparente 40
3.3.11 Isotermas de sorção de água 40
3.3.12 Análise térmica 42
3.3.13 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR)...43
3.4 Elaboração dos Biofilmes..... 43

3.4.1 Filmes de fécula de mandioca 44
3.4.2 Filmes de fécula de mandioca e glúten 44
3.4.3 Filmes de fécula de mandioca plastificados com polióis 45
3.5 Secagem e Condicionamento 45
3.6 Caracterização dos Biofilmes 46
3.6.1 Análises microscópicas 47
3.6.1.1 Microscopia ótica 47
3.6.1.2 Microscopia eletrônica de varredura 47
3.6.2 Difração de raios X 47
3.6.3 Isotermas de sorção de água 47
3.6.4 Análise térmica 48
3.6.4.1 Filmes de fécula de mandioca 48
3.6.4.2 Filmes de fécula de mandioca plastificados com polióis 48
3.6.5 Espessura 48
3.6.6 Solubilidade em água 49
3.6.7 Avaliação das propriedades mecânicas 49
3.6.7.1 Teste de perfuração 49
3.6.7.2 Teste de tração 50
3.6.7.3 Teste de relaxamento de tensão 51
3.6.7.4 Análise mecânica dinâmica 53
3.6.8 Avaliação das propriedades de barreira 53
3.6.8.1 Permeabilidade ao vapor de água 53
3.6.8.2 Permeabilidade ao oxigênio 55
3.6.9 Propriedades óticas 56
3.6.9.1 Cor 56
3.6.9.2 Opacidade 57
3.6.10 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e análise quimiométrica 57
3.6.10.1 Tratamento dos dados 57
3.6.10.2 Análise por componentes principais (ACP) 58
3.6.10.3 Regressão por quadrados mínimos parciais (Partial Least Square - PLS) 58
3.6.10.4 Otimização do modelo 60
3.7 Análise Estatística 60

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO....62
4.1 Caracterização da Fécula de Mandioca....62
4.1.1 Propriedades físico-químicas....62
4.1.2 Difração por raios X....64
4.1.3 Viscosidade aparente....65
4.1.4 Isotermas de sorção de água....66
4.1.5 Análise térmica....68
4.2 Caracterização dos Filmes de Fécula de Mandioca....75
4.2.1 Caracterização microscópica....76
4.2.1.1 Microscopia ótica....76
4.2.1.2 Microscopia eletrônica de varredura....77
4.2.2 Difração de raios X....77
4.2.3 Isotermas de sorção de água....79
4.2.4 Análise térmica....80
4.2.5 Espessura....84
4.2.6 Umidade....86
4.2.7 Solubilidade em água....87
4.2.8 Propriedades mecânicas....89
4.2.8.1 Teste de perfuração....89
4.2.8.2 Teste de tração....93
4.2.9 Propriedades viscoelásticas....96
4.2.9.1 Teste de relaxamento de tensão (Teste estático)....96
4.2.9.2 Análise mecânica dinâmica (Teste de dinâmico)....101
4.2.10 Permeabilidade ao vapor de água....105
4.2.11 Propriedades óticas....108
4.2.11.1 Cor....108
4.2.11.2 Opacidade....111
4.2.12 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e análise quimiométrica....113
4.2.12.1. Aquisição dos dados....113
4.2.12.2. Análise de componentes principais....115
4.2.12.3 Predição das propriedades funcionais....117
4.2.13 Aplicação pós-colheita....124

4.3 Caracterização dos Filmes de Fécula de Mandioca e Glúten.....126
4.3.1 Caracterização microscópica.....126
4.3.2 Espessura.....129
4.3.3 Umidade.....129
4.3.4 Propriedades mecânicas.....131
4.3.4.1 Teste de perfuração.....131
4.3.4.2 Teste de tração.....134
4.3.5 Permeabilidade ao vapor de água.....138
4.3.6 Propriedades óticas.....141
4.3.6.1 Cor.....141
4.3.6.1 Opacidade.....143
4.3.7 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e análise quimiométrica.....144
4.3.7.1. Aquisição dos dados.....145
4.3.7.2. Análise de componentes principais.....146
4.3.7.3 Predição das propriedades funcionais.....148
4.3.8 Aplicação pós-colheita.....154
4.4 Caracterização dos Filmes de Fécula de Mandioca Plastificados com Polióis.....154
4.4.1 Espessura.....155
4.4.2 Umidade.....155
4.4.3 Análise térmica.....157
4.4.4 Propriedades Mecânicas.....163
4.4.4.1 Teste perfuração.....163
4.4.4.2 Teste tração.....168
4.4.5 Permeabilidade ao oxigênio.....175
4.4.6 Propriedades óticas.....177
4.4.6.1 Cor.....177
4.4.6.2 Opacidade.....179
4.5 Considerações Gerais.....181
5 CONCLUSÕES.....183
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....184

LISTA DE QUADROS

Quadro Página

01 Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis e sintéticos obtidos em teste de perfuração.. 19

02 Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis e sintéticos obtidos em teste de tração 22

03 Comparação da permeabilidade ao vapor de água de filmes biodegradáveis e sintéticos 31

04 Comparação da permeabilidade ao oxigênio e gás carbônico de filmes biodegradáveis e sintéticos 32

05 Atividade de água das soluções salinas saturadas a 25 ºC 41

06 Análises realizadas para os diferentes biofilmes 46

07 Composição físico-química da fécula de mandioca "Flor de Lótus" 63

08 Viscosidade máxima, temperatura de empastamento e viscosidade final a 50ºC, obtidos a partir do viscoamilograma das amostras da fécula de mandioca 66

09 Valores das constantes da equação de GAB para vários biopolímeros..... 68

10 Temperaturas características das endotermas obtidas por DSC da fécula de mandioca em diferentes estados isotérmicos* 70

11 Temperaturas características das endotermas obtidas por DSC de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água* 74

12 Valores das constantes da equação de GAB para filmes de fécula de mandioca e vários filmes á base de hidrocoloides 80

13 Temperaturas características das endotermas obtidas por DSC de filmes de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água* 82

14 Parâmetros da equação da reta (Y=A+BX), obtidos por regressão linear, das propriedades funcionais (Y) de biofilmes de fécula de mandioca em função da espessura (X) 86

15 Parâmetros do modelo da potência ($Y = AX^B$) obtidos por regressão não linear das propriedades funcionais (Y) de biofilmes de fécula de mandioca em função da espessura (X).. 101

16 Valores das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca usadas na preparação das curvas de calibração multivariada 118

17 Otimização do modelo de calibração das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca 120

18 Predição das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca por espectroscopia na região do infravermelho associada à regressão PLS 121

19 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear

($Y=Ae^{X/B}$, $Y=Ae^{BX}$ e $Y=A+BX+CX^2$), das propriedades funcionais (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten (X)..... 131
20 Valores das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten usadas na preparação das curvas de calibração multivariada 149
21 Otimização do modelo de calibração das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 150
22 Predição das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten por espectroscopia na região do infravermelho associada à regressão PLS 150
23 Espessura média dos filmes de fécula de mandioca elaborados com diferentes plastificantes.... 155
24 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), do teor de umidade (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X) 157
25 Temperaturas de transição vítrea (Tg) e temperatura de início de fusão (To) obtidas por DSC de filmes de fécula de mandioca com diferentes tipos e teores de plastificantes* 163
26 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=A+BX+CX^2$), da força na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (X) 166
27 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=A+BX+CX^2$), da deformação na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X) 167
28 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), da tensão na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X) 170
29 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=A+BX+CX^2$), da deformação na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (X) 172
30 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), do módulo (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X) 174
31 Parâmetros da equação da reta (Y=A+BX), obtidos por regressão linear, das propriedades de barreira (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (X) 176
32 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), da diferença de cor (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X) 178
33 Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), da opacidade (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X) 180

LISTA DE FIGURAS

Figura Página

01 Molécula de glicose 09

02 Influência do tratamento hidrotérmico com excesso de água sobre o estado do amido (Fonte: Bornet, 1992) 11

03 (a) Possíveis sítios de associação (linhas pontilhadas) entre as moléculas de amilose (AM) e amilopectina (AP) do amido de batata. (b) Possível mecanismo de retrogradação do amido de batata. Linhas pontilhadas representam as pontes de hidrogênio. A e B são as ramificações laterais da amilopectina (Fonte: Tako & Hizukuri, 2002) 13

04 Esquema geral da formação de filmes de glúten (Fonte: Gontard, 1991) 15

05 (a) Diagrama do uso da Equação 1. (b) Curva de força vs distância obtida em teste de perfuração 18

06 Curva característica da relação resistência a tração versus deformação (Fonte: Miltz, 1992) 20

07 Classificação de materiais em função da resistência à tração e deformação (Fonte: Miltz, 1992). 21

08 Elementos do modelo de Maxwell e Kelvin 23

09 Modelo de Burgers com 4 elementos 24

10 Relação entre tensão e deformação para materiais (a) elástico, (b) viscoso e (c) viscoelástico, submetidos a teste oscilatório 25

11 Esquema da permeação de gases e vapores através de materiais poliméricos (Fonte: Garcia *et al.*, 1989) 27

12 Representação tridimensional do sistema de cores (Fonte: HunterLab, 1997) 33

13 Curva de tensão vs deformação obtidas em teste de tração 50

14 Curva tensão vs tempo obtidas em teste de relaxamento 51

15 Esquema do dispositivo utilizado para cálculo da permeabilidade do vapor de água 54

16 Esquema do sólido de cores proposto pela HunterLab 56

17 Difratograma de raios X de grânulos de fécula de mandioca 64

18 Viscoamilograma (RVA) de fécula de mandioca em água destilada em diferentes concentrações (? 1% ? 2% ? 3% ? 4% ? temperatura) 65

19 Isotermas de absorção de fécula de mandioca a 25ºC 67

20 Termograma das análises entalpicas diferencial da fécula de mandioca mantidas em diferentes estados isotérmicos 69

21 Cristalinidade residual da fécula de mandioca em diferentes estados isotérmicos 71

22 Termogramas de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água. Os valores indicados ao lado de cada curva correspondem à umidade das amostras (g/100g m.s.) 71
23 Detalhe do termograma de fécula de mandioca com 12,75% de umidade 72
24 Entalpia associada à fusão dos cristais (ΔH) de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água 75
25 Micrografias de filme de fécula de mandioca a 2% com 0,082mm de espessura, sob microscopia ótica (aumento de 500 x). As setas indicam os "fantamas "dos grânulos de amido .. 76
26 Micrografias de filmes de fécula de mandioca a 2% (p/v) com espessura de 0,045 mm sob microscopia eletrônica de varredura (SEM). a) superfície, b) seção transversal 77
27 Difratogramas de raios X de filmes de fécula de mandioca em duas concentrações de amido na solução filmogênica: (a) 2% (p/v) e 0,019mm, (b) 4% (p/v) e 0,134mm 78
28 Isotermas de absorção de filmes de fécula de mandioca a 25ºC 79
29 Termogramas de filmes de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água. Os valores indicados ao lado de cada curva correspondem à umidade das amostras (g/100g m.s.) 81
30 Comparação entre os valores experimentais (■) e os calculados com o modelo de Gordon e Taylor (—), da temperatura de transição vítrea de filmes de fécula de mandioca em função da umidade do material 83
31 Espessura média de biofilmes de fécula de mandioca, em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%), em função da gramatura da solução filmogênica 84
32 Variação do desvio padrão da média em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 85
33 Teor de umidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 87
34 Solubilidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 88
35 Curvas de força vs deformação de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045 mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (? 1% ? 2% ? 3% ? 4%) 89
36 Força na ruptura em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 90
37 Força na ruptura normalizada (F/x) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 91
38 Deformação na ruptura em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 92

39 Curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica 93
40 Tensão e deformação na ruptura em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 94
41 Módulo de elasticidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 96
42 Curvas de tensão *vs* tempo obtida em teste de relaxamento de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (? ? 1% ? ? 2% ? ? 3% ? ? 4%) 97
43 Coeficiente de relaxamento em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 98
44 Coeficiente de viscosidade (η_1) e módulo de elasticidade (Y_1) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) representado pelo modelo do Burgers 99
45 Coeficiente de viscosidade (η_2) e módulo de elasticidade (Y_2) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) representada pelo modelo do Burgers 100
46 Varredura de freqüência de filme de fécula de mandioca elaborados com 2% de amido e 0,028mm de espessura 102
47 Módulos de armazenamento (a) e de perda (b) a 1Hz, em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 103
48 Tangente do ângulo de fase (tan d) a 1Hz, em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 104
49 Exemplos de curvas de ganho de peso das células de permeabilidade em função do tempo para as espessuras de 0,026mm (◆), 0,045mm ( ), 0,085mm ( ) e 0,114mm ( ) 105
50 Taxa de permeabilidade ao vapor de água (Tva) a 25ºC, em função da espessura de filmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 106
51 Permeabilidade ao vapor de água (Pva) a 25ºC, em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 107
52 Espectro característico da diferença de cor de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045 mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (? ? 1% --- 2% ? 3% ? 4%) 108
53 Diferença de cor (?E) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em

diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 109
54 Cromas *a* e *b* em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 110
55 Luminosidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 111
56 Opacidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) 112
57 Exemplos de espectro infravermelho de fécula de mandioca e de filme de fécula de mandioca na região espectral de [1800 – 700] cm^{-1} 114
58 Gráfico de *scores* (CP1 *vs* CP3) de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (1%, 2%, 3% e 4%) em função da espessura) 116
59 Primeiro (a) e terceiro (b) *loadings* das variáveis utilizadas 117
60 Coeficientes de regressão das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca: força na ruptura (a), deformação na ruptura (b), cor (c), opacidade (d), permeabilidade ao vapor de água (e) 123
61 Micrografias de filmes de glúten sob microscopia eletrônica de varredura (SEM). a) seção transversal, b) superfície 127
62 Micrografias da seção transversal de filmes de fécula de mandioca com 40% (a, b) e 60% (c, d) de glúten, em dois aumentos, sob microscopia eletrônica de varredura (SEM) 128
63 Teor de umidade de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten (a) e glicerina (b) 130
64 Aspecto do rompimento dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 132
65 Curvas de força *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 132
66 Força na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 133
67 Deformação na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten . 134
68 Curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 135
69 Tensão na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 136
70 Deformação na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten . 137
71 Módulo de elasticidade em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 138
72 Exemplos de curvas de ganho de peso das células de permeabilidade em função do tempo em

função da concentração de glúten (◆ 0%, 60%, 80% e 100%) 139
73 Permeabilidade ao vapor de água a 25ºC em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 140
74 Diferença de cor (?E*) em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 141
75 Croma *a** e *b** em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 142
76 Luminosidade em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 143
77 Opacidade em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten 144
78 Espectro infravermelho de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten na região espectral de 1800–700 cm^{-1} 145
79 Detalhe do espectro infravermelho de filmes de glúten (0% amido) na região espectral de 1300–700 cm^{-1} 146
80 Dois primeiros componentes principais: *scores* (a, c) e *loadings* (b, d) 148
81 Coeficientes de regressão das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca: força na ruptura (a), tensão na ruptura (b) e módulo de elasticidade (c) 153
82 Umidade de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 156
83 Termogramas de filmes de fécula de mandioca elaborados com 10, 15, 20 e 25% de sorbitol 158
84 Comparação entre os valores observados e os experimentais da temperatura de transição vítrea de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (a) e sorbitol (b): (○); — valores calculados pela Equação 32 em umidades constantes 162
85 Curvas de força vs deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (10, 15, 20 e 25%) 164
86 Força na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 165
87 Deformação na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 167
88 Curvas de tensão vs deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificante (10, 15, 20 e 25%) 169
89 Tensão na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 170

90 Deformação na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 172

91 Módulo de elasticidade de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 173

92 Taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2) e permeabilidade ao oxigênio (PO_2) a 23ºC de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (◄— indica 0% de plastificante) 176

93 Espectro característico da diferença de cor de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (? ? 10% --- 15% ? 20% ? 25%) 177

94 Diferença de cor (?E*) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 178

95 Opacidade de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante) 180

RESUMO

A busca por embalagens que protejam os alimentos, da forma mais natural possível e sem prejuízo ao meio ambiente, ocorre em escala mundial. Uma das alternativas propostas é a substituição dos derivados de petróleo por novas matérias-primas, como o amido e a proteína, na forma dos denominados filmes e recobrimentos comestíveis. Os objetivos deste trabalho foram a caracterização da fécula de mandioca, a elaboração e a caracterização de filmes à base de fécula de mandioca, em função da espessura ou da concentração de glúten de trigo ou da concentração de plastificantes. No primeiro experimento, foram elaborados filmes de fécula de mandioca a partir de soluções filmogênicas (SF) de 1, 2, 3 e 4% (p/v) de amido, com espessuras variando de 0,017 a 0,156mm. No segundo experimento, os filmes de fécula foram elaborados com concentrações variáveis de glúten de trigo (0 - 100%). No terceiro experimento, os filmes de fécula de mandioca foram elaborados com diferentes plastificantes (glicerina, sorbitol, dietilenoglicol e propilenoglicol) com concentrações variando de 10 a 25%. Em todos os experimentos os filmes foram desidratados a 30ºC, em umidade relativa (UR) ambiente (55-65%), por 18-20 h. Antes das caracterizações, os filmes de fécula e fécula/glúten foram condicionados em ambiente a 22ºC e 75% UR, e os filmes com plastificantes em 58% UR, por 6 dias, quando foi medida a espessura. Os filmes foram analisados quanto a sua solubilidade em água, propriedades mecânicas, de barreira e óticas. Realizaram-se ainda, análises calorimétricas de varredura, análises por microscopia eletrônica de varredura, difração de raios X, FTIR e determinaram-se suas isotermas de sorção. De maneira geral, os filmes de fécula de mandioca sem aditivos

mostraram-se resistentes e elásticos, porém pouco flexíveis, transparentes e altamente permeáveis ao vapor de água, além de apresentar estrutura homogênea e compacta e baixa higroscopicidade. A espessura dos filmes de amido influenciou fortemente as propriedades mecânicas, principalmente nos testes de perfuração e relaxamento de tensão, as propriedades óticas e a permeabilidade ao vapor de água. A incorporação de glúten aos filmes de fécula de mandioca melhorou as propriedades mecânicas e de barreira, apenas em altas concentrações (> 60%) e piorou as propriedades óticas. O teor e o tipo de plastificante influenciaram as propriedades dos filmes à base de fécula de mandioca. Quando empregados nos maiores teores, a glicerina, o sorbitol e o dietilenoglicol levaram à produção de filmes menos resistentes, porém mais flexíveis. O propilenoglicol apresentou um efeito antiplastificante. A diferença de cor e a opacidade aumentaram com o conteúdo de plastificante, exceto para os filmes plastificados com sorbitol. A glicerina apresentou efeito plastificante mais importante nos filmes de fécula de mandioca. A análise dos espectros do infravermelho através da regressão PLS, mostrou que as propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca, em função da espessura, foram altamente correlacionadas com a banda de absorbância a 996 cm^{-1}, a qual está relacionada com as ligações de hidrogênio intermolecular entre as cadeias de amido e as propriedades mecânicas dos filmes de fécula/glúten e correlacionadas com o conteúdo de glicerina e também com a interação amido/glúten.

Palavras-chave: biofilmes, amido, glúten, plastificante, embalagem.

ELABORATION AND CHARACTERIZATION OF CASSAVA STARCH EDIBLE FILMS FOR USE IN POSTHARVEST. Botucatu, 2002. 198p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: NÍVEA MARIA VICENTINI

Adviser: MARNEY PASCOLI CEREDA

PAULO JOSÉ DO AMARAL SOBRAL

SUMMARY

There is a global concern in searching packaging materials which could both protect appropriately food products and has little impact upon the environment. Among the alternatives one can point out the substitution of petroleum derivatives with innovative raw materials, such as starch and protein, used for films and coatings production. The objective of this work was the elaboration and characterization of edible films based on cassava starch, in function of the thickness or the gluten or the plasticizer concentration. For the first experiment, the films were done using film forming solutions (FFS) containing 1, 2, 3, and 4% (w/v) of cassava starch with thickness varying from 0.017 to 0.156 mm. In a second experiment, the cassava starch films were made with variable concentrations of wheat gluten (0 - 100%). In a third experiment, the cassava starch films were prepared with glycerol, sorbitol, diethylene glycol and propylene glycol with concentrations ranging from 10 to 25%. For all the experiments the films were heated to 70ºC and dehydrated at 30ºC, at relative room

humidity (55-65%) for 18 to 20 h. Before characterization the starch and starch/gluten films were conditioned at 22ºC and 75% relative humidity (RH), and the films with plasticizers were conditioned at 58% RH, for 6 days, afterwards the thickness was measured. The functional properties studied were: solubility in water, mechanical, barrier and optical properties. There were also realized scanning calorimetric essays, scanning electronic microscopy, X-ray diffraction, FTIR and water sorption isotherms. In general, the cassava starch films without additives were resistant and elastic, but fairly flexible, transparent and with high water vapor permeability, showing an homogeneous and compact structure and low higroscopicity. The film thickness strongly affected the mechanical properties, mainly for the perforation and relaxation test, as well as the optical properties and the water vapor permeability. The addition of wheat gluten to the cassava starch films improved the mechanical and barrier properties only at high concentrations (>60%) and negatively affected the optical properties. The concentration and type of plasticizer affected the films properties. When using the highest concentrations, glycerol, sorbitol and diethylene glycol lead to film less resistant but more flexible. Propylene glycol presented antiplasticization effect. The difference in color and opacity increased with the plasticizer content, except for the films with sorbitol. Glycerol presented more important plasticizer effect for the cassava starch films. The infrared analysis through PLS regression showed that the functional properties of the cassava starch films were highly correlated to the absorbance band of 996 cm^{-1}, which stands for the intermolecular hydrogen bonds between the starch chains and that the mechanical properties of the starch/gluten films are also correlated with the glycerol content and with the starch/gluten interaction.

Keywords: biofilms, starch, gluten, plasticizer, packaging

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos, de maneira geral, e principalmente as frutas e hortaliças *in natura*, são altamente perecíveis e vários são os problemas relacionados à sua conservação. Algumas técnicas são utilizadas com o intuito de aumentar a vida de prateleira das frutas e hortaliças, entre elas pode-se citar o aumento da umidade relativa do ar, diminuição da temperatura e o uso de embalagens.

Nesse caso, a embalagem deve proteger o produto contra a perda de massa excessiva através da transpiração, assim como reduzir as trocas gasosas com o meio, diminuindo o seu metabolismo e aumentando a vida pós-colheita; além de evitar danos físicos e mecânicos durante a movimentação, transporte e distribuição.

Entre os principais tipos de embalagens para frutas e hortaliças estão os filmes plásticos, os quais apresentam excelentes propriedades mecânicas e de barreira a gases e vapor de água. Entretanto, nem sempre são facilmente reutilizáveis ou recicláveis permanecendo na natureza em quantidades cada vez maiores.

Inúmeros estudos têm sido realizados no sentido de proporcionar embalagens alternativas como as coberturas (*coatings*) e filmes comestíveis à base de biopolímeros (Guilbert & Biquet, 1989; Krochta *et al.*, 1994; Guilbert & Gontard, 1995; Krochta & Mulder-Johnston, 1997; Debeaufort *et al.*, 1998).

Os recobrimentos e filmes comestíveis são elaborados à base de macromoléculas biológicas (biopolímeros) capazes de formar uma matriz contínua, homogênea e coesa (Guilbert,1986; Kester & Fennema, 1986). De acordo com Cuq *et al.*

(1995a), as coberturas são formadas diretamente sobre os alimentos diferentemente dos filmes, que são pré-formados separadamente do alimento.

Os biopolímeros mais utilizados na elaboração de filmes e recobrimentos comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína, proteínas miofibrilares) e os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato, carragenana). Os polímeros podem ser utilizados isoladamente ou em misturas, produzindo os filmes compostos (Kester & Fennema, 1986; Donhowe & Fennema, 1994; Cuq *et al.*, 1995a).

Na tentativa de promover a conservação pós-colheita de frutas e hortaliças através da utilização de embalagens biodegradáveis, recobrimentos à base de amido foram avaliados em frutos de mamão, e a fécula de mandioca foi selecionada como matéria-prima mais adequada em função da sua transparência (Cereda *et al.*, 1992), iniciando-se assim uma nova linha de pesquisa. As películas à base de fécula de mandioca foram, desde então, testadas como coberturas em diversas frutas, hortaliças, flores e raízes (Cereda *et al.*, 1995; Silva *et al.*, 1996; Vieites *et al.*, 1996; Oliveira, 1996; Henrique, 1999; Vicentini., 1999; Ferraz, 2000; Dib, 2000).

Os resultados obtidos mostraram que o comportamento das coberturas de fécula de mandioca foram variáveis dependendo do material ensaiado. As películas não se mostraram eficientes como barreira ao vapor de água (Vicentini & Cereda, 1999; Vicentini *et al.*, 1999a e 1999b). Quanto a sua permeabilidade a gases, existem poucas referências na literatura e os resultados encontrados foram contraditórios. Para Oliveira & Cereda (1999) as películas apresentam baixa permeabilidade ao CO_2 para frutos de goiaba, já Vicentini & Cereda (1999) observaram que as películas foram permeáveis ao CO_2 para pepinos. Quanto às propriedades mecânicas as películas se soltaram dos frutos mostrando assim baixa deformabilidade. Em face disso, observou-se a necessidade de novas pesquisas para conhecer e quantificar as propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca e assim entender os resultados obtidos anteriormente.

Em função da alta permeabilidade ao vapor de água e da baixa resistência mecânica optou-se pela mistura com uma proteína vegetal (glúten), na tentativa de melhorar estas propriedades. De acordo com a literatura (Gontard, 1991; Mangavel *et al.*, 2001), os filmes à base de glúten apresentam menor permeabilidade ao vapor de água e boas

propriedades mecânicas em relação aos filmes à base de polissacarídeos. Isso se deve ao fato de que, contrariamente aos polissacarídeo, que são homopolímeros, isto é, apresentam seqüências repetidas de um mesmo monômero, as proteínas têm estrutura específica, derivada de 20 diferentes monômeros, que conferem uma gama maior de propriedades funcionais potenciais, por formar ligações intra e intermoleculares diferindo nas posições, tipos e energias (Cuq *et al.*, 1995a).

Em função do exposto anteriormente, os objetivos deste trabalho foram a caracterização físico-química da fécula de mandioca, e a elaboração de filmes comestíveis de fécula de mandioca, pura ou em mistura com proteína (glúten) e/ou plastificantes, através da técnica denominada *casting*, e caracterizar estes biomateriais, macro e microscopicamente, visando sua aplicação em pós-colheita de frutas e hortaliças. Para isso, estudaram-se as principais propriedades funcionais em função da espessura, da concentração de glúten e do teor e tipo de plastificante. Para se explicar alguns resultados, realizaram-se análises por microscopia eletrônica de varredura, calorimetria diferencial de varredura e espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A formação de filmes e coberturas comestíveis está baseada na dispersão ou solubilização dos biopolímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e a adição de aditivos (plastificantes, agentes de ligação, etc.), obtendo-se uma solução ou dispersão filmogênica. Após o preparo, estas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes ou coberturas. Nesta etapa, ocorre o aumento da concentração do biopolímero na solução, devido a evaporação do solvente, e consequentemente a agregação das moléculas, levando a formação de uma rede tridimensional (Gontard, 1991).

As características finais dos filmes e/ou coberturas comestíveis estão intimamente ligadas com as características químicas e propriedades estruturais dos biopolímeros utilizados como base. Sendo assim, torna-se necessário o conhecimento da composição e das propriedades das matérias-primas, bem como os possíveis mecanismos de formação dos filmes.

2.1 Matéria-prima

2.1.1 Amido

O amido é carboidrato de reserva de várias plantas, ocorrendo nos cloroplastos das folhas e nos amiloplastos dos órgãos de reserva (sementes, tubérculos, raízes e rizomas). Ocorre sob forma de grânulos que ao microscópio são mais ou menos brilhantes, apresentando forma e dimensões que variam com sua origem (Guilbot & Mercier, 1985). Pela Legislação Brasileira (Brasil, 1978), esses polissacarídeos de reserva são denominados de fécula ou amido, onde fécula refere-se à substância amilácea extraída das raízes, tubérculos e rizomas e amido às extraídas dos grãos de cereais. Em relação às propriedades gerais, denomina-se simplesmente amido.

O grânulo de amido é formado principalmente por dois polímeros de glicose (Figura 1), a amilose e a amilopectina. Os teores variam em função da fonte botânica do amido. A fécula de mandioca apresenta teores em torno de 17-20% de amilose (Sarmento, 1997; Defloor *et al.*, 1998) e 80-83% de amilopectina (Mamadou, 1994).

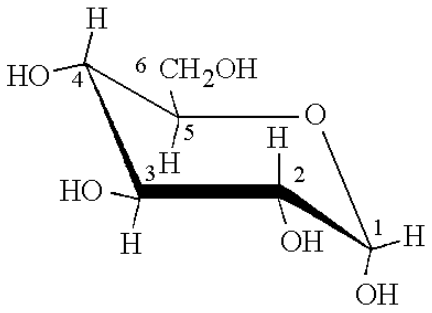


Figura 1: Molécula de glicose.

A amilose é uma macromolécula formada por unidades de glicose na sua forma cíclica α-D-glicopiranosídica, em conformação do tipo "cadeira", que é mais estável, unidas por ligações glicosídicas α(1→4). As cadeias de amilose apresentam tamanho médio de 10^3 unidades de glicose e peso molecular variando de $1{,}5x10^5$ a 10^6 Da. É instável em soluções aquosas diluídas formando um retículo através da propriedade de retrogradação.

É considerada a fração linear, embora existam evidências de ramificações ou outros tipos de ligações glicosídicas ao longo da cadeia (Biliaderis, 1991).

Embora representadas em linha reta, as moléculas de amilose, devido as ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, assumem uma estrutura enrolada em hélices duplas, encerrando cerca de 6 resíduos de glicose a cada passo. Os numerosos grupos hidroxila ficam voltados para o exterior. Esta estrutura helicoidal explica algumas complexações com outras moléculas (lipídeos, álcool, iodo) (Imberty *et al.*, 1991).

A amilopectina é uma macromolécula ramificada, sendo formada por um esqueleto linear de α-D-glicopiranoses unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e ramificações da ordem de 5 a 6 % do peso molecular. As ramificações são cadeias curtas de α-D-glicopiranoses unidas ao esqueleto linear por ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ e ocorrem entre cada 24 e 30 resíduos (Billiaderis, 1991; Lehninger, 1995; Manners, 1985). A cadeia de amilopectina apresenta peso molecular variando de 10^6 a 10^9 Da, sendo considerada como a molécula biológica mais volumosa (Guilbot & Mercier, 1985).

As cadeias de amilopectina também são organizadas em hélices duplas, formando ao mesmo tempo uma estrutura arborescente. Dos numerosos modelos de representação da estrutura da amilopectina propostos, os modelos em cacho chamados "modelos em clusters" são os mais recentes (Imberty *et al.*, 1991).

A amilose e a amilopectina são depositadas em camadas sucessivas e se superpõem ao redor de um núcleo chamado hilo (Biliaderis, 1991). Isto confere ao amido um caráter semicristalino, com regiões mais ordenadas (cristalinas) onde concentra-se a amilopectina, e regiões amorfas, nas quais as cadeias poliméricas estão menos ordenadas, a qual é constituída pela amilose (Galliard & Bowler, 1987; Imberty *et al.*, 1991). Por apresentarem estruturas cristalinas, os grânulos de amido proporcionam padrões específicos de cristalinidade. O padrão A é característico do amido de cereais, o padrão B do amido de tubérculos, de frutas, de milho com alto teor de amilose e dos amidos retrogradados, e ainda o padrão C, uma mistura de A e B, característico do amido de leguminosas (Biliaderis, 1991). De acordo com Rosenthal *et al.*, citado por Sarmento (1997), a fécula de mandioca classifica-se em geral no tipo C, constituída por 90% de cristalinidade do Tipo A e 10% do tipo B.

Quando o grânulo de amido é aquecido em excesso de água (>60%), as ligações de hidrogênio presentes nas áreas amorfas são rompidas, permitindo o entumescimento do grânulo. As ligações fortes, presentes na área micelar, possibilitam que o grânulo permaneça intacto até que estas se rompam em algum ponto. Nessa condição, a expansão dos grânulos torna-se irreversível e a ordem estrutural desaparece, podendo ser caracterizada por uma endoterma obtida através de calorimetria diferencial de varredura (DSC), pela perda da birrefringência, observada usando-se microscopia de luz polarizada (perda da cruz de malta) e pelo desaparecimento da cristalinidade evidenciada pela difração de raios X (Garcia *et al.*, 1997). Caso os grânulos continuem a se expandir, a amilose é lixiviada para a fase aquosa entre os grânulos, iniciando assim o processo de gelatinização (Biliaderis, 1991) (Figura 2).

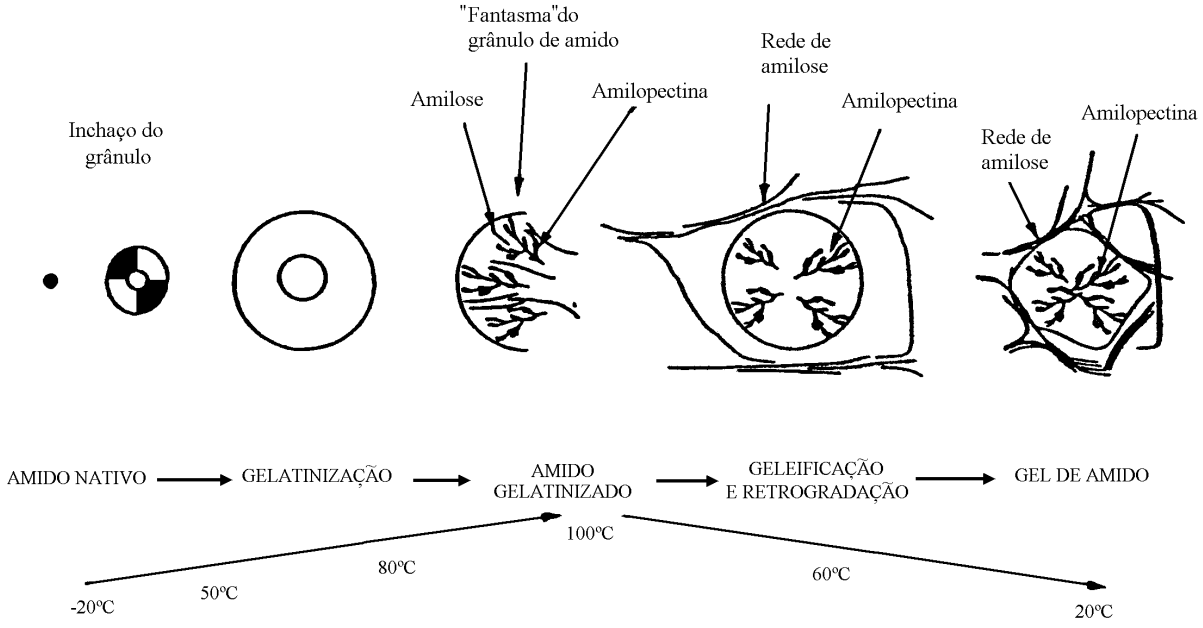


Figura 2: Influência do tratamento hidrotérmico com excesso de água sobre o estado do amido (Fonte: Bornet, 1992).

Após a gelatinização, as moléculas de amilose, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem pontes de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes (retrogradação). Com

isso há diminuição de volume e a afinidade do polímero pela água é reduzida, podendo o amido gelatinizado formar filmes estáveis e flexíveis (Wurzburg, 1986; Bobbio & Bobbio, 1995).

Sendo assim, a formação dos filmes de fécula de mandioca pode ser explicada através do modelo proposto por Tako & Hizukuri (2002) para retrogradação do amido de batata. De acordo com estes autores, a retrogradação ocorre entre as moléculas de amilose e as ramificações laterais (A ou B1) das moléculas de amilopectina, através de pontes de hidrogênio (Figura 3a). As ligações intermoleculares devem ocorrer entre o oxigênio do carbono 6 (O-6) do resíduo de glicose da amilose e o grupo hidroxila do carbono 2 (OH-2) da molécula de glicose das cadeias laterais da amilopectina. Como duas ou mais cadeias laterais da molécula de amilopectina podem estar ligadas à molécula de amilose, pode ocorrer outra ligação entre o OH-2 da amilose e o O-6 da amilopectina (Figura 3b). As moléculas de amilose apresentam ainda ligações intramoleculares entre o OH-6 e o átomo de oxigênio hemiacetal do resíduo de glicose adjacente (Figura 3b).

Após a saturação das ligações de hidrogênio intermoleculares entre as moléculas de amilose e amilopectina, pode ocorrer a associação entre o oxigênio do carbono 3 e o grupo hidroxila do carbono 3 dos resíduos de glicose de diferentes moléculas de amilopectina através de pontes de hidrogênio (Figura 3a). No caso do amido de batata as soluções acima de 2% apresentam saturação de ligações entre amilose e amilopectina (Tako & Hizukuri, 2002).

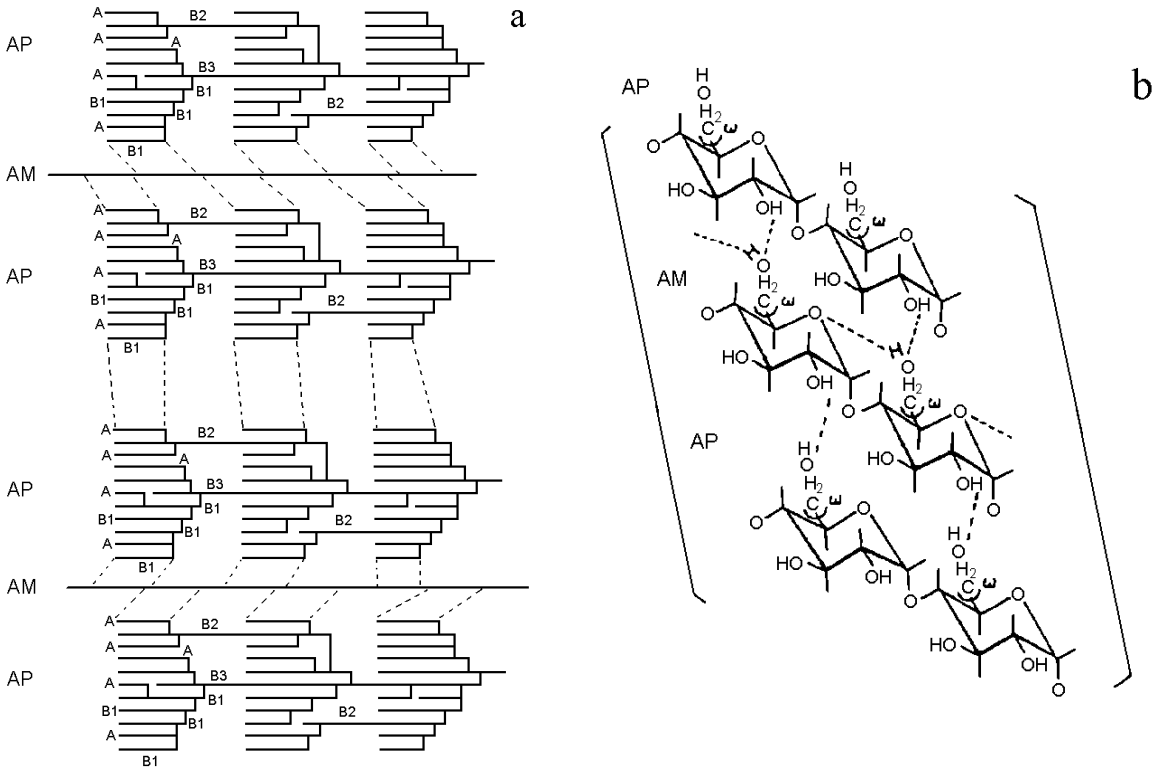


Figura 3: (a) Possíveis sítios de associação (linhas pontilhadas) entre as moléculas de amilose (AM) e amilopectina (AP) do amido de batata. (b) Possível mecanismo de retrogradação do amido de batata. Linhas pontilhadas representam as pontes de hidrogênio. A e B são as ramificações laterais da amilopectina (Fonte: Tako & Hizukuri, 2002).

2.1.2 Glúten

As proteínas são macromoléculas biológicas compostas por monômeros chamados aminoácidos. Muitas das propriedades físico-químicas que afetam diretamente a funcionalidade das proteínas estão relacionadas com a seqüência de aminoácidos. Os aminoácidos contém na sua estrutura molecular pelo menos um grupo amino primário ($-NH_2$) e um grupo carboxílico (-COOH). Além disso, cada aminoácido tem uma

cadeia lateral (R) característica que influi nas suas propriedades físico-químicas e portanto nas propriedades das proteínas da qual toma parte (Monterrey-Quintero, 1998).

O glúten é uma proteína de origem vegetal, que faz parte da reserva do albume do grão de trigo, e é formado essencialmente pelas gliadinas (grupo prolamina) e gluteninas (grupo glutelina).

A gliadina é solúvel em solução etanólica a 70% (v/v) e representa 45% das proteínas totais. É um monômero de peso molecular médio ($3x10^4$ a $7,5x10^4$ Da) e não apresenta pontes de dissulfeto intramoleculares. É rica em glutamina e prolina, mas pobre em lisina (Gontard, 1991; Lindsay & Skerritt, 1999).

A glutenina é a mais insolúvel das proteínas do trigo. É insolúvel em água e em etanol a frio, e ligeiramente solúvel em etanol a quente, porém solúvel em soluções alcalinas. A insolubilidade da glutenina se deve, provavelmente, ao seu alto peso molecular da ordem de 10^5 Da, responsável também pela alta viscosidade dessa proteína. São constituídas de diversas cadeias polipeptícas e possuem pontes de dissulfeto intra e intermoleculares (Bobbio & Bobbio, 1995; Gontard, 1991; Lindsay & Skerritt, 1999).

Estas duas proteínas interagem entre si e formam agregados de alto peso molecular, que permitem a formação de uma rede viscoelástica de glúten única dentro do reino vegetal. As propriedades reológicas do glúten são influenciadas pela qualidade e a quantidade das frações de gliadinas e gluteninas, bem como pelas interações entre os seus diferentes constituintes protéicos. O teor de cisteína, o grau de amidação, a formação de pontes de hidrogênio (grupo amidas e aminas primárias), a quantidade e a distribuição das pontes de dissulfeto desempenham um papel muito importante na determinação das propriedades reológicas do glúten (Gontard, 1991).

O glúten de trigo também é capaz de formar filmes flexíveis e transparentes; entretanto, para sua elaboração é necessário a dispersão da proteína na solução filmogênica pela utilização de etanol, sulfito e pela acidificação (pH<5) da solução, bem como a adição de um plastificante. A etapa de solubilização e a desnaturação das proteínas do glúten permitem expor as principais zonas de interação intramoleculares devido ao efeito dos solventes e das condições de tratamento (temperatura, concentração, pH, força iônica, solventes orgânicos, etc.) (Gontard, 1991).

No decorrer da secagem, através da eliminação ao menos parcial dos solventes, as proteínas interagem não mais intra, mas intermolecularmente, através da formação de pontes de hidrogênio, pontes dissulfeto e ligações hidrofóbicas formando uma rede (Figura 4). Esta rede, pouco hidratada, constitui então o filme, cujas propriedades são sobretudo, função do tipo, das atribuições e da intensidade das ligações estabelecidas (Gontard, 1991).

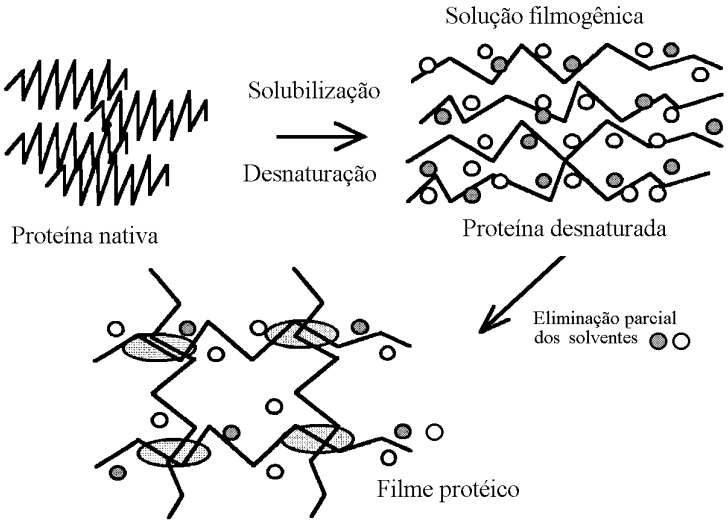


Figura 4: Esquema geral da formação de filmes de glúten (Fonte: Gontard, 1991).

2.2 Biofilmes: Propriedades Funcionais

O uso de filmes comestíveis em embalagens para alimentos e também quando utilizados como recobrimento em vegetais visando aumentar a vida pós-colheita, vai depender de suas propriedades funcionais (barreira a umidade, gases e solutos; solubilidade em água ou lipídeo; propriedades óticas; características mecânicas e reológicas e propriedades térmicas) que em princípio, dependem do polímero, do processo de obtenção e modo de aplicação, do condicionamento e da espessura do filme (Mahmoud & Savello, 1992; Park *et al.*, 1993; Cuq *et al.*, 1995a; Guilbert, 1986).

Os métodos utilizados para a determinação das propriedades dos filmes e recobrimentos comestíveis são derivados dos métodos clássicos aplicados aos materiais sintéticos. Entretanto, estes métodos foram adaptados às características dos biofilmes, particularmente à sua grande sensibilidade à umidade relativa e à temperatura (Gontard, 1991, Cuq *et al.*, 1998).

2.2.1 Propriedades organolépticas

Por estarem em contato com os alimentos, é desejável que filmes e recobrimentos comestíveis apresentem propriedades organolépticas neutras (transparente, inodoro, insípido) de modo a não alterar as características sensoriais dos alimentos (Gontard, 1991).

Filmes à base de hidrocolóides apresentam geralmente características organolépticas mais neutras do que os formados a partir de lipídeos ou derivados, os quais apresentam maior opacidade e sabor residual (Gontard & Guilbert, 1996).

No caso de coberturas, as características sensoriais dependem da aplicação. Em certos casos pode ser interessante agregar sabores, aromas, vitaminas, nutrientes e coloração particulares à formulação das mesmas. Este procedimento pode ser usado para melhorar as características organolépticas sem destruir a integridade do produto alimentício (Kester & Fennema, 1986; Guilbert & Biquet, 1989).

2.2.2 Solubilidade em água

A solubilidade em água é uma importante propriedade dos filmes e coberturas comestíveis no que se refere às suas aplicações. Filmes com alta solubilidade podem ser interessantes para a embalagem de alimentos desidratados que devam sofrer uma hidratação prévia ao consumo, como por exemplo as sopas instantâneas acondicionadas em envelopes comestíveis. Por outro lado, muitas aplicações demandam embalagens resistentes à água, como no caso de alimentos com alta atividade de água, ou mesmo para se evitar a transpiração de produtos frescos (Monterrey-Quintero, 1998).

A solubilidade em água interfere na propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes comestíveis. A obtenção de filmes com boas propriedades de barreira ao vapor de água, isto é, com baixa permeabilidade dentro de uma grande faixa de umidade relativa, implica na utilização de material insolúvel ou de pouca solubilidade em água (Carvalho, 1997).

2.2.3 Propriedades mecânicas

Filmes e coberturas empregados como embalagem de alimentos devem ser resistentes à ruptura e abrasão, para que possam reforçar a estrutura do alimento e facilitar o seu manejo, e devem, também, ser flexíveis, para que possam se adaptar às possíveis deformações sem se romper.

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da natureza do material filmogênico utilizado e de sua coesão estrutural, a qual está relacionada com a aptidão do polímero em formar fortes e/ou numerosas ligações à nível molecular entre duas cadeias poliméricas, dificultando assim a sua separação quando submetida à forças mecânicas. Esta aptidão depende da extensão da cadeia polimérica, da sua geometria, da dispersão do seu peso molecular, da natureza e posição de grupamentos laterais (Gontard, 1991).

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis são também influenciadas pela transição vítrea, que é uma transição de fase de segunda ordem, que ocorre em materiais amorfos, caracterizada por uma temperatura de transição vítrea (Tg). Abaixo da Tg, o material está em um estado vítreo que é caracterizado por um sólido rígido e quebradiço. Neste estado, os movimentos moleculares estão restritos a movimentos vibracionais e rotacionais de fraca amplitude e não cooperativos. Quando a temperatura aumenta, acima da Tg, o material torna-se mole ou borrachudo, apresentando um comportamento caracteristicamente viscoelástico. Neste caso, ocorre um aumento exponencial na mobilidade molecular, e o material passa a apresentar também, movimentos translacionais e cooperativos das moléculas inteiras e dos segmentos dos polímeros (Gontard, 1991). Neste ponto, as

propriedades físicas dos materiais, inclusive suas propriedades mecânicas, sofrem uma forte mudança de comportamento. No estado vítreo o material se caracteriza por resistência e elasticidade elevadas e baixa extensibilidade.

As propriedades mecânica dos filmes e recobrimentos comestíveis são habitualmente avaliadas a partir de testes de perfuração, tração e relaxamento (Cuq *et al.*, 1996b).

Os testes de perfuração têm sido utilizados, principalmente em filmes comestíveis e medem a força e a deformação na ruptura dos filmes. O teste é realizado através de uma sonda cilíndrica de seção reduzida, a qual desce perpendicularmente à superfície do filme, fixado em uma célula de medida, até ocorrer o seu rompimento (Figura 5a). A força (F) aplicada pela sonda em função do seu deslocamento (D) é registrada em um gráfico, que pode ser observado na Figura 5b, onde a altura do pico se traduz pela força na ruptura, expressa em Newton (N), e a medida do deslocamento da sonda entre o momento onde ela toca o filme e onde o filme se rompe, se traduz pela deformação do filme (expressa em mm).

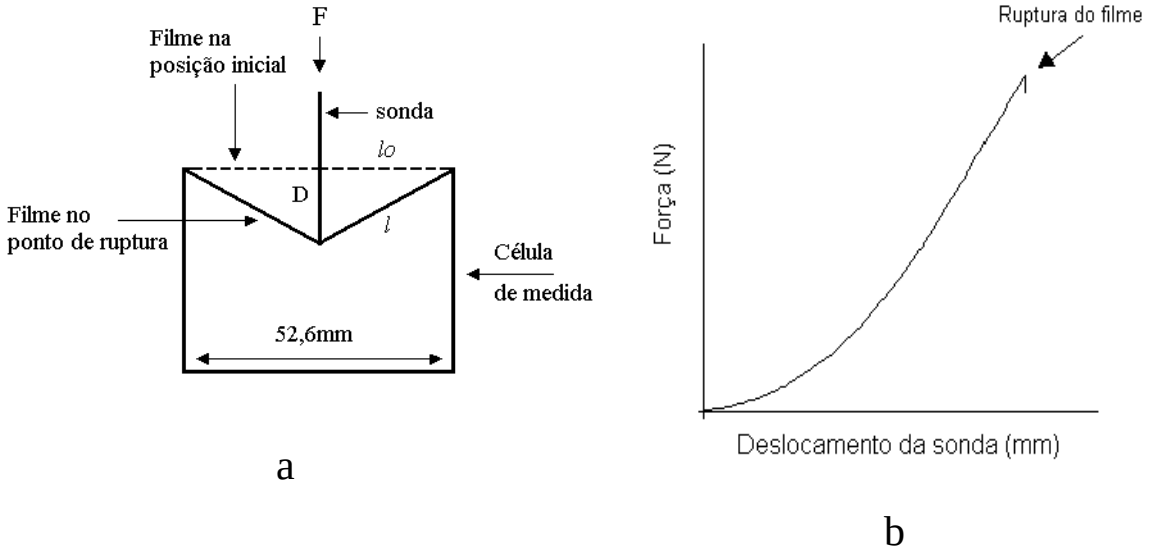


Figura 5: (a) Diagrama do uso da Equação 1. (b) Curva de força vs distância obtida em teste de perfuração.

A deformação na ruptura, expressa em porcentagem, pode ser calculada através da Equação 1, onde l_o é o comprimento inicial do filme (26,3 mm) e l é o comprimento final do filme depois de deformado.

$$\frac{\Delta l}{l_0} = \frac{l - l_0}{l_0} \frac{\sqrt{D^2 + l_0^2} - l_0}{l_0} \qquad (1)$$

O Quadro 1 apresenta alguns valores de força e deformação na ruptura de filmes à base de biopolímeros, obtidos em testes de perfuração.

Quadro 1: Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis e sintéticos obtidos em teste de perfuração.

Filme	Espessura (mm)	Temp (ºC)	UR (%)	Força (N)	Deformação (%)	Referência
Amido cará	0,070	25	64	9,84	1,50	Mali (2002)
Farelo arroz	0,190	23	55	0,85		Gnanasambandam *et al*. (1997)
Proteína miofibrilar tilápia-do-Nilo	0,045	22	58	6,67	2,71	Monterrey-Quintero & Sobral (2000)
Proteína miofibrilar carne bovina	0,089	22	58	8,7	1,8	Sobral *et al*. (1998)
Gelatina	0,043	22	58	16,00	1,20	Sobral *et al*. (2001)
Glúten de trigo	0,050	25	56	3,84	15,94	Gontard *et al*. (1992)
PVDC	0,040	23	55	2,83		Gnanasambandam *et al*. (1997)

Em se tratando das propriedades mecânicas de biofilmes, os testes de tração são os mais freqüentemente relatados na literatura. As propriedades de tração expressam a resistência do material ao alongamento e mesmo ao rompimento, quando submetido à tração (Oliveira *et al.*, 1996).

Três propriedades, tensão na ruptura, deformação na ruptura e módulo de elasticidade, podem ser obtidas através dos testes de tração. A Figura 6 apresenta uma

curva característica da relação resistência a tração *versus* deformação de filmes flexíveis sintéticos.

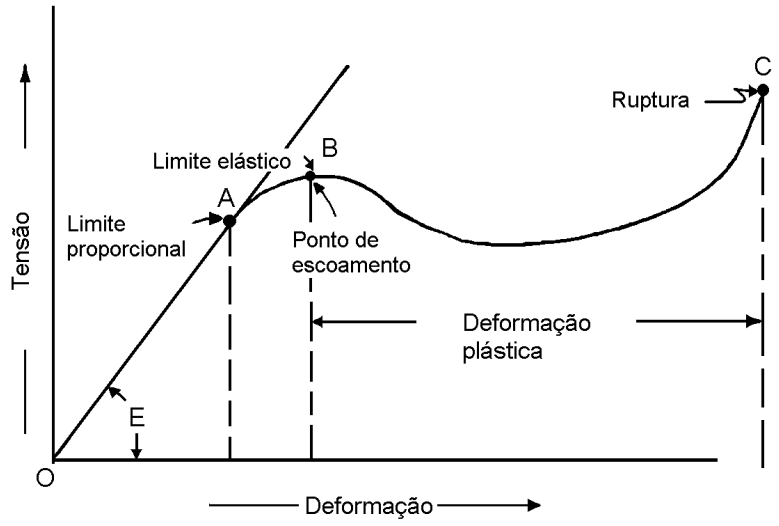


Figura 6: Curva característica da relação resistência a tração versus deformação (Fonte: Miltz, 1992).

Observa-se que inicialmente o material oferece resistência crescente a solicitação de tração, a qual provoca seu alongamento. O intervalo inicial (O-A) da curva é uma linha reta (tensão diretamente proporcional a deformação) cuja inclinação (E) representa a rigidez do material e é denominada de módulo de elasticidade ou módulo de Young. Neste intervalo o polímero se comporta como um material elástico ideal; isto é, se a tensão for removida, o material voltará imediatamente ao seu comprimento inicial. O ponto A representa o limite de proporcionalidade do material. De A a B a tensão e a deformação não são mais proporcionais e se a tensão for removida o processo de recuperação é gradual. Na região O-B, diz-se que o material é elástico, ou que apresenta um comportamento elástico, e o ponto B é chamado limite de elasticidade ou ponto de escoamento. Normalmente, a força requerida para deformar a amostra diminui depois do ponto de escoamento (B), neste ponto o material passa a ser plástico pois uma vez cessada a tensão estará permanentemente deformado. No decorrer deste processo a força novamente aumenta até finalmente a amostra romper no ponto C. A tensão neste ponto de rompimento é normalmente chamada de tensão na ruptura (*tensile*

strength) e a correspondente deformação (expressa em porcentagem), deformação na ruptura (*elongation at break*) (Lewis, 1993; Miltz, 1992).

Se uma grande deformação plástica ocorrer entre o ponto de escoamento (B) e o ponto de ruptura (C), o material é denominado dúctil. Entretanto, se a ruptura ocorrer logo depois do ponto de escoamento, o material é denominado frágil (Sears *et al.*, 1984). Alguns materiais não parecem ter ponto de escoamento, pois aumentam seu comprimento além do limite elástico ao aumentar a tensão, sem o aparecimento de uma etapa plástica (Lewis, 1993).

Os materiais podem ser classificados em 4 tipos, em função da resposta à deformação por tração, como mostra a Figura 7. Um material com curva tensão-deformação tipo 1 é rígido (alto módulo de elasticidade) e quebradiço (rompe um pouco antes do ponto de escoamento); do tipo 2, rígido e resistente (grande área sob a curva); do tipo 3, flexível e resistente; e do tipo 4, flexível e quebradiço (Miltz, 1992).

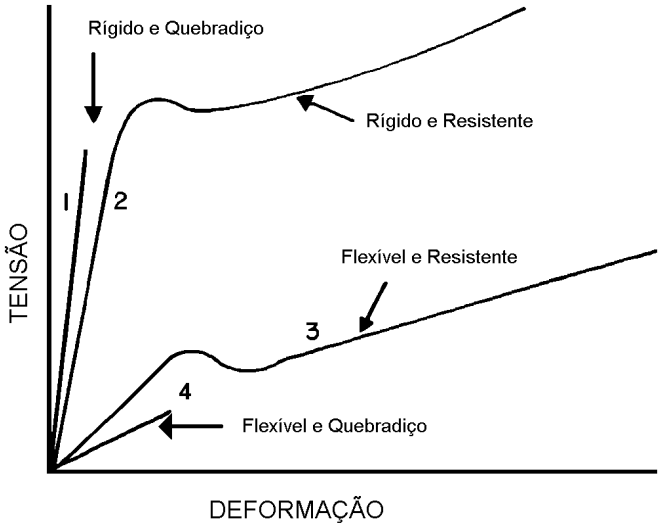


Figura 7: Classificação de materiais em função da resistência à tração e deformação (Fonte: Miltz, 1992).

O Quadro 2 mostra valores de tensão e deformação na ruptura de alguns filmes sintéticos e à base de biopolímeros, obtidos em testes de tração.

O estudo clássico das curvas de força-deformação ou tensão-deformação levam em conta apenas o caráter elástico do material. Todavia, as propriedades viscoelásticas dos biofilmes também são importantes, porque podem fornecer informações diretamente relacionadas com a conformação das macromoléculas.

O conceito de viscoelasticidade vem do fato de muitos materiais não exibirem apenas comportamento puramente elástico (sólido ideal) ou puramente viscoso (líquido ideal), mas a combinação de ambos. Praticamente, há dois tipos de testes para determinar as propriedades viscoelásticas: testes estáticos e dinâmicos.

Quadro 2: Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis e sintéticos obtidos em teste de tração.

Filme	Espessura (mm)	Temp (ºC)	UR (%)	Tensão (MPa)	Deformação (%)	Referência
Amilose triacetato	0,03 a 0,04	21	50	77,47	22,0	Whistler & Hilbert (1944)
Amilomaize	0,051	25	50	76,42	5,4	Roth & Mehltretter (1967)
Hidroxipropil amilomaize	0,051	25	50	56,31	13,9	Roth & Mehltretter (1967)
Celulose acetato	—	—	—	65,60	30,0	Briston (1988)
MC	0,034	25	50	56,10	18,5	Park *et al*. (1993)
HPC	—	25	50	14,80	32,8	Park *et al*. (1993)
Soja	0,088	25	50	1,90	35,6	Gennadios *et al*. (1993b)
Glúten de trigo	0,088	25	50	0,90	260,0	Gennadios *et al*. (1993b)
Zeína	0,081	26	50	0,40	—	Aydt *et al*.(1991)
Proteína miofibrilar	0,034	25	57	17,10	22,7	Cuq *et al*. (1995b)
Soro de leite	—	23	50	13,90	30,8	McHugh & Krochta (1994a)
PEAD	—	—	—	25,90	300,0	Briston (1988)
PEBD	—	—	—	12,90	500,0	Briston (1988)

MC = metil celulose; HPC = hidroxipropil celulose; PEAD = polietileno de alta densidade; PEDB = polietileno de baixa densidade.

Nos testes estáticos, uma deformação (e) ou tensão (s) é instantaneamente aplicada na amostra, e a tensão ou deformação requerida para manter esta deformação é medida como uma função do tempo. O primeiro teste é chamado de relaxamento de tensão (*stress relaxation*) e o segundo *creep compliance* (Chandra & Sobral, 2000).

Geralmente, os modelos de viscosidade linear, para testes estáticos, são desenvolvidos a partir de dois elementos: uma mola e um amortecedor hidráulico, considerando-se que o primeiro trabalha de acordo com a Lei de Hooke, e o segundo elemento obedece a Lei de Newton. Uma mola e um amortecedor em série (Figura 8a), constituem o modelo de Maxwell, e em paralelo (Figura 8b), o modelo de Kelvin (ou Voigt) (Chandra e Sobral, 2000).

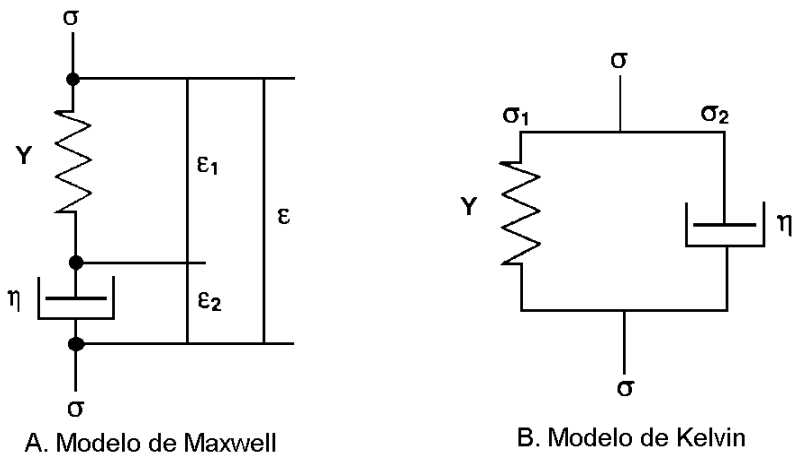


Figura 8: Elementos do modelo de Maxwell e Kelvin.

Entretanto, por serem simples, esses modelos não representam satisfatoriamente o comportamento de materiais complexos. Por isso, utilizam-se outros modelos, como o de Burgers, onde os modelos de Maxwell e de Kelvin estão conectados em série, determinado-se os módulos de elasticidade (Y_1 e Y_2) e os coeficientes de viscosidade (η_1 e η_2) (Figura 9) (Chandra & Sobral, 2000).

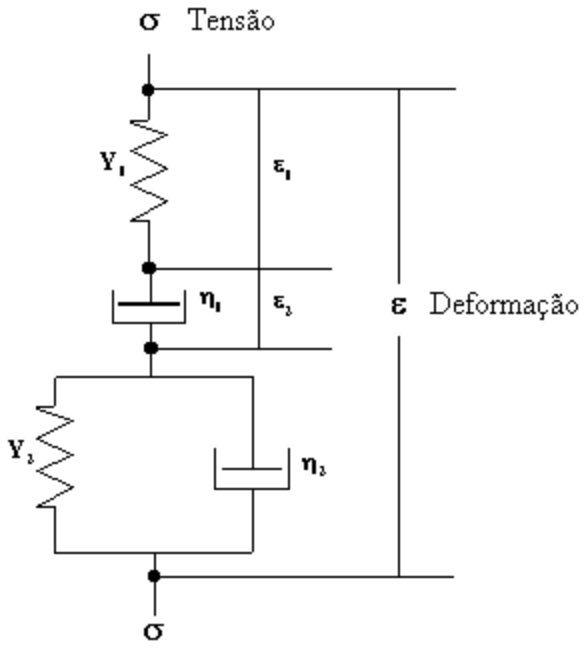


Figura 9: Modelo de Burgers com 4 elementos.

Nos testes dinâmicos, uma deformação oscilatória (senoidal) é imposta ao material e a tensão desenvolvida é medida. Para um material puramente elástico, o qual obedece a Lei de Hooke, a deformação aplicada será proporcional a amplitude da tensão resultante. As ondas de tensão e deformação estarão em fase e o deslocamento de fase (ângulo de fase) entre as mesmas será 0º (Figura 10a). Para um material puramente viscoso, o qual obedece a Lei de Newton, a tensão será proporcional à taxa de deformação, ocorrendo deslocamento de fase de 90º entre as ondas de tensão e deformação (Figura 10b). Para um material viscoelastico, o ângulo de fase (d) ficará entre 0º e 90º (Figura 10c) (Lewis, 1993; Chandra & Sobral, 2000).

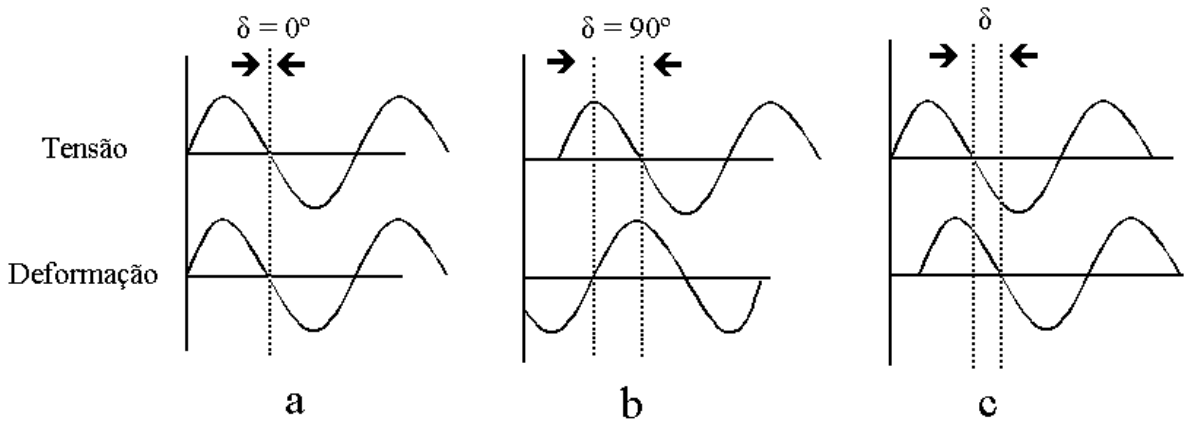


Figura 10: Relação entre tensão e deformação para materiais (a) elástico, (b) viscoso e (c) viscoelástico, submetidos a teste oscilatório.

Dentre as propriedades viscoelásticas determinadas nesse teste estão, o módulo elástico ou *módulo de armazenamento* (E') e o módulo de viscosidade ou *módulo de perda* (E''), os quais podem ser calculados diretamente das tensões elástica (s') e viscosa (s''), respectivamente, de acordo com as Equações 2 e 3.

$$E' = \frac{s'}{e} \cos d \qquad (2)$$

$$E'' = \frac{s''}{e} \operatorname{sen} d \qquad (3)$$

onde e corresponde a deformação.

De uma maneira geral, filmes à base de polissacarídeos e proteínas apresentam propriedades mecânicas inferiores aos materiais sintéticos clássicos do tipo policloreto de vinilideno ou poliéster. Por outro lado, os filmes comestíveis à base de compostos lipídicos são característicos por apresentarem baixa resistência mecânica e manipulabilidade ruim (Cuq *et al.*, 1998).

Uma maneira de melhorar as propriedades mecânicas dos filmes à base de biopolímeros é através da adição de plastificante ao filme. O plastificante tem a finalidade

de reduzir a característica quebradiça do material, reduzindo o número de interações entre as cadeias adjacentes e aumentando os espaços intermoleculares, enfim, tornando as ligações e interações entre as moléculas mais flexíveis, e consequentemente, melhorando a característica de extensibilidade do filme (Banker, 1966; Gontard *et al.*, 1992; Mahmoud & Savello, 1992).

2.2.4 Propriedades de barreira

A capacidade de uma embalagem em limitar as transferências, ou trocas, entre os alimentos e o meio ambiente é definida como barreira. A escolha de uma embalagem adequada depende das propriedades de barreira que essa pode oferecer, dentre as quais estão: a permeabilidade ao vapor de água, aos gases e aos solutos.

Com respeito ao vapor de água, a aplicação de biofilmes tem reduzido consideravelmente a perda de peso em frutas e hortaliças (Krochta & Mulder-Johnston, 1997). O uso de biofilmes com permeabilidade seletiva aos gases respiratórios (CO_2 e O_2) permite o controle tanto das trocas gasosas por respiração como do desenvolvimento microbiano, podendo aumentar a vida útil de frutos e hortaliças em geral.

Teoria da permeabilidade

A permeabilidade é uma das mais importantes propriedades das embalagens de alimentos (Miltz, 1992). Porém, não deve ser confundida com transporte através de poros, uma vez que a mesma consiste em um processo de solução e difusão onde o vapor se dissolve de um lado do filme e se difunde até o outro lado do mesmo (McHugh & Kroctha, 1994b).

Na ausência de microporos ou fraturas na membrana, o mecanismo primário para o fluxo de gás ou vapor através de um material polimérico é a difusão molecular (Figura 11). Este processo acontece em três etapas: (1) absorção e solubilização do permeante na superfície do material, (2) difusão molecular do permeante através do filme devido a ação de um gradiente de concentração e (3) dessorção e evaporação do permeante na outra face do material (Kester & Fennema, 1986; Garcia *et al.*, 1989).

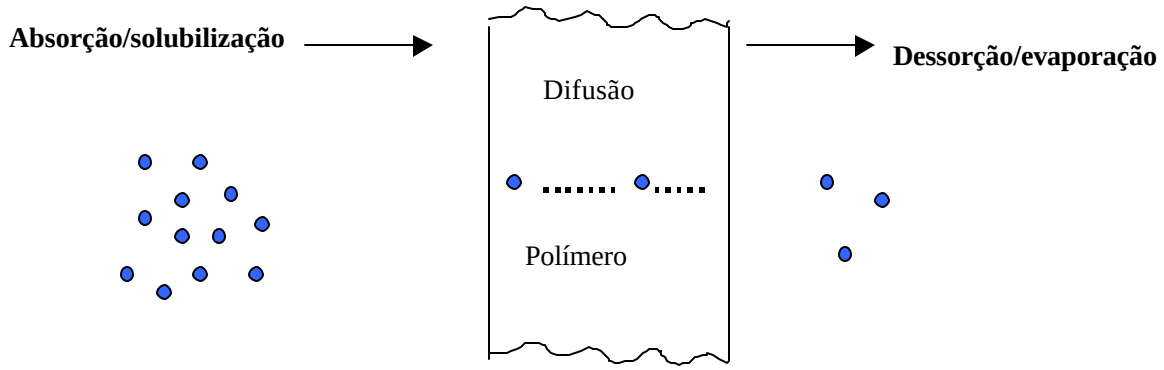


Figura 11: Esquema da permeação de gases e vapores através de materiais poliméricos (Fonte: Garcia *et al*., 1989).

A primeira e a terceira etapas do processo de permeação (solubilização e evaporação) dependem da solubilidade do permeante no polímero, ou seja, as forças de Van der Waals ou pontes de hidrogênio no caso da água, entre o permeante e as moléculas do polímero determinam a quantidade do permeante que irá dissolver.

Na segunda etapa do processo, a difusão envolve o transporte do permeante através das regiões não cristalinas dos polímeros, ou através dos espaços vazios formados pela movimentação da cadeia polimérica (Garcia *et al.*, 1989, Miller & Krochta, 1997).

A difusão pode ser descrita matematicamente pela lei de Fick. O fluxo (J), proporcional ao gradiente de concentração, pode ser expresso pela Equação 4:

$$J = -D \frac{dC}{dX} \qquad (4)$$

onde:

J = fluxo do permeante

D = coeficiente de difusão

C = concentração do permeante

X = espessura do filme

Assumindo que a difusão ocorre no estado estacionário e a difusividade, que descreve a facilidade de movimento das moléculas do permeante através da matriz do polímero, constante, o fluxo (*J*) é dado por:

$$J = D\,\frac{(C_1 - C_2)}{X} \qquad (5)$$

Aplicando a lei de Henry (*C*=*S*.*p*), onde *p* é a pressão parcial do permeante e *S* o coeficiente de solubilidade, que se refere ao número de moléculas do permeante que se move através da matriz do polímero, a Equação 5, torna-se a Equação 6:

$$J = D\,\frac{(Sp_1 - Sp_2)}{X} \qquad (6)$$

Como a solubilidade é constante ao longo do filme, pode-se representar a Equação 6 de outra forma:

$$J = D.S\,\frac{(p_1 - p_2)}{X} \qquad (7)$$

A Equação 7 descreve a permeação de gases ou vapores em polímeros no estado estacionário, a uma temperatura constante. O produto *D*.*S* é conhecido como coeficiente de permeabilidade, e é normalmente designado como *P* (Garcia *et al.*, 1989).

$$P = D.S \qquad (8)$$

Rearranjando a Equação 7 tem-se:

$$J = P\,\frac{(p_1 - p_2)}{X} \qquad (9)$$

Sendo:

$$J = \frac{Q}{A.t} \tag{10}$$

Onde Q é quantidade do permeante, A a área de permeação e t o tempo, logo:

$$\frac{Q}{A.t} = P\frac{(p_1 - p_2)}{X} \tag{11}$$

Então, a permeabilidade pode ser calculada pela seguinte equação:

$$P = \frac{Q.X}{A.t\,(p_1 - p)} \tag{12}$$

O uso da Equação 12 para calcular a permeabilidade como uma propriedade universal dos filmes ou recobrimentos, baseia-se no fato de D e S serem independentes da concentração do permeante e isto ocorre, quando não há interação significante entre o filme e o permeante.

Entretanto, quando o permeante interage fortemente com o polímero, podem ocorrer divergências da lei de Fick (Banker *et al.*, 1966), como no caso da permeação do vapor de água através de filmes compostos por polímeros hidrofílicos, onde, D e S são dependentes da pressão parcial do vapor de água. Conseqüentemente, a permeabilidade ao vapor de água através da matriz de um filme polar aumenta enormemente quando a pressão de vapor é elevada. Neste caso, a permeabilidade não é uma propriedade universal dos filmes e não pode ser usada como regra geral para descrever as propriedades de barreira. Ela é, entretanto, uma característica do par filme/permeante (gás, vapor de água), em condições bem definidas de temperatura, umidade relativa, espessura e diferença de pressão parcial (Kester & Fennema, 1986).

Tanto a temperatura quanto a umidade relativa influenciam grandemente as propriedades de barreira dos filmes hidrofílicos. Nestes filmes, o aumento da atividade de água promove a difusividade, em decorrência do aumento da mobilidade das

cadeias do polímero, e a solubilidade do permeante. Essa característica deve-se ao inchamento excessivo da matriz polimérica, diminuindo as propriedades de barreira destes materiais (Cuq *et al.*, 1995a). A temperatura de transição vítrea afeta a permeabilidade dos filmes devido a sua influência sobre a mobilidade das moléculas. No estado vítreo (abaixo da Tg), a passagem do permeante é restrita devido à rigidez do sistema e a menor distância efetiva entre as moléculas, já no domínio gomoso (acima da Tg), o aumento do volume livre e a maior mobilidade dos polímeros facilitam a passagem do permeante (Gontard, 1991).

A natureza química dos polímeros é extremamente importante para a determinação das propriedades de barreira dos biofilmes. Polímeros altamente polares, como muitos polissacarídeos e proteínas, exibem alto grau de pontes de hidrogênio, resultando em valores extremamente baixos de permeabilidade a gases em baixa umidade. Infelizmente, a mesma natureza química que leva à boa propriedade de barreira a gases, muitas vezes resulta em alta permeabilidade ao vapor de água (Wolff *et al.*, 1951; Rankin *et al.*, 1958; Mark *et al.*, 1966; Jokay *et al.*, 1967; Roth & Mehltretter, 1967; Aydt *et al.*, 1991). Por outro lado, materiais à base de hidrocarbonetos não polares, como os lipídeos, exibem efeito reverso, atuando como excelentes barreira a umidade e menos efetivo como barreira a gases. Nos Quadros 3 e 4 encontram-se listados valores de permeabilidade ao vapor de água e gases, respectivamente, de alguns filmes biodegradáveis e sintéticos.

Quadro 3: Comparação da permeabilidade ao vapor de água de filmes biodegradáveis e sintéticos.

Filme	**Espessura (mm)**	**Temperatura (ºC)**	**Condições UR (%)**	**Permeabilidade ($g.mm/m^2.h.kPa$)**
Amido:acetato celulose	1,119	38	100 - 30	9,210
MC	0,075	30	11 - 0	0,339
HPC	0,075	30	11 - 0	0,187
Glúten de trigo	0,050	30	100 - 0	0,329
Caseinato de sódio	—	25	100 - 0	1,602
Zeína de milho	—	26	100 - 50	1,479
Proteína de soja (pH=3)	0,083	25	100 - 50	1,492
Proteína miofibrilar	0,060	25	100 - 0	0,254
Cera de abelha	0,120	25	87 - 0	0,00207
Cera de carnaúba	0,100	25	100 - 0	0,00120
PEAD	0,025	38	97 - 0	0,00079
PEBD	0,025	38	95 - 0	0,00310
Celofane	—	38	90 - 0	0,303

Fonte: Adaptado de Cuq *et al.* (1995a)

MC = metil celulose; HPC = hidroxipropil celulose; PEAD = polietileno de alta densidade; PEDB = polietileno de baixa densidade.

Quadro 4: Comparação da permeabilidade ao oxigênio e gás carbônico de filmes biodegradáveis e sintéticos.

Filme	**T (ºC)**	**UR (%)**	**Permeabilidade O_2 ($x10^{-18}$ mol.m/m^2.s.Pa)**	**Permeabilidade CO_2 ($x10^{-18}$ mol.m/m^2.s.Pa)**
Amido	24		67,62	—
MC:PEG (9:1)	30	0	522	—
MC:PEG	21	0	—	29.900
HPC:PEG (9:3)	30	0	470	—
HPC:PEG (9:3)	21	0	—	28.900
Glúten de trigo	25	0	1,24	—
Glúten de trigo	25	91	982	24.500
Zeína de milho	30	0	16,1	—
Zeína de milho	23	0	—	216
Proteína de soja	23	0	2,30	—
PEAD	23	0	285	972
PEBD	23	0	1003	4220
PVC	23	50	682	—
Celofane	23	0	1,34	—

Fonte: Adaptado de Cuq *et al.* (1995a)

MC = metil celulose; HPC = hidroxipropil celulose; PEAD = polietileno de alta densidade; PEDB = polietileno de baixa densidade.

Quando comparados com outros materiais (Quadro 3), os filmes à base de amido apresentam alta permeabilidade ao vapor de água. No entanto, estes valores de permeabilidade devem ser cuidadosamente comparados devido às diferentes condições de teste (ex. gradiente de umidade relativa, espessura, temperatura) utilizadas por cada pesquisador.

2.2.5 Propriedades óticas

Dentre as propriedades óticas de biofilmes para aplicação em embalagem, destacam-se a cor e a transparência (opacidade). A cor pode ser considerada um importante parâmetro na caracterização dos biofilmes, pois está relacionada com a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos. Como exemplo, os filmes de glúten de trigo apresentam coloração amarelada (Gontard, 1991), ao contrário dos filmes à base de gelatina que são praticamente incolores (Sobral, 1999).

A cor pode ser representada tridimensionalmente por um sólido de cor, através de um atributo de luminosidade, chamado de Valor (*Value*), e dois atributos de cromaticidade, chamados de Tom e Croma (*Hue* e *Chroma*) (Figura 12). Tom é o nome da cor, ou seja, é a qualidade pela qual se distingüe uma família de outra família de cores cromáticas, como o vermelho do amarelo. Croma é a intensidade de um tom distinto ou a intensidade da cor, isto é, a posição da cor entre o cinza e o tom puro. Valor é a luminosidade da cor, é a qualidade pela qual se distingüe uma cor clara de outra escura (Ferreira, 1981).

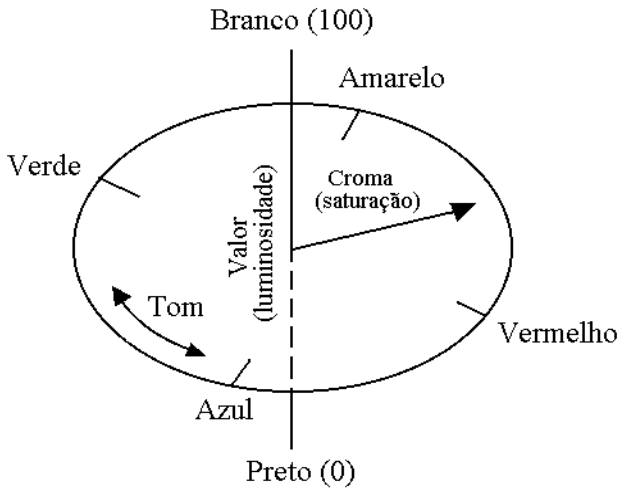


Figura 12: Representação tridimensional do sistema de cores (Fonte: HunterLab, 1997).

Para a determinação da cor de um material, pode-se utilizar cartas ou atlas de cores, onde um dos mais conhecidos é o Livro de Cor da Munsell (Munsell Book of Color), ou ainda pelo uso de colorímetros os quais baseiam-se nas escalas de cor CIELab ou HunterLab. Tanto as cartas de cor quanto os colorímetros descrevem os três atributos da cor (Tom, Croma e Valor).

No caso dos biofilmes, a cor tem sido determinada empregando-se o método HunterLab (Hunterlab, 1997), através do uso de colorímetros, em filmes de farelo de arroz (Gnanasambandam, *et al.*, 1997), proteína de soja (Ghorpade *et al.*, 1995; Kunte *et al.*, 1997; Rhim, *et al.*, 2000), ovoalbumina (Gennadios *et al.*, 1996, Handa *et al.*, 1999), gelatina (Sobral, 1999) e proteínas miofibrilares (Sobral, 2000a).

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

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

Poucos são os trabalhos que relatam a opacidade em biofilmes, e os que o fazem determinam principalmente por absorbância em espectrofotômetro (Cuq *et al.*, 1996a; Gontard *et al.*, 1992 e 1994; Monterrey-Quintero & Sobral, 2000). Entretanto, a opacidade também tem sido determinada, através do uso de colorímetros, em filmes à base de gelatina (Sobral, 1999) e proteínas miofibrilares (Sobral, 2000a).

2.3 Aplicações dos Biofilmes de Fécula de Mandioca em Pós-colheita

Potencialmente, diversas são as aplicações e formulações de filmes e coberturas comestíveis em alimentos. Os filmes e recobrimentos comestíveis podem ser aplicados na superfície dos alimentos, como por exemplo em frutas e hortaliças, onde a função do filme é restringir a perda de umidade do produto para o meio e reduzir a velocidade da

respiração, através do controle da migração de oxigênio e gás carbônico (sem contudo causar anaerobiose), aumentando a vida pós-colheita destes produtos.

Devido a sua capacidade em formar filmes sem a necessidade de aditivos, a fécula de mandioca encontrou ampla utilização na formação de coberturas aplicadas em frutas, hortaliças, flores e raízes (Vieites *et al.*, 1996; Oliveira & Cereda, 1999; Henrique & Cereda, 1999; Damasceno *et al.*, 2001). Os trabalhos de pesquisa em avaliação da aplicação de películas de fécula de mandioca mostraram resultados variáveis quando diferentes materiais vegetais foram tratados.

Silva *et al.* (1996) relatam como tratamento pós-colheita de frutos de banana variedade Nanicão, a utilização de películas de fécula de mandioca nas concentrações 3% e 6% e sacos de polietileno com 10 micras de espessura selados. Os frutos tratados com película de fécula apresentaram comportamento semelhante à testemunha, revelando que para banana, a eficiência da película em retardar a maturação foi menor do que os sacos de polietileno. O maior problema observado nos frutos tratados com películas foi a evolução anormal da cor, permanecendo manchas verdes nos frutos amarelos.

Oliveira (1996) usou películas de fécula de mandioca nas concentrações de 1 e 2% em frutos de goiaba cv. Kumagai, armazenados à temperatura ambiente (19,5-27,0 °C e 59-76 %), e comparados com goiabas tratadas com cera *sta-fresh* (1:9) e frutos sem tratamento. Os frutos recobertos com películas apresentaram menor perda de massa em relação à testemunha porém, maior do que os frutos tratados com cera *sta-fresh*. Este mesmo autor observou que, tanto os frutos tratados com cera *sta-fresh* quanto com películas de fécula de mandioca, apresentaram valores de taxa respiratória menor do que a testemunha.

Henrique (1999) estudou o desverdecimento de limões Siciliano com Ethrel a 0, 1000, 2000 e 3000 mg/L e sua conservação pós-colheita com película de fécula de mandioca. Armazenados em temperatura média de 24°C, umidade relativa de 60%, os frutos foram recobertos com suspensões de fécula nas concentrações de 1, 2 e 3%. O melhor resultado foi obtido com a película na concentração de 3%, que proporcionou maior brilho e redução da perda de água do fruto, não alterando sua composição química, porém o desverdecimento do fruto foi parcial. Após 10 dias de armazenamento a película começou a se soltar do fruto. As películas elaboradas com suspensões a 2%, proporcionaram menor brilho,

porém o desverdecimento foi completo em todas as concentrações de Ethrel, e a película demorou mais tempo para se soltar do fruto.

Vicentini (1999) avaliou o efeito de películas de fécula de mandioca, nas concentrações de 2 e 4%, em couve flor cv. Teresópolis Gigante armazenadas à temperatura ambiente (22-25°C e 64% UR). As películas, de maneira geral, não evitaram a perda de massa; porém, as inflorescências recobertas apresentaram textura mais firme e redução da taxa de respiração em relação as inflorescências sem recobrimento. O revestimento com película a 4% apresentou-se superior aos demais, quanto a aparência externa das inflorescências, sendo este o melhor recobrimento para couve-flor.

Ferraz (2000) constatou que em rosas var. Grand Galla, armazenadas à temperatura ambiente (21°C e 68,5%), o uso de películas de fécula de mandioca natural nas concentrações de 1 e 1,5%, e modificada a 2 e 3%, não foram efetivas na redução da perda de massa e da respiração das rosas, quando comparadas a testemunha. Notou-se, entretanto que a testemunha também apresentou baixa conservação, provavelmente por haver sido colhida a tempo excessivo para uma boa conservação.

Raízes de yacon foram revestidas com películas a 2 e 4% de fécula de mandioca e armazenadas a temperatura ambiente e sob refrigeração (4ºC), sendo utilizados como indicadores de amadurecimento a atividade da peroxidase, proteínas solúveis e níveis de frutanos totais. A combinação película e refrigeração a 4ºC apresentou os melhores resultados, reduzindo a atividade da peroxidase e a taxa respiratória e mantendo os teores de proteínas solúveis. Entretanto, os tratamentos utilizados não evitaram o decréscimo no conteúdo de frutanos (Dib, 2000).

De maneira geral, o principal problema do uso das películas de fécula de mandioca foi a elevada permeabilidade ao vapor de água, levando à perda de peso excessiva e diminuindo a vida pós-colheita dos materiais ensaiados. Recobrimentos à base de glúten de trigo reduziram a perda de peso e mantiveram a textura de frutos de morango e tomate cereja (Tanada-Palmu *et al.*, 1999; Tanada-Palmu & Grosso, 2000). Desta maneira a incorporação de glúten de trigo aos filmes de fécula de mandioca deve melhorar suas propriedades de barreira.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima

Para o desenvolvimento desta pesquisa utilizou-se fécula de mandioca (*Manihot esculenta* C.) comercial, cedida pela empresa Flor de Lótus (São Paulo, SP) e glúten de trigo vital, cedido pelo Prof. Dr. Stéphane Guilbert (Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier - França), com 6,96% umidade, 89,57% proteína, 9% amido, 1,51% de matéria graxa, 0,77% cinzas e 0,05% de fibras.

3.2 Reagentes

Utilizou-se sulfito de sódio anidro (Chemco P.A.), etanol absoluto (Synth P.A.), e ácido acético glacial (Synth P.A.), glicerina (Synth P.A.-A.C.S.), sorbitol (Nuclear U.S.P.), dietilenoglicol (Nuclear P.A.) e propilenoglicol (Synth P.A.).

3.3 Caracterização da Matéria-prima

As análises físico-químicas e bromatológicas da fécula de mandioca foram realizadas no Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT)/UNESP e as do glúten de

trigo no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA)/USP, sempre em triplicata.

3.3.1 Umidade

Para determinação do teor de umidade pesou-se aproximadamente 1 g de amostra em pesa-filtros utilizando-se balança analítica (Scientech SA-210), com precisão de 0,0001 g. Deixou-se em estufa a 105ºC por 24 horas. Após esse período foram pesadas novamente e calculada a umidade (Instituto Adolfo Lutz, 1986).

3.3.2 Cinzas

Foi determinada pela combustão da matéria seca em forno incinerador, a 550°C durante 2 horas (Association of Official Analytical Chemists, 1996).

3.3.3 Matéria graxa

O extrato etéreo foi determinado na matéria seca por extrações com éter de petróleo em aparelho de Soxleth, de acordo com a AOAC (AOAC, 1996).

3.3.4 Proteína

O teor de nitrogênio foi determinado na matéria seca pelo método de Kjeldahl, conforme o descrito pela AOAC (AOAC, 1996). O fator utilizado para conversão do teor de nitrogênio em proteína bruta foi de 6,25.

3.3.5 Fibras

O teor de fibras foi determinado na matéria seca por hidrólise ácida, seguida de hidrólise alcalina segundo a metodologia da American Association of Cereal Chemists (AACC, 1975).

3.3.6 Amido

Foi determinado pelo método de hidrólise enzimática segundo metodologia ISO-6647 (International Organization for Standardization, 1987a). Após a hidrólise do amido, o teor de açúcares redutores foi determinado pelo método de Somogy, adaptado por Nelson (1944). A partir deste resultado calculou-se o teor de amido.

3.3.7 Teor de amilose

O teor de amilose foi quantificado utilizando-se a metodologia ISO-6647 (IOS, 1987b).

3.3.8 Densidade

Foi determinada pelo método de deslocamento de xileno em picnômetro a 25ºC, segundo a técnica descrita por Schoch & Leach (1964). A fécula foi previamente seca em estufa a 105ºC por 24 horas. Essa análise foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP.

3.3.9 Difração de raios X

As amostras foram fixadas em suporte de alumínio e analisadas, a temperatura ambiente, utilizando-se um difratômetro de raios X Rigaku Rotaflex (modelo RU 200 B), operando com filtro monocromático, radiação Ka de cobre, potência de 0,8kW, corrente de 50mA e voltagem de 40kV. O comprimento de onda utilizado foi de 1,5406Å. As análises foram feitas entre $2\theta = 3^o$ e $2\theta = 50^o$, sendo a velocidade de varredura de 1º/minuto. A intensidade foi expressa em contagem de picos por segundo (cps). Essa análise foi realizada no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos/USP.

3.3.10 Viscosidade aparente

A viscosidade aparente da pasta foi determinada em um *Rapid Visco Analyser®* (Newport Scientific, Narabeen, Austrália) no Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq)/USP. As amostras contendo, 0,25, 0,50, 0,75 e 1,00 g de fécula foram dispersas em 25 mL de água destilada, obtendo-se as concentrações de 1, 2, 3 e 4%, respectivamente. A programação de temperatura do viscoamilógrafo foi: manutenção a 50ºC por 1 minuto; seguido de aquecimento de 50ºC a 95ºC, a uma taxa de 6ºC/min.; manutenção a 95ºC por 5 minutos; e resfriamento a 50ºC, a 6ºC/min. O perfil de cozimento da fécula foi avaliado, com a observação do pico de viscosidade máxima, da temperatura de gomificação (empastamento) e da viscosidade final das pastas a 50ºC.

3.3.11 Isotermas de sorção de água

A isoterma de absorção da fécula de mandioca foi determinada, sempre em triplicata, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, utilizando-se o método gravimétrico estático, sob vácuo, segundo método preconizado pelo programa COST 90 (Spies & Wolf, 1983). Atmosferas com

umidades relativas constantes foram obtidas empregando-se soluções salinas saturadas, colocadas em frascos fechados de 0,5 L. Os sais foram escolhidos de maneira a varrer a atividade de água na faixa de 0,11 a 0,93, a 25ºC conforme indicado por Labuza (1983) e AOAC (1996), e ilustrado no Quadro 5.

Quadro 5: Atividade de água das soluções salinas saturadas a 25 ºC.

Sal	**Atividade de água**
Cloreto de lítio (LiCl)	0,113
Cloreto de magnésio ($MgCl_2$)	0,328
Carbonato de potássio (K_2CO_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
Sulfato de amônio ($(NH_4)_2SO_4$)	0,810
Cloreto de potássio (KCl)	0,843
Cloreto de bário ($BaCl_2$)	0,902

Amostras da ordem de 0,5 g foram pesadas em pesa-filtros de 10 mL previamente tarados, utilizando-se balança analítica (Scientech, AS210, ±0,0001 g), e desidratadas em dessecador a vácuo, a 22ºC, contendo pentóxido de fósforo V (P_2O_5) (Vetec P.A.), por 3 semanas. Após esse período, os pesa-filtros com as amostras foram colocados em frascos contendo as soluções saturadas dos sais. Após o fechamento dos frascos, foi feito vácuo a 53,3 kPa (Tecnal, TE-058) e os mesmos foram colocados em estufa tipo B.O.D com controle de temperatura (±0,2ºC). O equilíbrio foi alcançado após três semanas quando as amostras apresentaram peso constante. A umidade das amostras (%bs) foi determinada em estufa à vácuo (Fanem) a 95ºC, por 48h (AOAC, 1996). O modelo matemático de GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer) foi ajustado aos pontos experimentais de acordo com a Equação 13 (Bizot, 1983):

$$X = \frac{Xm\, C_{GAB}\, K_{GAB}\, Aw}{(1 - K_{GAB}\, Aw)\,(1 + (C_{GAB} - 1)\, K_{GAB}\, Aw)} \qquad (13)$$

onde: Aw é a atividade de água (UR/100); X é a umidade de equilíbrio (g água/100 g matéria seca); Xm é a umidade relativa a monocamada (g água/100 g matéria seca); C_{GAB} é a constante de GAB relacionada a monocamada e K_{GAB} é a constante de GAB relacionada à multicamada.

3.3.12 Análise térmica

As análises calorimétricas foram realizadas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC 2010, TA Instruments) equipado com controlador TA 5000. O instrumento foi calibrado usando indium como padrão e utilizou-se uma cápsula de alumínio vazia como referência. Todas as pesagens foram feitas em balança de precisão (Scientech, SA-210, ±0,0001 g).

Para a determinação da faixa de temperatura de gelatinização da fécula de mandioca, as amostras foram preparadas em cápsulas de alumínio, com 9,7±0,7 mg de amido e 9,5±0,7 mg de água destilada, adicionada com a ajuda de uma micropipeta (Brand), obtendo-se amostras com 57,0±1,1% umidade. As cápsulas hermeticamente seladas foram aquecidas a 5ºC/min e mantidas em estado isotérmico a 60, 65, 70, 75 e 80ºC durante um minuto, sendo resfriadas rapidamente a 0ºC com nitrogênio líquido. Em seguida, procedeu-se a uma segunda varredura entre 0 e 100ºC, sob fluxo de 10 mL de N_2/min, para verificação da cristalinidade residual. Para o cálculo da gelatinização total realizou-se a varredura das amostras não tratadas termicamente.

Para análise da transição vítrea da fécula de mandioca, as amostras foram primeiramente pré-condicionadas na região higroscópica, de maneira análoga à determinação das isotermas de sorção (item 3.2.11), por um período de três semanas. Após esse período, as amostras (9,84±1,18 mg) foram pesadas diretamente em cápsulas de alumínio, seladas hermeticamente e aquecidas a 10ºC/min entre 0 e 250ºC, sob fluxo de 10 mL de N_2/min.

A temperatura de transição vítrea (Tg) foi identificada como a temperatura do ponto médio da mudança de linha de base e a temperatura do pico das endotermas foram consideradas como temperatura de fusão (Tm). A entalpia de gelatinização (ΔH) foi calculada como a área sob o pico endotérmico observado. Todas as propriedades calorimétricas foram calculadas com a ajuda do software Universal Analysis V1.7F (TA Instruments). Todas a análises térmicas foram realizadas em triplicata no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP.

3.3.13 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR)

A fécula de mandioca foi analisada utilizando-se a espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier. A análise das amostras foi realizada empregando-se um espectrofotômetro Perkin-Elmer (Spectrum One) provido de um acessório de reflectância total atenuada (ATR) equipado com um cristal de carbono (diamante). As amostras foram comprimidas a uma pressão elevada e controlada, aumentando o contato com o cristal e consequentemente melhorando a qualidade do espectro. Os espectros de absorção foram coletados no mínimo 3 vezes, tendo sido feitas 20 varreduras em cada repetição. A faixa espectral considerada foi de 4000 a 650 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1}. O teste foi realizado no Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR) da Université des Sciences et Technologie de Lille (USTIL) na França.

3.4 Elaboração dos Biofilmes

Todos os filmes foram preparados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, segundo técnica tipo *casting*, que consiste na desidratação de uma solução filmogênica (SF), aplicada convenientemente em um suporte. O controle de peso da solução filmogênica aplicada ao suporte foi feito em balança semi-analítica (Marte, AS2000, ±0,01 g). A elaboração dos filmes foi dividida em três experimentos.

3.4.1 Filmes de fécula de mandioca

No primeira experimento, estudou-se a influência da espessura sobre as propriedades funcionais dos filmes elaborados apenas com fécula de mandioca, com diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (SF). As SF foram preparadas com 10 (1%), 20 (2%), 30 (3%) ou 40 g de fécula (4%) suspensas em 1 L de água destilada, aquecidas até 70°C, em banho-maria com controle digital de temperatura (Tecnal, TE184), sob agitação constante, e permanecendo nesta temperatura por 1 minuto, para a gelatinização da fécula. Em seguida, de 20 a 70 g de SF foram aplicadas em placas de *Plexiglass* (polimetacrilato de metila) (139,2 cm^2), previamente preparadas, para a obtenção de filmes com diferentes espessuras.

3.4.2 Filmes de fécula de mandioca e glúten

No segundo experimento estudou-se o efeito da concentração de glúten sobre as propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca. Os biofilmes foram preparados a partir de misturas de soluções filmogênicas (SF) de fécula de mandioca e glúten, previamente preparadas.

A SF de fécula de mandioca foi preparada com 2% (p/p) de amido e aquecida até 70°C, sob agitação constante, em banho-maria com controle digital de temperatura (Tecnal, TE184), permanecendo nesta temperatura por 1 minuto. A SF de glúten foi preparada em várias etapas de acordo com metodologia desenvolvida por Gontard (1991). Em uma primeira fase, o sulfito de sódio (0,015 g) foi dissolvido em uma quantidade suficiente de água destilada e adicionado a 7,5 g de glúten para promover a quebra das pontes de dissulfeto de suas proteínas. Os componentes foram misturados com a ajuda de uma espátula até a formação de uma pasta homogênea (ausência de partículas insolúveis). Em uma segunda etapa, etanol absoluto (45 g), glicerina (1,5 g), ácido acético (para ajuste do pH da solução a 4) e água destilada para obter 100 g de solução, foram misturados com a ajuda de um agitador magnético. Em seguida, a SF foi aquecida a 70ºC em banho-maria, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos sob agitação moderada.

As SF foram misturadas de modo a se obter 0, 20, 40, 60, 80 e 100% de glúten. As soluções foram aplicadas em placas de Petri (153,94 cm^2), de modo a se obter peso da matéria seca constante em torno de 8 mg/cm^2.

3.4.3 Filmes de fécula de mandioca plastificados com polióis

No terceiro experimento estudou-se o efeito do tipo e do teor de plastificantes sobre as propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca. As SF foram preparadas com 2 g de fécula/100 g de água destilada e 10, 15, 20 e 25 g de plastificante/100 g de amido, aquecidas até 70°C, em banho-maria com controle digital de temperatura (Tecnal, TE184) sob agitação constante, permanecendo nesta temperatura por 1 minuto. Em seguida, 60 g da SF foram aplicadas em placas de *Plexiglass* (139,2 cm^2). Os plastificantes testados foram glicerina, sorbitol, dietilenoglicol e propilenoglicol.

3.5 Secagem e Condicionamento

Todas as SF foram desidratadas em estufa com circulação e renovação de ar (Marconi, MA 037), com controle PI (Proporcional Integral) de temperatura (±0,5ºC), a 30°C e umidade relativa de 55-65%, por 12 a 20 h. Os filmes de fécula de mandioca e de fécula de mandioca com glúten foram condicionados a 75% de umidade relativa (UR) e os filmes de fécula de mandioca com plastificantes a 58% de umidade relativa, em dessecadores contendo solução saturada de NaCl e NaBr, respectivamente, por 6 dias a 22°C, antes de serem caracterizados. Todos os ensaios foram realizados em quadruplicata, em condições climatizada (T = 22°C e 35 e 45% UR).

3.6 Caracterização dos Biofilmes

As caracterizações realizadas para os filmes à base de fécula de mandioca, de mistura de fécula de mandioca e glúten e de fécula de mandioca plastificado com polióis encontram-se descritas no Quadro 6. A maioria das análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP.

Quadro 6: Análises realizadas para os diferentes biofilmes.

Análises	**Filmes**		
	Fécula	Fécula/glúten	Fécula e plastificante
Análise microscópica	X	X	
Difração de raios X	X		
Isotermas de sorção de água	X		
Análise térmica	X		X
Espessura	X	X	X
Umidade	X	X	X
Solubilidade em água	X		
Propriedades mecânicas			
perfuração	X	X	X
tração	X	X	X
relaxamento de tensão	X		
análise mecânica dinâmica	X		
Propriedades de barreira			
permeabilidade ao vapor de água	X	X	
permeabilidade ao O_2			X
Propriedades óticas	X	X	X
Análise por infravermelho	X	X	

3.6.1 Análises microscópicas

3.6.1.1 Microscopia óptica

Esta análise foi realizada no Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR) da Université des Sciences et Technologie de Lille (USTIL) na França. Os filmes foram montados em lâminas de vidro e observados utilizando-se um microscópio óptico Olympus BX40.

3.6.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

A microestrutura dos filmes foi analisada através de um microscópio eletrônico de varredura (Phillips 515) no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências/UNESP. As amostras foram desidratadas em estufa com circulação forçada, por 24 horas, montadas sobre suportes de alumínio e recobertas com películas de ouro (40-50 nm).

3.6.2 Difração de raios X

As amostras foram analisadas de acordo com a metodologia descrita no item 3.3.9.

3.6.3 Isotermas de sorção de água

Para determinação da isoterma de sorção dos filmes de fécula de mandioca, utilizaram-se filmes elaborados com solução filmogênica a 2% (p/v) e com espessura de 0,033 mm. Amostras da ordem de 0,13±0,04 g (Scientech, AS-210, ±0,0001 g) foram pesadas em pesa filtros de 10 mL, previamente tarados, e desidratadas em dessecador a

vácuo a 22ºC contendo P_2O_5 por 3 semanas. A metodologia aplicada foi a mesma descrita no item 3.3.11.

3.6.4 Análise térmica

3.6.4.1 Filmes de fécula de mandioca

Os filmes de fécula de mandioca submetidos a isoterma de sorção (item 3.6.3) foram analisados térmicamente. Amostras da ordem de 6,87±2,44 mg foram pesadas, em balança de precisão (Scientech, SA-210, ±0,0001 g), diretamente em cápsulas de alumínio, seladas hermeticamente e aquecidas a 10ºC/min entre 0ºC e 250ºC, sob fluxo de 10 mL de N_2/min.

3.6.4.2 Filmes de fécula de mandioca plastificados com polióis

Amostras da ordem de 11,89±0,95 mg foram pesadas, em balança de precisão (Ohaus, ANP-250D, ±0,00001 g), diretamente em cápsulas de alumínio e condicionados a 22°C e 58% de umidade relativa, em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, por 6 dias. Após este período as panelas foram hermeticamente seladas e aquecidas a 10ºC/min entre -150 e 250ºC, sob fluxo de 10 mL de N_2/minuto.

3.6.5 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com micrômetro digital (±0,001 mm), com sensor de medida de 6,4 mm de diâmetro em nove pontos diferentes, considerando-se a espessura do filme como a média entre as nove leituras.

3.6.6 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes foi determinada segundo o método proposto por Gontard *et al.* (1992). Foram retiradas duas amostras com 2 cm de diâmetro, de umidade conhecida, pesadas e mergulhadas em 50 mL de água destilada. O sistema foi agitado lentamente por uma mesa agitadora orbital (Marconi MA-141) por 24 horas, a 25°C. Após este período as amostras foram retiradas da água e secas (105°C por 24h) para determinar o peso do material que não foi solubilizado. A solubilidade foi expressa pela porcentagem de material seco solubilizado através da Equação 14:

$$\%MS = \frac{PI - PF}{PI} x\,100 \qquad (14)$$

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

3.6.7 Avaliação das propriedades mecânicas

Todos os testes mecânicos foram realizados com um instrumento de medidas físicas TA.XT2*i* (Stable Micro Systems) em sala climatizada (T=22°C e 35-45% UR). Os resultados dos testes foram analisados com o programa Texture Expert V.1.15 (Stable Micro Systems).

3.6.7.1 Teste de perfuração

A força e a deformação na ruptura foram determinadas em testes de perfuração, segundo metodologia difundida na literatura (Gontard *et al.*, 1992; Cuq *et al.*, 1996a; Sobral, 1999). Os filmes foram fixados em célula com 52,6 mm de diâmetro de abertura e perfurados por uma sonda de 3 mm de diâmetro, deslocando-se a 1 mm/s. A força (F), expressa em N, e o deslocamento (D) da sonda na ruptura, expresso em mm, foram

obtidos diretamente das curvas de força em função do deslocamento. A deformação na ruptura ($\Delta l_o/l_o$) foi calculada utilizando-se a Equação 1 (Gontard *et al.*, 1992).

3.6.7.2 Teste de tração

A tensão e deformação na ruptura e o módulo de elasticidade foram determinados baseando-se no método padrão D 828-95a da American Society for Testing and Materials (ASTM, 1995). Os filmes foram cortados em tiras com 15 mm de largura e 100 mm de comprimento e fixados no aparelho. A distância inicial (l_o) entre as garras foi de 80 mm e a velocidade de tração foi de 0,9 mm/s. A tensão na ruptura, calculada através da relação entre a força e a área da seção transversal inicial do filme, e a deformação na ruptura, considerada como deformação linear [$(l - l_o)/l_o$)], foram determinadas diretamente da curva de tensão contra deformação. O módulo de elasticidade foi calculado como sendo a inclinação da região linear da curva de tensão em função da deformação (Figura 13).

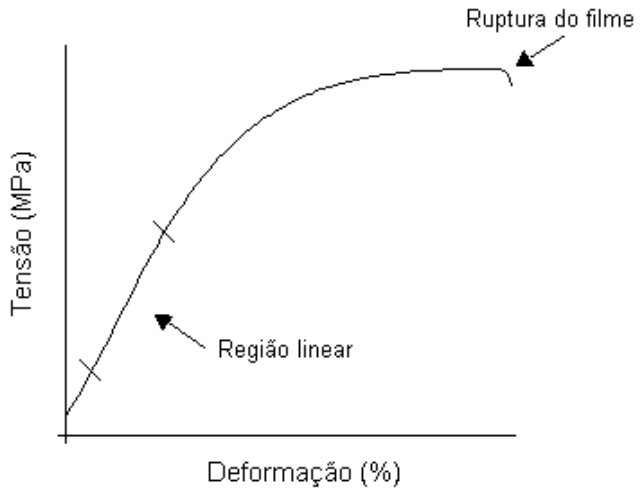


Figura 13: Curva de tensão *vs* deformação obtidas em teste de tração.

3.6.7.3 Teste de relaxamento de tensão

As propriedades viscoelásticas dos filmes foram determinadas segundo técnica estática. Os corpos de provas, filmes de 15 mm x 100 mm, foram tracionados a 0,9 mm/s, com separação inicial de 80 mm, até atingir uma deformação de 1%, que foi mantida constante durante 70 segundos. A tensão necessária para a manutenção dessa deformação foi monitorada por um computador, em tempo real (Gontard *et al.*, 1992; Cuq *et al.*, 1996b; Chandra & Sobral, 2000).

A partir dos resultados do teste de relaxamento de tensão pode-se obter vários tipos de tratamentos para os dados, entre eles tem-se a determinação do coeficiente de relaxamento e a determinação dos coeficientes de elasticidade e de viscosidade. Neste caso, o modelo utilizado no tratamento dos dados estabelece as propriedades viscoelásticas.

O coeficiente de relaxamento (Y) foi calculado utilizando-se a Equação 15 (Peleg, 1979). Onde T_0 e T_1 são as tensões no início e após 70 segundos de relaxamento, respectivamente (Figura 14).

$$Y = \frac{T_0 - T_1}{T_0} \qquad (15)$$

O coeficiente de relaxamento (Y) pode variar entre 0 (T_1=T_0), para um filme perfeitamente elástico, e 1 (T_1=0) para um filme viscoso.

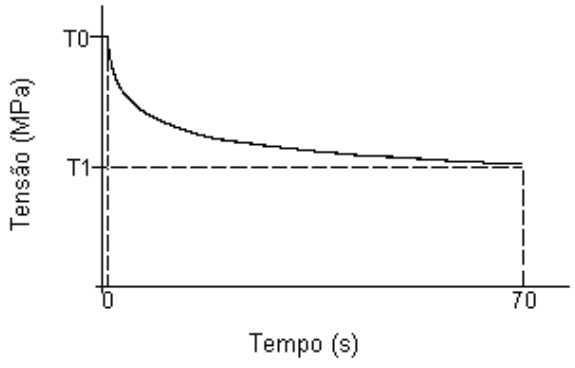


Figura 14: Curva tensão *vs* tempo obtidas em teste de relaxamento.

Os módulos de elasticidade (Yi) e os coeficientes de viscosidade (ηi) foram calculados por ajuste da Equação 16, do modelo de Burges, aos dados da curva de tensão versus tempo (Figura 14), através do programa computacional desenvolvido por Chandra & Sobral (2000).

$$s\,(t) = \frac{e_0}{A}\left[(q_1 - q_2 r_1)e^{-r_1 t} - (q_1 - q_2 r_2)e^{-r_2 t}\right] \qquad (16)$$

onde,

$$r_1 = \frac{p_1 - A}{2p_2}; \quad r_2 = \frac{p_1 + A}{2p_2}; \quad e \quad A = \sqrt{p_1^2 - 4p_2}$$

Cada replicata do teste envolveu mais de 18.000 pares (tensão e tempo) de dados. Para contornar este problema, Chandra & Sobral (2000) desenvolveram um macro no Visual Basic para Excell 2000, reduzindo o número de pares de dados para 18, sendo que o valor de cada par, correspondia a média de 100 pontos colhidos para cada ponto mantendo-se assim a precisão. Os novos dados obtidos foram ajustados ao modelo de Burgers (Equação 16) através do programa *Statistica* (versão 5.0). Conhecendo-se então os parâmetros da equação, a Macro calculou os parâmetros de viscoelasticidade através das Equações 17 a 20:

$$\mathrm{Y}_1 = \frac{\mathrm{q}_2}{\mathrm{p}_2} \qquad (17)$$

$$\mathrm{Y}_2 = \frac{\mathrm{Y}_1 \eta_1^2}{\mathrm{p}_1 \mathrm{Y}_1 \eta_1 - \eta_1^2 - \mathrm{q}_2 \mathrm{Y}_1} \qquad (18)$$

$$\eta_2 = \frac{\mathrm{q}_2 \mathrm{Y}_2}{\eta_1} \qquad (19)$$

$$?_1 = \mathrm{q}_1 \qquad (20)$$

onde:

Y_1 = módulo de elasticidade (MPa) da mola do elemento de Maxwell;

Y_2 = módulo de elasticidade (MPa) da mola do elemento de Kelvin;

η_1 = coeficiente de viscosidade (MPa.s) do amortecedor do elemento de Maxwell;

η_2 = coeficiente de viscosidade (MPa.s) do amortecedor do elemento de Kelvin

3.6.7.4 Análise mecânica dinâmica

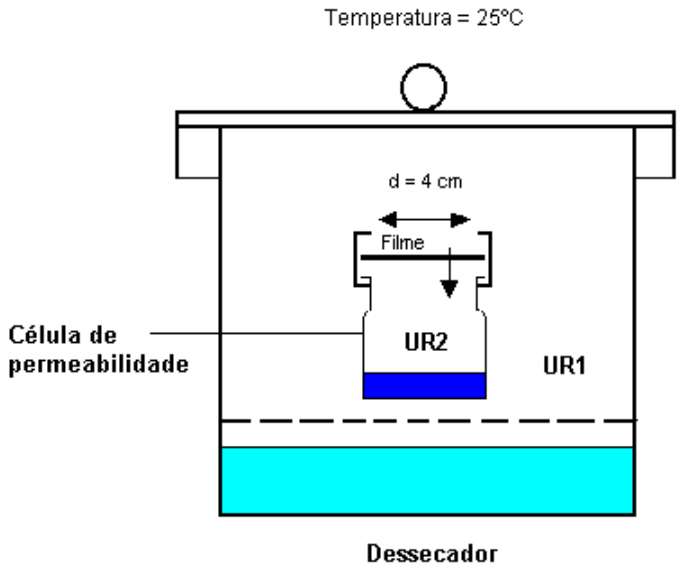
As propriedades viscoelásticas dos filmes também foram caracterizadas utilizando-se um analisador mecânico dinâmico (DMA 2980, TA Instruments) equipado com controlador TA 5000. Os filmes foram cortados em tiras de 5 x 30 mm, fixados no aparelho e submetidos a uma varredura de freqüências de 200 Hz a 0,01 Hz, com amplitude de 15 μm entre picos, sob temperatura constante (30ºC) e fluxo de 1180 mL de N_2/min. Para o estudo do efeito da espessura nas propriedades viscoelásticas, os resultados, módulo de armazenamento (E'), módulo de perda (E") e tangente do ângulo de fase (tan δ = E"/E'), foram analisados a freqüência de 1 Hz com a ajuda do *software* Universal Analysis V1.7F (TA Instruments).

3.6.8 Avaliação das propriedades de barreira

3.6.8.1 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente, segundo método proposto por Gontard (1991), baseado no teste ASTM E96-80 (ASTM, 1989). Os biofilmes foram aplicados em células de permeação (5,0 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) utilizando-se um anel perfurado com 4 cm de diâmetro e silicone, de modo a garantir que a migração de umidade ocorresse exclusivamente através do filme. O interior da célula foi parcialmente preenchido com sílica gel (4,0 cm de altura

aproximadamente). As células foram colocadas em dessecadores contendo água destilada pura (UR=100%), onde o vapor de água transferido através do filme foi absorvido pela sílica gel (Figura 15).



Solução 1: água destilada

Solução 2: dessecante (sílica gel)

UR1 Umidade relativa dentro do dessecador mantida pela solução 1

UR2 Umidade relativa dentro da célula de permeabilidade mantida pela solução 2

↓ Transporte de vapor de água através do filme

UR1 > UR2

Figura 15: Esquema do dispositivo utilizado para o cálculo da permeabilidade do vapor de água.

O peso da célula foi determinado diariamente em uma balança semi-analítica (Marte, AS2000, ±0,01 g), durante 8 dias. Inicialmente calculou-se a taxa de permeabilidade ao vapor de água (Tva), com a Equação 21:

$$\text{Tva} = \frac{g}{tA} \tag{21}$$

onde, *A* é a área de permeação (12,56 cm^2). O termo *g/t* foi calculado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e o tempo, no regime constante. Em seguida, a permeabilidade ao vapor de água (Pva) foi calculada utilizando-se a Equação 22:

$$\text{Pva} = \frac{g}{tA}\frac{X}{\Delta p} \tag{22}$$

onde, *X* é a espessura média dos filmes, *Dp* é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (0) e contendo água pura (3,16746 kPa, a 25ºC).

3.6.8.2 Permeabilidade ao oxigênio

A taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2) foi determinada por método coulométrico, segundo procedimento descrito na norma ASTM F 1927 com o auxílio do aparelho de transmissão de oxigênio do tipo OX-TRAN (Modern Company Inc., 2/20), operando com oxigênio puro como gás permeante a 23ºC e 60% UR, no Centro de Tecnologia de Embalagens/ITAL. A área efetiva de permeação de cada amostra foi de 5 cm^2. A taxa de permeabilidade ao oxigênio foi obtida diretamente por leitura no equipamento e corrigidos para 1 atm de gradiente de pressão parcial de oxigênio. A permeabilidade ao oxigênio (PO_2) foi calculada pela Equação 23:

$$\text{PO}_2 = \frac{TPO_2\ X}{p} \tag{23}$$

onde:

PO_2 = Permeabilidade ao oxigênio ($cm^3.mm/m^2.s.Pa$)

TPO_2 = taxa de permeabilidade ao oxigênio ($cm^3/m^2.s$)

X = espessura do filme (mm)

p = pressão parcial do oxigênio na câmara de teste (Pa)

3.6.9 Propriedades óticas

3.6.9.1 Cor

A cor dos biofilmes foi medida por meio dos padrões HunterLab: L, variando de 0 (preto) a 100 (branco); a, do verde (-) ao vermelho (+); b, do azul (-) ao amarelo (+) (Figura 16) utilizando-se um colorímetro Miniscan XE (HunterLab) trabalhado com D_{65} (luz do dia) e ângulo visual de 10º. Os biofilmes foram aplicados na superfície de uma placa branca padrão e os padrões L, a e b foram medidos e transferidos em tempo real, para um microcomputador. A diferença de cor (ΔE) foi calculada pela Equação 24 (Gennadios *et al.*, 1996).

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_s)^2 + (a - a_s)^2 + (b - b_s)^2} \qquad (24)$$

onde L_s (93,31), a_s (-0,79), b_s (1,99) são os padrões da placa branca padrão.

Figura 16: Esquema do sólido de cores proposto pela HunterLab.

3.6.9.2 Opacidade

A opacidade dos filmes foi determinada segundo método HunterLab (Sobral, 2000a), utilizando-se o mesmo aparelho das medidas de cor. A opacidade (Y) da amostra foi calculada como a relação entre a opacidade da amostra colocada sobre o padrão preto (Yp) e a opacidade da amostra colocada sobre o padrão branco (Yb), conforme a Equação 25.

$$Y = \frac{Yp}{Yb} \times 100 \qquad (25)$$

O cálculo da opacidade foi realizado automaticamente no microcomputador, pelo programa Universal Software 3.2 (Hunter Associates Laboratory, 1997). A opacidade assim medida (entre 0 e 100%), apresenta escala arbitrária.

3.6.10 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e análise quimiométrica

Os filmes foram analisadas de acordo com a metodologia descrita no item 3.3.13. O teste foi realizado em duplicata sendo realizadas três leituras em diferentes pontos de cada filme.

3.6.10.1 Tratamento dos dados

Os espectros foram convertidos em arquivos numéricos (jcamp.dx) e analisados empregando-se o *software The Unscrambler®* versão 7.5 da CAMO (Computer Aided Modelling, Trondheim, Norway).

Para os filmes de fécula de mandioca todos os espectros foram normalizados em função da intensidade máxima. Para eliminar as variações da linha de base

foi feita a primeira derivada dos espectros e para evitar um aumento no ruído do sinal durante a derivação, foi feita uma média móvel de 5 pontos utilizando-se o algoritmo desenvolvido por Savitzky & Golay (1964).

Os espectros dos filmes fécula/glúten foram analisados sem nenhum tratamento prévio.

3.6.10.2 Análise por componentes principais (ACP)

Os dados foram previamente centrados na média e a seguir analisados através da Análise de Componentes Principais (ACP) com o objetivo de observar as diferenças entre as amostras e as variáveis que contribuíram para essa diferença (Millar *et al.*,1996). A ACP, que é uma análise qualitativa, consiste em uma transformação da matriz de dados com o objetivo de tentar agrupar aquelas variáveis que estão altamente correlacionadas numa nova variável chamada componente principal (CP). As CP são obtidas em ordem decrescente de quantidade de informação estatística que descrevem, ou seja, a primeira CP descreve a maior variação dos dados; a segunda, que é ortogonal à primeira, descreve a maior variação restante dos dados e assim por diante (Martens & Naes, 1989; Morgano *et al.*, 1999).

Na prática, a ACP é efetuada por meio de dois tipos de gráficos, os escores e os *loadings* ou pesos. O primeiro apresenta a distribuição das amostras no novo sistema de eixos, permitindo avaliar semelhanças e correlações entre as amostras. O segundo representa a contribuição de cada variável para a construção dos eixos, isto é, indicam quais variáveis foram mais importantes para a separação das amostras nos grupos (Sarmento *et al.*, 1999).

3.6.10.3 Regressão por quadrados mínimos parciais (Partial Least Square - PLS)

Para tentar correlacionar os espectros infravermelho obtidos com as propriedades funcionais dos filmes previamente determinadas, realizou-se a construção dos Modelos de Calibração Multivariados através da metodologia denominada regressão por

Quadrados Mínimos Parciais (PLS) (Martens, 1979; Fuller & Griffiths,1978; Haaland & Thomas, 1988) o qual representa um método de mínimos quadrados inverso, sendo esta um análise quantitativa.

A etapa de construção do modelo de calibração começa com a seleção de um conjunto de amostras que serão os padrões (conjunto de calibração) utilizados na construção de um modelo apropriado para relacionar aos espectros com as propriedades funcionais dos filmes. A avaliação da performance de calibração foi estimada pelo cálculo da raiz quadrada do erro padrão de calibração (RMSEC) (Equação 26):

$$\mathrm{RMSEC} = \sqrt{\left(\frac{\sum_{i=1}^{N} (C_i - C_i^{'})^2}{N - 1 - P} \right)} \qquad (26)$$

onde, C_i é o valor conhecido da amostra de calibração, C'_i é o valor calculado pela equação de calibração, N é o número de amostras do conjunto de calibração e P é o número de variáveis independentes na regressão. O RMSEC foi expresso na unidade de referência. Um RMSEC pequeno é necessário, mas não suficiente para validar o modelo.

Sendo assim, é necessário passar para a próxima etapa do processo de calibração: a validação do modelo de calibração, onde determinou-se a raiz quadrada do erro padrão de predição (RMSEP) (Equação 27) o qual dá uma estimativa da performance da predição dos dados durante o estágio de validação do modelo de calibração.

$$\mathrm{RMSEP} = \sqrt{\left(\frac{\sum_{i=1}^{M} (C_i - C_i^{'})^2}{M - 1} \right)} \qquad (27)$$

onde, M é o número de amostras usada no arquivo de predição (Dupuy *et al.*, 1994).

Foi calculado também o erro relativo de acordo com a Equação 28:

$$\text{Erro } \% = \frac{\text{RMSEP}}{\text{Média}} x\, 100 \qquad (28)$$

3.6.10.4 Otimização do modelo

Sendo o RMSEP um desvio padrão, o $(\text{RMSEP})^2$ pode ser considerado como uma variância e analisado pelo teste de Fisher-Snedecor. Sendo assim, foi possível determinar se um RMSEP foi significativamente melhor que outro RMSEP através da Equação 29.

$$F = \frac{(\text{RMSEP})^2}{(\text{RMSEP})^2_{\ 0}} < F_{\text{tabelado}} \qquad (29)$$

Considerando-se que $(\text{RMSEP})^2$ é maior que $(\text{RMSEP})^2_0$, se $F < F_{\text{tabelado}}$ não há diferença significativa entre os valores, no nível de significância de 10% (Bauer *et al.*, 2000).

3.7 Análise Estatística

O trabalho foi realizado em três etapas, onde cada fase apresentou variáveis independentes e dependentes distintas, como descritas a seguir:

I - Filmes fécula de mandioca

Variáveis independentes: espessura (0,017 a 0,156 mm).

Variáveis dependentes: umidade, solubilidade, força na ruptura, deformação na ruptura, tensão na ruptura, deformação na ruptura, módulo de elasticidade, coeficiente de relaxamento, coeficientes de viscosidade, módulos de elasticidade, módulo de armazenamento, módulo de perda, tangente

do ângulo de fase, taxa de permeabilidade ao vapor de água, permeabilidade ao vapor de água, diferença de cor, croma a, croma b, luminosidade e opacidade.

II - Filmes de fécula de mandioca e glúten

Variáveis independentes: concentração de glúten (0, 20, 40, 60, 800 e 100%)

Variáveis dependentes: umidade, força na ruptura, deformação na ruptura, tensão na ruptura, deformação na ruptura, módulo de elasticidade, diferença de cor, croma a, croma b, luminosidade e opacidade.

III - Filmes de fécula de mandioca plastificados com polióis

Variáveis independentes: tipo (glicerina, sorbitol, dietilenoglicol e propilenoglicol) e concentração (10, 15, 20 e 25%) de plastificantes.

Variáveis dependentes: umidade, força na ruptura, deformação na ruptura, tensão na ruptura, deformação na ruptura, módulo de elasticidade, diferença de cor e opacidade.

As regressões lineares (Y = A + BX) e não lineares foram realizadas com o *software Microcal OriginÒ* versão 6 (Microcal Software, Inc., Northampton, MA, USA), com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da Fécula de Mandioca

Cada amido é único em termos de organização dos grânulos e estrutura de seus constituintes poliméricos. Sendo assim, tornou-se necessário o conhecimento das propriedades químicas, físicas e funcionais da fécula de mandioca utilizada neste estudo.

4.1.1 Propriedades físico-químicas

Conforme a origem botânica ou método de extração, o amido pode apresentar pequenas proporções de lipídeos, proteínas, fibras e minerais. A quantificação destes itens indica o grau de pureza do amido. Os resultados da análise química da fécula de mandioca estão apresentadas no Quadro 7.

Quadro 7: Composição físico-química da fécula de mandioca "Flor de Lótus".

Análises	Teores
Umidade	14,86 ± 0,05%
Amido	87,60 ± 0,66%
Amilose	16,02 ± 0,01%
Açúcares redutores	0,21 ± 0,04%
Fibras	0,52 ± 0,02%
Matéria graxa	0,15 ± 0,00%
Cinzas	0,23 ± 0,01%
Proteína	0,24 ± 0,01%

O teor de umidade da fécula foi de 14,86% (bu) resultado ainda adequado ao armazenamento, embora esteja acima do valor máximo estipulado pela Legislação Brasileira (Brasil, 1978) que é de 14%p/p.

A fécula apresentou 87,60% de amido, valor esse superior ao valor mínimo recomendado pela Legislação (Brasil, 1978) e aos obtidos em extração de laboratório por Bermudez, citado por Franco *et al.* (2001), de 80,0% e 82,5%, respectivamente. O teor de amilose (16,02%) está de acordo com os resultados descritos na literatura, onde Ketiku & Oyenuga (1972) e Asaoka *et al.* (1991) encontraram teores de amilose entre 16% e 20% para a fécula de mandioca.

A somatória dos teores de substâncias acompanhantes ficou em torno de 1,14% do peso da fração amido, indicando que o produto apresentou grau de pureza adequado. Os valores de matéria graxa, cinzas e proteínas foram semelhantes aos obtidos por Swinkels (1985) para fécula comercial.

O valor de densidade encontrado para fécula foi de 1,46 g/cm^3, resultado este bastante próximo aos obtidos por Giacometto (1984) e Sarmento (1997), que foram de 1,53 g/mL e 1,52 g/mL, respectivamente.

A fécula de mandioca comercial utilizada neste trabalho está de acordo com os padrões exigidos pela Legislação (Brasil, 1978).

4.1.2 Difração por raios X

Os grânulos de amido, por serem parcialmente cristalinos, proporcionam padrões específicos de difração de raios X. Os padrões de cristalinidade são definidos com base nos espaços interplanares e na intensidade relativa das linhas de difração do raios X (Zobel, 1964). O difratograma de raios X dos grânulos de fécula de mandioca pode ser observado na Figura 17. A fécula apresentou seis picos principais em torno dos ângulos de difração de 11, 15, 17, 18, 20 e 23º, picos estes característicos dos grânulos de estrutura tipo A. A presença de um pico fraco ao redor do ângulo de difração de 5,5º é atribuída ao tipo de cristalinidade B (Mestres, citado por Franco *et al.*, 2001). Este pico fraco, junto a um pico mais intenso aos 17º, permite a classificação dessa fécula dentro do tipo A-b, denominados por Kawabata *et al.* (1984) como C_A (C com proximidade ao A). Estes resultados estão de acordo com Sarmento (1997) que observou o mesmo padrão de cristalinidade para fécula de mandioca. Já Gunaratne & Hoover (2002) e Defloor *et al.* (1998) observaram padrão de cristalinidade do tipo A para a fécula de mandioca extraída em laboratório. Essa diferença no padrão de cristalinidade pode estar relacionada com a umidade da amostra, ou ainda com as diferenças nas condições climáticas e na composição do solo durante o desenvolvimento da planta (Rosenthal, citado por Sarmento, 1997).

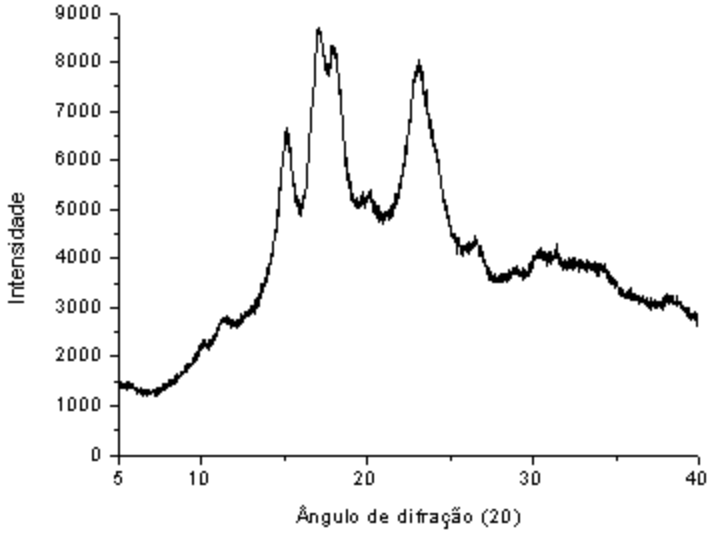


Figura17: Difratograma de raios X de grânulos de fécula de mandioca.

4.1.3 Viscosidade aparente

As mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelatinização e a retrogradação são os principais determinantes do comportamento da pasta desses amidos, as quais têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento das suspensões de amido. Essas mudanças são mais facilmente observadas através de uma curva elaborada em condições padronizadas de temperatura onde se registra a variação da viscosidade em relação a variação da temperatura e tempo.

Quando os grânulos de amido são aquecidos em excesso de água começam a inchar, tendo-se então, um aumento acentuado na viscosidade. Atingido o pico máximo os grânulos rompem e a viscosidade diminui. A Figura 18 apresenta os viscoamilogramas RVA (Rapid Visco Analyser®) da fécula de mandioca, obtidos em água destilada, em quatro concentrações.

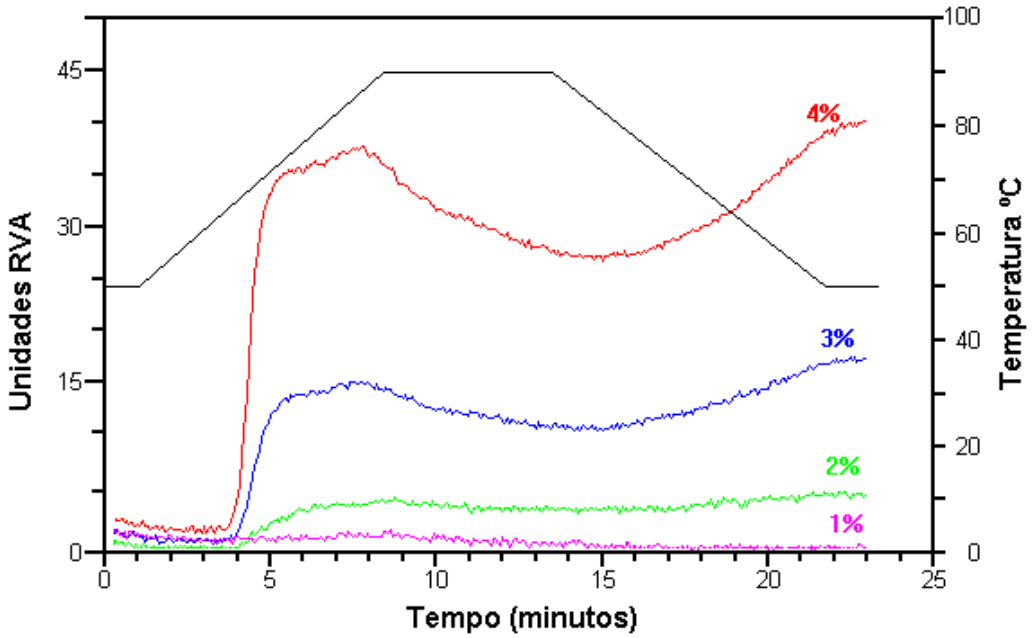


Figura 18: Viscoamilograma (RVA) de fécula de mandioca em água destilada em diferentes concentrações (? 1% ? 2% ? 3% ? 4% ? temperatura).

Pode-se observar na Figura 18 que a suspensão com concentração a 1% apresentou viscosidade tão baixa que não foi detectada pelo equipamento. Isso ocorreu provavelmente, em função do sistema ser muito diluído não sendo o choque entre os grânulos detectado. A suspensão a 2% apresentou viscosidade máxima de 3,92 unidades RVA, mantendo-se constante. Já as suspensões com concentrações de 3 e 4 % mostraram-se instáveis ao cozimento, apresentando um pico de viscosidade máxima e um rápido decréscimo de viscosidade, o que é típico das féculas (Schoch & Maywald, 1968).

Ao serem resfriadas até 50ºC, as pastas com concentrações de 3% e 4% apresentaram elevação da viscosidade, indicando tendência à retrogradação, ou seja, ao estabelecimento de novas ligações intermoleculares.

A temperatura de empastamento, ou seja, aquela na qual a viscosidade começa a aumentar no viscoamilograma (Mestres & Rouau, citados por Demiate, 1999), está apresentada no Quadro 8. Observa-se que a concentração das suspensões influenciou a temperatura de empastamento. As suspensões menos concentradas apresentaram temperatura cada vez maior.

Quadro 8: Viscosidade máxima, temperatura de empastamento e viscosidade final a 50ºC, obtidos a partir do viscoamilograma das amostras da fécula de mandioca.

	Concentração		
	2%	**3%**	**4%**
Viscosidade máxima (Unidades RVA)	3,92	15,08	37,75
Temperatura de empastamento (ºC)	67,25	66,40	65,15
Viscosidade a 50ºC (Unidades RVA)	4,08	17,33	40,25

4.1.4 Isotermas de sorção de água

A água atua como um plastificante nos materiais à base de amido, modificando sua estrutura cristalina. Sendo assim, torna-se importante conhecer a relação entre a umidade do meio e o conteúdo de água das amostras de fécula de mandioca, que pode

ser conseguido através da determinação das isotermas de sorção. No caso do amido, considera-se que os sítios de ligação com a água são os grupos hidroxila, e seus átomos de oxigênio, no interior das moléculas de glicose (Wootton & Bamunuarachchi, citado por Sarmento, 1997).

A isoterma de sorção a 25ºC (Figura 19) evidenciou a natureza hidrofílica do amido, apresentando forma sigmoidal o que permite classificá-la como sendo do tipo II (Labuza, 1968). Esse tipo de isoterma é típico de polímeros hidrofílicos de alto peso molecular e da maioria dos alimentos com alto teor de amido ou proteínas (Billiaderis *et al.*, 1999). Esses resultados permitiram estabelecer uma região higroscópica abaixo da umidade de 30 g de água/100g de matéria seca.

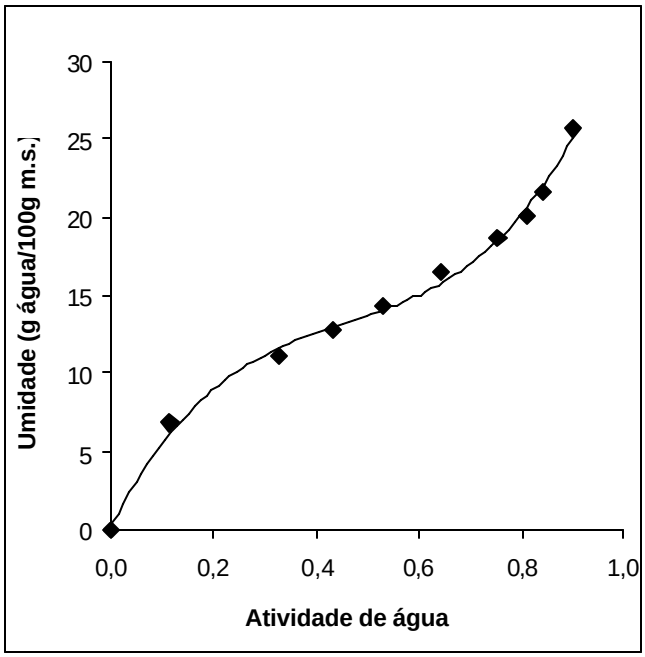


Figura 19: Isotermas de absorção de fécula de mandioca a 25ºC.

As curvas sigmoides observadas neste trabalho, assemelham-se às obtidas para amido de trigo, a 25ºC (Hartley *et al.*, 1995), porém, o amido de trigo apresentou umidade de equilíbrio abaixo de 50% (bs) para a mesma faixa de atividade de água. Sendo assim, pode-se considerar a fécula de mandioca como de baixa higroscopicidade, pois a umidade de equilíbrio só ultrapassou 20% (bs) em alta atividade de água (>0,8).

A curva apresentada na Figura 19 foi obtida por ajuste não linear da equação de GAB aos pontos experimentais. Os parâmetros da equação são apresentados no Quadro 9, tendo-se obtido um bom ajuste ($R^2 \geq 0,99$). Ainda neste mesmo Quadro, comparando-se os parâmetros do modelo de GAB de outros biopolímeros, observa-se que a fécula foi mais higroscópica que as proteínas miofibrilares e a gelatina de couro bovino, apresentando maior umidade da monocamada. Entretanto, a fécula apresentou valor da umidade da monocamada muito próximo ao da gelatina de pele suína.

Quadro 9: Valores das constantes da equação de GAB para vários biopolímeros.

Produto	Aw	T (ºC)	Xm (%bs)	C_{GAB}	K_{GAB}	R^2	Tipo	Fonte
Fécula de mandioca	0,11-0,90	25	9,41	26,01	0,70	0,996	II	presente trabalho
Amido de batata		25	8,77	11,85	0,85	0,999	II	Bizot *et al.* (1997)
Proteína miofibrilar de tilápia-do-Nilo	0,11-0,75	25	6,83	15,09	0,84	1,000	II	Monterrey-Quintero (1998)
Gelatina de couro bovino	0,11-0,84	25	8,79	59,61	0,86	0,993	II	Sobral (2000b)
Gelatina de pele suína	0,11-0,84	25	9,26	20,30	0,81	0,996	II	Sobral & Habitante (2001)

4.1.5 Análise Térmica

O aquecimento de suspensões de amido em excesso de água (>60% bu) causa uma transição de primeira ordem, irreversível, denominada gelatinização, que corresponde ao rompimento, expansão e hidratação da estrutura granular e ainda solubilização das moléculas de amido. Esta transição pode ser caracterizada por uma endoterma obtida através de calorimetria diferencial de varredura (DSC).

Na Figura 20 está apresentado termograma das amostras de fécula de mandioca com umidade intermediária (57±1,1%) com diferentes tratamentos de temperatura para verificação da gelatinização total do amido. Nas curvas de DSC da amostra não tratada termicamente (controle) e nas amostras aquecidas a 60ºC, observam-se duas endotermas. Esse comportamento foi observado por vários autores para amido de batata, milho, leguminosas, arroz e mandioca (Donovan, 1979; Biliaderis *et al.*, 1980; Biliaderis *et al.*, 1986; Garcia *et al.*,

1997, Defloor *et al.*, 1998). Várias interpretações controversas foram propostas para explicar a presença destes dois eventos térmicos. Alguns autores (Donovan, 1979; Evans & Haisman, 1982; Liu *et al.*, 1991), atribuem a existência das duas transições a um processo de desorganização parcial que acontece devido a heterogeneidade na distribuição da água. Uma segunda hipótese sugere uma fusão parcial, seguida por uma reorganização que ocorreria entre a temperatura de transição vítrea (Tg) e a temperatura de fusão (Tm), e finalmente a fusão da fase cristalina (Biliaderis *et al.*, 1986; Maurice *et al.*, 1985).

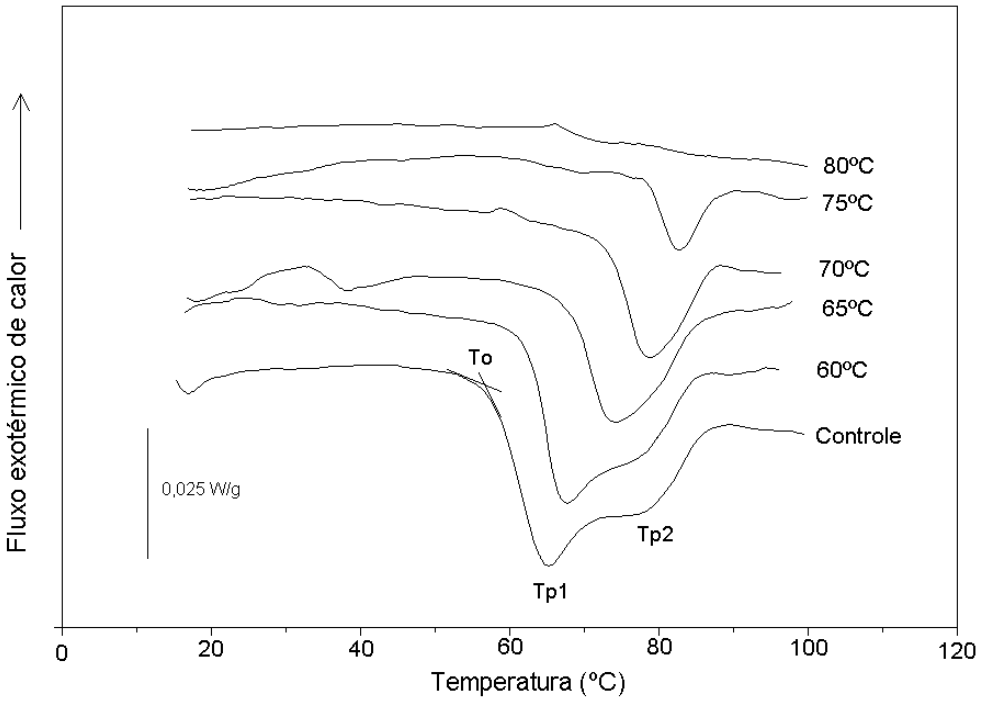


Figura 20: Termograma das análises entalpicas diferencial da fécula de mandioca mantidas em diferentes estados isotérmicos.

Nas amostras aquecidas a 65, 70 e 75ºC, apenas uma endoterma foi observada nas respectivas curvas de DSC. Constata-se, ainda na Figura 20, a existência de um resíduo de cristalinidade nas amostras aquecidas a 70 e mesmo a 75ºC. Entretanto, nas amostras aquecidas a 80ºC o pico endotérmico desapareceu, significando que nessa temperatura o amido foi totalmente gelatinizado. As temperaturas inicial (To) e de pico (Tp), estão apresentadas no Quadro 10, onde nota-se que as To e Tp aumentaram e a entalpia (ΔH)

associada com a fusão da fase cristalina diminuiu com o incremento da temperatura de tratamento.

Quadro 10: Temperaturas características das endotermas obtidas por DSC da fécula de mandioca em diferentes estados isotérmicos*.

Tratamento**	**Parâmetros do DSC**			
(ºC)	**To (ºC)**	**Tp_1 (ºC)**	**Tp_2 (ºC)**	**DH (J/g amido anidro)**
Controle***	58,1 (0,34)	65,2 (0,14)	77,6 (1,62)	15,4 (0,64)
60	62,0 (0,44)	67,1 (0,35)	77,2 (1,00)	13,0 (0,62)
65	68,1 (0,14)	73,8 (0,57)		6,8 (1,42)
70	73,0 (0,25)	78,2 (0,40)		4,3 (0,92)
75	77,3 (1,25)	81,9 (0,63)		1,5 (0,59)

*média entre triplicatas (desvio padrão). **O termograma da amostra tratada a 80ºC não apresentou nenhum fenômeno. ***Sem tratamento isotérmico

Para a determinação da temperatura de gelatinização total, optou-se por estabelecer a relação entre a cristalinidade residual e a temperatura de tratamento. A cristalinidade residual foi calculada como a relação entre as áreas das endotermas dos tratamentos e a área da endoterma obtida com a amostra não tratada (Equação 30).

$$\text{Cristalinidade residual} = \frac{\Delta H \text{ Tratamento } \times 100}{\Delta H \text{ Controle}} \qquad (30)$$

Pode-se observar na Figura 21 que a cristalinidade residual diminuiu linearmente com a temperatura de tratamento. A partir da extrapolação para cristalinidade nula ($\Delta H=0$) calculou-se a temperatura de gelatinização final da fécula de mandioca, sendo o valor encontrado de 76,16ºC. Valor este muito próximo a Tp_2 (Quadro 10), indicando que a fusão total da fase cristalina da fécula se completa após o segundo pico. Sendo assim, formulando-se filmes com temperatura de gelatinização de 70ºC restaria ainda uma cristalinidade de cerca de 28%.

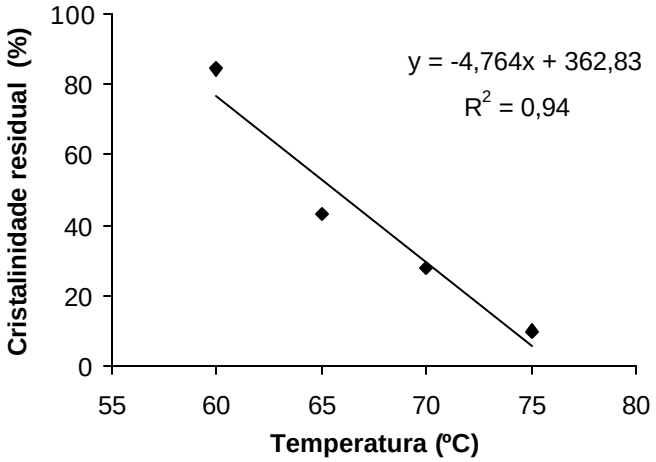


Figura 21: Cristalinidade residual da fécula de mandioca em diferentes estados isotérmicos.

Na Figura 22 estão apresentados os termogramas das amostras de fécula de mandioca condicionadas em absorção entre atividade de água (Aw) de 0,11 a 0,90 por 3 semanas (Quadro 11).

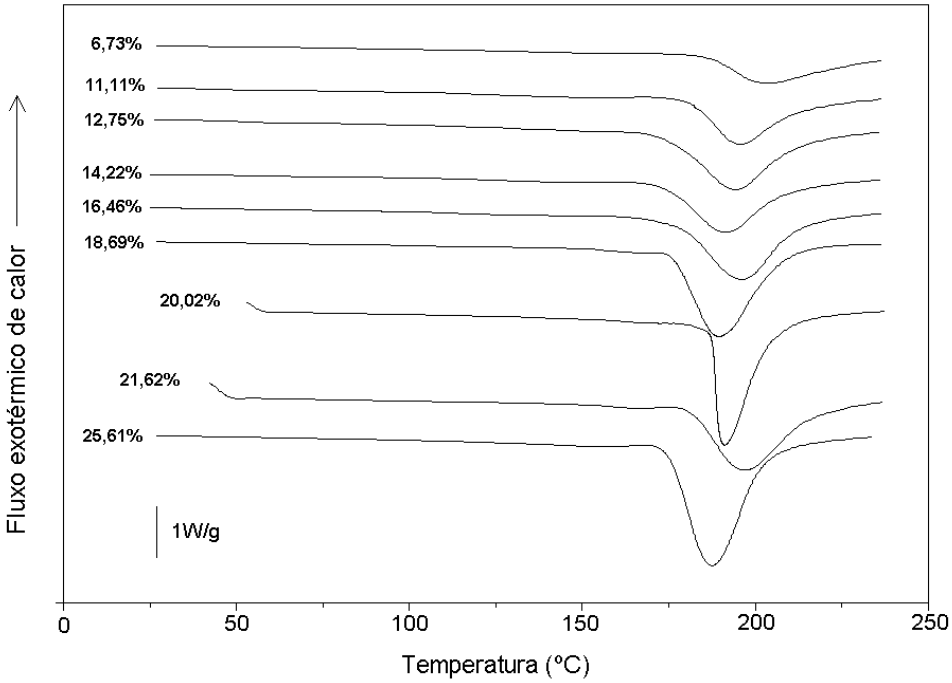


Figura 22: Termogramas de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água. Os valores indicados ao lado de cada curva correspondem à umidade das amostras (g/100g m.s.).

Em todas as varreduras observa-se a fusão da região cristalina do amido, na forma de um pico endotérmico bem visível, porém ocorrendo em temperatura relativamente elevada, devido ao baixo teor de água das amostras. De acordo com Hoover, (2001), em baixa umidade não há água suficiente para o processo completo de gelatinização, sendo necessário altas temperaturas para que ocorra a fusão da fase cristalina.

Nesta primeira etapa, além da fusão, outros dois eventos térmicos foram observados, apresentando características de transição vítrea (Tg). O primeiro ocorreu em torno de 50ºC, porém não foi constante para todas as amostras; o outro evento foi visível em todas as amostras próximo da fusão (Figura 23). De acordo com Kalichevsky *et al.* (1992) os sistemas de amido nativo/água são complexos e multifásicos, podendo ocorrer duas ou mais Tg em um mesmo sistema. Segundo Biliaderis *et al.* (1980, 1986), no caso do amido, a T_g está muito próxima da temperatura de gelatinização sendo de difícil verificação. Não foi possível a realização de uma segunda varredura para a confirmação da Tg, pois o aquecimento das amostras para o aparecimento da fusão causou a carbonização do material. Dessa forma, considerou-se como a temperatura de transição vítrea o evento próximo a fusão do material.

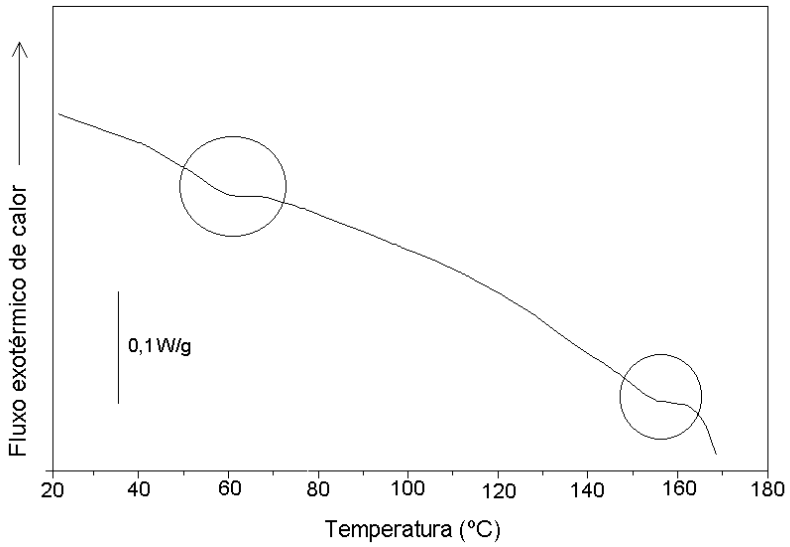


Figura 23: Detalhe do termograma de fécula de mandioca com 12,75% de umidade.

Os valores das temperaturas de transição vítrea da fécula de mandioca, calculados como média entre triplicatas, estão apresentados no Quadro 11, em função da Aw e umidade.

De acordo com a teoria clássica dos polímeros, a água atua como um plastificante diminuindo a Tg de polímeros completamente amorfos, e a Tg e a Tm, de polímeros parcialmente cristalinos. Isto ocorre devido ao aumento na mobilidade das cadeias poliméricas em função do aumento do volume livre (Biliaderis *et al.*, 1986). Sendo o amido um polímero semi cristalino, esperava-se a redução da Tg com o incremento do conteúdo de água, entretanto isto não ocorreu com as amostras de fécula de mandioca na faixa de umidade estudada (Quadro11).

Todavia, Biliaderis *et al.* (1986) estudando a influência do conteúdo de água nas propriedades térmicas de amido de arroz observaram que a transição vítrea (Tg) aumentou monotonicamente de 75 para 150ºC com o aumento do conteúdo de água de 10 para 25%. Já, Zeleznak & Hoseney (1987) observaram uma diminuição exponencial de 90 para 25ºC da Tg de amido de trigo com cristalinidade variando de 13 a 35%, em uma faixa de umidade entre 13 e 22%. Entretanto, em umidade inferior a 13% não foi possível determinar a Tg. A diminuição da Tg com o incremento da umidade também foi observada por Bizot *et al.* (1997) e Mousia *et al.* (2000).

O estudo de Kalichevsky *et al.* (1992) de sistemas parcialmente cristalinos pode fornecer alguma explicação do porquê da dificuldade de medir a Tg no amido nativo. Esses autores, trabalharam com amilopectina amorfa e amilopectina com 2, 4, 5,5 e 11% de cristalinidade com teor de umidade variando de 10 a 25%. Observaram que em baixa umidade o aumento da cristalinidade do amido tornou o sistema progressivamente heterogêneo e como conseqüência, a determinação da Tg tornou-se problemática. Esse mesmo fenômeno pode ter sido o motivo da dispersão dos dados obtidos com a fécula de mandioca, considerando-se que esse material apresentou cristalinidade relativa variando de 38 a 42% (Sarmento, 1997).

Quadro 11: Temperaturas características das endotermas obtidas por DSC de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água*.

Aw	Umidade** (bs)	Temperaturas de transição (ºC) Tg	Tm	DH (J/g amido anidro)
0,113	6,73	154,57 (16,07)	205,81 (2,46)	98,62 (12,65)
0,328	11,11	137,92 (8,63)	196,65 (2,51)	126,09 (18,45)
0,432	12,75	135,99 (10,45)	192,72 (1,22)	160,82 (18,56)
0,529	14,22	133,74 (10,41)	192,65 (2,78)	173,59 (35,23)
0,645	16,46	155,54 (19,54)	197,04 (1,22)	153,54 (30,30)
0,753	18,69	165,23 (6,60)	198,01 (7,44)	180,06 (41,21)
0,810	20,02	156,25 (7,33)	191,70 (0,51)	204,92 (7,91)
0,843	21,62	166,51 (11,20)	199,48 (2,66)	202,23 (10,27)
0,902	25,61	147,64 (3,47)	191,99 (5,97)	260,38 (39,61)

*média entre triplicatas (desvio padrão). ** g/100g m.s.

Os valores das temperaturas de fusão (Tm), calculados como média entre triplicatas, estão apresentados no Quadro 11, em função da Aw e umidade. Observou-se um decréscimo nas temperaturas de fusão com o aumento da umidade, com exceção das amostras condicionadas em 0,64, 0,75 e 0,84 de Aw com as quais ocorreu aumento da Tm. A depressão da Tm, causada pelo solvente, foi observada por Biliaderis *et al*. (1986) em amido de arroz, onde a Tm diminuiu de 240 para 125ºC com o aumento do conteúdo de água de 10 para 25%. Embora o aumento da umidade tenha reduzido a Tm, os valores observados neste trabalho encontra-se bem acima daqueles relatados por Garcia *et al*. (1997), onde amostras de fécula de mandioca com umidade em torno de 20% apresentaram temperatura de fusão da ordem de 140ºC.

A entalpia (ΔH) associada com a fusão da fase cristalina aumentou com o incremento da Aw de água, embora apresentem dispersão dos pontos (Figura 24). O mesmo foi observado por Donavan (1979; Biliaderis, 1980) trabalhando com amido de batata com diferentes teores de água (10ºC/min).

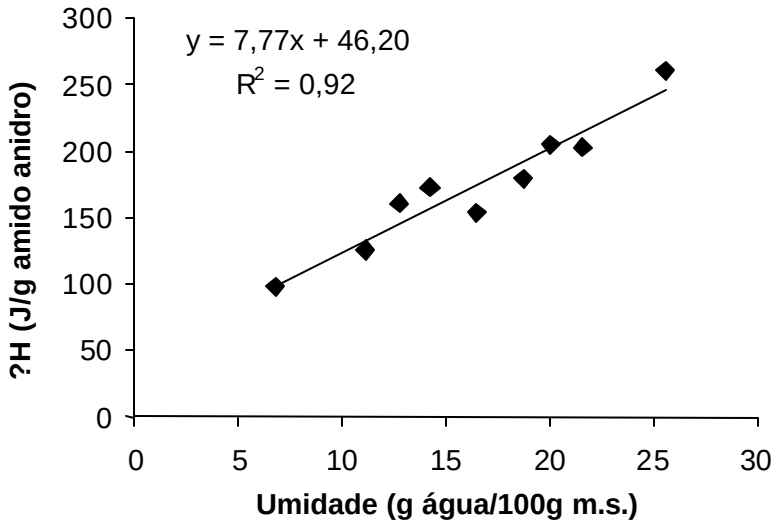


Figura 24: Entalpia associada à fusão dos cristais (ΔH) de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água.

4.2 Caracterização dos Filmes de Fécula de Mandioca

Desde o início das pesquisas de aplicação das películas de fécula de mandioca, em 1992, por Cereda e colaboradores (Cereda *et al.*, 1992), diversos foram os materiais ensaiados e consequentemente diversas as respostas obtidas. Sendo assim, os filmes de fécula de mandioca foram caracterizados na tentativa de se explicar esses resultados.

Os biofilmes elaborados com a fécula de mandioca, nas diversas concentrações, foram em geral manuseáveis e homogêneos, não apresentando partículas insolúveis, zonas de opacidade ou cores diferenciadas e bolhas visíveis a olho nu. Entretanto, os filmes muito finos (x<0,010 mm) ou muito espessos (x>0,150 mm) apresentaram problemas de manuseio quebrando-se facilmente.

4.2.1 Caracterização microscópica

4.2.1.1 Microscopia ótica

A obtenção dos filmes de fécula de mandioca implicou no aquecimento dos grânulos de amido em excesso de água (gelatinização). Nesse processo, ocorreu o inchamento dos grânulos e a lixiviação da amilose para o espaço intergranular (Conde-Petit *et al.*, 1998). Durante a retrogradação, e consequentemente durante o processo de secagem, as cadeias de amilose tendem a aproximar-se o suficiente para unirem-se por meio das ligações de hidrogênio (Biliaderis, 1991). Desta maneira, observa-se na Figura 25, que a matriz do filme foi formada por uma rede de amilose entremeada pelos "fantasmas" dos grânulos que não foram desintegrados durante o processo de gelatinização.

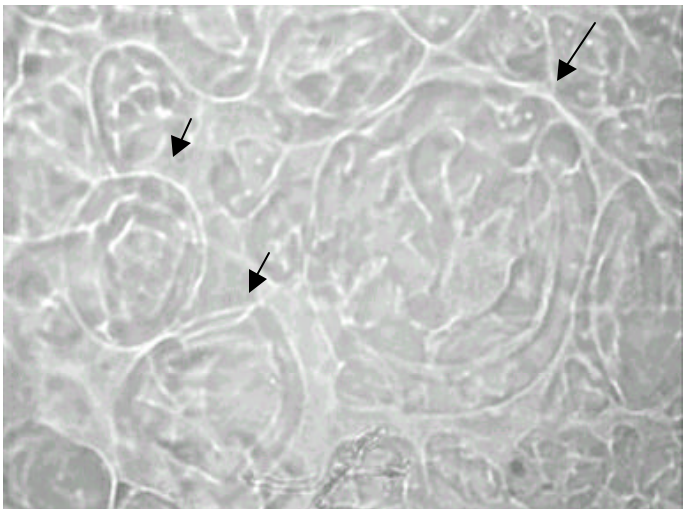
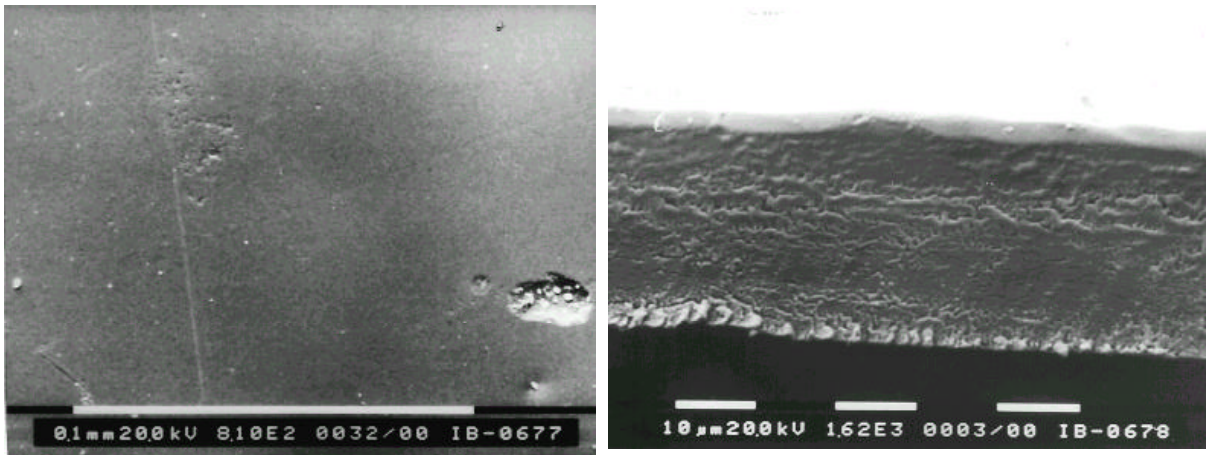


Figura 25: Micrografias de filme de fécula de mandioca a 2% com 0,082mm de espessura, sob microscopia ótica (aumento de 500 x). As setas indicam os "fantasmas" dos grânulos de amido.

4.2.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

Os resultados da microscopia eletrônica de varredura dos filmes da fécula de mandioca da superfície (a) e da seção transversal (b) estão apresentados na Figura 26. A superfície dos filmes apresentaram uma estrutura fina, lisa e quase sem imperfeições. A estrutura interna mostrou uma estrutura coesa, densa, sem poros ou fissuras e que pode ser considerada homogênea. Não observou-se a estrutura de grânulos de amido intactos na superfície ou na seção transversal dos filmes.



a b

Figura 26: Micrografias de filmes de fécula de mandioca a 2% (p/v) com espessura de 0,045 mm sob microscopia eletrônica de varredura (SEM). a) superfície, b) seção transversal.

4.2.2 Difração de raios X

Os resultados da análise de difração de raios X estão apresentados na Figura 27, onde se pode observar que os filmes elaborados a partir de 2% de fécula (Figura 27a) ainda apresentavam cristalinidade residual, com um pico de pequena intensidade ocorrendo em torno do ângulo de difração de 11,5º. Porém, os filmes elaborados com 4% de fécula de mandioca não apresentaram cristalinidade residual mostrando difratograma de material tipicamente amorfo (Figura 27b).

Essa diferença nos padrões de cristalinidade pode ser explicada em função do tempo de secagem. Os filmes elaborados com 2% de amido apresentam menor teor de matéria seca, se comparados com os filmes elaborados com solução a 4%, isto fez com que estes filmes secassem mais lentamente, o que proporcionou a recristalização das cadeias de amido. Rindlav *et al.*(1997) e Rindlav-Westling *et al.*(1998) observaram que o aumento da taxa de secagem diminuiu a cristalinidade de filmes de amido de batata e dos filmes de amilose e amilopectina. Segundo esses autores, o grau de cristalinização de um polímero depende da habilidade de suas cadeias em formar cristais, bem como da mobilidade das cadeias durante o processo de recristalização; em baixa taxa de secagem as cadeias poliméricas tem tempo de se arranjarem em uma conformação mais favorável, ocorrendo a formação de cristais.

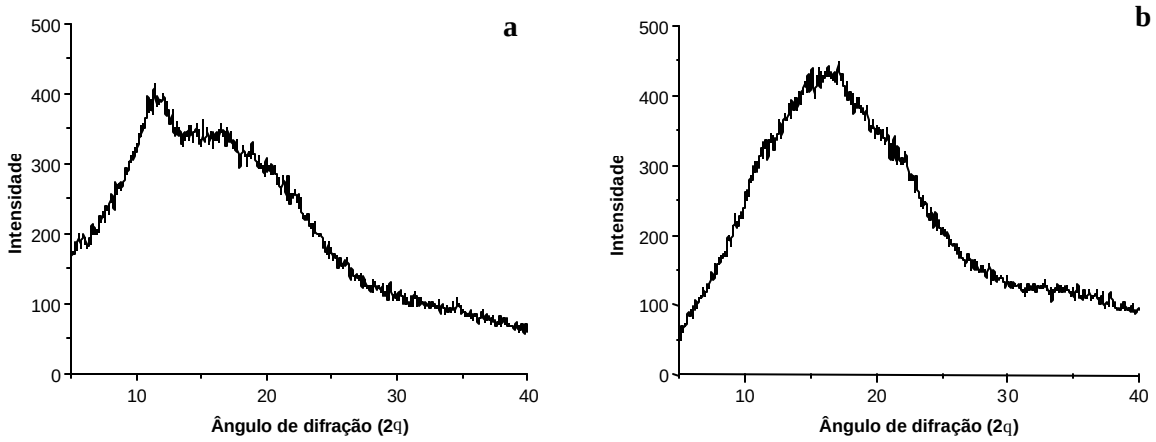


Figura 27: Difratogramas de raios X de filmes de fécula de mandioca em duas concentrações de amido na solução filmogênica: (a) 2% (p/v) e 0,019mm, (b) 4% (p/v) e 0,134mm.

4.2.3 Isotermas de sorção de água

Os resultados obtidos na determinação das isotermas de adsorção dos filmes à base de fécula de mandioca a 25ºC, estão apresentados na Figura 28. Observa-se que a isoterma segue o mesmo comportamento sigmoidal que as amostras da fécula (Tipo II) (Figura 19). Os filmes apresentaram a mesma higroscopicidade que a fécula, com valores de umidade de equilíbrio inferiores a 20% (bs) em atividade de água de até 0,75. O processo de preparação do filme não alterou a capacidade higroscópica do amido, uma vez que não houve diferença entre as isotermas.

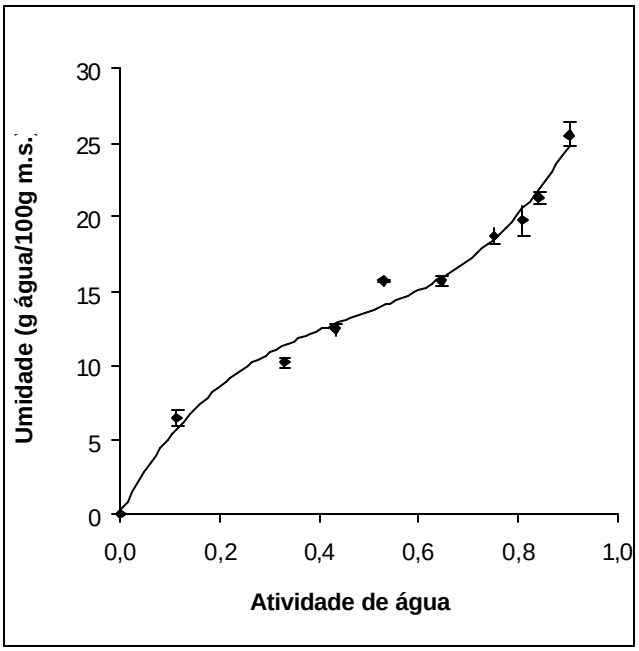


Figura 28: Isotermas de absorção de filmes de fécula de mandioca a 25ºC.

As curvas sigmoides observadas neste trabalho, assemelham-se às obtidas para filmes de fécula de mandioca, a 30ºC (Chang *et al.*, 2000), de amilose e amilopectina, a 20ºC (Myllärinen *et al.*, 2002 e Stading *et al.*, 2001) e de amido de milho com alto teor de amilose, a 20 e 80ºC (Bader & Göritz, 1994). Todos estes filmes apresentaram umidade de equilíbrio abaixo de 30% (bs) e todos foram elaborados sem plastificantes, portanto comparável com a umidade de equilíbrio dos filmes deste estudo.

Como nas amostras da fécula de mandioca, a equação de GAB foi ajustada aos pontos experimentais, sendo capaz de representar satisfatoriamente a isoterma, em todo o domínio de atividade de água, apresentando um bom ajuste ($R^2 \geq 0,99$). Os valores das constantes da equação de GAB para os filmes de fécula de mandioca foram determinados (Quadro 12) e comparados com aqueles encontrados na literatura para filmes à base de hidrocoloides. Observa-se que os filmes de amido são mais higroscópicos que os demais filmes, apresentando maior umidade da monocamada (Xm=9,64%), com exceção apenas, dos filmes à base de metilcelulose, os quais apresentam Xm de 14%.

Quadro 12: Valores das constantes da equação de GAB para filmes de fécula de mandioca e vários filmes à base de hidrocoloides.

Produto	**Aw**	**T (ºC)**	**Xm (%bs)**	**C_{GAB}**	**K_{GAB}**	**R^2**	**Tipo**	**Fonte**
Fécula de mandioca	0,11-0,90	25	9,64	20,25	0,68	0,994	II	presente trabalho
Amido de batata		25	8,85	13,57	0,76	0,999	II	Bizot *et al.*(1997)
Metilcelulose	0,11-0,89	25	14,00	0,66	0,80		II	Debeaufort *et al.*(1994)
Pullulan/amido	0,11-0,94	25	7,70	20,60	0,88	0,980	II	Biliaderis *et al.*(1999)
Glúten de trigo	0,11-0,91	30	7,6	1,12	0,92		III	Gontard *et al.*(1993)
Proteína miofibrilar de tilápia-do-Nilo	0,11-0,84	25	8,27	10,65	0,95		II	Monterrey-Quintero (1998)

4.2.4 Análise térmica

Na Figura 29 estão mostrados os termogramas da análise por calorimetria diferencial de varredura (DSC) de biofilmes de fécula de mandioca condicionados, em absorção, entre Aw de 0,11 a 0,90 por 3 semanas. Como para a fécula, observou-se um pico endotérmico em todas as varreduras em altas temperaturas. Também foram observadas transições vítreas, porém em menor escala energética, dessa forma esse fenômeno ficou praticamente invisível na Figura 29.

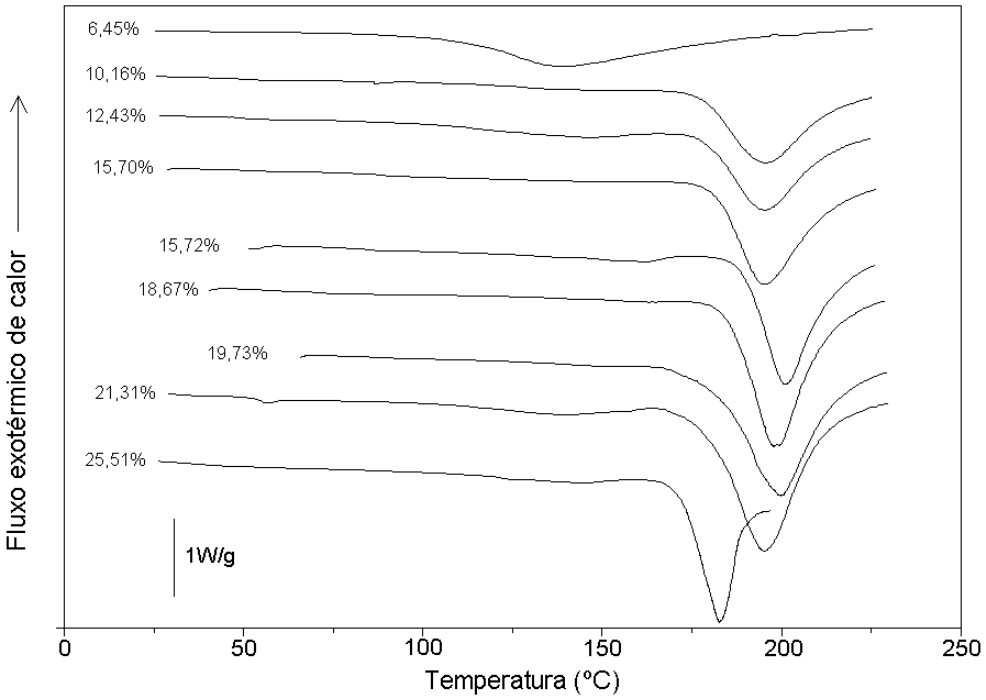


Figura 29: Termogramas de filmes de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água. Os valores indicados ao lado de cada curva correspondem à umidade das amostras (g/100g m.s.).

Os valores das temperaturas de transição vítrea e fusão e os valores de entalpia dos filmes de fécula de mandioca, calculados como média entre triplicatas, estão apresentados no Quadro 13, em função da Aw e umidade.

Ao contrário do ocorrido para a fécula de mandioca, na faixa de umidade estudada, observou-se a redução da Tg com o incremento do conteúdo de água. Uma explicação para este fato, seria a redução da cristalinidade, devido à gelatinização do amido na solução filmogênica, o que tornaria mais fácil a determinação da Tg (Kalichevsky *et al.*, 1992). A hipótese pode ser confirmada com os resultados obtidos no difratograma de raios X (item 4.1.2) que mostraram um resíduo de cristalinidade para os filmes elaborados com 2% (p/v) de amido na solução filmogênica (Figura 27), sendo esta a concentração utilizada nos filmes submetidos a análise térmica.

Quadro 13: Temperaturas características das endotermas obtidas por DSC de filmes de fécula de mandioca com diferentes conteúdos de água*.

Aw	Umidade (bs**)	Temperaturas de transição (ºC)		DH (J/g amido anidro)
		Tg	Tm	
0,113	6,45	—	141,89 (9,01)	137,67 (15,80)
0,328	10,16	131,41 (3,59)	190,55 (12,81)	109,63 (42,39)
0,432	12,43	131,79 (17,32)	198,31 (6,97)	100,18 (45,66)
0,529	15,70	88,17 (2,31)	193,22 (2,11)	194,18 (16,78)
0,645	15,72	90,04 (1,40)	194,17 (6,12)	178,78 (20,12)
0,753	18,67	73,07 (3,75)	197,65 (2,34)	219,74 (24,99)
0,810	19,73	88,92 (0,72)	192,91 (6,20)	224,68 (46,40)
0,843	21,31	61,98	191,31 (4,07)	243,87 (76,29)
0,902	25,51	61,76 (9,83)	179,56 (2,95)	65,03 (47,04)

*média entre triplicatas (desvio padrão). ** g/100g m.s.

Os resultado obtidos com relação ao efeito plastificante da água foram similares aos reportados por Chang *et al.*(2000) onde a Tg diminuiu progressivamente de 160 a 40ºC, com o aumento do teor de umidade dos filmes de fécula de mandioca de 4,4 a 26% (bs). E também por Myllärinen *et al.*(2002), que observaram uma diminuição de 180 para 25ºC da Tg de filmes de amilose e amilopectina com o aumento do conteúdo de água de 5 para 25%.

O efeito depressor da água sob a Tg deve-se ao aumento das ligações amido-água e pela diminuição do número de ligações de hidrogênio intra e intermolecular entre as cadeias de amido. Isto levou ao aumento das distâncias intermoleculares (volume livre), diminuindo a viscosidade local e aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas (Arvanitoyannis *et al.*, 1996). Um modelo bastante utilizado para predizer o efeito plastificante da água, em sistemas binários, é o modelo de Gordon e Taylor (Roos, 1995) conforme a Equação 31:

$$T_g = \frac{w_1 T_{g1} + k\, w_2 T_{g2}}{w_1 + k\, w_2} \qquad (31)$$

onde Tg é a temperatura de transição vítrea do sistema binário, Tg_1 e Tg_2 são as temperaturas absolutas de transição vítrea dos componentes constituintes, w_1 e w_2 são as frações em peso dos compostos constituintes e k é uma constante relacionada com a mudança no calor específico durante a transição vítrea ($k = ?Cp_2/?Cp_1$). O subscrito 1 refere-se ao material sólido e o 2 à água. Para o emprego da Equação 31, utilizou-se Tg_1=513 K (Biliaderis *et al.*, 1986), $?Cp_1$=0,47 J/gK (Orford *et al.*, 1989) e Tg_2=138 K, $?Cp_2$=1,94 J/gK (Ross, 1995).

Observa-se na Figura 30, que o modelo de Gordon e Taylor representou de maneira satisfatória o efeito plastificante da água no domínio de umidade estudado. Este modelo foi utilizado também com sucesso por alguns autores, para representar o efeito plastificante da água em filmes à base de mistura de amido/quitosana (Lazaridou & Biliaderis, 2002) e amido/pululana (Biliaderis *et al.*, 1999).

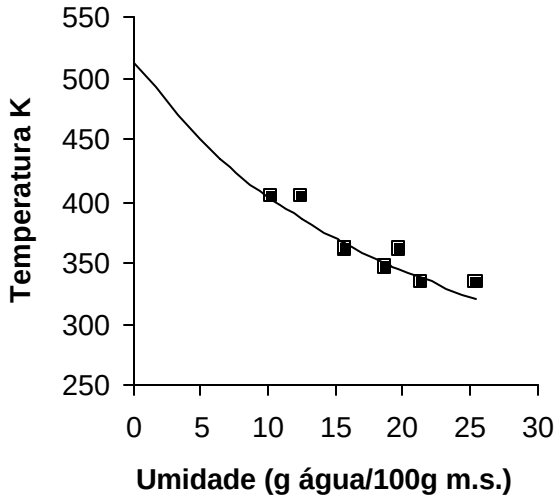


Figura 30: Comparação entre os valores experimentais (■) e os calculados com o modelo de Gordon e Taylor (—), da temperatura de transição vítrea de filmes de fécula de mandioca em função da umidade do material.

A Tm manteve-se praticamente constante com o aumento do teor de água dos filmes. A entalpia (ΔH) aumentou linearmente entre 15,70 e 21,30% de umidade (Quadro 13). Já, Chang *et al.*(2000) observaram aumento linear da entalpia de 98 para 359J/g com o aumento da umidade de 4,4 a 26% (bs) em filmes de fécula de mandioca.

4.2.5 Espessura

Um parâmetro que influencia as propriedades dos biofilmes e que não é considerado em diversos estudos é a espessura (Mahmoud e Savello, 1992; Cuq *et al.*, 1996a). Segundo Gennadios *et al.*(1993a), o controle da espessura dos filmes é importante para definir a uniformidade desses materiais, para a repetibilidade das medidas das propriedades e validade das comparações entre propriedades dos biofilmes. Sendo assim, neste experimento os filmes de fécula de mandioca foram caracterizados macroscopicamente em função da espessura.

As espessuras médias dos biofilmes, utilizados em todos os ensaios, em função da gramatura da solução filmogênica (SF) aplicada nos suportes, estão apresentadas na Figura 31.

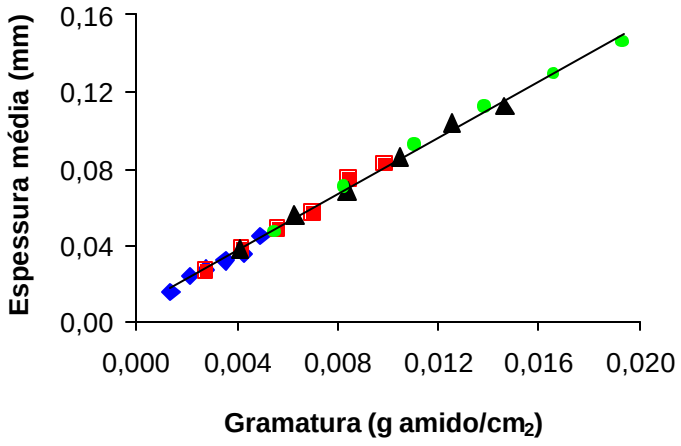


Figura 31: Espessura média de biofilmes de fécula de mandioca, em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%), em função da gramatura da solução filmogênica.

Para as quatro concentrações, a espessura média dos biofilmes aumentou linearmente, entre 0,017 e 0,156 mm, com a massa de solução adicionada. A reta apresentada nessa figura foi calculada através do ajuste da equação da reta aos pontos experimentais, cujos parâmetros estão apresentados no Quadro 14. Todos os parâmetros foram significativos ($P<0,05$) e o coeficiente de determinação ótimo ($R^2>0,99$).

A variação nas medidas da espessura, calculada como a relação entre o desvio padrão da média e a média, variou inversamente com a espessura. Observa-se na Figura 32, que o desvio padrão foi mais importante abaixo de 0,050 mm, porém variou de 15 a 7% em filmes com espessura variando de 0,050 a 0,146 mm. Este comportamento também foi observado por Sobral (2000a), onde o desvio padrão da espessura média entre 0,060 e 0,102 mm variou entre 13 e 5%, para filmes de proteína miofibrilar. Para filmes mais espessos (0,119 e 0,128 mm), Gennadios *et al.*(1993a) observaram desvios padrões menores, variando entre 6,2 e 8,8%.

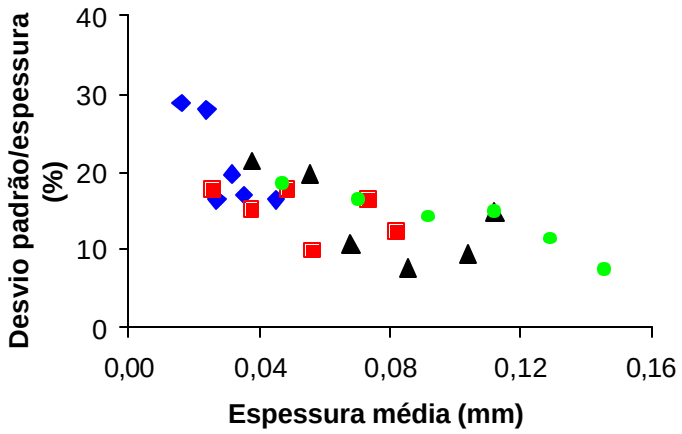


Figura 32: Variação do desvio padrão da média em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

Quadro 14: Parâmetros da equação da reta (Y=A+BX), obtidos por regressão linear, das propriedades funcionais (Y) de biofilmes de fécula de mandioca em função da espessura (X).

Propriedades		**A**	**B**	**R^2**
Espessura média (mm) [1]		0,007*	7,432*	0,995
Força na ruptura (N)		-0,519*	159,099*	0,970
Deformação na ruptura (%)		0,495*	2,457*	0,644
Coeficiente de Relaxamento		0,428*	-1,304*	0,808
Pva ($g.mm/m^2.h.kPa$)		0,115*	3,180*	0,746
Tva ($g/m^2.h$)		20,987*	-74,988*	0,506
Diferença de cor		1,857*	18,378*	0,805
Croma a		-0,840*	1,406*	0,888
Croma b		1,747*	12,80*	0,969
Luminosidade	1 e 2%	91,084	-1,547	0,034
	3 e 4%	90,811*	-9,678*	0,809
Opacidade	1 e 2%	1,297*	30,515*	0,829
	3 e 4%	0,684*	11,834*	0,760

* significativo P<0,05. 1. Y=espesura, X=gramatura.

4.2.6 Umidade

Na Figura 33 é mostrado o teor de umidade (bs) apresentado pelos filmes de fécula de mandioca. Observa-se que a espessura não influenciou a absorção de água pelos filmes, sendo esta praticamente constante em todo o domínio estudado (0,017 a 0,156 mm), com média geral de 18,67±0,39 g água/100g m.s, sendo este mesmo valor observado nas isotermas de sorção para a respectiva umidade relativa. Dessa maneira, todas as propriedades funcionais dos filmes, apresentadas neste trabalho, foram influenciadas unicamente pela espessura.

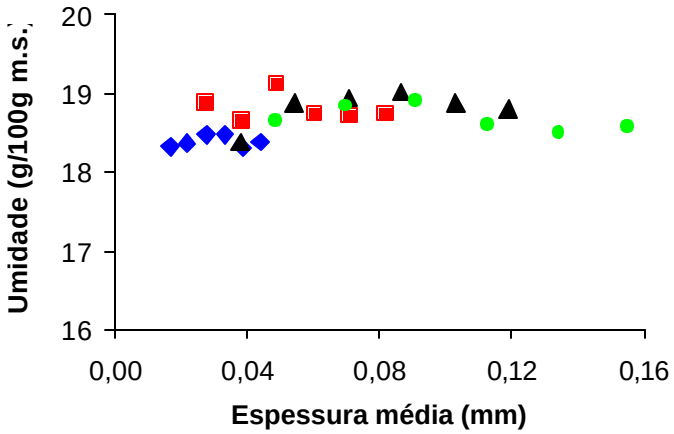


Figura 33: Teor de umidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

4.2.7 Solubilidade em água

A solubilidade do filme em água indica sua integridade em ambientes muito úmidos ou aquosos. Uma alta solubilidade indica uma baixa resistência a água. Após imersão em água durante 24 horas, sob agitação constante, os filmes mantiveram sua integridade, com exceção dos filmes a 1% os quais romperam-se neste período. Todos os filmes tornaram-se opacos. Os resultados da solubilidade podem ser observados na Figura 34. Os pontos experimentais foram ajustados ao modelo da potência ($Y = AX^B$), cujos parâmetros calculados estão apresentados no Quadro 15, apresentando bom coeficiente de determinação (R^2=0,90). Como pode-se observar os filmes mais finos apresentaram maior porcentagem de matéria seca solubilizada, entre 40 e 12%; enquanto os filmes com espessura a partir de 0,040 mm apresentaram solubilidade constante, ao redor de 4%.

A solubilidade dos biofilmes em função da espessura também foi estudado por Cuq *et al.*(1996a), onde filmes à base de proteína miofibrilar de sardinha do Atlântico, plastificados com glicerina (35%), apresentaram solubilidade constante na faixa de 33 a 42% com espessura variando entre 0,010 e 0,055 mm.

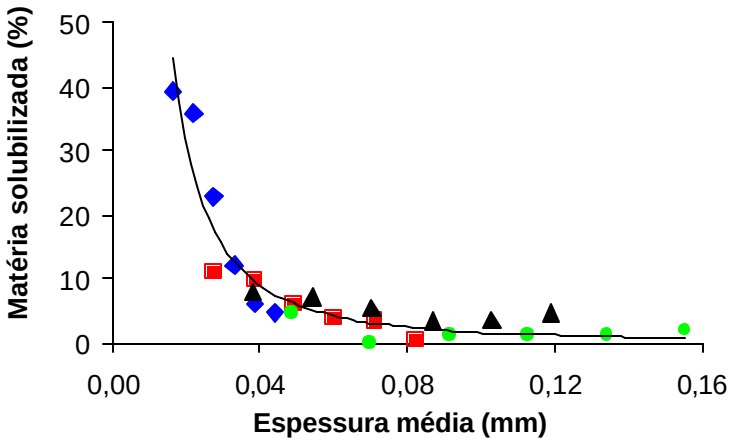


Figura 34: Solubilidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

Os filmes à base de fécula de mandioca apresentaram valores de solubilidade inferiores aos filmes à base amido de cará (4% amido, 2 g glicerina,/100g de amido e 0,110 mm) (Mali, 2002) os quais tiveram solubilidade de 26,37% contra 1,44% dos filmes de fécula de mandioca com a mesma espessura. O mesmo ocorreu para filmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo (30 g glicerina/100g proteína) onde a solubilidade foi de 12,30% (Monterrey-Quintero & Sobral, 2000). Já os filmes de fécula de mandioca apresentaram 5,45%, ambos com 0,045 mm de espessura.

A baixa solubilidade dos filmes de fécula de mandioca deveu-se ao fato de não haver plastificante na sua composição e também por apresentarem uma matriz densa e coesa nos filmes com maior espessura (Figura 26). Monterrey-Quintero & Sobral (2000) e Gontard (1991) trabalhando com filmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo e glúten de trigo, respectivamente, observaram que filmes com microestrutura mais densa e compacta apresentaram menores valores de solubilidade. Também deve-se levar em conta, o fato de que o amido retrogradado volta a sua condição de insolubilidade em água fria (Franco *et al.*, 2001).

4.2.8 Propriedades mecânicas

Os filmes e coberturas comestíveis devem apresentar adequada resistência à ruptura e serem flexíveis o suficiente para se adaptar a eventuais deformações dos alimentos.

4.2.8.1 Teste de perfuração

Alguns exemplos de curvas de Força *vs* Deformação dos filmes de fécula de mandioca estão apresentados na Figura 35. Observa-se que as curvas são típicas de materiais rígidos e quebradiços (Miltz, 1992). Todos os filmes submetidos ao teste de perfuração romperam-se rasgando no formato de estrela, típico de materiais pouco flexíveis.

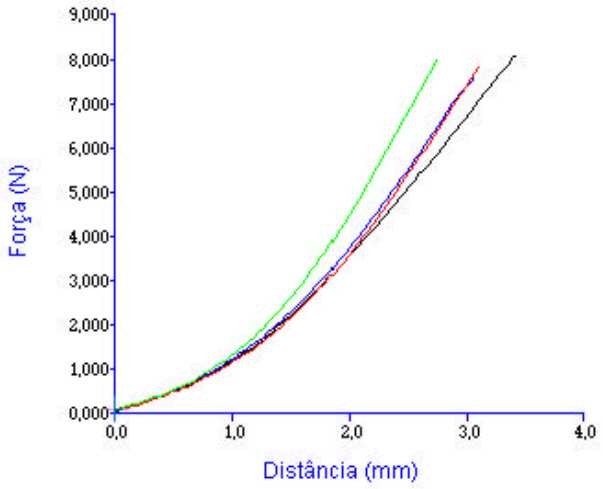


Figura 35: Curvas de força vs deformação de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045 mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (?? 1% ?? 2% ?? 3% ?? 4%).

A espessura dos filmes influenciou a força e a deformação na ruptura. De acordo com a Figura 36, a força na ruptura aumentou linearmente de 1,59 para 22,05 N, com a variação da espessura dos filmes de 0,017 a 0,156 mm. Os parâmetros da equação da

reta, apresentados no Quadro 14, foram significativos (P<0,05) e o coeficiente de determinação bom. Esses resultados estão de acordo com os observados por outros autores para filmes à base de proteínas miofibrilares de sardinha do Atlântico (Cuq *et al.*, 1996a), de gelatina de couro bovino e de pele suína (Sobral, 1999) e proteínas mifibrilares de carne bovina e tilápia-do-Nilo (Sobral, 2000a), com espessuras comparáveis e utilizando o mesmo teste de perfuração.

Comparando-se os coeficientes de inclinação da reta deste trabalho com os resultados obtidos pelos autores anteriores, observou-se que o incremento da espessura provocou um aumento menos importante na força necessária à perfuração dos filmes de fécula de mandioca (B=159,10), que nos filmes de gelatina de couro bovino (B=197,34) e pele suína (B=228,35) (Sobral, 1999), porém mais importantes que no caso dos filmes de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo (B=104,04) e de carne bovina (B=82,66) (Sobral, 2000a), sendo o menor valor observado para os filmes de proteínas miofibrilares de sardinha (B=7,69) (Cuq et al., 1996a).

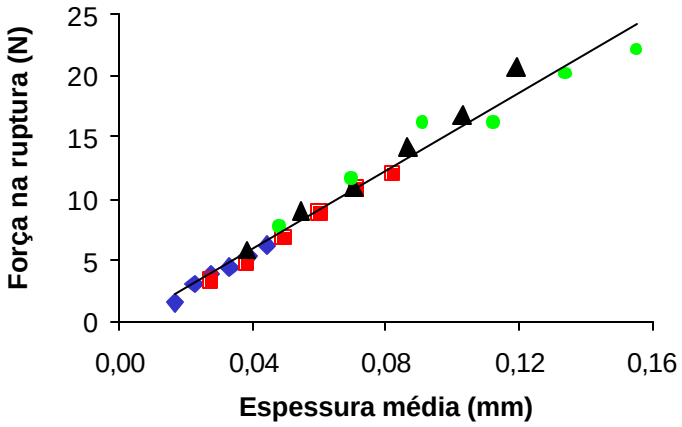


Figura 36: Força na ruptura em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

Os filmes de fécula de mandioca foram mais resistentes que os filmes à base de amido de cará (Mali, 2002) e proteínas miofibrilares (Sobral, 2000a). Para uma espessura de 0,070 mm os filmes de fécula de mandioca elaborados com 4% de amido apresentaram uma força na ruptura de 11,66 N, enquanto que os filmes de amido de cará (4% amido e 1,30% glicerina) apresentaram 9,84 N e os filmes de proteína miofibrilar, 6 N. Entretanto apresentaram-se menos resistentes que os filmes de gelatina. Para a mesma espessura os filmes de gelatina de couro bovino e pele suína apresentaram força na ruptura de 13,8 e 17,2 N, respectivamente (Sobral, 1999). Entretanto, deve ser considerado o fato de que, com exceção dos filmes de fécula de mandioca, todos os demais apresentam plastificante em sua formulação.

Quando a densidade de interações intermoleculares é constante, isto é, independe da espessura do material, a força na ruptura pode ser normalizada dividindo-se o valor da força na ruptura pela respectiva espessura (Cuq *et al.*, 1996a). Observa-se na Figura 37, que a força na ruptura normalizada permaneceu praticamente constante, em torno de 1,5 x 10^2 N/mm, acima de 0,030 mm de espessura. Este mesmo comportamento foi observado por Cuq *et al.*(1996a) e Sobral (1999). Em filmes de gelatina de couro bovino, os valores da força normalizada foram da ordem 1,97 10^2 N/mm, acima de 0,020 mm de espessura (Sobral, 1999).

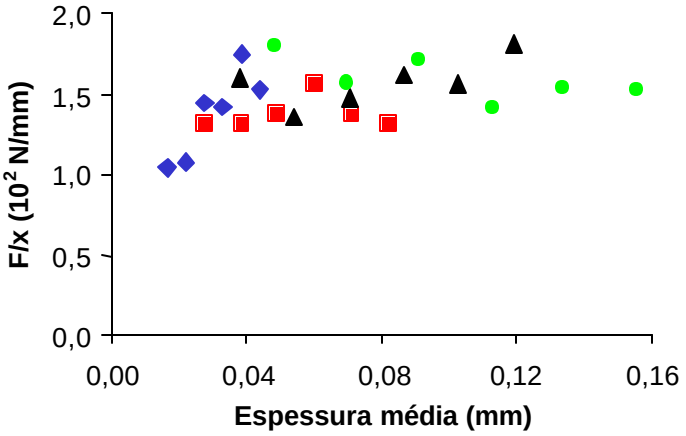


Figura 37: Força na ruptura normalizada (F/x) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

Por causa deste comportamento (força normalizada constante), a ASTM preconiza essa normalização em teste de tração, chamando a nova propriedade de *breaking factor* (ASTM, 1995).

A deformação na ruptura tendeu a aumentar linearmente com o incremento da espessura dos filmes (Figura 38). Neste estudo, os parâmetros da equação da reta foram significativos ($P<0,05$), apesar da visível tendência de dispersão dos pontos com o aumento da espessura, o que resultou em um baixo coeficiente de determinação ($R^2=0,64$).

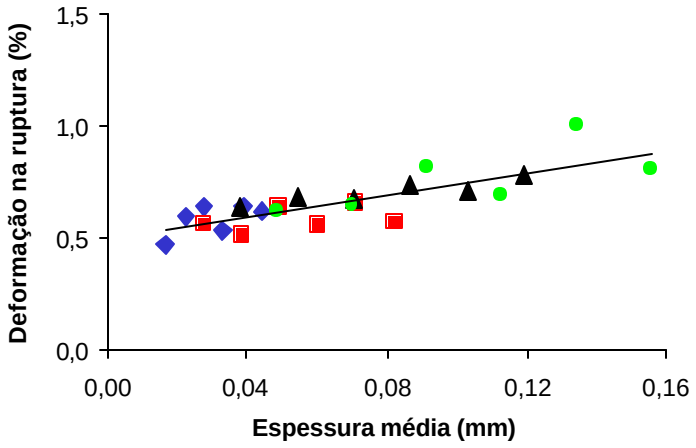


Figura 38: Deformação na ruptura em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

Resultados semelhantes foram obtidos por Sobral (2000a) para filmes de proteína miofibrilar de carne bovina e por Mali (2002) para filmes de amido de cará. Para uma espessura de 0,070 e 0,110 mm os filmes de amido de cará (4% amido e 1,30% glicerina) apresentaram deformação de 1,50 e 1,93%, respectivamente. No entanto, nos trabalhos de Cuq *et al.*(1996a) e Sobral (1999) a deformação na ruptura permaneceu constante com o aumento da espessura dos biofilmes com valores ao redor de 5 e 4%, respectivamente.

4.2.8.2 Teste de tração

Observa-se na Figura 39, alguns exemplos das curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca. Como no teste de perfuração, as curvas são típicas de materiais rígidos e quebradiços (Miltz, 1992), porém neste caso as concentrações de amido na solução filmogênica influenciaram a tensão e a deformação na ruptura, sendo que filmes preparados com SF de 2 e 4% de amido apresentaram menor tensão e deformação na ruptura que os filmes preparados com as demais soluções.

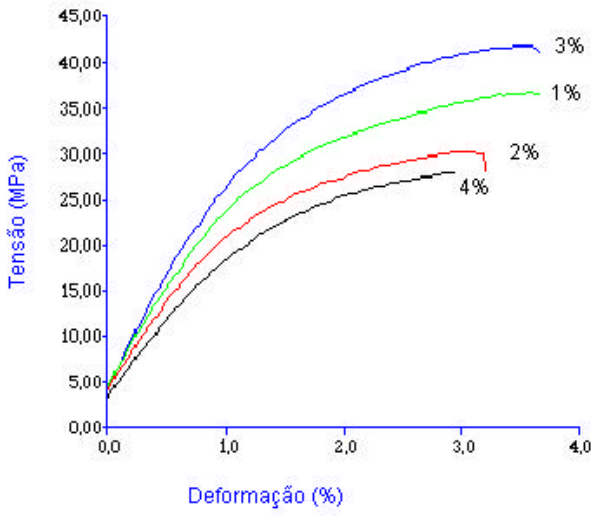


Figura 39: Curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica.

As três propriedades mecânicas, tensão e deformação na ruptura e módulo de elasticidade, apresentaram forte dispersão dos pontos experimentais, não sendo possível o ajuste de curvas de tendência. De uma maneira geral, observa-se para a tensão na ruptura (Figura 40a) e módulo de elasticidade (Figura 41) um aumento das propriedades entre 0,017 e 0,070 mm de espessura, tendendo para valores constantes em maiores espessuras.

Para a deformação na ruptura, embora tenha havido grande dispersão dos pontos, observa-se o aumento da mesma com o incremento da espessura (Figura 40b).

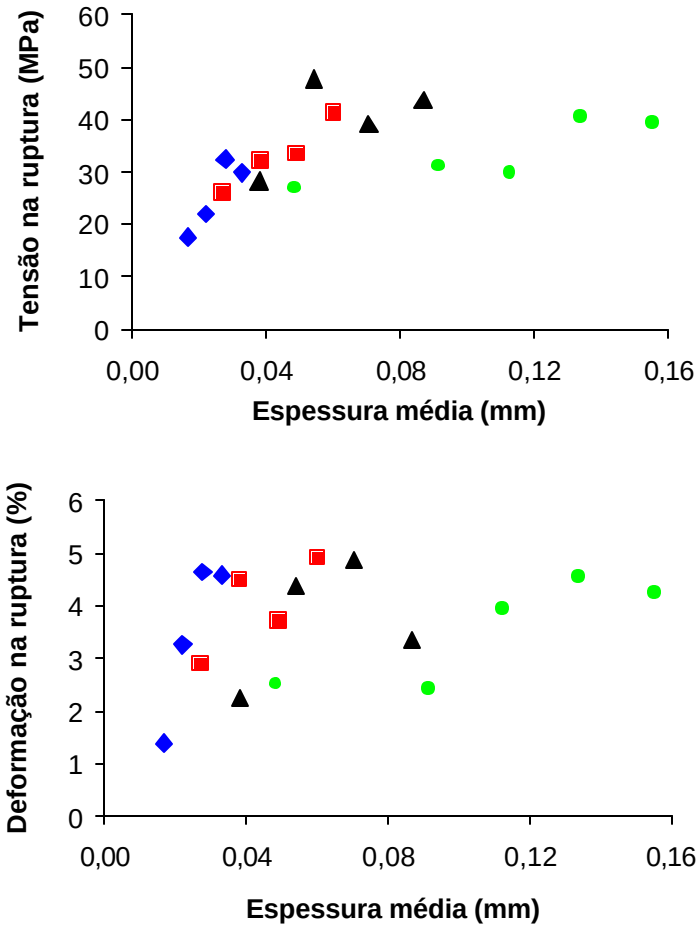


Figura 40: Tensão e deformação na ruptura em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

A influência da espessura sobre as propriedades mecânicas, determinadas em teste de tração, foram estudadas por outros autores. Park *et al.*(1993) observaram que a tensão e a deformação na ruptura aumentaram com a espessura (entre 0,023 e 0,125 mm) de filmes à base de hidroxipropil-celulose, variando de 5 a 30 MPa e de 45 a 65%, respectivamente; porém para os filmes de metilcelulose este efeito foi menos intenso. Já no trabalho de Tomasula *et al.*(1998), observou-se que a tensão e a deformação na ruptura de filmes de caseinato de cálcio, mantiveram-se constantes em maiores espessuras (0,110-0,150 mm).

Para uma espessura de 0,057 mm os filmes de fécula de mandioca apresentaram tensão e deformação na ruptura de 41 MPa e 4,9%, respectivamente; valores esses superiores aos determinados por Chang *et al.*(2000), que foram da ordem de 20 MPa para a tensão e 3,5% para a deformação na ruptura de filmes de fécula de mandioca, com a mesma espessura e umidade de 18,6% (bs). Lourdin *et al.*(1995), estudando filmes com diferentes concentrações de amilose e amilopectina, com aproximadamente 15,7% de umidade (bu), observaram tensão na ruptura de 43 MPa e 3,70% de deformação na ruptura, para filmes com 23% de amilose, sem plastificante, e espessura 0,050 mm.

As propriedades de tração expressam a resistência do material ao alongamento quando submetido à tração, sendo o módulo de elasticidade considerado um indicador da rigidez do filme. Quanto maior o módulo, mais rígido é o material (Oliveira *et al.*, 1996). Dessa forma, pode-se considerar que os filmes de fécula, caracterizado neste trabalho, são mais rígidos que os filmes de caseína (Tomasula *et al.*, 1998), porém mais flexíveis que os filmes de amido de milho (Arvanitoyannis *et al.*, 1996). Os filmes de fécula de mandioca apresentaram módulo de 18,61 MPa, enquanto que filmes de caseína e amido de milho apresentaram módulo de 10,8 e 28,5 MPa, respectivamente, para uma espessura de 0,100 mm.

Observou-se ainda no trabalho de Tomasula *et al.*(1998), que o módulo de elasticidade dos filmes de caseinato de cálcio variou positivamente com o aumento da espessura.

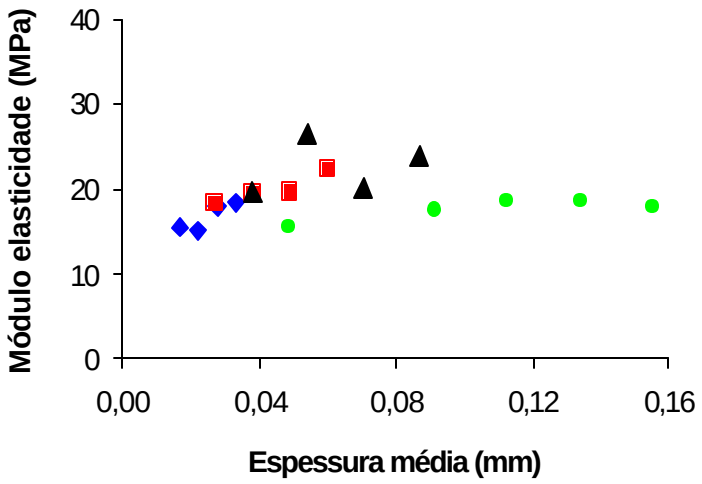


Figura 41: Módulo de elasticidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

4.2.9 Propriedades viscoelásticas

As propriedades viscoelásticas também são importantes, pois podem dar informações diretamente relacionadas com a conformação das macromoléculas e do fenômeno de relaxamento molecular (Chandra & Sobral, 2000).

4.2.9.1 Teste de relaxamento de tensão (Teste estático)

Alguns exemplos de curvas obtidas nos testes de relaxamento de tensão podem ser observadas na Figura 42. Inicialmente, uma curva ascendente, obtida pela imposição da deformação constante, é mostrada. Em seguida, observa-se que uma tensão decrescente é requerida para manter o material no estado deformado. Este comportamento é característico de materiais viscoelásticos como os biofilmes (Cuq *et al.*, 1996a, 1996b; Gontard, 1991; Chandra & Sobral, 2000).

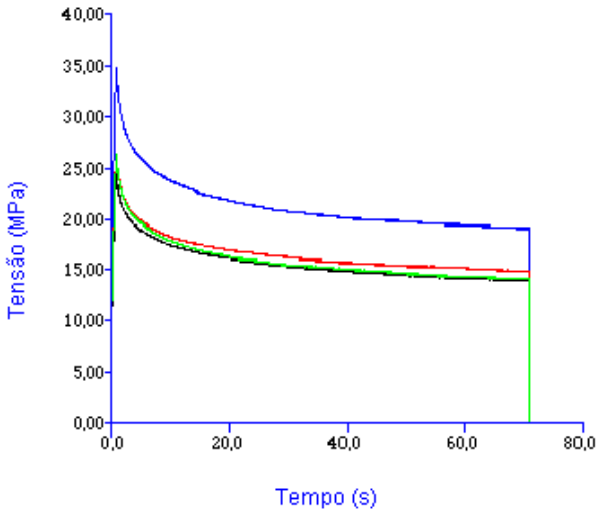


Figura 42: Curvas de tensão *vs* tempo obtida em teste de relaxamento de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (?? 1% ?? 2% ?? 3% ?? 4%).

Observa-se na Figura 43, que o coeficiente de relaxamento, calculado com a Equação 15, diminuiu linearmente de aproximadamente 0,42 para cerca de 0,25, quando a espessura dos filmes aumentou de 0,017 para 0,156 mm, com bom coeficiente de correlação (R^2=0,81), obtendo-se parâmetros da equação da reta significativos ($P<0,05$) (Quadro 14). Estes resultados diferem daqueles obtidos por Cuq *et al.*(1996a) para filmes de proteínas miofibrilares de sardinha do Atlântico, cujo coeficiente de relaxamento permaneceu praticamente constante, em torno de 0,38, para espessuras entre 0,010 e 0,055 mm.

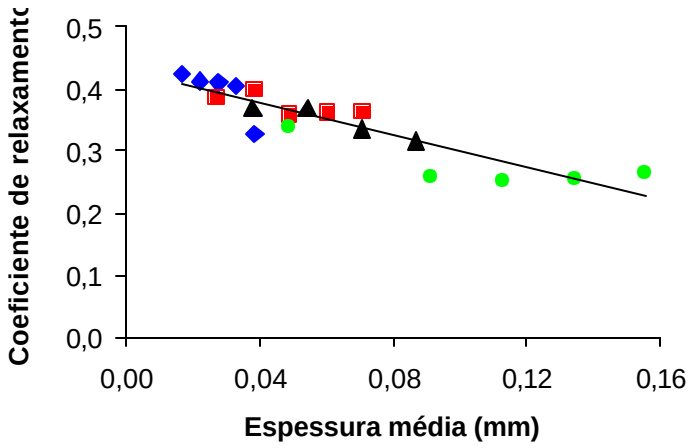


Figura 43: Coeficiente de relaxamento em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%).

De acordo com Gontard *et al.*(1992), um baixo coeficiente de relaxamento (próximo de zero) indica filmes com alta elasticidade, sendo esta uma característica desejável. Desta maneira, pode-se considerar que os filmes de fécula de mandioca apresentam um comportamento elástico (coeficiente de relaxamento <0,40).

O coeficiente de viscosidade ($?_i$) e o módulo de elasticidade (Y_i) para as unidades de Maxwell (i=1) (Figura 44) e Kelvin (i=2) (Figura 45), de acordo com o modelo de Burgers, variaram de maneira similar, aumentando com a espessura de todos os filmes, segundo um modelo da potência (Quadro 15), com importante variação nos filmes com espessura abaixo de 0,050 mm. Esse comportamento foi menos acentuado no módulo de elasticidade (Y_1), que permaneceu praticamente constante, cujos dados apresentam importante dispersão acarretando baixo coeficiente de determinação (R^2=0,10).

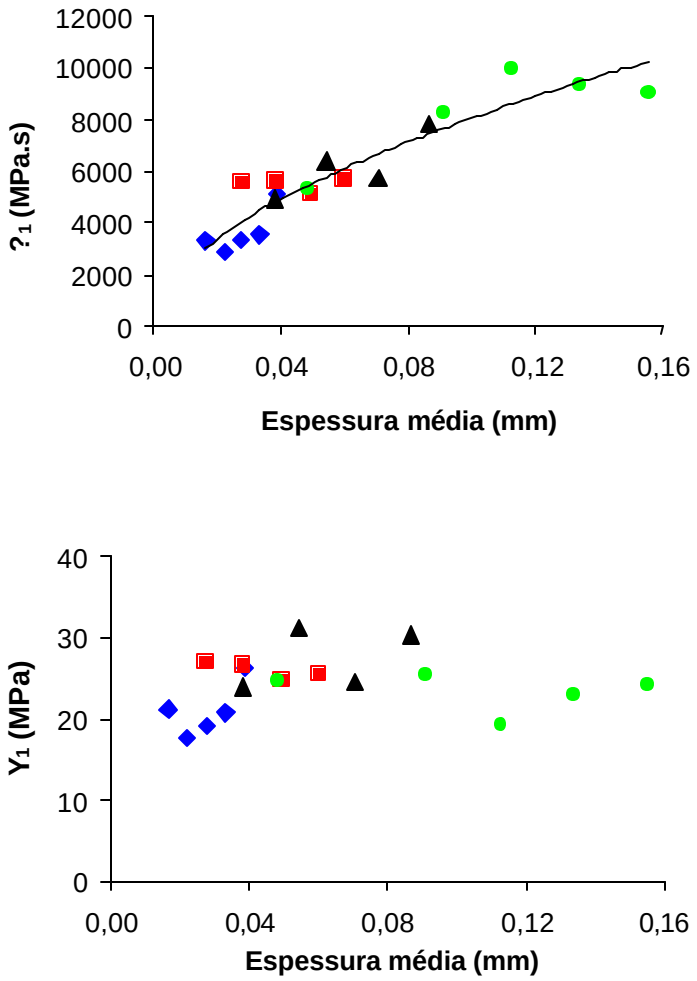


Figura 44: Coeficiente de viscosidade (η_1) e módulo de elasticidade (Y_1) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) representado pelo modelo do Burgers.

Os coeficientes de viscosidade e os módulos de elasticidade variaram de 2.885,65 a 9.017,52 MPa.s (R^2=0,87) e de 17,78 a 24,18 MPa (R^2=0,10) no primeiro conjunto de elementos (Figura 44), de 171,00 a 385,64 MPa.s (R^2=0,65) e de 46,96 a 89,33 MPa (R^2=0,64), no segundo conjunto de elementos (Figura 45). Pode-se observar que o módulo de elasticidade (Y_1) teve comportamento semelhante ao módulo de elasticidade determinado no teste de tração (Figura 41), apresentando valores de mesma grandeza entre 15 e 18 MPa.

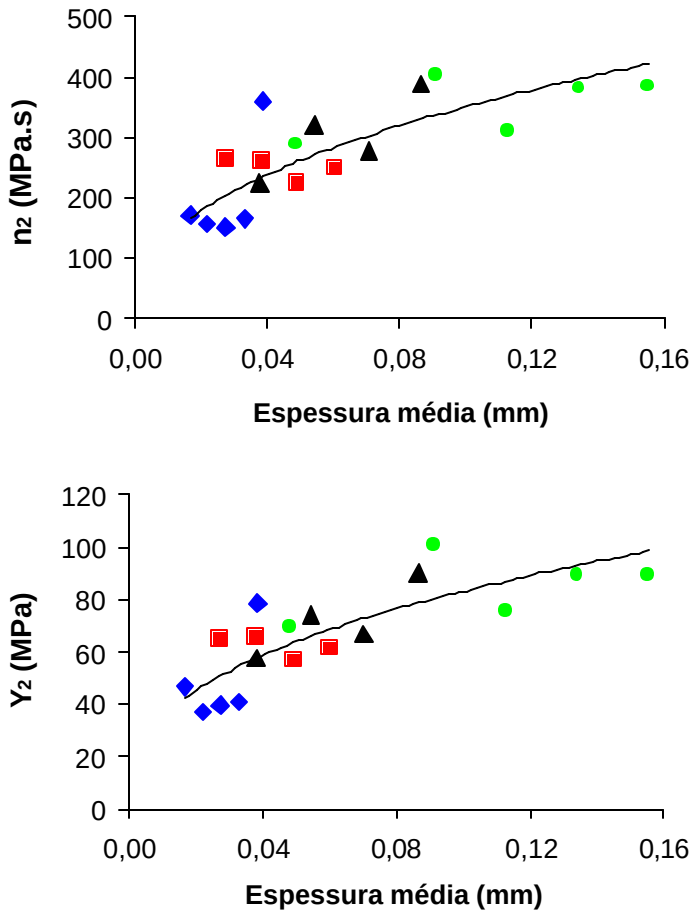


Figura 45: Coeficiente de viscosidade (η_2) e módulo de elasticidade (Y_2) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%) representada pelo modelo do Burgers.

Ao contrário do observado neste trabalho, as propriedades viscoelásticas de filmes a base de proteínas miofibrilares de sardinha do Atlântico, foram aparentemente independentes da espessura (0,010-0,060 mm) (Cuq *et al.*, 1996b). Já no trabalho de Chandra & Sobral (2000), observou-se a diminuição das propriedades viscoelásticas com o aumento da espessura (0,024 a 0,093 mm) em filmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo, sendo que, os coeficientes de viscosidade e os módulos de elasticidade variaram de 725 a 626 MPa.s e 3,8 MPa no primeiro conjunto de elementos, de 46,5 a 34,7 MPa.s e de 10,1 a 8,3 MPa, respectivamente, no segundo conjunto de elementos.

De acordo com Cuq *et al.*(1996b), o módulo de elasticidade é um indicador da rigidez do filme e pode caracterizar a reversibilidade das interações moleculares, enquanto que o coeficiente de viscosidade é um indicador da densidade de interações moleculares que ocorrem nos filmes. Deste modo, pode-se considerar que os filmes de fécula de mandioca são mais rígidos e apresentam maior densidade e reversibilidade das interações moleculares que os filmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo.

Quadro 15: Parâmetros do modelo da potência ($Y = AX^B$) obtidos por regressão não linear das propriedades funcionais (Y) de biofilmes de fécula de mandioca em função da espessura (X).

Propriedades	A	B	R^2
Solubilidade (%)	0,025	-1,822	0,903
Coeficientes de viscosidade (MPa.s)			
η_1	26.425,2	0,517	0,867
η_2	923,31	0,421	0,646
Módulos de elasticidade (MPa)			
Y_1	19,38	-0,078	0,104
Y_2	200,23	0,382	0,643

4.2.9.2 Análise mecânica dinâmica (Teste de dinâmico)

A análise mecânica dinâmica é um teste dinâmico para a medida das propriedades viscoelásticas de materiais, onde uma tensão (ou deformação) oscilatória (sinoidal) é aplicada e a deformação (ou tensão) desenvolvida pelo material é medida.

Um exemplo dos gráficos obtidos no teste de varredura de freqüência pode ser observado na Figura 46. O módulo de armazenamento (E') manteve-se praticamente constante, enquanto que o módulo de perda (E") e a tangente do ângulo de fase (tand) diminuíram com o aumento da freqüência até 100Hz.

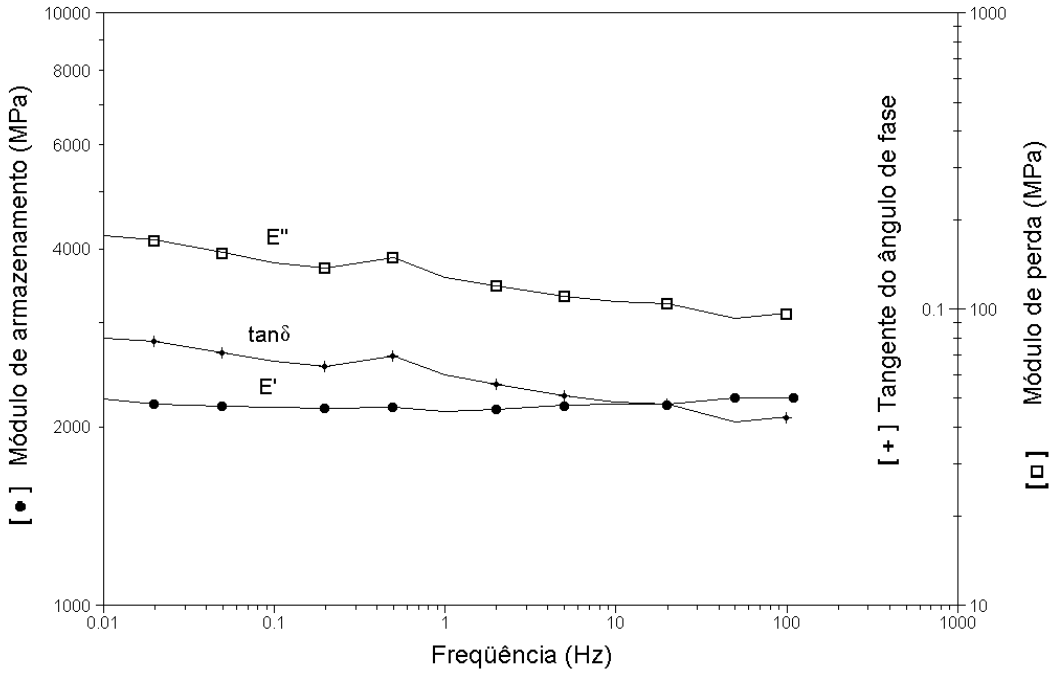


Figura 46: Varredura de freqüência de filme de fécula de mandioca elaborados com 2% de amido e 0,028mm de espessura.

Para o estudo da influência da espessura nas propriedades viscoelásticas dos filmes de fécula de mandioca fixou-se a freqüência em 1Hz. Os módulos de armazenamento e de perda dos filmes de fécula de mandioca variaram de maneira similar, apresentando-se constantes nos filmes mais finos (0,017-0,040 mm), e mostrando uma ligeira diminuição nos filmes com espessura acima de 0,040 mm (Figura 47).

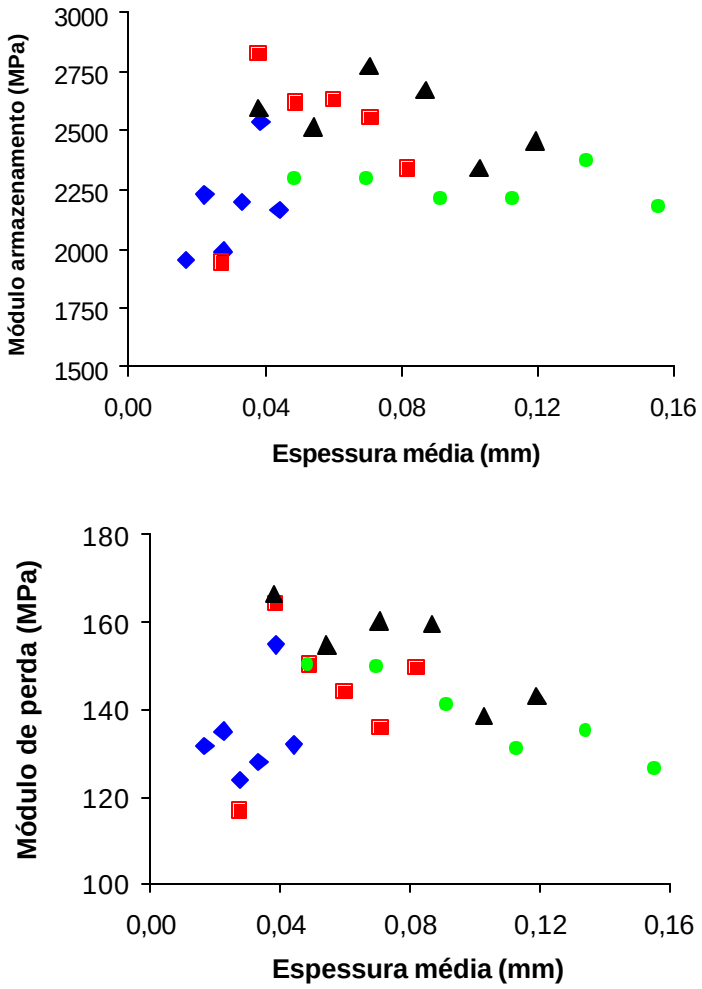


Figura 47: Módulos de armazenamento (a) e de perda (b) a 1Hz, em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ▲ 2% ■ 3% ● 4%).

Nos testes dinâmicos, o módulo de armazenamento (E') é uma medida da energia armazenada no material e recuperada por ciclo e indica o seu caráter sólido ou elástico. O módulo de perda (E") indica a energia dissipada ou perdida por ciclo de deformação sinoidal, e dá uma indicação do comportamento líquido ou viscoso do material (Karim *et al.*2000). Como o módulo de armazenamento foi muito superior ao módulo de perda, com valores da ordem 2000 MPa, pode-se considerar que os filmes de fécula de

mandioca apresentaram comportamento elástico, concordando com os resultados do coeficiente de relaxamento, obtido no teste de relaxamento de tensão.

Outro parâmetro indicador do comportamento físico do sistema é a tangente do ângulo de fase (tan d), sendo a razão entre E''/E'. A Figura 48 mostra a magnitude da tan d obtida a 1 Hz, a partir dos ensaios dinâmicos realizados para os filmes de fécula de mandioca.

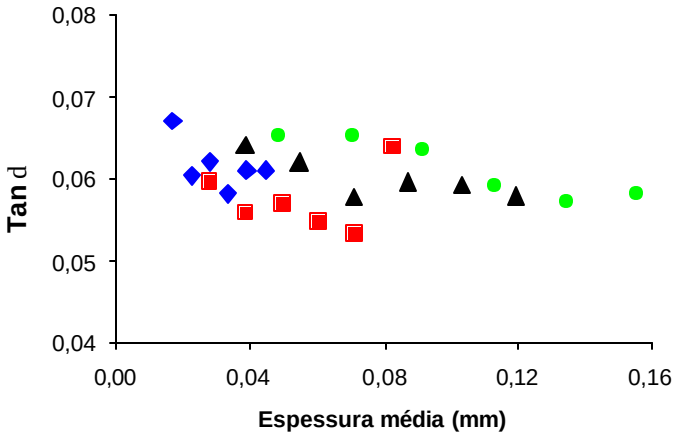


Figura 48: Tangente do ângulo de fase (tan d) a 1Hz, em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ▲ 2% ■ 3% ● 4%).

Pode-se observar que a tan d foi menor que 1, ou seja E'>E'', o que indica mais uma vez o comportamento elástico dos filmes. Como os comportamentos de E' e E'' foram praticamente idênticos a tan d praticamente não variou com o aumento da espessura dos filmes apresentando média geral de 0,06±0,004.

Não foi possível fazer comparações dessas propriedades com outros resultados em função da falta de trabalhos correlatos.

4.2.10 Permeabilidade ao vapor de água

Na Figura 49 estão apresentados exemplos de gráficos de ganho de peso das células de permeabilidade. Nota-se que o ganho de peso foi linear desde o início dos ensaios; o período do regime transiente não foi observado. Esse comportamento linear indicou que a permeação ocorreu em regime permanente, isto é, a quantidade de moléculas de água adsorvida de um lado do filme, foi dessorvida do lado oposto. Todas as regressões lineares apresentaram ótimos coeficientes de correlação (R^2=0,99). Observa-se a diminuição da inclinação das retas com o aumento da espessura dos filmes, isto significa que os filmes menos espessos apresentaram passagem de uma maior quantidade de água por unidade de tempo.

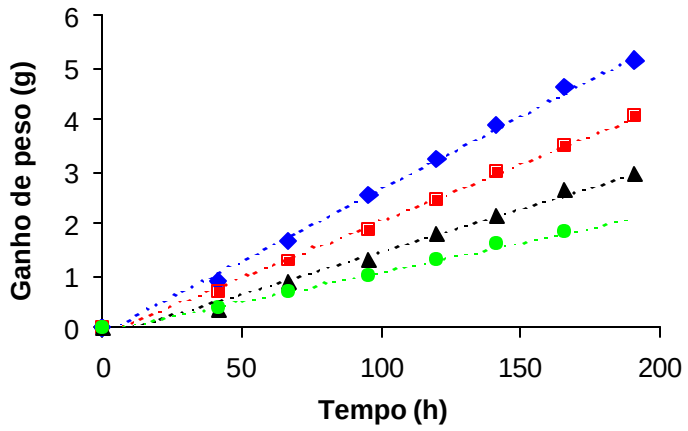


Figura 49: Exemplos de curvas de ganho de peso das células de permeabilidade em função do tempo para as espessuras de 0,026mm (◆), 0,045mm ( ), 0,085mm ( ) e 0,114mm ( ).

Teoricamente, segundo a lei de Fick, de difusão, e a lei de Henry, de sorção, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (Tva) de um filme plástico sintético deve variar com o inverso da sua espessura, enquanto que a permeabilidade ao vapor de água (Pva) deve ser constante (McHugh *et al.*, 1993, Park *et al.*, 1993). Porém, segundo Schwartzberg, citado por Gontard (1991), a transmissão de água através de materiais hidrofílicos é muito mais complexa, devido a não linearidade das suas isotermas de sorção.

Observa-se na Figura 50 que a Tva variou negativamente com a espessura. Os parâmetros da reta (Quadro 14) foram significativos ($P<0,05$), entretanto o coeficiente de determinação foi baixo ($R^2=0,51$) em função da dispersão dos pontos experimentais. A diminuição linear da Tva em função do aumento da espessura também foi observado por Martin-Polo *et al.*(1992) em filmes de celofane revestidos com parafina (0,050 a 0,140 mm) e por Sobral (2000a) em filmes de proteínas miofibrilares (0,017 a 0,102 mm).

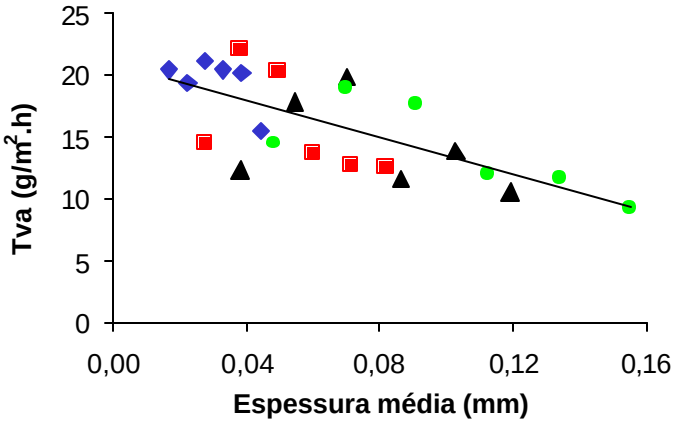


Figura 50: Taxa de permeabilidade ao vapor de água (Tva) a 25ºC, em função da espessura de filmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

A influência da espessura dos biofilmes sobre a Pva pode ser observada na Figura 51, nota-se que esta aumentou de 0,095 a 0,383 g.mm/h.m^2.kPa com espessura variando de 0,017 a 0,090 mm, mantendo-se constante (ao redor de 0,50 g.mm/h.m^2.kPa) em espessura acima de 0,090mm. Neste caso os pontos experimentais foram representados por uma equação polinomial do segundo grau ($Pva=-0,041 + 8,30x - 31,92x^2$), a qual apresentou um bom coeficiente de determinação ($R^2=0,86$).

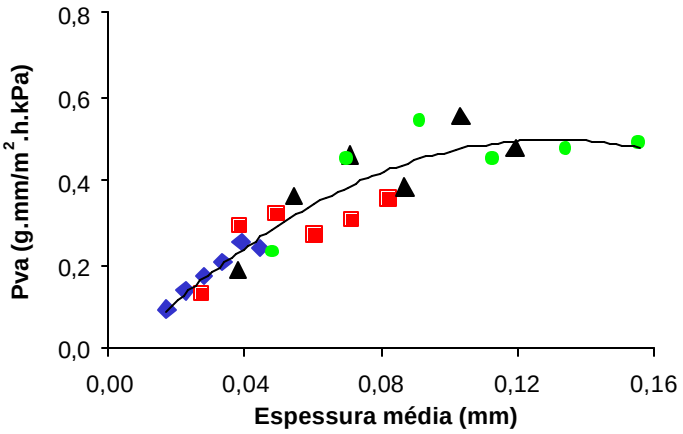


Figura 51: Permeabilidade ao vapor de água (Pva) a 25ºC, em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

Vários autores observaram o aumento linear da Pva em função da espessura (Cuq *et al.*, 1996a; Carvalho, 1997; Tomasula *et al.*, 1998 e Sobral, 2000a). McHugh *et al.*(1993) trabalharam com filmes de caseinato de sódio e observaram que a Pva passou de 0,25 para 1,50 g.mm/h.m^2.kPa com espessura dos filmes variando de 0,01 a 0,10 mm. Sobral (1999) observou que a Pva dos filmes de gelatina de couro bovino variou de 1,9 a 7,1 x 10^{-5} g.mm/h.m^2.kPa, entre 0,022 e 0,138 mm, enquanto que, nos filmes de gelatina de pele suína, a variação foi de 1,0 a 7,1 x 10^{-5} g.mm/h.m^2.kPa entre 0,011 e 0,128 mm.

Porém, Park *et al.*(1993) trabalhando com filmes de metilcelulose e hidroxipropilcelulose com espessura variando de 0,045 a 0,106 mm e 0,022 a 0,139 mm observaram que a Pva foi relativamente constante para ambos os filmes, ficando ao redor de 0,37 e 0,21 g.mm/h.m^2.kPa, respectivamente.

Algumas hipóteses tem sido propostas para explicar o efeito da espessura sobre as propriedades de barreira. Segundo Park & Chinnan (1995), a permeabilidade ao vapor de água pode variar com a espessura dos biofilmes devido às mudanças estruturais causadas pelo inchamento da matriz hidrofóbica, que afetam a estrutura dos biofilmes e provocam tensões internas que podem influenciar a permeação.

Os valores da Pva dos filmes produzidos neste trabalho foram semelhantes aos obtidos por Chang *et al.* (2000) para filmes de fécula de mandioca a 30ºC (0,57 g.mm/h.m^2.kPa).

4.2.11 Propriedades óticas

4.2.11.1 Cor

Exemplos de espectros de cor de filmes de fécula de mandioca de mesma espessura (0,045 mm) estão apresentados na Figura 52.

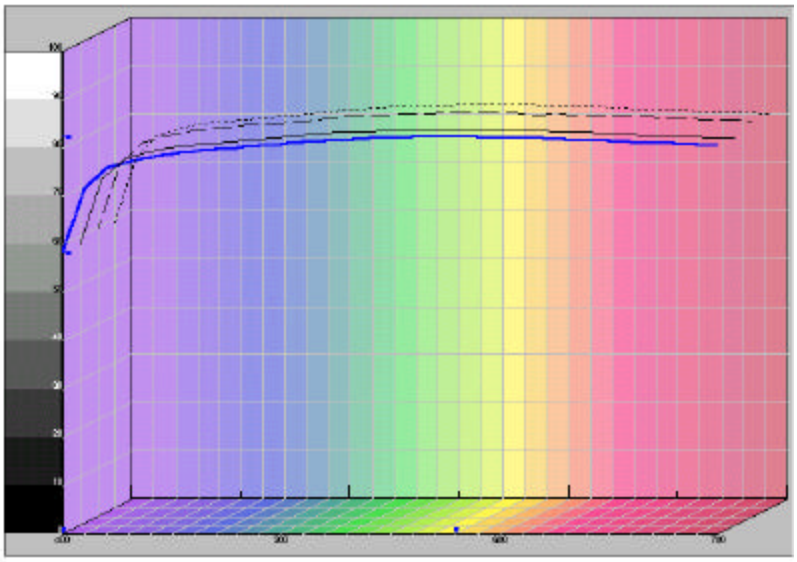


Figura 52: Espectro característico da diferença de cor de filmes de fécula de mandioca com espessura de 0,045 mm em diferentes concentrações de amido na solução filmogênica (? ? ? 1% - - - 2% ?? 3% ?? 4%).

Os resultados das medidas de cor, representados pela diferença de cor (ΔE), isto é, perda de cor da placa branca padrão, estão apresentados na Figura 53. Observa-se

que a diferença de cor aumentou linearmente com a espessura de 2,40 para 4,98, com inclinação não desprezível (B=18,38), sendo os parâmetros da equação da reta significativos (P<0,05) (Quadro 14). A influencia linear da espessura sobre a diferença de cor em filmes de gelatina e de proteínas miofibrilares também foi observada por Sobral (1999, 2000a). Comparando-se os coeficientes de inclinação da reta deste trabalho com os resultados obtidos pelo autor anterior, observa-se que os filmes de proteínas miofibrilares de carne bovina (B=133,85) e tilápia-do-Nilo (B=83,77) e os filmes de gelatina de couro bovino (B=36,75) apresentaram maior dependência da cor em função da espessura do que os filmes de fécula de mandioca (B=18,38) e os filmes de gelatina de pele suína (B=4,68).

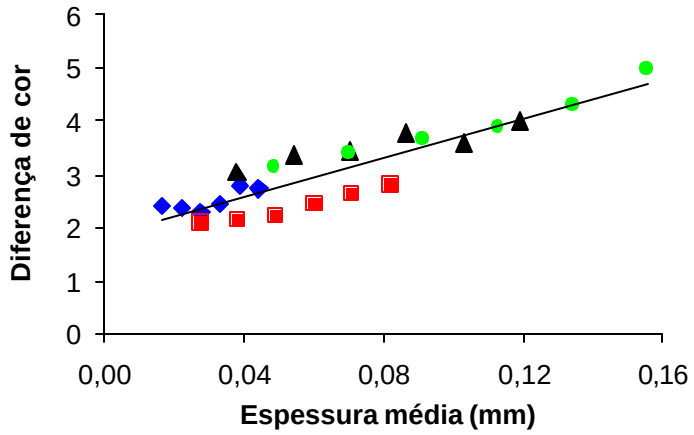


Figura 53: Diferença de cor (?E) em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%).

Todos os filmes produzidos neste estudo, apresentaram-se menos coloridos que os filmes à base de proteína de soja (?E=11,56) produzidos por Kunte *et al.*(1997). Porém, para uma espessura de 0,100 mm, os filmes de fécula de mandioca apresentaram-se com mais cor (?E=3,59) que os filmes elaborados com ovoalbuminas (?E=1,70) por Gennadios *et al.*(1996).

A diferença de cor dá informações sobre o incremento da coloração do material, mas não informa a cor do mesmo; entretanto, os parâmetros dos cromas *a* e *b* podem dar essa indicação. Observa-se nas Figuras 54 que o croma *a* diminuiu, enquanto que o croma *b* aumentou com o incremento da espessura. Os dados do croma *a* apresentaram apenas

valores negativos, indicativos do componente verde; os dados do croma *b*, por sua vez, apresentaram valores positivos, indicativos do componente amarelo. Como os valores de *a* e *b* situaram-se muito próximos do zero pode-se considerar que os filmes apresentaram coloração levemente acinzentada.

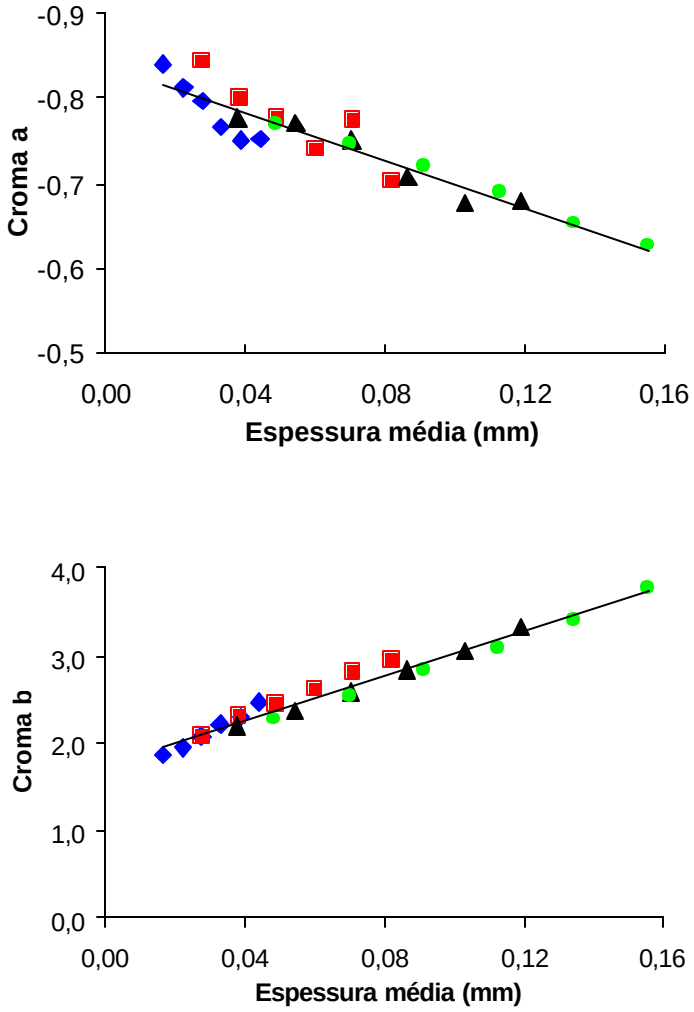


Figura 54: Cromas *a* e *b* em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

A luminosidade representa a terceira dimensão da cor, sendo a qualidade pela qual se distingue uma cor clara de outra escura (Ferreira, 1981). Ao contrário de todas as outras propriedades estudadas, a luminosidade dos filmes foi influenciada pela concentração de amido na solução filmogênica (Figura 55). Os filmes elaborados com concentrações de 1 e 2% apresentaram luminosidade constante em torno de 90,8, enquanto que para os filmes com 3 e 4% de amido observou-se a diminuição da luminosidade de 90,41 para 88,97, com o aumento da espessura, isto é, os filmes tornaram-se mais escuros.

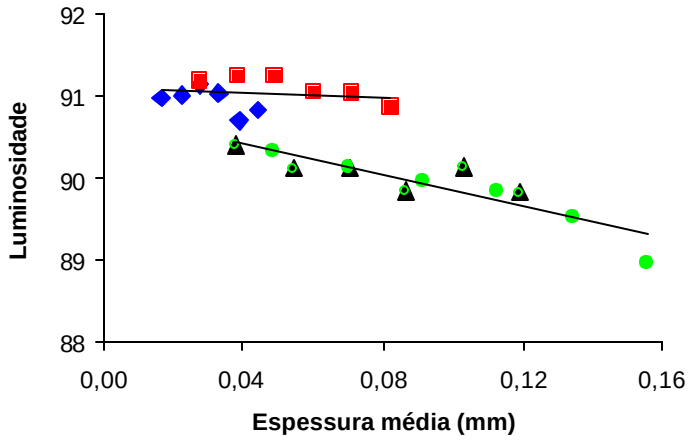


Figura 55: Luminosidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% ■ 2% ▲ 3% ● 4%).

4.2.11.2 Opacidade

Como a luminosidade, a opacidade dos filmes também foi influenciada pela espessura e pela concentração de amido na solução filmogênica (Figura 56). Os dados experimentais obtidos com filmes preparados com 1 e 2% de amido apresentaram maior dependência da espessura, cuja opacidade aumentou de 1,77 para 3,44% (R^2=0,83) entre 0,017 e 0,082 mm, que nos filmes de 3 e 4%, cuja opacidade aumentou de 1,11 para 2,74% (R^2=0,76) entre 0,038 e 0,156 mm com inclinação da reta de 30,52 e 11,83, respectivamente, sendo os parâmetros das equações das retas significativos ($P<0,05$) (Quadro 14).

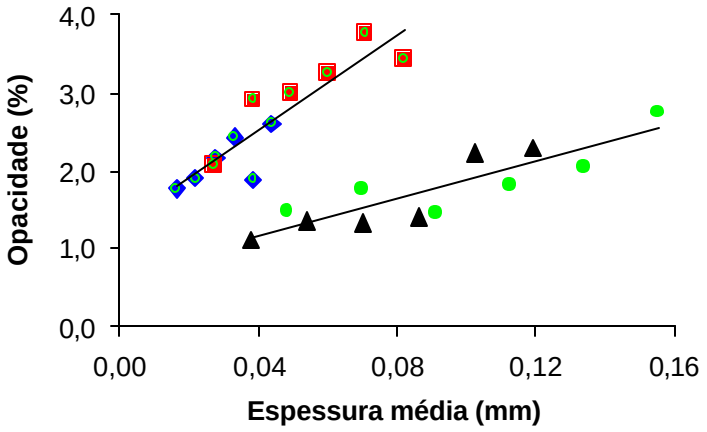


Figura 56: Opacidade em função da espessura de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (◆ 1% 2% 3% 4%).

O aumento linear da opacidade em função da espessura também foi observado por Sobral (2000a), onde biofilmes de proteínas miofibrilares de carne bovina e de tilápia-do-Nilo apresentaram inclinação da reta de 26,92 e 25,46, respectivamente, com opacidade variando entre 1 e 6%. Por outro lado, a opacidade dos filmes de gelatina permaneceu praticamente constante com a espessura (0,011 a 0,163 mm), com valores muito próximos de zero (Sobral, 1999). No trabalho de Cuq *et al.*(1996a), a opacidade medida por absorbância em espectrofômetro, também não foi influenciada pela espessura dos filmes, entre 0,010 e 0,053 mm.

No caso da influência da concentração de amido na opacidade dos filmes, esperava-se que os filmes elaborados com maior teor de amido nas soluções filmogênicas fossem mais opacos, o que não ocorreu. Uma possível explicação para este fato, está baseada no grau de cristalinidade dos filmes. De acordo com Alves *et al.*(1998) a transparência de plásticos está relacionada com o grau de cristalinidade, pois, as regiões cristalinas refletem ou desviam o feixe de luz incidente, comprometendo a transmissão de luz especular e também, segundo Heckman (1977), a opacidade das pastas de amido é causada pela associação de moléculas através de ligações de hidrogênio. Baseando-se nos resultados de difração de raios X (item 4.2.2), os filmes elaborados com 2% de amido apresentaram cristalinidade residual, enquanto que os filmes a 4% mostraram-se completamente amorfos. Provavelmente, esta cristalinidade residual levou a diminuição da transparência dos filmes.

Embora os filmes de fécula de mandioca apresentem um certo valor de opacidade, estes podem ser considerados transparentes, podendo ser utilizado em situações onde o produto condicionado deva ser observado pelo consumidor.

4.2.12 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e análise quimiométrica

4.2.12.1. Aquisição dos dados

Um exemplo dos espectros na região do infravermelho médio das amostras de fécula de mandioca e do filme à base de fécula de mandioca na região espectral de 1800-700 cm^{-1} estão apresentados na Figura 57. Os principais comprimentos de onda e suas vibrações características, de acordo com Galat (1980), são mostrados no Quadro 16. Os espectros foram similares aos obtidos por Vandeerstraeten *et al.* (1998) e Demiate *et al.*(2000) para fécula de mandioca natural e modificada e, de maneira geral, ambos os espectros não mostraram grandes variações em função de conterem os mesmos componentes principais (amilose e amilopectina). Entretanto, ligeiras modificações, em termos de mudança de posição das bandas e intensidade dos picos de absorção, podem ser observadas em ambos espectros entre 1100 e 900 cm^{-1}, e ao redor de 1350 cm^{-1} (Figura 57).

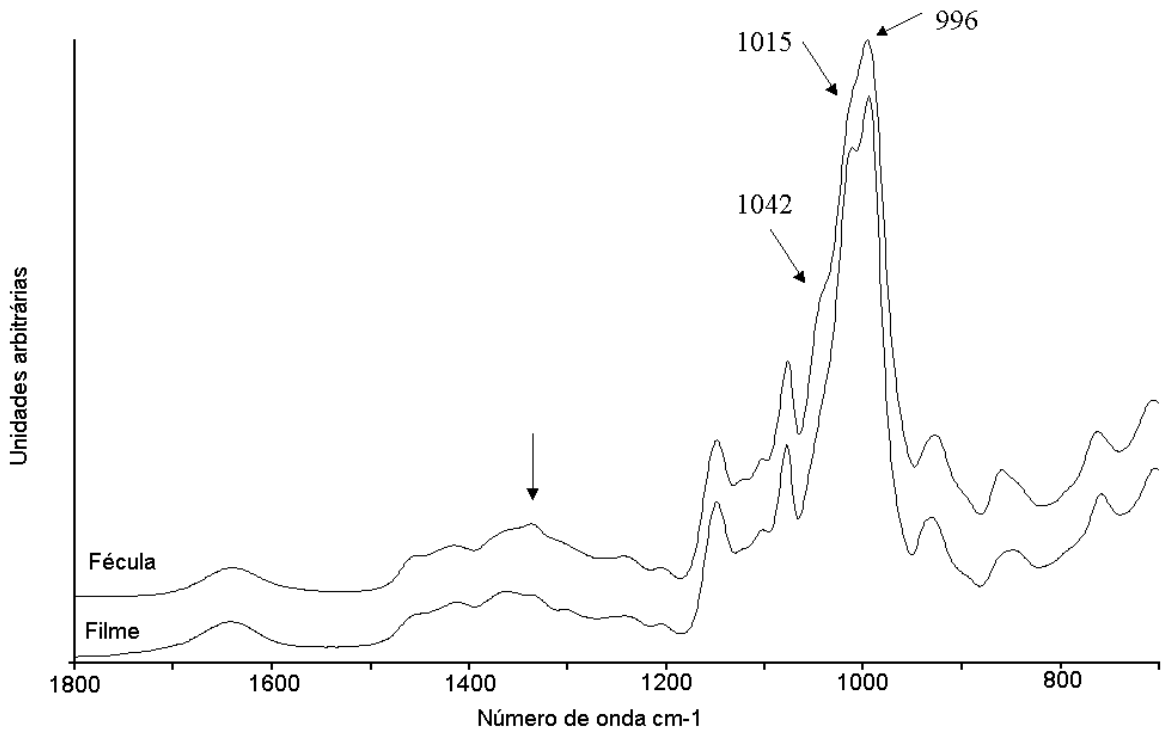


Figura 57: Exemplos de espectro infravermelho de fécula de mandioca e de filme de fécula de mandioca na região espectral de [1800 – 700] cm^{-1}.

O espectro da fécula de mandioca mostrou três bandas ao redor da região de 1000 cm^{-1} localizadas a 1042 cm^{-1}, 1015 cm^{-1} e 996 cm^{-1}. Por outro lado, no espectro do filme, a banda a 1042 cm^{-1} tornou-se menos visível (diminuiu) e a posição das bandas a 1015 cm^{-1} e 996 cm^{-1} mudaram para 1012 cm^{-1} e 994 cm^{-1}, respectivamente, sendo que a banda a 1012 cm^{-1} aumentou de intensidade formando outro pico. Neste caso, a mudança na intensidade das bandas a 1042 e 1015 cm^{-1} indicou que os filmes de fécula de mandioca apresentaram uma perda da ordem molecular, isto é, os filmes apresentam estrutura amorfa, concordando com os resultados observados na análise de difração de raios X (Item 4.2.2). De acordo com van Soest *et al.*(1995), a banda de absorbância a 1042 cm^{-1} é sensível a cristalinidade do amido e a banda a 1015 cm^{-1} é característica de amido amorfo. Esta mudança na intensidade dos picos foi bem visível no amido de batata pré-gelatinizado.

De acordo com Goodfellow & Wilson (1990), nas análises de polissacarídeos pelo infravermelho, as bandas na região espectral entre 1300 e 900 cm^{-1} são mais sensíveis a conformação molecular. Então, as mudanças observadas nas bandas entre 1400 e 1300 cm^{-1} não foram causadas, provavelmente, pelas mudanças de estrutura do polímero, mas sim devido à mudanças moleculares dos grupamentos CH e COH provavelmente sem implicação nas conformações estruturais.

4.2.12.2. Análise de componentes principais

A fim de diminuir o número de dados experimentais, trabalhou-se dentro da região de "impressão digital", entre 1300-800 cm^{-1} (Dupuy *et al.*, 1997), com a primeira derivada dos espectros. Essa região foi selecionada também, porque apresentou alterações entre os espectros do amido nativo e dos filmes; uma vez que as bandas nesta região são mais sensíveis as mudanças conformacionais do amido (van Soest *et al.*, 1994).

A análise por componentes principais (ACP) foi usada como um método de classificação com o objetivo de agrupar as amostras com características semelhantes. Os três primeiros componentes principais explicaram 99% da variância (90, 7 e 2%), sendo que os demais componentes contribuíram com menos de 1% da variância residual, podendo-se considerar que estes componentes modelaram variações não significativas como ruído das variações amostrais. Apesar do segundo componente principal explicar 7% da variância total entre as amostras, este não apresentou importante separação das mesmas.

A Figura 58 mostra o gráfico dos escores dos filmes de fécula de mandioca, em duas direções, CP1 e CP3, onde a primeira componente principal explica 90% da variância dos dados e representa a principal característica diferencial das amostras. A informação espectral mais importante dessa componente está relacionada com espessura dos filmes. As amostras com espessura inferior a 0,050 mm (amostras de 120 a 240), conforme o Quadro 16, foram projetadas positivamente na CP1, enquanto todas as demais projetaram-se negativamente. Analisando-se o gráfico dos *loadings* (Figura 59a), observa-se que a banda vibracional ao redor de 990 cm^{-1} foi a responsável por essa separação.

A terceira componente principal explica 2% da variância e está correlacionada com a concentração de amido na solução filmogênica. Os filmes elaborados com 1% (120 a 170) e 4% (430 a 470) de amido, foram projetados positivamente e os demais negativamente, e de acordo com a Figura 59b, o pico ao redor de 1010 cm^{-1} influenciou a separação das amostras nesta CP.

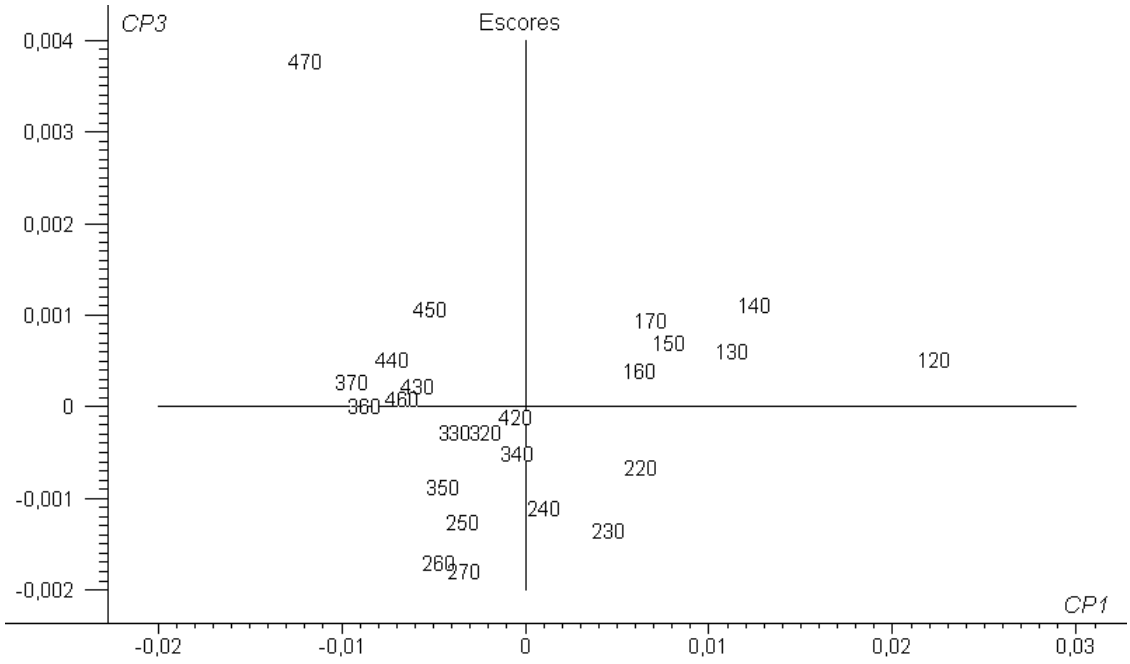


Figura 58: Gráfico de *scores* (CP1 *vs* CP3) de biofilmes de fécula de mandioca em diferentes concentrações (1%, 2%, 3% e 4%) em função da espessura).

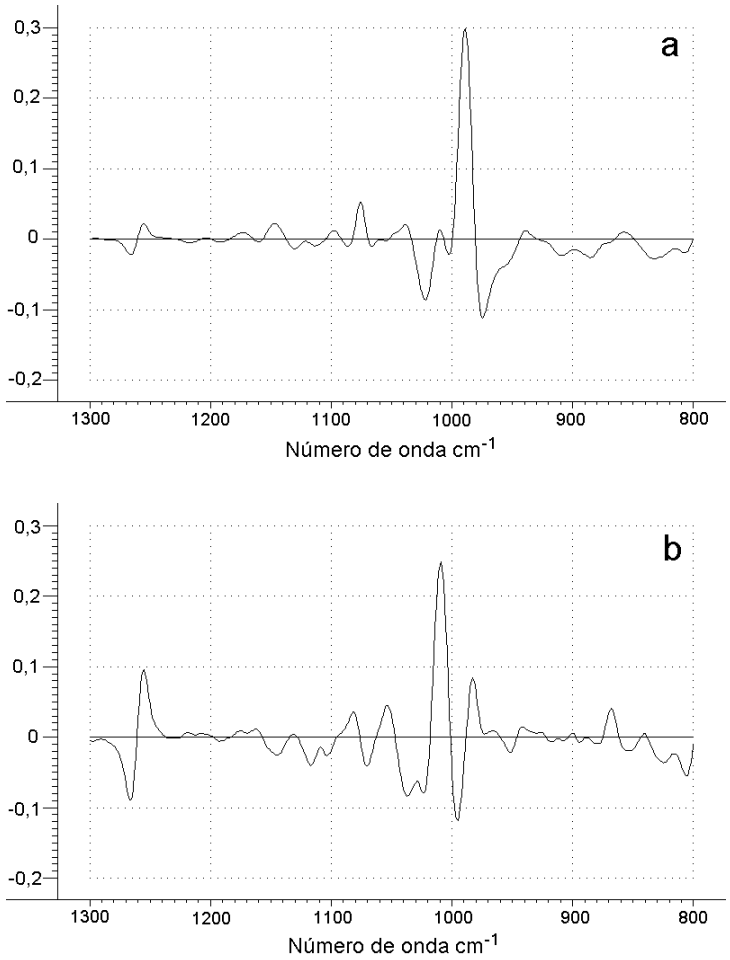


Figura 59: Primeiro (a) e terceiro (b) *loadings* das variáveis utilizadas.

4.2.12.3 Predição das propriedades funcionais

Se as propriedades funcionais estiverem relacionadas com as alterações estruturais nos filmes de fécula de mandioca, o espetro infravermelho deverá conter alguma informação relativa a essas modificações. Nesta etapa é possível obter alguma indicação sobre qual ligação ou interação química está influenciando as propriedades dos filmes.

As amostras marcadas com um asterisco e em negrito no Quadro 16 foram testadas na etapa de validação do modelo de calibração e predição dos dados (2ª etapa),

as demais foram utilizadas para construir o próprio modelo de calibração (1ª etapa). A calibração foi feita usando-se o método PLS1 na região espectral de 1300 a 800 cm^{-1}, considerando-se o espectro de absorbância após a centralização dos dados pela média.

Quadro 16: Valores das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca usadas na preparação das curvas de calibração multivariada.

Amostra	Espessura (mm)	Força ruptura (N)	Deformação ruptura (%)	PVA ($g.mm/h.m^2.kPa$)	Diferença de cor	Opacidade (%)
120	0,017	1,59	0,55	0,095	2,40	1,77
130*	**0,022**	**2,83**	**0,56**	**0,136**	**2,37**	**1,89**
140	0,028	3,85	0,55	0,176	2,29	2,17
150	0,033	4,39	0,53	0,206	2,43	2,44
160	0,039	5,31	0,64	0,254	2,79	1,89
170	0,044	6,34	0,62	0,238	2,72	2,60
220	0,028	3,35	0,56	0,131	2,09	2,07
230	0,038	5,07	0,58	0,292	2,15	2,90
240*	**0,049**	**6,83**	**0,64**	**0,318**	**2,20**	**3,00**
250	0,060	8,86	0,56	0,269	2,44	3,27
260	0,071	10,68	0,63	0,308	2,63	3,76
270	0,082	11,05	0,62	0,357	2,79	3,44
320	0,038	5,85	0,64	0,185	3,05	1,11
330	0,054	8,91	0,68	0,365	3,38	1,36
340	0,071	10,95	0,67	0,461	3,44	1,33
350*	**0,087**	**14,27**	**0,74**	**0,383**	**3,78**	**1,39**
360	0,103	16,88	0,71	0,554	3,59	2,23
370	0,119	20,76	0,78	0,475	4,00	2,30
420	0,049	8,28	0,61	0,229	3,14	1,49
430	0,070	11,66	0,65	0,453	3,40	1,76
440	0,091	16,15	0,82	0,542	3,67	1,46
450	0,113	16,13	0,70	0,454	3,88	1,81
460*	**0,134**	**20,19**	**0,88**	**0,476**	**4,29**	**2,06**
470	0,156	22,05	0,97	0,490	4,98	2,74

Os resultados obtidos nas etapas de calibração (RMSEC) e validação/predição (RMSEP), para todas as propriedades, bem como o número de fatores incluídos no modelo estão apresentados no Quadro 17. Para cada propriedade, utilizou-se o teste de Fisher-Snedecor para determinar se houve alguma significância entre os resultados de predição. O valor crítico F_c (3:3) dado pela tabela de Fisher-Snedecor a10% foi 5,39. A comparação com o F calculado mostrou que os RMSEPs são estatisticamente equivalentes para todas as propriedades. Neste caso, o fator foi escolhido em função do maior coeficiente de correlação.

Uma vez escolhidos os fatores, pode-se examinar no Quadro 18, os valores estimados para as amostras que não participaram na geração do modelo de calibração, ou seja, as amostras testadas na predição. Em função da adequada predição, observou-se que as propriedades funcionais podem ser modeladas pelo espectro de infravermelho.

Quadro 17: Otimização do modelo de calibração das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca.

Fator	Força na ruptura(N)			Deformação na ruptura (%)			PVA (g.mm/h.m^2.kPa)		
	RMSEC	RMSEP	Corr	RMSEC	RMSEP	Corr	RMSEC	RMSEP	Corr
1	2,884	3,490	0,929	0,071	0,085	0,906	**0,079**	**0,035**	**0,988**
2	2,313	2,956	0,970	0,049	0,086	0,920	0,072	0,044	0,961
3	**1,975**	**3,303**	**0,992**	**0,038**	**0,093**	**0,955**	0,069	0,050	0,975
4	1,398	3,172	0,972	0,035	0,098	0,881	0,055	0,055	0,919
5	1,245	3,030	0,980	0,033	0,093	0,946	0,052	0,042	0,994
6	0,884	2,733	0,983	0,274	0,100	0,835	0,041	0,084	0,905
7	0,729	2,737	0,966	0,022	0,090	0,781	0,030	0,102	0,833
8				0,020	0,089	0,783	0,024	0,119	0,673
Erro (%)		29,94 (3)			13,19 (3)			10,73 (1)	

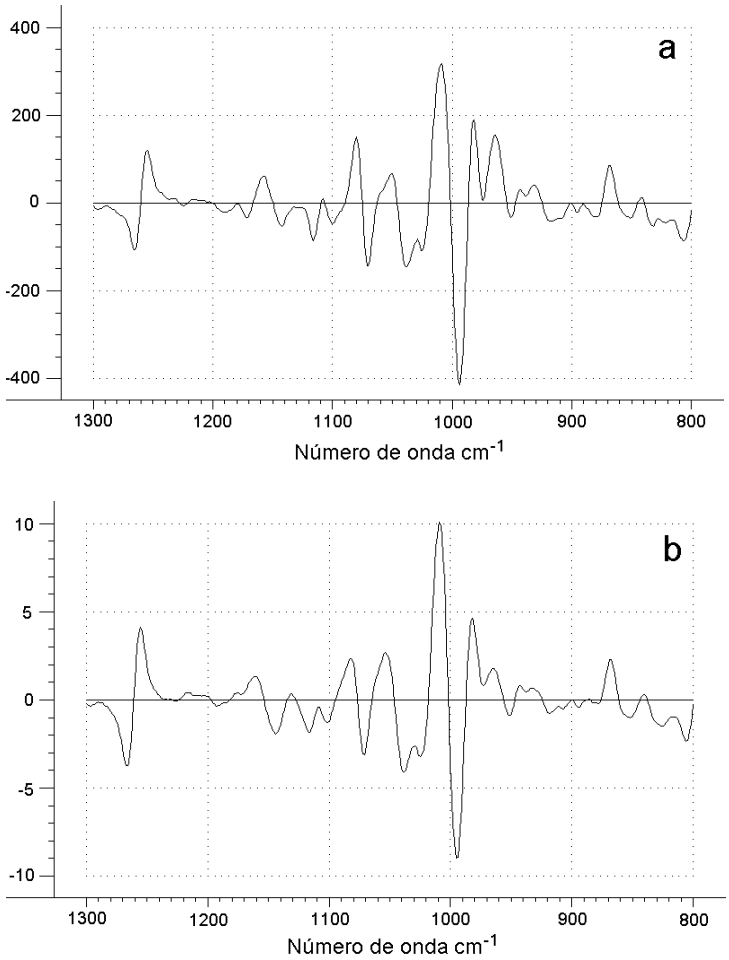
Fator	Cor			Opacidade (%)		
	RMSEC	RMSEP	Corr	RMSEC	RMSEP	Corr
1	0,474	0,601	0,817	0,717	0,598	-0,039
2	0,297	0,430	0,985	**0,662**	**0,438**	**0,908**
3	0,227	0,532	0,988	0,617	0,558	0,499
4	**0,164**	**0,521**	**0,993**	0,474	0,419	0,851
5				0,377	0,717	-0,750
6				0,270	0,617	-0,118
7				0,219	0,579	0,115
8				0,169	0,535	0,482
Erro (%)		16,48 (4)			21,01 (2)	

Quadro 18: Predição das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca por espectroscopia na região do infravermelho associada à regressão PLS.

Amostra	Força na ruptura(N)		
	Valores		Desvio
	de referência	estimados	
130	2,83	3,58	2,21
240	6,83	6,97	3,32
350	14,27	11,66	2,61
460	20,10	14,17	1,57
	Deformação na ruptura (%)		
130	0,56	0,56	0,034
240	0,64	0,56	0,051
350	0,74	0,67	0,040
460	0,88	0,72	0,024
	Diferença de cor		
130	2,37	2,49	0,127
240	2,20	2,48	0,181
350	3,78	3,14	0,147
460	4,29	3,53	0,091
	Opacidade (%)		
130	1,89	2,12	0,567
240	2,30	2,68	0,584
350	1,39	2,16	0,688
460	2,06	2,19	0,355
	PVA (g.mm/h.m^2.kPa)		
130	0,136	0,173	0,058
240	0,318	0,313	0,083
350	0,383	0,386	0,072
460	0,476	0,416	0,039

A partir dos fatores escolhidos pode-se examinar seus coeficientes de regressão (Figura 60), obtidos na etapa de calibração, os quais indicam o número de onda que apresentou maior contribuição para a propriedade de interesse. Obtendo-se uma melhor compreensão da relação entre as propriedades funcionais e os parâmetros estruturais dos filmes de fécula de mandioca.

Os resultados da análise de força e deformação na ruptura apresentaram coeficientes de regressão muito similares (Figura 60a, 60b) com numerosas contribuições, sendo que as maiores foram encontradas a 1012 e 994 cm^{-1}, sendo ambas próximas ao coeficiente de regressão associado à determinação da cor (Figura 60c). Os coeficientes de regressão obtidos para a determinação da opacidade (Figura 60d) e permeabilidade (Figura 60e) dos filmes apresentaram alta contribuição dos picos a 1012 cm^{-1} e 994 cm^{-1}, respectivamente.



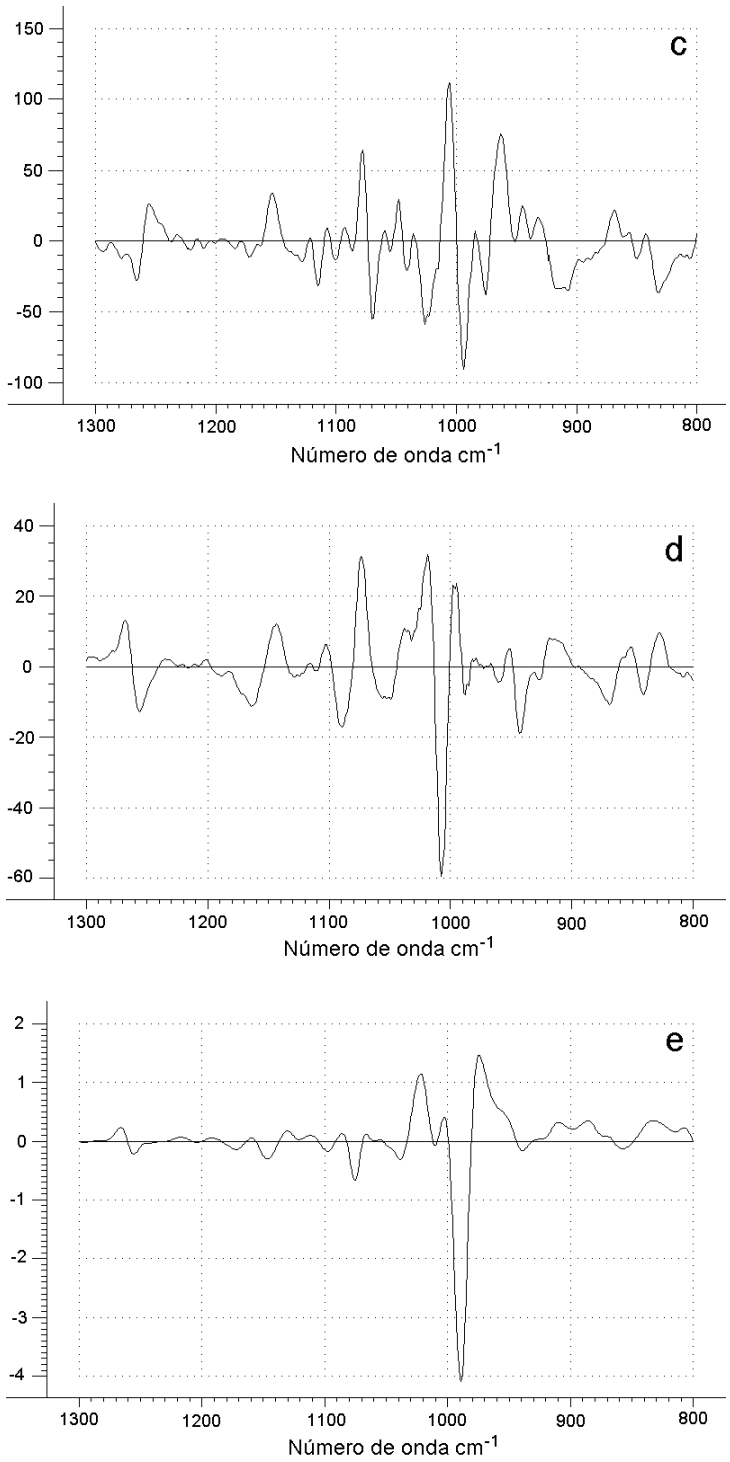


Figura 60: Coeficientes de regressão das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca: força na ruptura (a), deformação na ruptura (b), cor (c), opacidade (d), permeabilidade ao vapor de água (e).

Os filmes de fécula de mandioca apresentaram aumento linear da resistência mecânica em função da espessura. Segundo Cuq *et al.*(1996a) isto é devido ao aumento da quantidade de matéria seca por superfície, que leva ao aumento tanto da proximidade quanto do número de cadeias do polímero por superfície de filme, elevando assim o número potencial de interações inter e intramoleculares. O caráter elástico dos filmes também é função do maior número de interações entre as cadeias do polímero. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho o aumento da resistência dos filmes em função da espessura foi atribuído a banda a 994 cm^{-1}, a qual, de acordo com van Soest *et al.*(1995), está relacionada com as ligações de hidrogênio intermoleculares do grupo hidroxila do carbono 6 da molécula de glicose do amido (Figura 1), validando o modelo proposto por Tako & Hizukuri (2002) para a retrogradação do amido (Figura 3).

Embora a banda a 994 cm^{-1} seja sensível ao conteúdo de água, no caso das propriedades mecânicas, ao que tudo indica, está relacionada apenas com as ligações de hidrogênio, uma vez que a umidade dos filmes não variou com o aumento da espessura. Entretanto, no caso da permeabilidade ao vapor de água, esta mesma banda, provavelmente, está também relacionada com o conteúdo de água, uma vez que o aumento da PVA devido ao aumento da espessura dos filmes se dá em função do inchamento da matriz polimérica (Park & Chinnan, 1995).

Já a opacidade está relacionada com a banda a 1012 cm^{-1}, que é indicativa da fração amorfa do amido (van Soest *et al.*, 1995). Essa informação vem confirmar os resultados discutidos no item 4.2.11.2, onde a opacidade dos filmes de fécula de mandioca, está, provavelmente, relacionada com o grau de cristalinidade.

4.2.13 Aplicação pós-colheita

Os trabalhos que estudaram a aplicação de películas de fécula de mandioca mostraram resultados variáveis quando diferentes materiais vegetais foram tratados. Na maioria dos testes realizados (Vieites *et al.*, 1996; Henrique, 1999; Vicentini, 1999; Vicentini *et al.*, 1999; Oliveira & Cereda, 1999) as películas foram elaboradas com suspensões contendo de 1% a 5% de fécula de mandioca. Nesses trabalhos, as películas elaboradas com soluções filmogênicas de 1% e 2% de fécula de mandioca, além de não recobrirem totalmente

os materiais eram extremamente finas, não sendo possível determinar sua espessura. Entretanto, as películas elaboradas com 3% e 4% de fécula apresentaram espessura de 0,010±0,005 e 0,017±0,010 mm, respectivamente.

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho para os filmes de fécula de mandioca, foi possível estimar os valores das propriedades mecânicas, de barreira e óticas das películas utilizadas em pós-colheita em trabalhos anteriores.

Para as películas elaboradas com 3% e 4% de fécula, a força e a deformação na ruptura, calculadas, foram de 0,85 N e 0,49% e de 1,97 N e 0,51%, respectivamente. Embora sejam frágeis e pouco deformáveis, as mesmas atuaram como barreira física mantendo a textura de frutos de laranja pera (Vieites *et al.*, 1996), pimentão (Vicentini *et al.*, 1999), tomate (Damasceno *et al.*, 2003), morango (Henrique & Cereda, 1999) e couve-flor (Vicentini, 1999) quando comparados com frutos sem recobrimento. Embora as películas tenham mantido a estrutura de alguns vegetais, as mesmas não suportaram o manuseamento excessivo, soltando-se dos frutos (Henrique, 1999).

As películas não foram efetivas para a diminuição da perda de massa em frutos de banana (Silva *et al.*, 1996), pimentão (Vicentini *et al.*, 1999), tomate (Damasceno, 2003), couve-flor (Vicentini, 1999) e rosas (Ferraz, 2000). Isso ocorreu devido a alta permeabilidade ao vapor de água destes filmes que foram da ordem de 0,030 e 0,090 g.mm/h.m^2.kPa, para películas com 3 e 4% de fécula, respectivamente, valores muito superiores aos dos filmes sintéticos como PEAD (0,00079 g.mm/h.m^2.kPa) e PEBD (0,0031 g.mm/h.m^2.kPa) (Cuq *et al.*, 1995a).

O efeito cosmético das película observados nos trabalhos de Vieites *et al.* (1996), Vicentini *et al.* (1999), Henrique & Cereda (1999), Oliveira (1996) e Damasceno *et al.* (2003) deve-se a sua alta transparência, os valores calculados para opacidade foram da ordem de 0,88% e 0,95% para películas elaboradas com 3% e 4% de amido respectivamente.

4.3 Caracterização dos Filmes de Fécula de Mandioca e Glúten

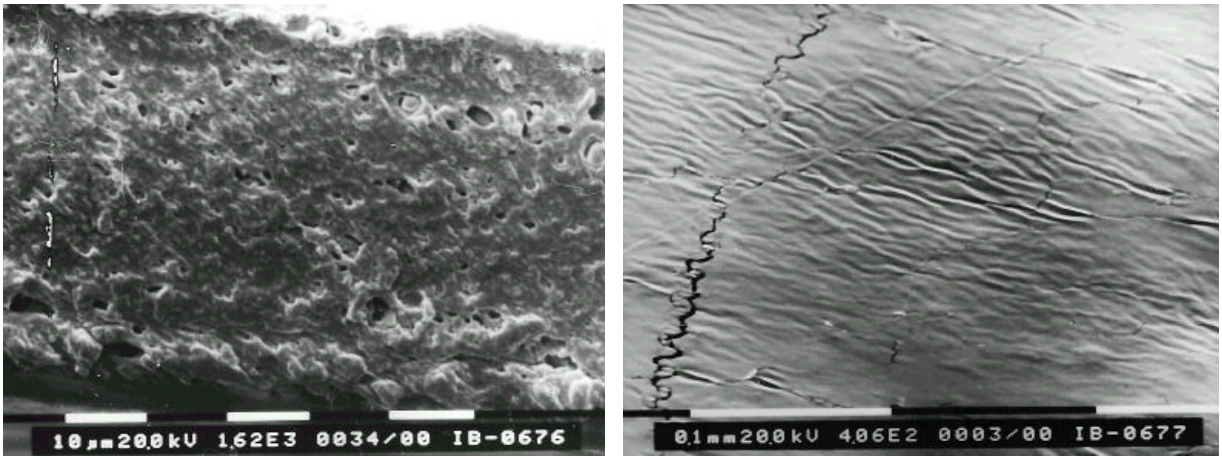
Devido à baixa eficiência das películas de amido quanto à permeabilidade ao vapor de água e à resistência mecânica, incorporou-se glúten de trigo aos filmes de fécula de mandioca na tentativa de melhorar estas propriedades.

As concentrações das soluções filmogênicas de fécula e glúten foram escolhidas em função de ensaios prévios. A solução filmogênica de fécula de mandioca a 2% (p/p) foi escolhida por não apresentar bolhas durante seu preparo e após a secagem, formar filmes mais flexíveis. A formulação da SF de glúten foi escolhida em função dos resultados obtidos por Gontard (1991).

Os filmes elaborados com fécula de mandioca com diferentes concentrações de glúten apresentaram-se flexíveis, manuseáveis e homogêneos, não apresentando partículas insolúveis, zonas diferenciadas e bolhas visíveis a olho nu. Entretanto os filmes elaborados com 20 e 40% de glúten apresentaram-se mais frágeis, quebrando facilmente.

4.3.1 Caracterização microscópica

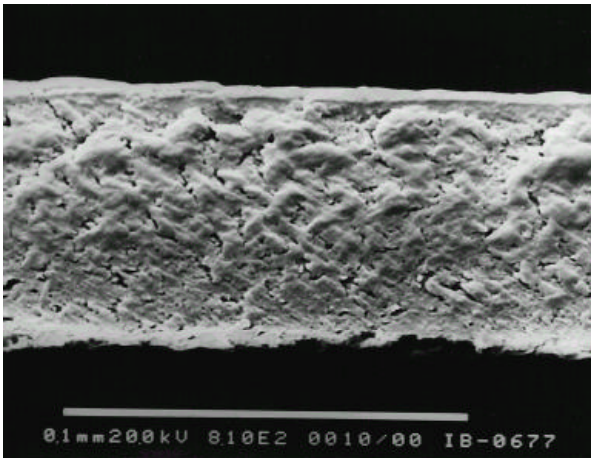
Os resultados da microscopia eletrônica de varredura da seção transversal e da superfície dos filmes de glúten estão apresentados na Figura 61. A estrutura interna mostrou-se compacta, com a presença de poros e grânulos de amido, com textura rugosa, típica de material pouco plastificado. A superfície apresentou uma certa rugosidade e fissuras. Esta estrutura compacta e com poros também foi observada por Gontard (1991), para filmes de glúten com a mesma formulação utilizada neste experimento.

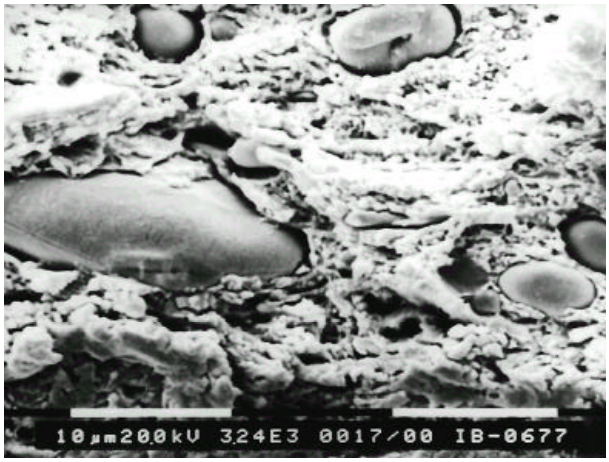


a b

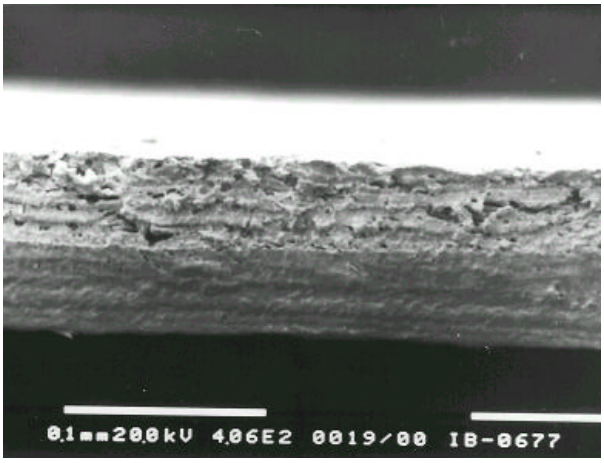
Figura 61: Micrografias de filmes de glúten sob microscopia eletrônica de varredura (SEM). a) seção transversal, b) superfície.

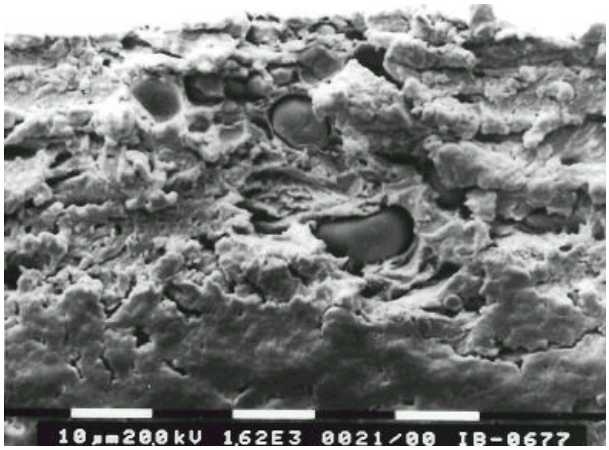
Os resultados da microscopia eletrônica de varredura dos filmes de fécula de mandioca com 40 e 60% de glúten estão apresentados na Figura 62. O filme com 40% de glúten (Figura 62a) apresentou uma matriz de aspecto rugoso, pouco densa, com poros e fissuras. No detalhe (Figura 62b), é possível observar a presença de grânulos de amido de trigo. O glúten utilizado neste trabalho apresentou 9% de amido como impureza, além do mais, os amidos de cereais apresentam temperatura de gelatinização superior ao das féculas, sendo assim a temperatura de 70ºC não foi suficientes para gelatinizar todo o amido. O filme com 60% de glúten (Figura 62c) mostrou uma separação de fases, a parte inferior apresentou uma estrutura coesa e aparentemente homogênea, semelhante a observada nos filme de amido (Figura 26) e a parte superior mostrou uma estrutura menos densa, de coloração mais clara e com poros. No detalhe da parte superior (Figura 62d) observou-se mais uma vez a presença de grânulos de amido, em menor quantidade.





a b





c d

Figura 62: Micrografias da seção transversal de filmes de fécula de mandioca com 40% (a, b) e 60% (c, d) de glúten, em dois aumentos, sob microscopia eletrônica de varredura (SEM).

4.3.2 Espessura

Os filmes à base de fécula de mandioca com diferentes concentrações de glúten apresentaram espessura média de 0,080±0,018 mm, porém, com considerável dispersão de espessura com desvio padrão de 22,08%. Valores de dispersão dessa ordem foram observados por Gennadios *et al.* (1993b) e Sobral (2000b) para filmes à base de glúten e gelatina, respectivamente. A dispersão das medidas deveu-se, possivelmente, à diferenças na composição dos filmes de forma que, para uma dada massa de SF aplicada nos suportes a gramatura de matéria seca (amido+glúten+plastificante) foi variável.

4.3.3 Umidade

Os resultados das análises para determinação do teor de umidade (bs) dos filmes de fécula de mandioca, com várias concentrações de glúten, condicionados a 75% de umidade relativa estão apresentados na Figura 63a. Observa-se que os filmes de fécula de mandioca (0% glúten) apresentaram umidade de 15,5%, diminuindo nos filmes com 20 e 40% de glúten, em torno de 14,5%, aumentando em seguida, até 18,4% de umidade para os filmes de glúten, seguindo um comportamento parabólico. Os parâmetros da equação encontram-se no Quadro 19.

Este aumento da umidade ocorreu em função da concentração do plastificante (glicerina) utilizado na elaboração dos filmes de glúten, uma vez que sua proporção variou linearmente com o aumento da concentração de glúten (Figura 63b). Desta maneira, todas as propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca foram influenciadas pelas concentrações de glúten e glicerina.

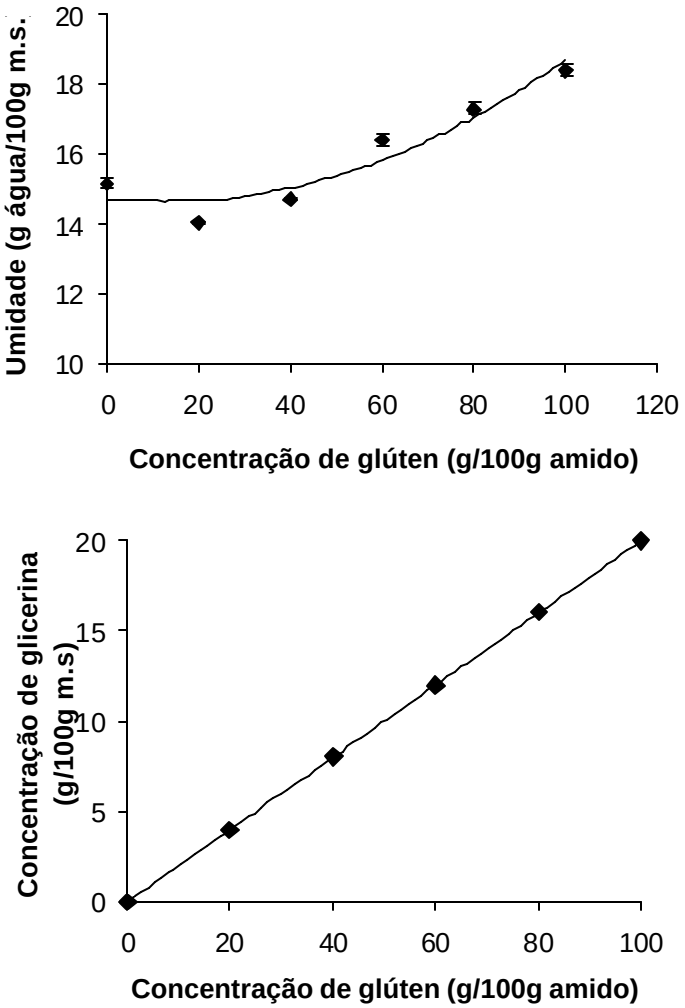


Figura 63: Teor de umidade de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten (a) e glicerina (b).

Quadro 19: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=Ae^{X/B}$, $Y=Ae^{BX}$ e $Y=A+BX+CX^2$), das propriedades funcionais (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten (X).

Propriedades	**A**	**B**	**C**	**R^2**
Umidade (a)	14,73	-0,014	0,0005	0,92
Umidade (b)*	14,73	-0,07	0,014	0,92
Força na ruptura (N)	6,88*	-0,063*	—	0,95
Deformação na ruptura (%)	0,53	26,38	—	0,99
Tensão na ruptura (MPa)	38,10	-0,024	—	0,94
Deformação na ruptura (%)	0,024	13,01	—	0,99
Módulo de elasticidade (MPa)	20,09*	-0,19*	—	0,95
Diferença de cor	2,53	0,12	-0,0007	0,97
Croma a*	-0,74	-0,008	0,00004	0,99
Croma b*	3,22	0,11	-0,0007	0,96
Luminosidade	93,12	-0,048	0,0002	0,95

* significativo P<0,05. *em função da concentração de glicerina.

4.3.4 Propriedades mecânicas

4.3.4.1 Teste de perfuração

Os filmes de fécula de mandioca (0% glúten) e os filmes com 20% de glúten submetidos ao teste de perfuração romperam-se rasgando no formato de estrela (Figura 64), típico de materiais pouco flexíveis. Os filmes com 40% de glúten romperam-se rasgando no sentido do diâmetro (meia estrela), enquanto que os demais apresentaram rompimento na forma de furo, típico de materiais flexíveis.

Figura 64: Aspecto do rompimento dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Alguns exemplos das curvas de força *vs* deformação dos filmes de fécula/glúten estão apresentados na Figura 65. Observou-se que o aumento da concentração de glúten/glicerina, alterou a forma das curvas que passaram de curvas típicas de materiais rígidos e quebradiços (≤40% de glúten) para típicas de materiais flexíveis (≥60% de glúten) com a concavidade voltada para baixo (Miltz, 1992).

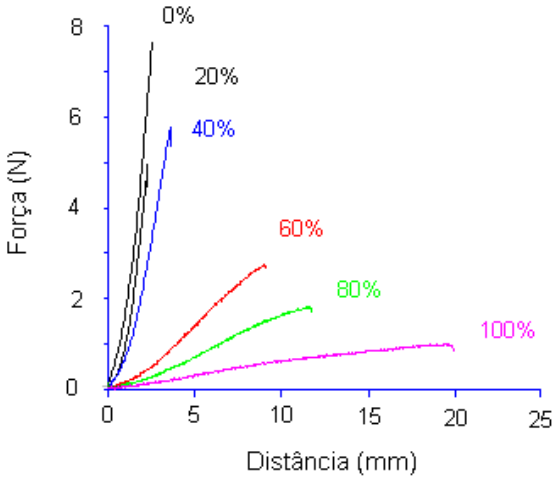


Figura 65: Curvas de força *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

O comportamento da força na ruptura em relação à concentração de glúten dos filmes de fécula de mandioca, estão apresentados na Figura 66, onde pode-se notar que o incremento na concentração de glúten reduziu linearmente de 7,32 para 0,97 N a força

necessária à ruptura dos filmes. Os parâmetros da equação da reta (Quadro 19) foram significativos ($P<0,05$) e apresentaram bom coeficiente de determinação ($R^2=0,95$).

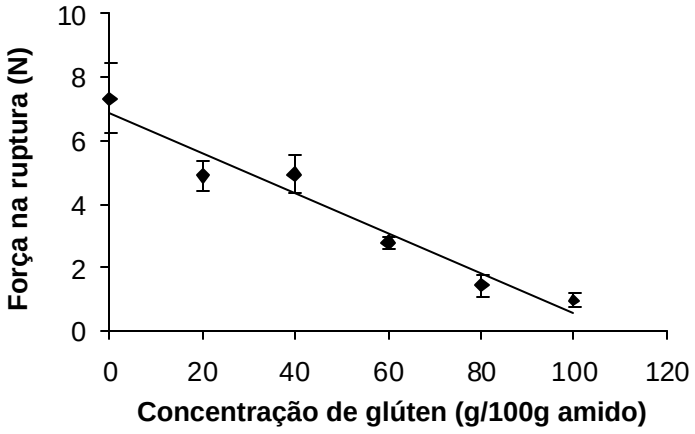


Figura 66: Força na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Os efeitos do glúten sobre a deformação na ruptura dos filmes de fécula de mandioca, podem ser vistos na Figura 67. Observa-se que o aumento da concentração de glúten de 0 para 100%, elevou a deformação na ruptura dos filmes de fécula de mandioca de 0,50 para 23,38%. O aumento da deformação na ruptura seguiu claramente, uma curva exponencial, que pode ser representada pela Equação $Y=Ae^{X/B}$, com coeficiente de determinação excelente ($R^2=0,99$) (Quadro 19).

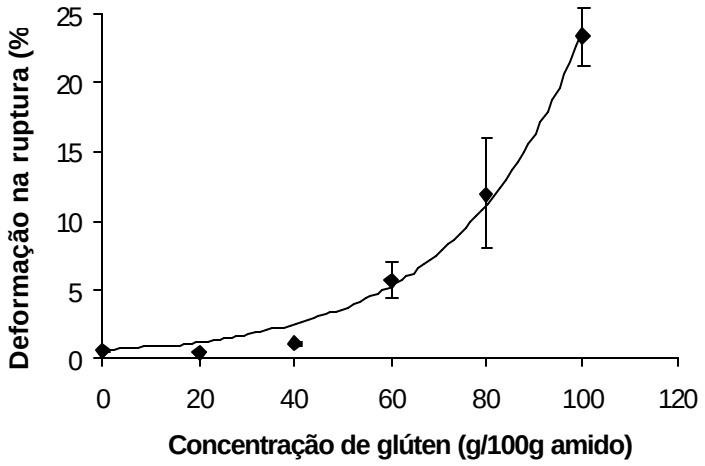


Figura 67: Deformação na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Os filmes de glúten elaborados neste trabalho mostraram-se menos resistentes, porém mais deformáveis do que os filmes de glúten elaborados por Gontard *et al.* (1993), com valores de 1,92 N e 17,87% para força e deformação na ruptura, respectivamente. Este fato deve-se, provavelmente, ao teor de umidade dos filmes, os quais apresentaram 9,2 g água/100g m.s, enquanto neste trabalho a umidade dos mesmos foi de 18,4g água/100 g m.s, nas mesmas condições de condicionamento.

O efeito do plastificante em reduzir a força e aumentar a deformação na ruptura, também foi relatado por diversos autores (Cuq *et al.*, 1997b; Sobral *et al.*, 1998; Monterrey-Quintero & Sobral, 2000). Gontard *et al.* (1993), trabalhando com filmes à base de glúten, observaram redução linear da força na ruptura de 1,9 para 0,3 N, e aumento de 6 para 20% na deformação na ruptura, que seguiu um segmento de parábola com a concavidade para cima, entre 16 e 33 g de glicerina/100 g de matéria seca.

4.3.4.2 Teste de tração

Na Figura 68 estão apresentados alguns exemplos das curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca com diferentes concentrações de glúten. Pode-se observar que os filmes com concentrações de 0 a 60% de glúten mostraram curvas típicas

de materiais rígidos e quebradiços, enquanto que os filmes com 80 e 100% de glúten mostraram curvas típicas de materiais flexíveis e resistentes (Miltz, 1992).

Os efeitos do teor de água e da concentração de plastificante sobre a forma das curvas de tensão *vs* deformação, também podem ser observados nos trabalhos de Arvanitoyannis *et al.* (1997) e Arvanitoyannis *et al.* (1998), respectivamente, que caracterizaram filmes elaborados com misturas com partes iguais de amido e gelatina.

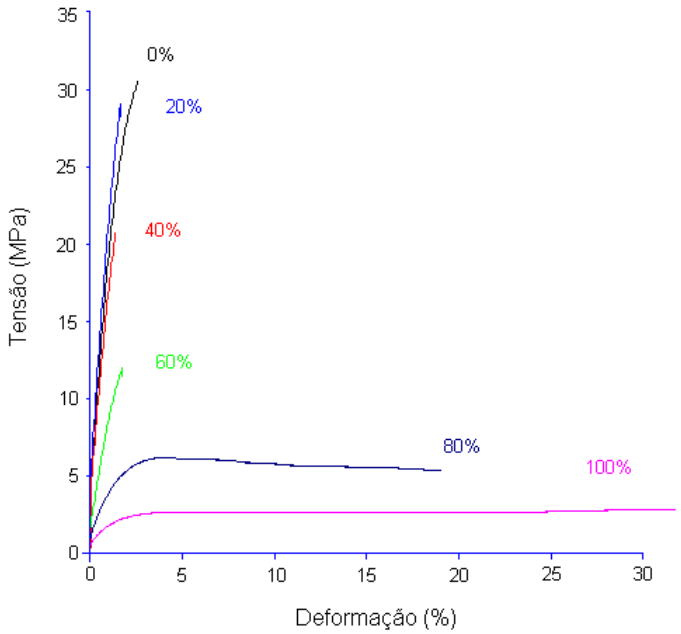


Figura 68: Curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Os valores da tensão na ruptura dos filmes de fécula de mandioca estão apresentados na Figura 69, onde observou-se o efeito da concentração de glúten. O incremento de glúten de 0 a 100%, provocou uma queda da tensão na ruptura de 31,64 para 2,76MPa. A diminuição da tensão na ruptura seguiu uma curva exponencial, que pôde ser representada pela Equação $Y=Ae^{BX}$, com ótimo coeficiente de determinação (R^2=0,94) (Quadro 20).

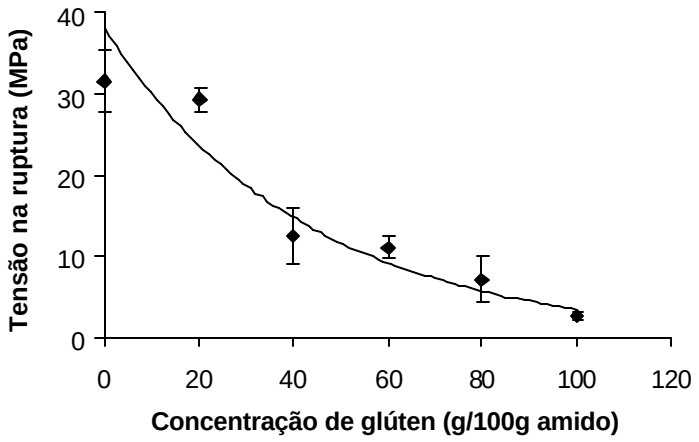


Figura 69: Tensão na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Arvanitoyannis *et al.* (1996), estudando filmes à base de amido de milho sem plastificante, observaram a redução linear (R^2=0,98) da tensão na ruptura, de 38,3 para 13,3 MPa, com o aumento da concentração de caseinato de sódio de 0 para 40%. Embora o comportamento não tenha sido o mesmo, os valores foram similares aos observados neste trabalho, já que os filmes de fécula de mandioca com 40% de glúten apresentaram valor de 12,42 MPa para a tensão na ruptura. O efeito da concentração do plastificante em filmes à base de amido e gelatina na proporção de 1:1 foi observada por Arvanitoyannis *et al.* (1997), onde o aumento de 0 para 26% de glicerina, provocou queda linear (R^2=0,98) de 60,5 para 40,6 MPa na tensão.

Observa-se na Figura 70 que o incremento da concentração de glúten de 0 para 40% provocou uma queda da deformação na ruptura dos filmes de fécula de mandioca de 4,05% para 0,81%, seguido de um aumento de 1,97% para 51,64% quando a concentração de glúten passou de 60% para 100%. Esta variação seguiu uma curva exponencial representada pela Equação $Y=Ae^{X/B}$, com excelente coeficiente de determinação (R^2=0,99) (Quadro 19).

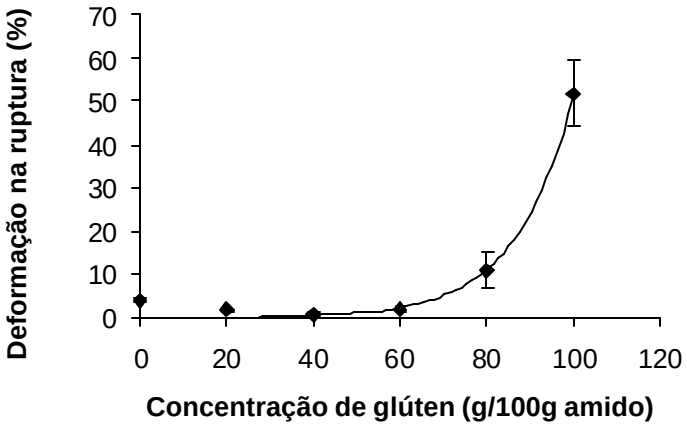


Figura 70: Deformação na ruptura em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

O comportamento dos dados obtidos neste trabalho difere do observado por Arvanitoyannis *et al.* (1996) com filmes à base de amido de milho, onde o aumento da concentração de caseinato de sódio de 0 para 40% provocou um aumento linear (R^2=0,95) da deformação na ruptura de 6,2 para 28%. Entretanto, quando Arvanitoyannis *et al.* (1997) variaram a concentração de glicerina de 0 para 26%, em filmes à base de amido e gelatina na proporção de 1:1, observaram aumento exponencial da deformação na ruptura de 1,8 para 25,1%.

Os resultados do módulo de elasticidade em relação à concentração de glúten dos filmes de fécula de mandioca, estão apresentados na Figura 71. Nota-se que o incremento na concentração de glúten reduziu linearmente o módulo de elasticidade, de 18,27 para 1,23 MPa. Os parâmetros da equação da reta (Quadro 19) foram significativos ($P<0,05$) e apresentaram bom coeficiente de determinação (R^2=0,95).

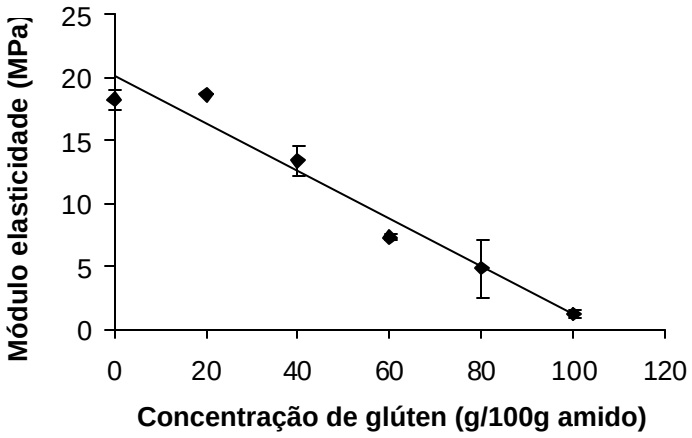


Figura 71: Módulo de elasticidade em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Estes resultados diferiram dos observados por Arvanitoyannis *et al.* (1996), onde filmes à base de amido de milho, apresentaram aumento linear do módulo de elasticidade de 23,8 para 29,5 MPa com o aumento da concentração de caseinato de sódio de 0 para 40%. Essa diferença pode ser explicada pelo fato desses autores não terem usado plastificantes, contrariamente a este estudo. Por outro lado, quando se fixou a proporção de amido e gelatina em 1:1 e se variou a concentração de glicerina de 0 para 26%, Arvanitoyannis *et al.* (1997) observaram a redução linear (R^2=0,97) do módulo de elasticidade de 37,5 para 18,3 MPa.

4.3.5 Permeabilidade ao vapor de água

Na Figura 72 estão apresentados exemplos de gráficos de ganho de peso das células de permeabilidade. Nota-se que o ganho de peso é linear desde o início dos ensaios ($R^2 \geq 0,95$), observando-se a diminuição da inclinação das retas com o aumento da concentração de glúten.

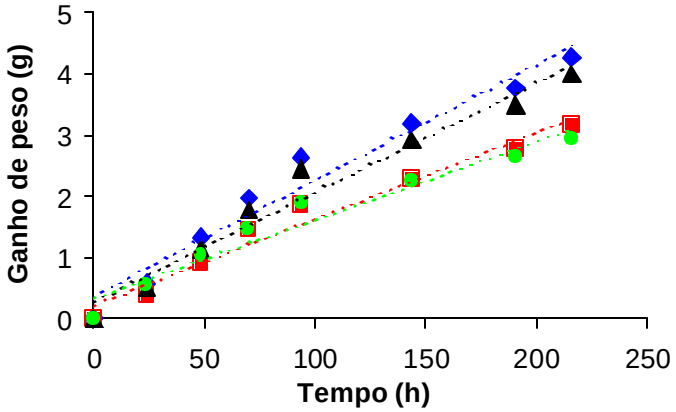


Figura 72: Exemplos de curvas de ganho de peso das células de permeabilidade em função do tempo em função da concentração de glúten (◆ 0%, 60%, 80% e 100%).

Os resultados da PVA dos filmes de fécula de mandioca com diferentes concentrações de glúten estão apresentados na Figura 73. Os filmes de fécula de mandioca elaborados com 20 e 40% de glúten romperam-se durante os testes, não sendo possível a determinação da permeabilidade ao vapor de água. Observou-se que os filmes somente de fécula de mandioca foram mais permeáveis ao vapor de água que os demais filmes, apresentando permeabilidade de 0,49 g.mm/m^2.h.kPa. Para os filmes com concentração de glúten variando de 60 a 100%, observou-se aumento da Pva de 0,31 para 0,47 g.mm/m^2.h.kPa. Este aumento ocorreu, provavelmente, em função do incremento da concentração de glicerina nos filmes de 12 para 20%; se esta propriedade fosse influenciada apenas pelo teor de glúten a permeabilidade deveria diminuir, devido a maior higroscopicidade do amido em relação ao glúten de trigo. Arvanitoyannis *et al.* (1996), observaram, com filmes à base de amido de milho, diminuição linear (R^2=0,96) da PVA de 0,26 para 0,19g.mm/m^2.h.kPa com o aumento da concentração de caseinato de sódio de 0 para 40%.

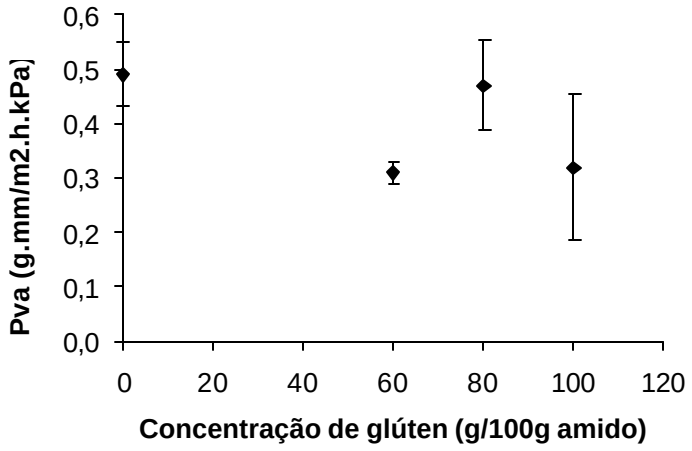


Figura 73: Permeabilidade ao vapor de água a 25ºC em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

O aumento da PVA devido ao aumento da concentração de plastificantes higroscópico é comum em biofilmes e foi observada também por Gontard *et al.* (1993) onde a PVA de filmes de glúten, determinada a 30ºC, aumentou de 0,35 a 0,50 g.mm/m^2.h.kPa com o incremento da concentração de glicerina de 15 para 35 g/100g m.s., sendo estes valores bem próximos aos observados neste trabalho. Entretanto, Irissin-Mangata *et al.* (2001) encontraram valores um pouco menores, onde filmes à base de glúten elaborados com 10 e 20% de glicerina apresentaram PVA de 0,24 e 0,31 g.mm/m^2.h.kPa, respectivamente, determinada a 20ºC.

O efeito do plastificante em reduzir a tensão na ruptura e o módulo de elasticidade, bem como aumentar a deformação na ruptura e a permeabilidade ao vapor de água, também foi relatado por diversos autores para filmes à base de misturas de amido/gelatina (Arvanitoyannis *et al.*, 1998), amido/celulose (Psomiadou *et al.*, 1996; Arvanitoyannis & Biliaderis, 1999), amido/chitosan (Lazaridou & Biliaderis, 2002) e amido/pululan (Biliaderis *et al.*, 1999).

4.3.6 Propriedades óticas

4.3.6.1 Cor

Os resultados da medida de cor, representados como diferença de cor (?E*), estão apresentados na Figura 74. Observou-se que a diferença de cor aumentou de 2,35 para 7,23 com o incremento da concentração de glúten. Isto significa que os filmes com maior concentração de glúten são mais coloridos que os filmes de fécula de mandioca. Os pontos experimentais foram representados por uma equação polinomial do segundo grau (Quadro 19) com um ótimo coeficiente de determinação (R^2=0,97).

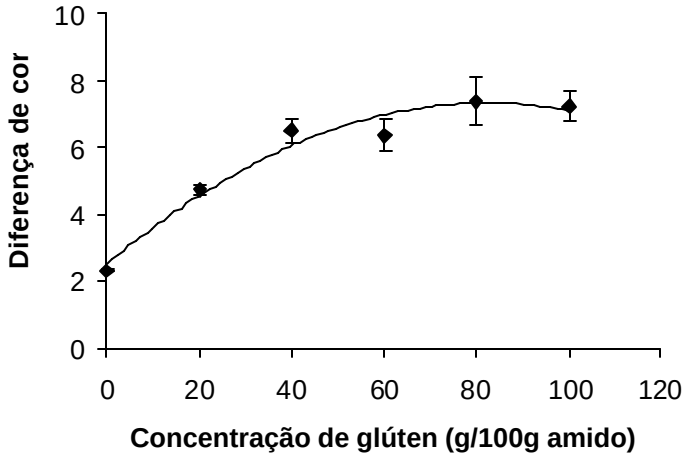
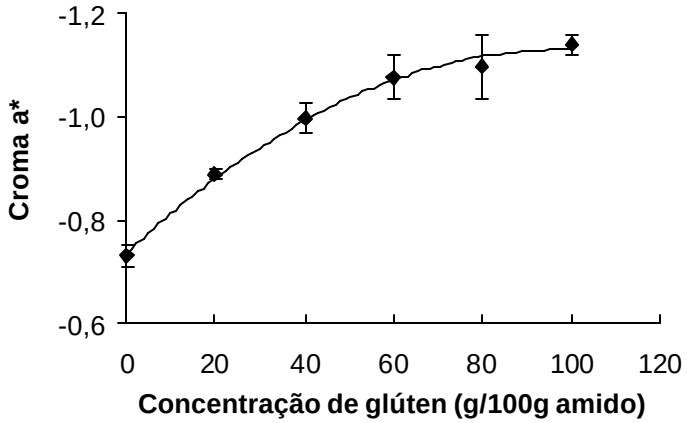


Figura 74: Diferença de cor (?E*) em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Os parâmetros dos cromas *a* e *b* são indicativos da coloração dos filmes. Observa-se na Figura 75 que tanto o croma *a** quanto o *b** aumentaram com o incremento da concentração de glúten. Os dados do croma *a** apresentaram valores negativos, indicativos do componente verde; entretanto estes valores situaram-se próximos ao zero que significa ausência de cor. Os dados do croma *b**, por sua vez, apresentaram valores positivos

variando de 3 a 7, isto significa que o aumento da concentração de glúten, levou ao aumento da coloração amarela dos filmes.



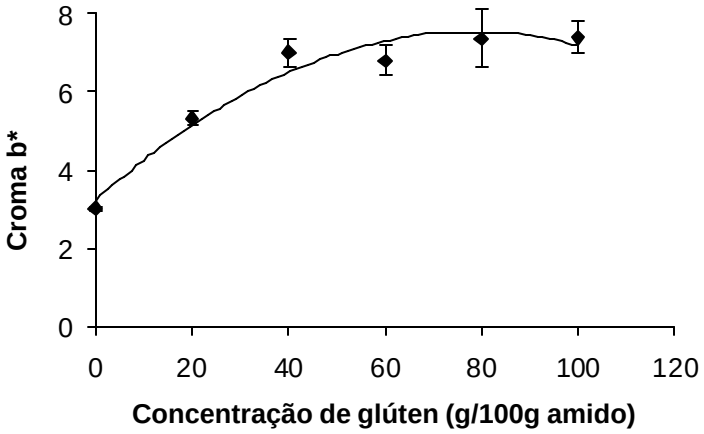


Figura 75: Croma *a** e *b** em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Os resultados da luminosidade dos filmes de mandioca estão apresentados na Figura 76, onde também observa-se o efeito da concentração de glúten. O incremento de glúten de 0 a 100%, provocou uma queda na luminosidade dos filmes de 93,2 para 90,8, isto é, os filmes tornaram-se mais escuros. Como para as demais propriedades, os pontos experimentais foram representados por uma equação polinomial do segundo grau (Quadro 19), com bom coeficiente de determinação (R^2=0,95).

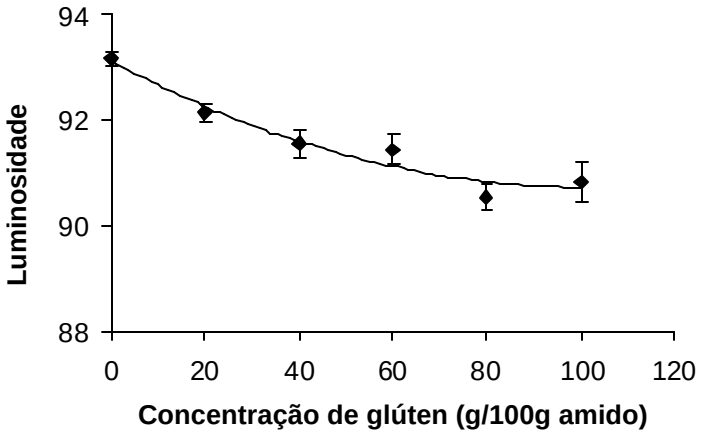


Figura 76: Luminosidade em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

4.3.6.1 Opacidade

Ao contrário do observado para as propriedades de cor, a opacidade não apresentou um comportamento monotônico não sendo possível ajustar uma curva de tendência aos dados (Figura 77). Entretanto, pode-se visualizar duas regiões, uma até 40% e outra à partir de 60% de glúten. O incremento de glúten de 0 a 40% provocou um aumento da opacidade de 3,68 a 6,83. Na segunda região, entre 60 e 100% de glúten, a opacidade passou de 6,32% para 4,41%. Estes resultados indicam que, embora os filmes com maior concentração de glúten apresentem coloração amarela mais acentuada, estes são tão transparentes quanto os filmes de fécula de mandioca.

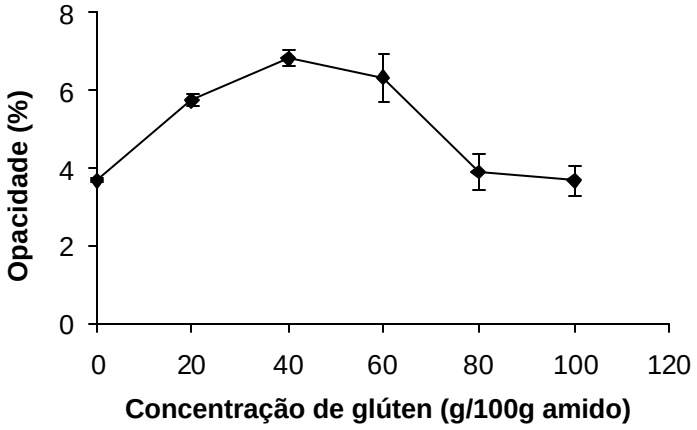


Figura 77: Opacidade em filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

As propriedades óticas foram influenciadas pela concentração de glúten, sendo que aparentemente a concentração do plastificante parece não ter interferido nestas propriedades. No trabalho de Gontard (1991), a opacidade, medida por absorbância em espectrofotômetro, não foi significativamente influenciada pelo aumento da concentração de glicerina de 15 para 35 g/100g m.s nos filmes de glúten de trigo.

4.3.7 Espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) e análise quimiométrica

No caso dos filmes compostos, o sistema torna-se complexo uma vez que tem-se quatro componentes interagindo: o amido, o glúten, o plastificante e a água. Sendo assim, torna-se difícil afirmar qual destes componentes foi o mais efetivo nas alterações das propriedades funcionais dos filmes. Para as propriedades mecânicas, em função dos resultados obtidos anteriormente, o efeito do plastificante se sobrepôs ao efeito do glúten. O emprego da espectroscopia na região do infravermelho médio pode ser uma ferramenta para encontrar um indicativo de qual componente teve maior influência nas propriedades mecânicas dos filmes.

4.3.7.1. Aquisição dos dados

Os espectros dos filmes de fécula de mandioca com diferentes concentrações de glúten estão apresentados na Figura 78. As principais bandas características dos filmes de amido (0% glúten) encontram-se no intervalo espectral compreendido entre 1200 e 900 cm-1. Com o aumento da concentração de glúten os filmes de amido apresentaram mudanças no formato e na intensidade das bandas, sendo que os picos na região de 1200 a 900 cm^{-1} diminuíram e as bandas na região de 1700 cm^{-1} a 1400 cm^{-1} aumentaram. Os picos localizados entre 1650 cm^{-1} e 1530 cm^{-1} estão relacionados, respectivamente, com as bandas Amida I e Amida II do glúten (Pézolet *et al.*, 1992). A banda Amida I é atribuída as vibrações de elongação do grupo carbonil (–C=O) e é representativa da estrutura secundária das proteínas (Sócrates, s.d.; Mangavel *et al.*, 2001), e a banda Amida II, é característica da movimentação combinada das vibrações do N–H e de elongação do C–N, do grupo –CO–NH na sua forma *trans* (Sócrates, s.d).

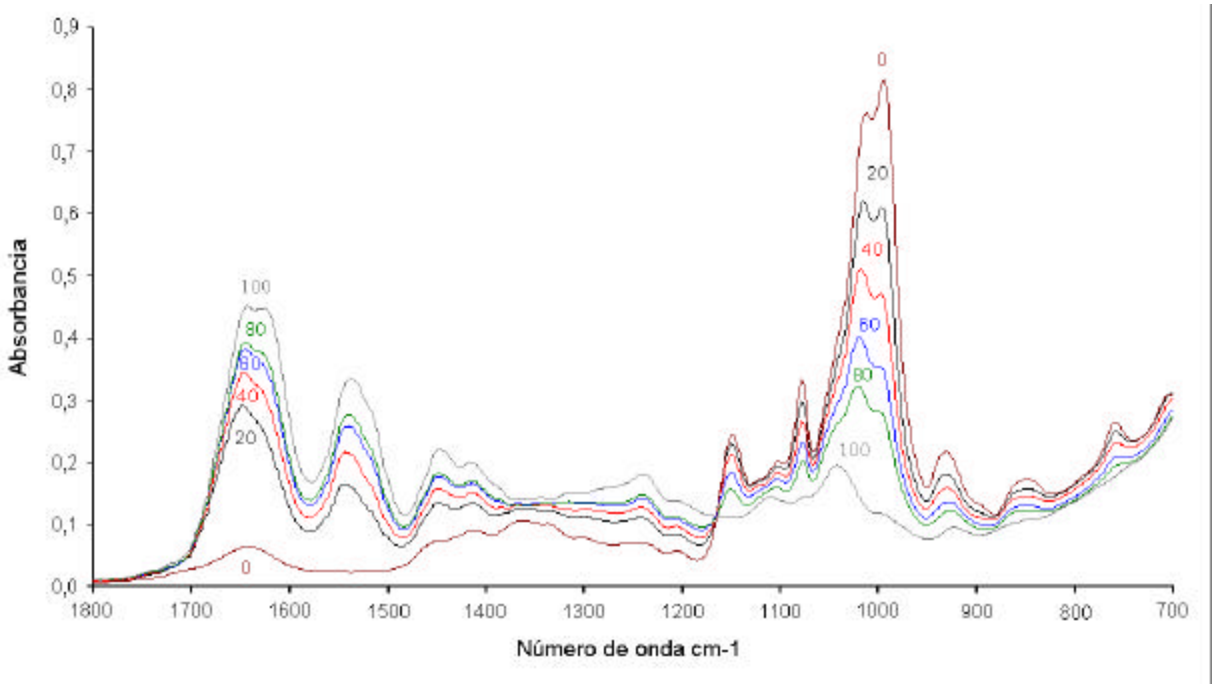


Figura 78: Espectro infravermelho de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten na região espectral de 1800–700 cm^{-1}.

Na região espectral de 1200 a 900 cm^{-1}, ocorre uma sobreposição das bandas, uma vez que os picos localizados a 1115, 1044 e 990 cm^{-1}, são característicos do amido, da glicerina (Vonach *et al.*, 1998) e do glúten (Figura 79).

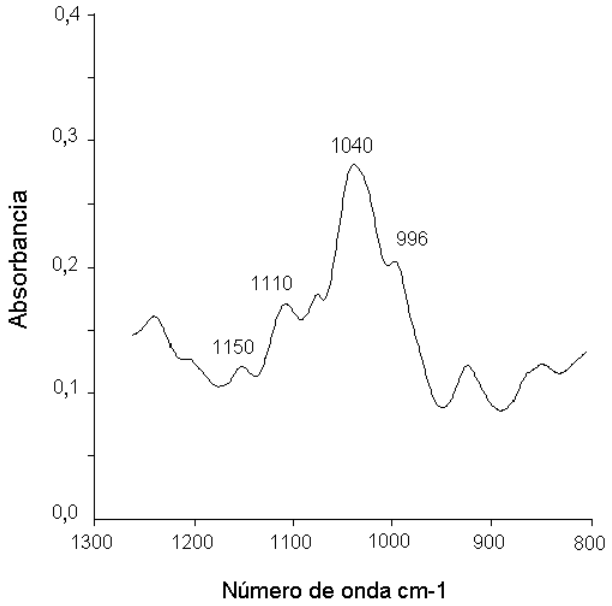


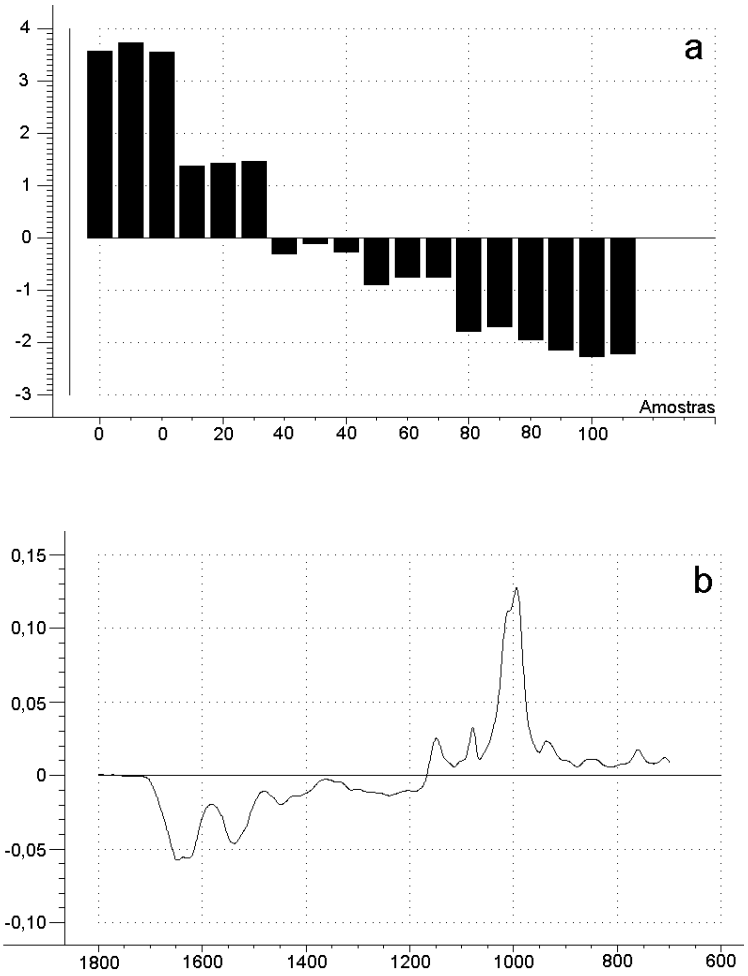
Figura 79: Detalhe do espectro infravermelho de filmes de glúten (0% amido) na região espectral de 1300–700 cm^{-1}.

4.3.7.2. Análise de componentes principais

Mais uma vez, para diminuir o número de dados experimentais, analisou-se a região espectral de 1800 a 700 cm^{-1}, na qual encontram-se as bandas características do glúten de trigo e da fécula de mandioca. Na Figura 80 estão apresentados os dois primeiros componentes principais os quais explicam 100% da variância da matriz de dados. O primeiro componente principal (Figura 80a, 80b) explica 99% da variância do conjunto de dados e representa a principal característica diferencial das amostras. A informação espectral mais importante desse primeiro componente está relacionada com a concentração de glúten nos filmes. Observando-se os gráficos dos *scores* (Figura 80a) notou-se que as amostras que apresentaram mais que 40% de glúten foram negativamente projetadas

enquanto que as demais projetaram-se positivamente. Os *loadings* deste primeiro componente (Figura 80b) mostram que a banda ao redor de 994 cm^{-1}, característica do amido, está correlacionada com a projeção positiva das amostras (filmes com 0 e 20% de glúten) e as bandas a 1650 cm^{-1} e 1530 cm^{-1}, características do glúten, estão correlacionadas com a projeção negativa.

O segundo componente principal (Figura 80c, 80d) explicou apenas 1% da variância dos dados e não mostrou importante separação das amostras.



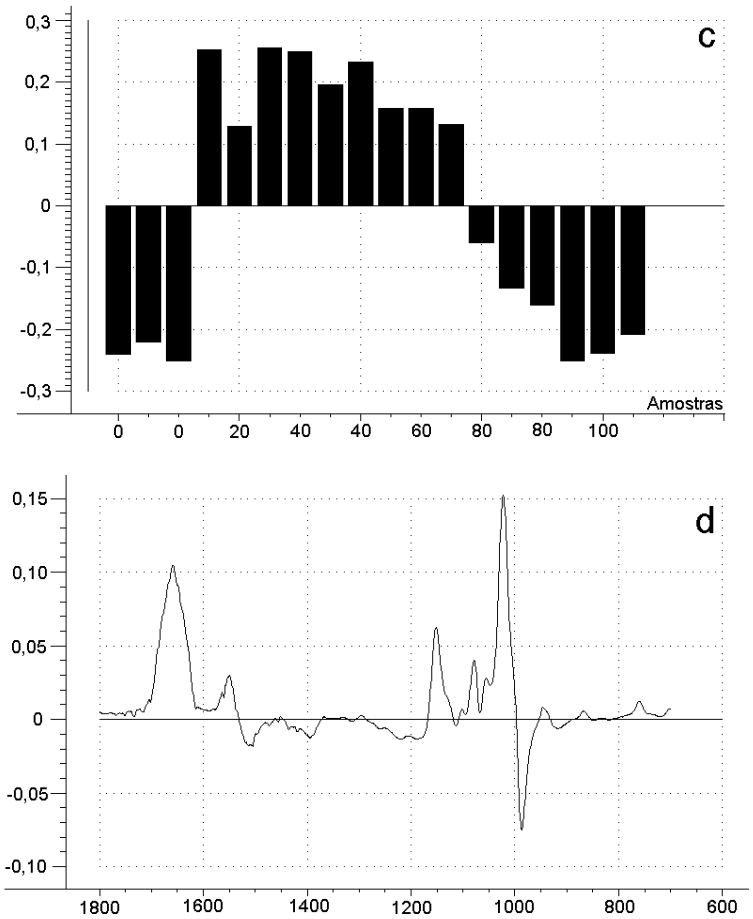


Figura 80: Dois primeiros componentes principais: *scores* (a, c) e *loadings* (b, d)

4.3.7.3 Predição das propriedades funcionais

As amostras marcadas com asterisco e negrito no Quadro 20 foram testadas na etapa de validação e as demais utilizadas para construir o modelo de calibração, que foi realizado usando-se o método PLS1 na região espectral de 1800 a 700 cm^{-1}, considerando-se o espectro de absorbância após a centralização dos dados pela média.

Quadro 20: Valores das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten usadas na preparação das curvas de calibração multivariada.

	Teste de perfuração		Teste de tração		
Amostras	**Força ruptura (N)**	**Deformação ruptura (%)**	**Tensão ruptura (MPa)**	**Deformação ruptura (%)**	**Módulo elasticidade (MPa)**
0*	**7,72**	**0,50**	**30,32**	**3,53**	**17,46**
0	8,15	0,48	33,67	4,64	17,61
0	8,17	0,58	27,07	4,57	18,45
20*	**5,12**	**0,41**	**28,27**	**1,68**	**18,64**
20	5,23	0,43	30,44	1,88	18,71
20	4,31	0,35	-----	-----	-----
40*	**4,35**	**1,21**	**15,76**	**0,90**	**14,89**
40	4,99	1,11	12,79	1,00	13,44
40	5,53	0,98	8,89	0,53	11,80
60	2,78	5,85	-----	-----	-----
60*	**2,85**	**5,25**	**10,18**	**1,46**	**7,03**
60	2,98	5,70	12,10	2,49	7,52
80*	**1,26**	**14,67**	**8,45**	**23,91**	**6,79**
80	1,21	11,83	10,51		7,53
80	1,86	9,40	5,14	17,91	2,86
100*	**0,90**	**21,66**	**3,39**	**46,54**	**1,75**
100	1,04	26,27	2,79	57,21	1,13
100	1,23	22,20	2,47	43,80	1,14

Os resultados obtidos nas etapas de calibração e validação em função do número de fatores incluído no modelo estão apresentados no Quadro 21. Para cada propriedade, utilizou-se o teste de Fisher-Snedecor para determinar se houve alguma diferença significativa entre os resultados da validação. O valor crítico F_c (5:5) dado pela tabela de Fisher-Snedecor a 10% foi 3,45. A comparação com o F calculado mostrou que RMSEPs são estaticamente equivalentes para todas as propriedades. Neste caso, os fatores foram escolhidos em função do maior coeficiente de correlação.

Quadro 21: Otimização do modelo de calibração das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten.

Propriedades	**Fator**	**RMSEC**	**RMSEP**	**Corr**	**Erro (%)**
Força na ruptura (N)	3	0,627	0,993	0,993	12,48
Deformação na ruptura (%)	5	1,242	1,962	0,987	26,95
Tensão na ruptura (MPa)	2	3,096	2,517	0,974	15,67
Deformação na ruptura (%)	5	3,770	9,619	0,974	73,98
Módulo de elasticidade (MPa)	2	1,293	1,927	0,952	17,37

Os valores estimados para as amostras que não participaram na geração do modelo de calibração estão apresentados no Quadro 22. Observou-se que as propriedades funcionais foram adequadamente modeladas pelo espectro infravermelho, com exceção da deformação na ruptura, obtida nos testes de perfuração e tração, que apresentaram erro muito alto.

Quadro 22: Predição das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glúten por espectroscopia na região do infravermelho associada à regressão PLS.

Amostras	Força na ruptura(N)		
	Valores		Desvio
	de referência	estimados	
0	7,72	7,55	0,69
20	5,12	5,62	0,69
40	4,35	4,74	1,04
60	2,85	3,27	0,61
80	1,26	2,08	0,51
100	0,90	1,01	0,61

	Deformação na ruptura (%)		
0	0,50	-0,95	2,26
20	0,41	-1,42	2,87
40	1,21	-0,09	3,60
60	5,25	4,43	2,00
80	14,67	11,18	2,21
100	21,66	23,40	2,91

	Tensão na ruptura (MPa)		
0	30,32	31,14	3,98
20	28,27	23,71	4,42
40	15,76	13,77	5,93
60	10,18	12,14	3,81
80	8,45	5,50	2,56
100	3,39	3,75	3,95

	Deformação na ruptura (%)		
0	3,53	-2,68	8,37
20	1,68	-16,78	9,71
40	0,90	-11,68	10,90
60	1,46	-1,75	8,01
80	23,91	21,48	7,18
100	46,54	45,36	8,58

	Módulo de elasticidade (MPa)		
0	17,46	18,26	1,20
20	18,64	17,72	1,27
40	14,89	12,41	1,63
60	7,03	10,27	1,12
80	6,79	4,75	0,87
100	1,75	1,86	1,11

A partir dos fatores escolhidos pode-se examinar seus coeficientes de regressão (Figura 81), obtidos na etapa de calibração, os quais indicam qual número de onda apresentou maior contribuição para a propriedade de interesse.

Os coeficientes de regressão obtidos para força na ruptura (Figura 81a), tensão na ruptura (Figura 81b) e módulo de elasticidade (Figura 81c), apresentam numerosas contribuições dos picos a 996, 1020, 1040, 1150, 1530, 1650 cm^{-1}.

Os picos localizados a 1650 cm^{-1} e 1530 cm^{-1} são característicos do glúten ocorrendo nas três propriedades estudadas. A banda a 996 cm^{-1}, de acordo com van Soest *et al.* (1995), está relacionada com as ligações de hidrogênio intermoleculares do grupo hidroxila do carbono 6 da molécula de glicose do amido; porém, também é característica da glicerina (Vonach *et al.*, 1998). Já a banda a 1150 cm^{-1}, ocorre tanto nos filmes de glúten e corresponde a vibração de deformação do NH_2 (Socrates, s.d.), como nos filmes de amido onde está relacionada aos grupamentos CO, vibração de elongação do CC e COH (van Soest *et al.*, 1995).

De acordo com Gontard (1991), o elevado conteúdo de glutamina (aproximadamente 45%) nas proteínas de glúten, é provavelmente o responsável pelas numerosas ligações de hidrogênio entre as cadeias protéicas, que ocorrem entre dois resíduos amida ($–CO–NH_2$), contribuindo com as interações proteína-proteína e tornando os filmes quebradiços. Moléculas hidrofílicas relativamente pequenas, como a água e a glicerina, podem ser facilmente inseridas entre as cadeias protéicas, estabelecendo ligações de hidrogênio com os grupamentos amida das proteínas do glúten, aumentando a mobilidade das cadeias do polímero, melhorando a extensibilidade e flexibilidade dos filmes (Gontard, 1991). A interação polissacarídeo-proteína ocorre entre o grupamento NH_2 da proteína e a extremidade redutora dos açúcares, através da reação de Mailard (Bobbio & Bobbio, 1995). Sendo assim, ao que tudo indica, o pico a 1150 cm^{-1}, deve ser o indicador da ligação amido-glúten-plastificante.

A banda a 1040 cm^{-1} está relacionada com a fase cristalina do amido (van Soest *et al.*, 1995) e com a glicerina (Vonach *et al.*, 1998) e aparece apenas nos coeficientes de regressão da força na ruptura. O pico a 1020 cm^{-1} está relacionado com a fração amorfa do amido (van Soest *et al.*, 1995) e aparece nos coeficientes de regressão da tensão na ruptura e do módulo de elasticidade.

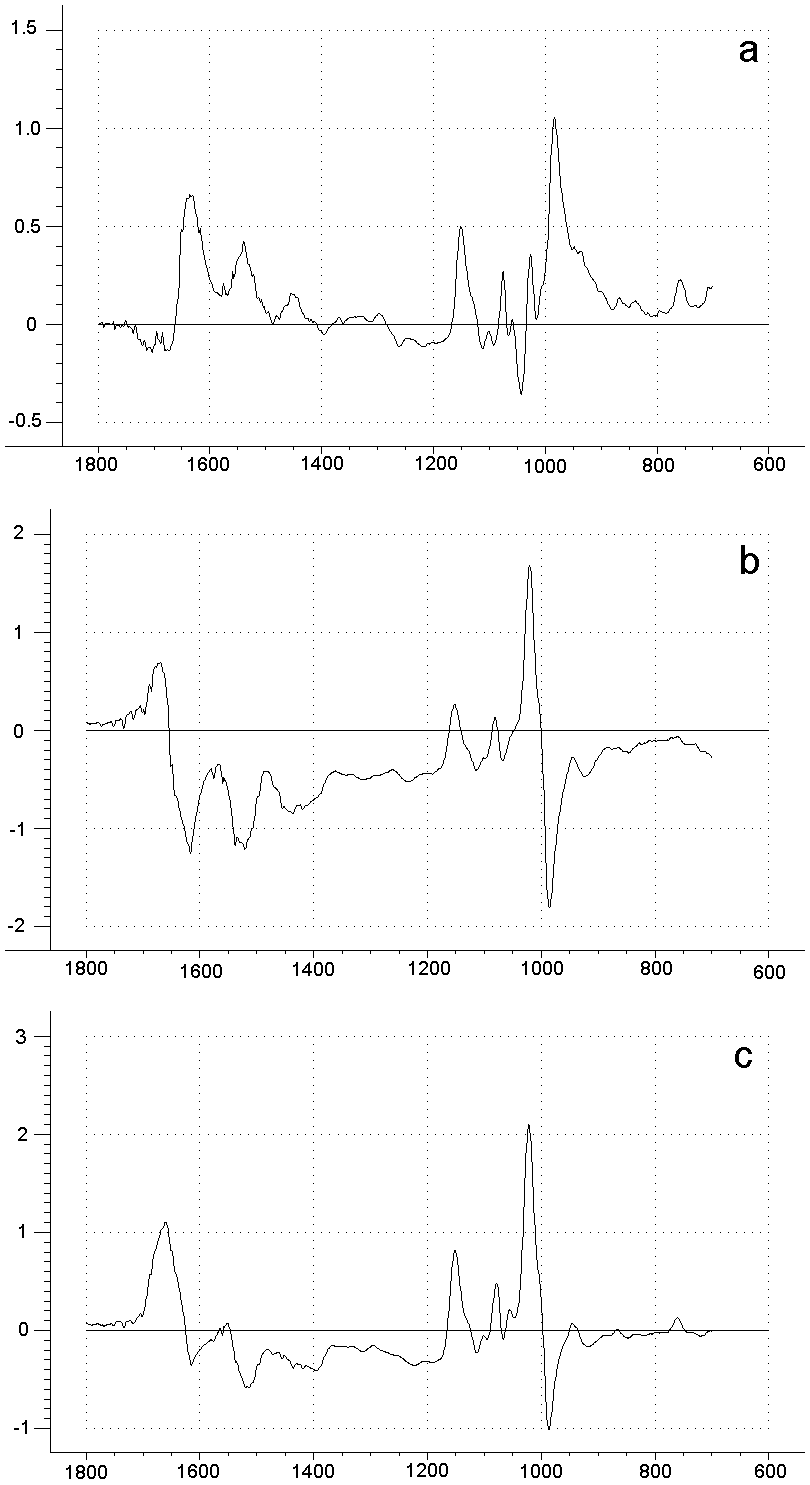


Figura 81: Coeficientes de regressão das propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca: força na ruptura (a), tensão na ruptura (b) e módulo de elasticidade (c).

4.3.8 Aplicação pós-colheita

Para aplicação em pós-colheita de frutas e hortaliças, recomenda-se os filmes de fécula de mandioca com 60% de glúten onde observou-se uma redução de 37% da permeabilidade ao vapor de água e um aumento de 10 vezes da deformação na ruptura, em comparação aos filmes de fécula sem aditivos. Entretanto, a adição de glúten aos filmes de fécula piorou as propriedades óticas, tornando os filmes coloridos e opacos, o que certamente comprometerá a aparência dos produtos recobertos.

4.4 Caracterização dos Filmes de Fécula de Mandioca Plastificados com Polióis

Embora a incorporação de glúten aos filmes de fécula de mandioca tenha melhorado a sua permeabilidade e flexibilidade, as propriedades mecânicas são ainda muito inferiores aos filmes sintéticos. Na tentativa de incrementar essas propriedades foram utilizados glicerina, sorbitol, dietileno glicol e propileno glicol como plastificantes.

Em função dos resultados obtidos no primeiro experimento, optou-se pela solução filmogênica com 2% (p/p) de fécula por não ser muito viscosa, não apresentando bolhas durante seu preparo e proporcionando assim uma distribuição uniforme na placa.

O aspecto visual dos filmes de fécula de mandioca não foi afetado pelos diferentes teores e nem pelo tipo de plastificante utilizado. De uma maneira geral, os filmes apresentaram-se transparentes, incolores, com bom aspecto e flexíveis. Entretanto, os filmes elaborados com propilenoglicol apresentaram-se frágeis quebrando-se facilmente, para todas as concentrações.

4.4.1 Espessura

Como pode ser observado no Quadro 23, os filmes apresentaram espessura média geral de 0,070 mm, não havendo praticamente diferença entre as espessura dos filmes com os diferentes plastificantes. Observou-se ainda, que houve pequena dispersão nas medidas das espessuras de cada amostra, com desvio padrão da média inferior a 10%. Valores semelhantes foram observados no trabalho de Sobral (2000b) para filmes de proteínas miofibrilares de carne bovina.

Quadro 23: Espessura média dos filmes de fécula de mandioca elaborados com diferentes plastificantes.

Plastificante	Espessura Média (mm)	Desvio padrão (mm)	Desvio padrão/ Espessura (%)
Glicerina	0,071	0,007	9,35
Sorbitol	0,069	0,007	9,52
Dietileno glicol	0,069	0,005	7,89
Propileno glicol	0,069	0,006	9,00

4.4.2 Umidade

O teor de umidade (bs) dos filmes de fécula de mandioca com várias concentrações de plastificantes, condicionados a 58% de umidade relativa, pode ser observado na Figura 82. Os filmes de fécula de mandioca sem qualquer plastificante apresentaram umidade de 13,65%, valor este inferior ao observado por Lourdin *et al*. (1997), que foi da ordem de 14,8% para filmes de amido de batata condicionados a 57% de umidade relativa. A incorporação de plastificantes aos filmes, influenciou a redução do teor de água, na concentração de 10%, ocorrendo em seguida um aumento linear até 16,51 e 20,37%, respectivamente, com o incremento da concentração de glicerina e dietilenoglicol. Os parâmetros das equações das retas, apresentados no Quadro 24, foram significativos ($P<0,05$) e os coeficientes de determinação ótimos. Já, para os filmes plastificados com sorbitol e

propilenoglicol, observou-se redução da umidade para 12,48 e 12,28%, respectivamente, mantendo-se praticamente constante (B→0) com o aumento da concentração dos plastificantes, entretanto apresentaram dispersão dos pontos, acarretando na falta de significância (P>0,05) dos parâmetros da equação da reta, em ambos os filmes, e em baixo coeficiente de determinação apenas nos filmes plastificados com propilenoglicol (Quadro 24).

Os resultados obtidos neste trabalho para o teor de umidade foram semelhantes aos observados por Lourdin *et al.* (1997), a exceção dos filmes plastificados com sorbitol, os quais apresentaram elevação no teor de umidade, com o aumento da concentração.

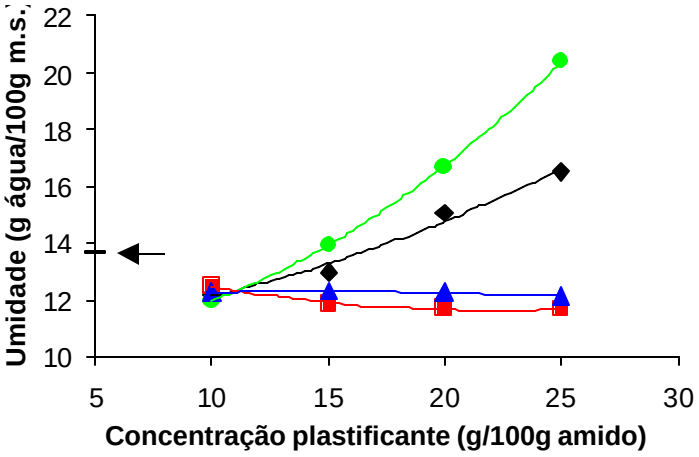


Figura 82: Umidade de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante)

Quadro 24: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), do teor de umidade (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**R^2**
Glicerina	8,967*	0,299*	0,973
Sorbitol	12,858	-0,053	0,812
Dietilenoglicol	5,939*	0,560*	0,983
Propilenoglicol	12,416	-0,009	0,622

*significativo P<0,05

4.4.3 Análise térmica

Na Figura 83 estão apresentados os termogramas da análise por calorimetria diferencial de varredura (DSC) para biofilmes de fécula de mandioca plastificados com sorbitol condicionados em Aw de 0,58 por uma semana. Nos termogramas dos filmes com concentração de sorbitol superior a 15% observou-se a presença de duas transições vítreas, sendo a primeira em torno de -20ºC, e a segunda ao redor de 50ºC, seguidas de um pico endotérmico próximo a 225ºC. Nos filmes com 10% de sorbitol não se observou a presença da primeira Tg. Os filmes elaborados com os demais plastificantes apresentaram termogramas similares.

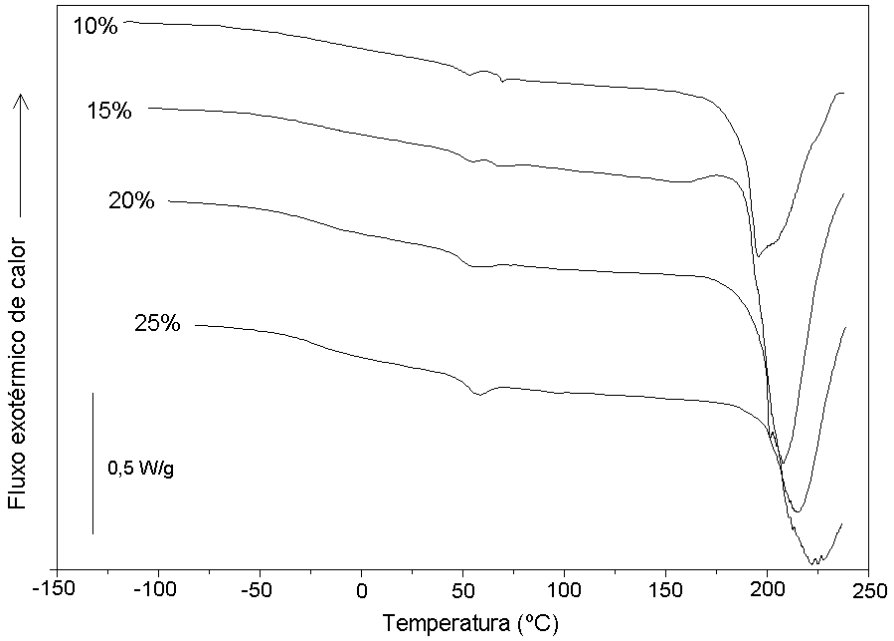


Figura 83: Termogramas de filmes de fécula de mandioca elaborados com 10, 15, 20 e 25% de sorbitol.

A presença de uma segunda Tg, ao redor de -70ºC, também foi observada nos filmes plastificados com glicerina em concentrações acima de 15%. A primeira Tg está, provavelmente, relacionada com a fração rica em plastificante, conseqüência de uma separação de fase entre o biopolímero e o plastificante, enquanto que o segundo fenômeno deve-se à fração do amido hidratado e plastificado; indicando que os plastificantes e o amido não são totalmente miscíveis.

A existência de mais de uma Tg e, consequentemente, a separação de fase do sistema, em análises térmicas foi também observada por Sobral *et al.* (2001) e Debeaufort & Volley (1997) em filmes de gelatina plastificados com sorbitol e em filme de metilcelulose plastificados com polietileno glicol 400, respectivamente, analisados por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Cuq *et al.* (1997a) e Cherian *et al.* (1995), observaram a separação de fases em filmes de proteínas miofibrilares de peixe plastificado com glicerina, através de análises por DSC e análise mecânica diferencial de varredura (DTMA) e em filmes de glúten com glicerina, por análise com DTMA, respectivamente. Sobral (2000b) observou separação de fase para filmes a base de proteínas miofibrilares de

tilápia-do-Nilo plastificados com glicerina e analisados por DSC. Por outro lado, Arvanitoyannis *et al*. (1997) e Lourdin *et al*. (1997) não observaram separação de fases em filmes à base de mistura de gelatina e amido e de amido de batata, respectivamente, plastificados com glicerina ou sorbitol, porém para os primeiros autores os termogramas começaram a 0ºC e no trabalho de Lourdin *et al*. (1997) a -30ºC, portanto, acima da Tg dos plastificantes.

Os valores das temperaturas de transição vítrea (Tg) dos filmes de fécula de mandioca, calculados como média entre triplicatas, estão apresentados no Quadro 25, em função da concentração de plastificante. Observou-se, que a glicerina e o dietilenoglicol causaram depressão na Tg_2 dos filmes. No caso da glicerina, a Tg caiu de 53,71 para 30,94ºC, já para o dietileno glicol a Tg variou entre 49,10 e 31,84ºC, com o aumento da concentração do plastificante de 10 para 25%. No caso dos filmes plastificados com sorbitol e propilenoglicol, observou-se aumento da Tg, que variou de 49,74 para 53,44ºC e de 63,51 para 67,45ºC, respectivamente, sendo este efeito menos acentuado para o sorbitol.

O efeito da glicerina e do sorbitol em reduzir a Tg foi observado por Lourdin *et al*. (1997) para filmes de amido de batata, onde o aumento da concentração do plastificante de 0 para 27%, diminuiu a Tg de 90 para 30ºC, para ambos plastificantes, valores estes muito próximos aos observados neste trabalho. E também por Arvanitoyannis *et al*. (1996), os quais observaram variação da Tg de 55,4 para -4,2ºC e de 50 para -10ºC, com o aumento da concentração de glicerina de 10 a 19% e do sorbitol de 10 para 24%, respectivamente, em filmes de amido de milho.

Quadro 25: Temperaturas de transição vítrea (Tg) e temperatura de início de fusão (To) obtidas por DSC de filmes de fécula de mandioca com diferentes tipos e teores de plastificantes*.

Cp (%)**	Umidade (bs)***	Temperaturas (ºC)		
		Tg_1	Tg_2	To
Glicerina				
0	13,65		81,19 (5,32)	176,53 (4,99)
10	12,22		53,71 (4,28)	179,32 (8,86)
15	12,98	-73,32	53,88 (0,56)	174,89 (2,74)
20	15,07	-64,36 (5,83)	49,40 (0,29)	179,77 (4,96)
25	16,51	-67,52 (3,37)	30,94 (5,75)	168,78 (10,66)
Sorbitol				
10	12,48		49,74 (0,88)	175,19 (4,51)
15	11,87	-19,85 (7,35)	51,77 (0,90)	177,81 (9,33)
20	11,70	-20,23 (5,92)	51,35 (1,45)	191,93 (1,51)
25	11,65	-18,65 (2,01)	53,44 (0,75)	192,26 (4,09)
Dietilenoglicol				
10	11,94		49,10 (1,45)	198,17 (14,44)
15	13,97		51,01 (0,30)	199,17 (14,60)
20	16,69		46,09 (1,76)	178,64 (4,79)
25	20,37		31,84 (7,84)	184,63 (4,19)
Propilenoglicol				
10	12,28		63,51 (0,81)	174,76 (5,04)
15	12,33		59,26 (2,47)	171,31 (5,86)
20	12,26		62,55 (1,92)	172,58 (2,04)
25	12,15		67,45 (1,08)	170,18 (4,34)

*média entre triplicatas (desvio padrão). ** g de plastificante/100g de amido.

*** g de água/100g m.s.

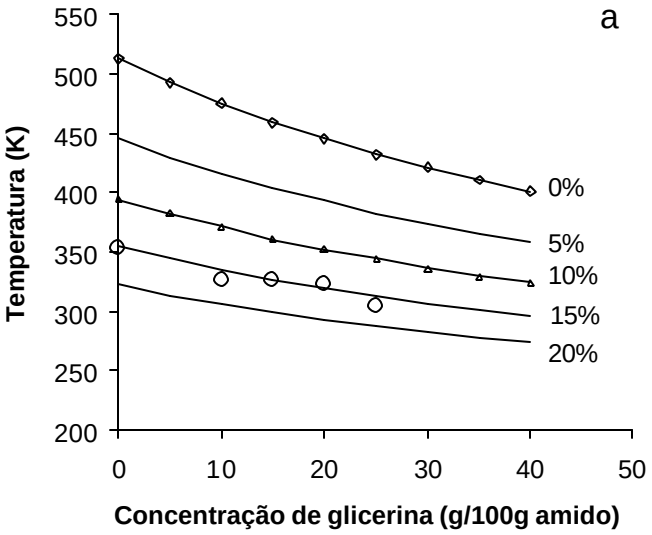
Os filmes de fécula de mandioca constituíram um sistema ternário, formado pelo amido, plastificante e água. Um modelo bastante utilizado para predizer o efeito da adição de um componente no valor da Tg é o modelo de Couchman e Karasz (Equação 32), o qual é derivado do modelo de Gordon-Taylor.

$$T_g = \frac{w_1 \Delta C_{p1} T_{g1} + w_2 \Delta C_{p2} T_{g2} + w_3 \Delta C_{p3} T_{g3}}{w_1 \Delta C_{p1} + w_2 \Delta C_{p2} + w_3 \Delta C_{p3}} \qquad (32)$$

onde Tg é a temperatura de transição vítrea do sistema ternário, Tg_i é a temperatura absoluta de transição vítrea, w_i é a fração molar e $?Cp_i$ é a variação do calor específico durante a transição vítrea, dos constituintes: água (i=1), amido anidro (i=2) e plastificante (i=3).

Para aplicação da Equação 32, utilizou-se Tg_1=138 K, $?Cp_1$=1,94 J/gK (Ross, 1995); Tg_2=513 K (Biliaderis *et al.*, 1986), $?Cp_2$=0,47 J/gK (Orford *et al.*, 1989); Tg_3=193 K, $?Cp_3$=0,63 J/gK (glicerina) e Tg_3=270 K, $?Cp_3$=0,96 J/gK (sorbitol) (Ross, 1995).

Considerando-se que os filmes possuíam valores diferentes de umidade, calculou-se com a Equação 32, os valores de Tg dos filmes em função da concentração de glicerina (Figura 84a) e sorbitol (Figura 84b) em várias umidades.



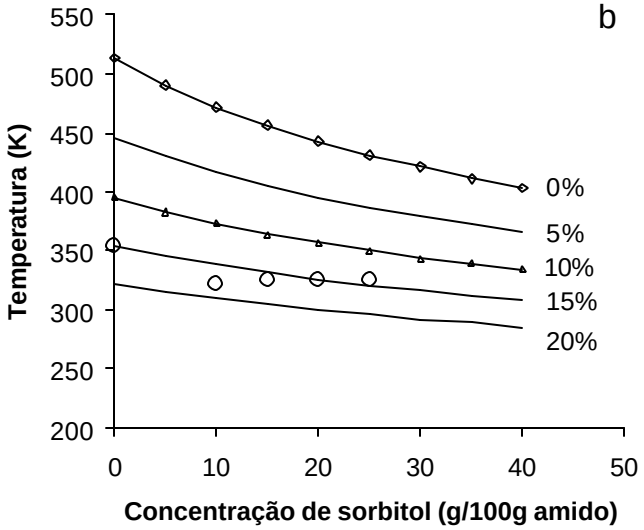


Figura 84: Comparação entre os valores observados e os experimentais da temperatura de transição vítrea de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (a) e sorbitol (b): (○); — valores calculados pela Equação 32 em umidades constantes.

De modo geral, a Equação 32 previu adequadamente os valores de Tg experimentais para os filmes plastificados com glicerina. Porém, para o sorbitol o modelo não foi satisfatório para prever os valores de Tg. De acordo com o Quadro 25, a umidade das

amostras plastificadas com sorbitol está em torno de 10% (bs), entretanto observa-se na Figura 84 que os valores calculados para uma umidade fixa de 10% (bs) foram muito superiores aos pontos experimentais. A 20% de sorbitol, a Tg dos filmes foi de 51,35ºC (324,35 K) enquanto que o valor calculado foi de 83,97ºC (356,97 K), estando mais de 30ºC acima dos valores experimentais. Esse mesmo comportamento foi observado por Sobral *et al*. (2001) para filmes à base de gelatina plastificados com sorbitol.

Lourdin *et al*. (1997) ajustaram o modelo de Couchman e Karasz (Equação 32) aos dados experimentais de Tg de filmes de amido de batata em função da umidade da amostra, para uma dada concentração de plastificante, e obtiveram resultados satisfatórios para a glicerina e sorbitol, entretanto esse modelo não foi adequado para os filmes plastificados com ácido lático, onde ocorreu separação de fase.

Os valores das temperaturas do início da fusão (To) dos filmes de fécula de mandioca, calculados como média entre triplicatas, estão apresentados no Quadro 25, em função da concentração de plastificante. Pode-se verificar que, a glicerina, o dietileno glicol e o propileno glicol reduziram a To de 179,32 para 168,78ºC, de 198,17 para 184,63ºC e de 174,76 para 170,18ºC, respectivamente, sendo este efeito mais acentuado nos filmes plastificados com dietileno glicol. Porém, o sorbitol elevou a To de 175,19 para 192,26ºC. Este comportamento do sorbitol é discordante do observado por Sobral *et al*. (2001), onde o incremento da concentração de sorbitol reduziu a temperatura de fusão dos filmes de gelatina.

4.4.4 Propriedades Mecânicas

4.4.4.1 Teste perfuração

Alguns exemplos de curvas de força *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca plastificados com polióis, são apresentados na Figura 85. Observa-se que, embora o aumento da concentração de glicerina e dietilenoglicol tenha alterado as formas das curvas, mesmo na maior concentração, estas são típicas de materiais pouco flexíveis, com a concavidade para cima. Para os filmes plastificados com sorbitol e propilenoglicol, não se

observa alteração das formas das curvas, as quais são típicas de materiais rígidos e quebradiços (Miltz, 1992).

O efeito da concentração de plastificantes, sobre a forma das curvas de força *vs* deformação, também pode ser visto nos trabalhos de Cuq *et al*. (1997b) e Sobral (2000b), que caracterizaram filmes à base de proteínas miofibrilares de sardinha do atlântico e gelatinas e proteínas miofibrilares de carne bovina, respectivamente.

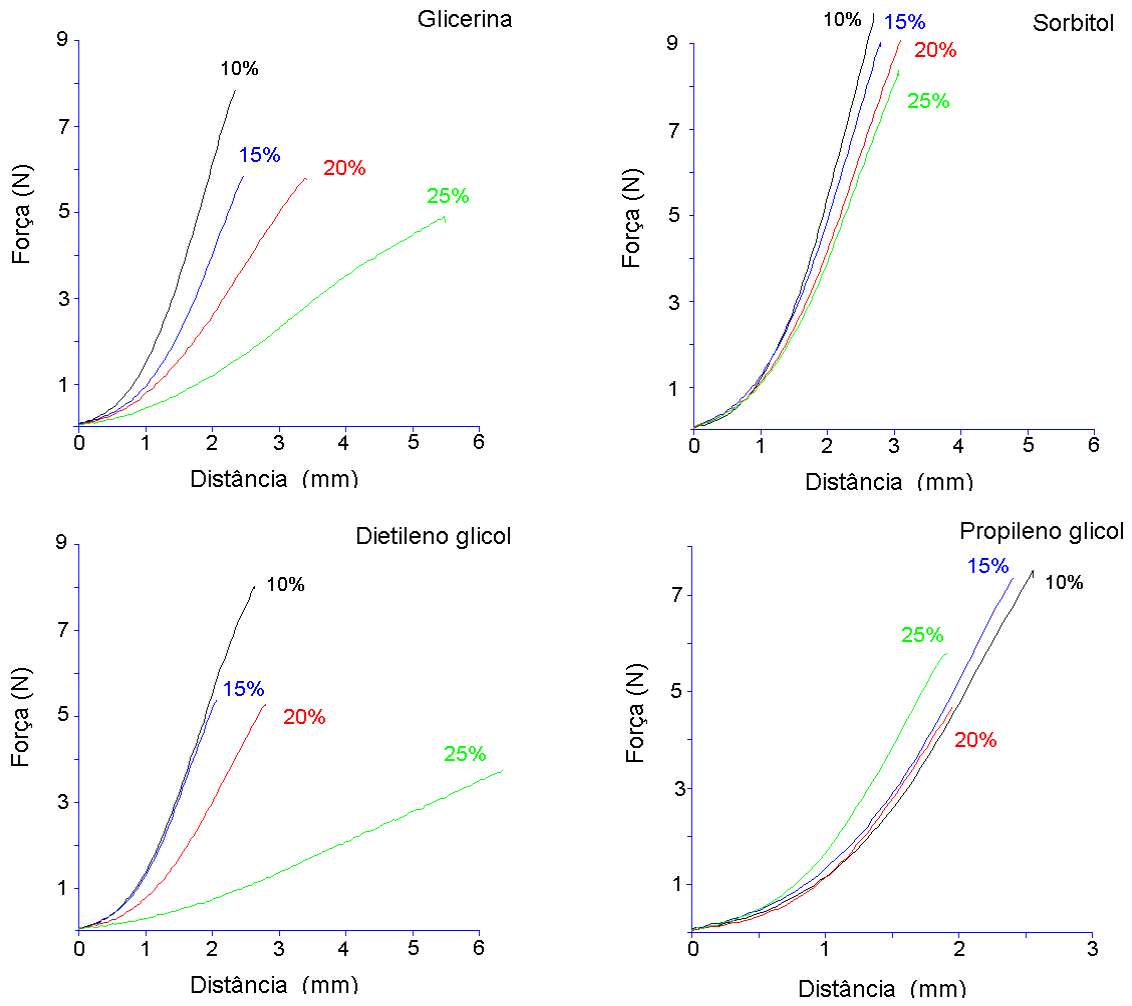


Figura 85: Curvas de força vs deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (10, 15, 20 e 25%).

O comportamento da força na ruptura em relação à concentração dos plastificantes, é apresentado na Figura 86, onde pode-se notar que o incremento de glicerina, sorbitol e dietilenoglicol de 10 para 25% provocou uma redução linear da força na ruptura de 7,25 para 4,28N, de 10,04 para 8,45N e de 7,02 para 4,16N, respectivamente. Entretanto, os parâmetros da equação da reta foram significativos (P<0,05) apenas para os filmes plastificados com glicerina (Quadro 26). Pode-se ainda observar na Figura 86, que os filmes plastificados com propilenoglicol, apresentaram redução da força na ruptura de 6,68 para 4,80N, com o incremento de plastificante de 10 para 20%, seguido de um aumento na concentração de 25%. Os filmes de fécula de mandioca com plastificantes foram menos resistentes que o filme sem plastificante, que apresentou força na ruptura de 10,16 N, devido ao efeito plastificante dos produtos usados.

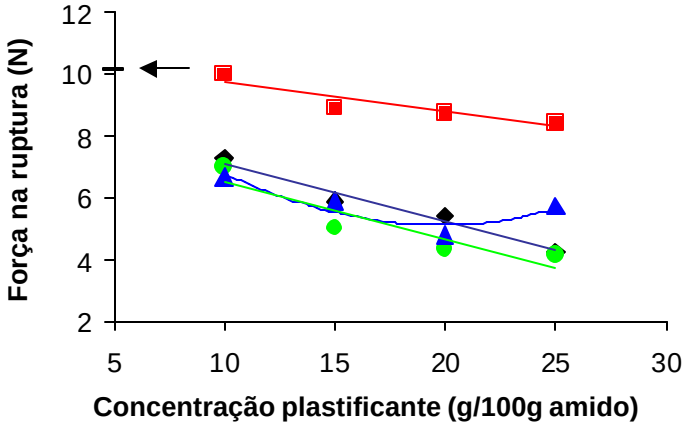


Figura 86: Força na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante)

Nos trabalhos de Mali (2002), com filmes elaborados com 3,3% de amido de cará e espessura de 0,070mm, o aumento da concentração de glicerina de 1,3 para 2%, causou a redução da força na ruptura de 8,02 para 6,03N, valores similares aos observados neste trabalho, para os filmes plastificados com glicerina.

Quadro 26: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=A+BX+CX^2$), da força na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**C**	**R^2**
Glicerina	8,99*	-0,187*	—	0,971
Sorbitol	10,76	-0,099	—	0,836
Dietileno glicol	8,36	-0,185	—	0,828
Propileno glicol	11,93	-0,687	0,017	0,853

*significativo P<0,05

Cuq *et al.* (1997b) também observaram redução linear da força na ruptura de biofilmes à base de proteínas mifibrilares de sardinha do Atlântico, de 5,1 para 1,7N, e de 5,1 para 4,0N entre 0 e 40% de glicerina e sorbitol, respectivamente.

Para Monterrey-Quintero & Sobral (2000), a força necessária à ruptura de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo, variou linearmente de 6,67N para 2,94N, com o aumento da concentração de glicerina de 30 para 70%.

Os efeitos dos plastificantes sobre a deformação na ruptura dos filmes de fécula de mandioca, podem ser vistos na Figura 87. Para os filmes plastificados com sorbitol, praticamente não houve variação da deformação na ruptura com o aumento da concentração do plastificante, mantendo-se constante com valores entorno de 0,65%, valor este similar aos filmes sem plastificantes, que foi da ordem de 0,60%. O incremento da concentração de propilenoglicol de 10 para 25%, reduziu linearmente, a deformação na ruptura dos biofilmes de 0,43 para 0,27%. Entretanto, os parâmetros da equação da reta não foram significativos (P>0,05), para os dois plastificantes (Quadro 27). Pode-se ainda observar na Figura 87, que os filmes plastificados com glicerina e dietilenoglicol, apresentaram aumento da deformação na ruptura de 0,39 para 3,29% e de 0,41 para 1,74%, respectivamente, com o incremento de plastificante de 10 para 25%. Neste caso, o aumento da deformação na ruptura dos filmes seguiu uma curva polinomial.

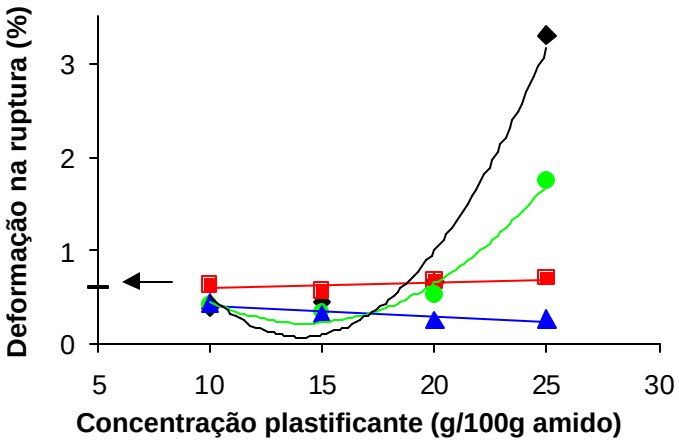


Figura 87: Deformação na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante)

Quadro 27: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=A+BX+CX^2$), da deformação na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**C**	**R^2**
Glicerina	5,177	-0,726	0,0258	0,956
Sorbitol	0,542	0,0059	—	0,418
Dietileno glicol	2,806	-0,363	0,0128	0,975
Propileno glicol	0,514	-0,0112	—	0,810

*significativo P<0,05

Mali (2002) observou aumento de 1,47 para 2,82% da deformação na ruptura de filmes à base de amido de cará (3,3%) com espessura de 0,07 0mm, causado pelo aumento de 1,3 para 2% de glicerina, valores muito próximos aos observados neste trabalho, para os filmes plastificados com glicerina.

O incremento de 0 para 40% de glicerina e sorbitol, elevou a deformação na ruptura de 0,15 para 2,5 mm e de 0,15 para 0,6 mm, respectivamente, em filmes à base de proteínas mifibrilares de sardinha do Atlântico.

Monterrey-Quintero & Sobral (2000) observaram aumento da deformação em biofilmes à base de proteínas mifibrilares de tilápia-do-Nilo, de 2,71 para 7,50%, entre 30 e 70% de glicerina.

4.4.4.2 Teste tração

A diminuição da resistência mecânica e o aumento da extensibilidade dos biofilmes com o incremento da concentração do plastificante é bem conhecida, e relatada por diversos autores para filmes à base de celulose (Debeaufort & Voilley, 1997), caseína (Tomasula *et al.*, 1998), ovoalbumina (Gennadios *et al.*, 1996), glúten (Cherian *et al.*, 1995) e proteína de soja (Cho & Rhee, 2002; McHugh & Krochta, 1994c). A presença de plastificantes diminui a densidade das interações polímero-polímero aumentando a mobilidade das cadeias tornando os filmes menos resistentes e mais deformáveis (Cuq *et al.*, 1997b).

Na Figura 88 estão apresentados alguns exemplos das curvas de tensão *vs* deformação de filmes de fécula de mandioca. As curvas são típicas de materiais rígidos e quebradiços, com exceção dos filmes plastificados com glicerina nas concentrações de 20 e 25% as quais são típicas de materiais flexíveis (Miltz, 1992). O efeito da concentração de plastificante sobre a forma das curvas de tensão *vs* deformação, também foi observada para filmes à base de metilcelulose (Debeaufort & Volley, 1997), amilose e amilopectina (Myllärinen *et al.*, 2002).

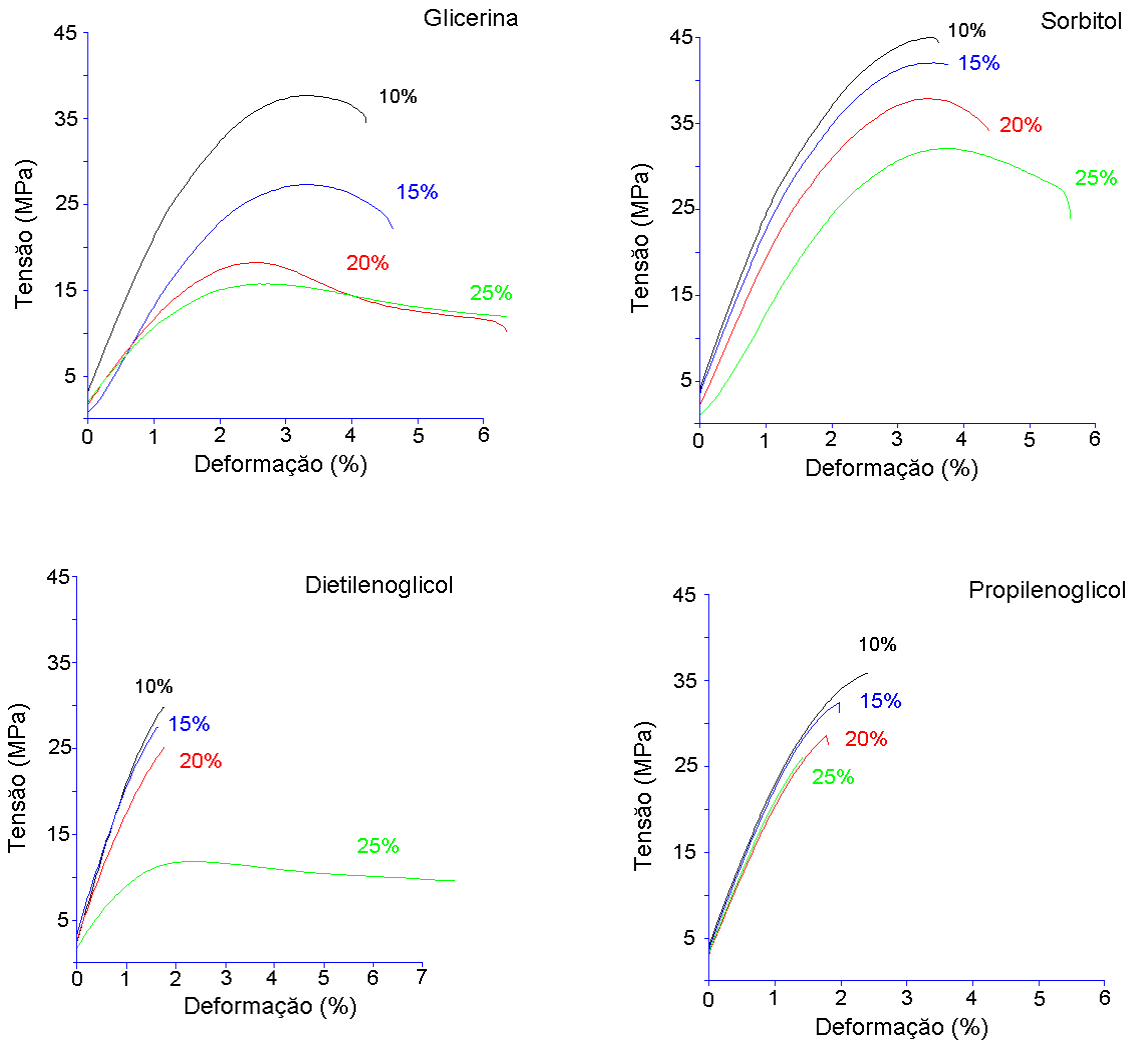


Figura 88: Curvas de tensão vs deformação de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificante (10, 15, 20 e 25%).

O comportamento da tensão na ruptura em relação à concentração de plastificante, dos filmes de fécula de mandioca estão apresentados na Figura 89. Observou-se que o incremento da concentração dos plastificantes de 10 para 25%, reduziu linearmente, a tensão necessária ao rompimento dos filmes, mais acentuadamente para os filmes plastificados com glicerina. Os parâmetros da equação da reta foram significativos ($P<0,05$) e os coeficientes de determinação bons ($R^2> 0,88$), com exceção dos filmes plastificados com

dietilenoglicol (Quadro 28). Os filmes de fécula de mandioca sem plastificante apresentaram tensão na ruptura de 38,45MPa, valor este superior aos demais tratamentos.

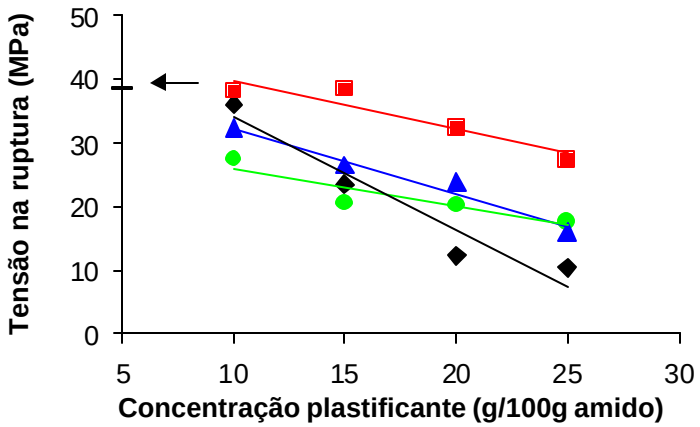


Figura 89: Tensão na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (← indica 0% de plastificante)

Quadro 28: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), da tensão na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**R^2**
Glicerina	51,68*	-1,772*	0,926
Sorbitol	47,61*	-0,773*	0,877
Dietileno glicol	31,83	-0,589	0,843
Propileno glicol	42,73*	-1,032*	0,971

*significativo P<0,05

O efeito do plastificante em reduzir a tensão na ruptura foi relatado por Arvanitoyannis *et al.* (1996), onde filmes à base de amido de milho, plastificados com glicerina e sorbitol, apresentaram redução linear da tensão na ruptura de 40 para 17,2 MPa e de 41,9 para 19,3 MPa, respectivamente, entre 5 e 25% de plastificante. Observou-se no trabalho de Myllärinen *et al.* (2002), que o aumento de 10 para 30% de glicerina, também,

provocou redução de 35 para 15 MPa e de 25 para 5 MPa na tensão na ruptura de biofilmes de amilose e amilopectina, respectivamente. Para Debeaufort & Voilley (1997), o aumento da concentração de polietileno glicol 400 de 0 a 30%, levou à redução da tensão na ruptura de 20 para 10 MPa, em filmes à base de metilcelulose.

Pode-se sugerir que os filmes de fécula de mandioca plastificados com glicerina, são tão resistentes quanto os filmes de amido de milho e amilose, porém mais resistentes que os filmes de amilopectina e metilcelulose.

Por outro lado, a deformação na ruptura nos filmes de fécula de mandioca (Figura 90), aumentou linearmente, de 3,28 para 7,34% e de 2,64 para 4,03%, com o incremento da concentração de glicerina e sorbitol de 10 para 25%, respectivamente, sendo este aumento mais acentuado para a glicerina. Os filmes plastificados com propilenoglicol apresentaram redução linear, de 1,96 para 0,91% da deformação na ruptura. Os parâmetros da equação da reta foram significativos ($P<0,05$) e os coeficientes de determinação bons ($R^2>93$), o que confirma a linearidade dos resultados (Quadro 29). Pode-se ainda observar na Figura 90, que a deformação manteve-se praticamente constante, entre 10 e 20% de plastificante, com valores da ordem de 1,30%, apresentando um aumento na concentração de 25%. Os filmes de fécula de mandioca sem plastificante apresentaram deformação na ruptura de 3,62%.

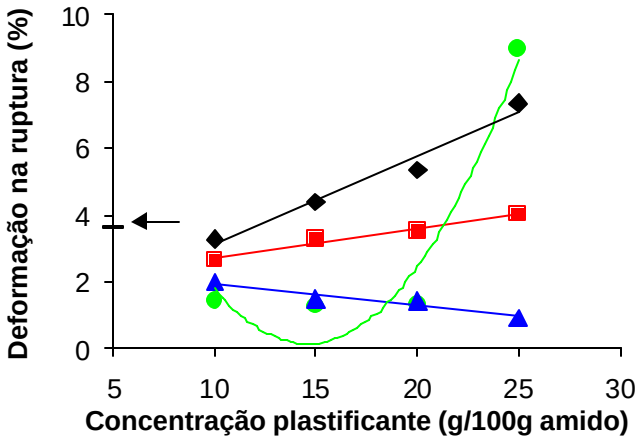


Figura 90: Deformação na ruptura de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina ■ sorbitol ▲ dietileno glicol ● propileno glicol) (← indica 0% de plastificante).

O aumento linear da deformação na ruptura de filmes de amido em função do conteúdo de plastificante também foi observado no trabalho de Arvanitoyannis *et al.* (1996). De acordo com esses autores o aumento de 5 para 27% de glicerol e sorbitol, elevou a deformação na ruptura de 5,2 para 10,8% e de 5,8 para 11,6%, respectivamente, em filmes de amido de milho, estando esses valores acima dos relatados neste trabalho.

Quadro 29: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX) e regressão não linear ($Y=A+BX+CX^2$), da deformação na ruptura (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**C**	**R^2**
Glicerina	0,476*	0,264*	—	0,973
Sorbitol	1,824*	0,088*	—	0,974
Dietileno glicol	16,727	-2,274	0,078	0,938
Propileno glicol	2,575*	-0,064*	—	0,933

*significativo P<0,05

Myllärinen *et al.* (2002) observaram que filmes de amilose apresentaram maior deformação que filmes de amilopectina, e que o incremento da concentração de glicerina de 10 para 30% aumentou a deformação na ruptura de 2,5 para 15% nos filmes de amilose. Entretanto, os filmes de amilopectina mantiveram-se praticamente constantes.

Para Mali (2002), o incremento da concentração de glicerina de 1,3 para 2%, provocou o aumento da deformação na ruptura de 10 para 30%, em filmes à base de amido de cará com espessura de 0,070 mm.

Como esperado, nota-se que o aumento na concentração de plastificante causou uma diminuição linear no módulo de elasticidade (Figura 91), menos acentuada nos filmes plastificados com propilenoglicol. A plastificação dos materiais implicou na redução da rigidez desses. Pode-se notar no Quadro30 que os parâmetros da equação da reta foram significativos ($P<0,05$), com exceção dos filmes plastificados com propilenoglicol, e coeficientes de determinação bons ($R^2>0,83$), o que confirma a linearidade dos resultados.

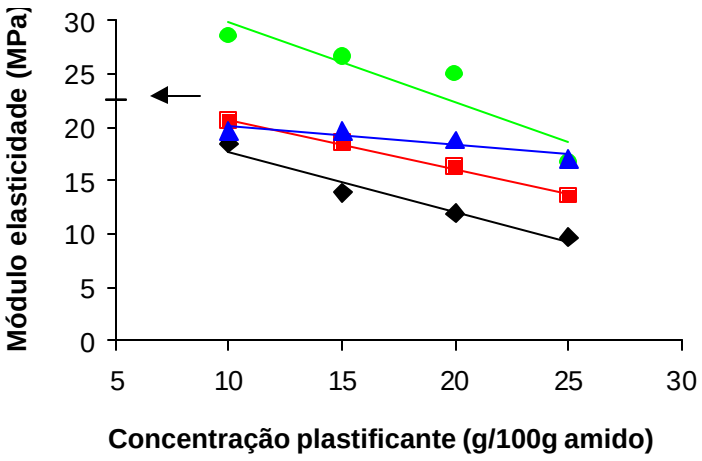


Figura 91: Módulo de elasticidade de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (← indica 0% de plastificante).

Quadro 30: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), do módulo (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**R^2**
Glicerina	23,36*	-0,563*	0,952
Sorbitol	25,34*	-0,463*	0,997
Dietileno glicol	37,24	-0,742	0,844
Propileno glicol	21,82*	-0,172*	0,827

*significativo P<0,05

No estudo de Arvanitoyannis *et al.* (1996), filmes à base de amido de milho plastificados com glicerina e sorbitol, apresentaram redução linear do módulo de elasticidade de 23,9 para 8,9 e de 30,5 para 10,1MPa, respectivamente, entre 5 e 25% de plastificante. Mali (2002), observou que para filmes elaborados com 3,30% de amido de cará e espessura de 0,070mm, o aumento da concentração de glicerina de 1,30 para 2%, levou à redução do módulo de elasticidade de 201 para 46MPa.

Para os filmes à base de fécula de mandioca observou-se um maior efeito plastificante da glicerina e do dietilenoglicol, seguido pelo sorbitol, porém o propilenoglicol apresentou efeito antiplastificante. De acordo com Cuq *et al.* (1997b), o fato da glicerina apresentar efeito plastificante superior ao sorbitol, estaria associado ao menor tamanho da molécula de glicerina ($C_3H_5(OH)_3$), o qual facilitaria sua inserção e posicionamento na rede polimérica, e também ao seu baixo peso molecular (PM 92,09). Entretanto, para os filmes de fécula de mandioca o propilenoglicol apresentou um efeito antiplastificante, embora apresente o menor peso molecular (PM 76,09) e cadeia com mesmo número de carbono que a glicerina.

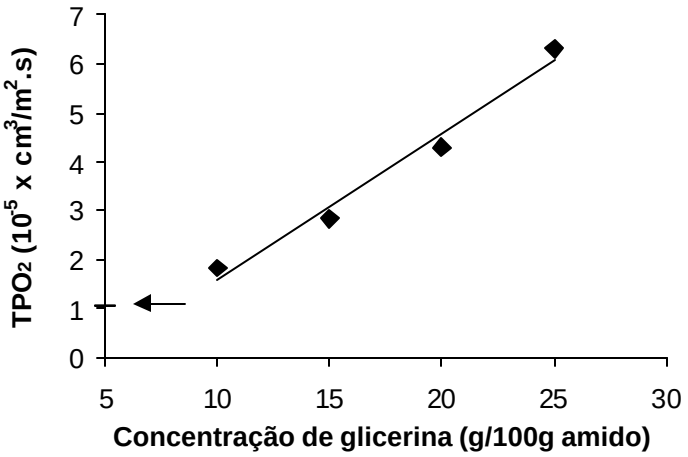
A incorporação de plastificante torna a rede polimérica menos densa e, consequentemente, mais permeável. Na realidade este aumento pode ocorrer de duas maneiras, devido ao aumento da difusividade do permeante (água) na matriz do filme, causado pelo aumento do volume livre, e/ou pelo aumento da capacidade higroscópica (H) do material,

devido ao caráter higroscópico dos biopolímeros e principalmente, do plastificante usado (Sobral, 2000b).

4.4.5 Permeabilidade ao oxigênio

A influência da concentração de glicerina dos filmes de fécula de mandioca sobre a taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2) e sobre a permeabilidade ao oxigênio (PO_2) pode ser observada na Figura 92, onde nota-se que o incremento de glicerina de 10 para 25% aumentou linearmente a TPO_2 e a PO_2 de 1,84 para 6,32 (10^{-5} x $cm^3/m^2.s$) e de 1,29 para 4,43 (10^{-11} x $cm^3.mm/m^2.s.Pa$), respectivamente. Os parâmetros da equação da reta foram significativos ($P<0,05$) com ótimo coeficiente de determinação ($R^2=0,98$) (Quadro 31). Os filmes de fécula de mandioca com glicerina foram mais permeáveis ao oxigênio que os filmes sem plastificante que apresentaram TPO_2 e PO_2 de 1,02 (10^{-5} x $cm^3/m^2.s$) e 0,72 (10^{-11} x $cm^3.mm/m^2.s.Pa$), respectivamente.

De acordo com McHugh & Krochta (1994c), o aumento do teor de glicerina leva ao incremento da permeabilidade aos gases de filmes hidrofílicos, ou seja, a glicerina se liga às moléculas do biopolímero empregado, aumentando a mobilidade e diminuindo a densidade entre as suas moléculas, facilitando a transmissão dos gases através do material. O efeito do plastificante em reduzir a permeabilidade ao oxigênio também foi observado por Mark *et al.* (1966), Gaudin *et al.* (2000) e Mali (2002).



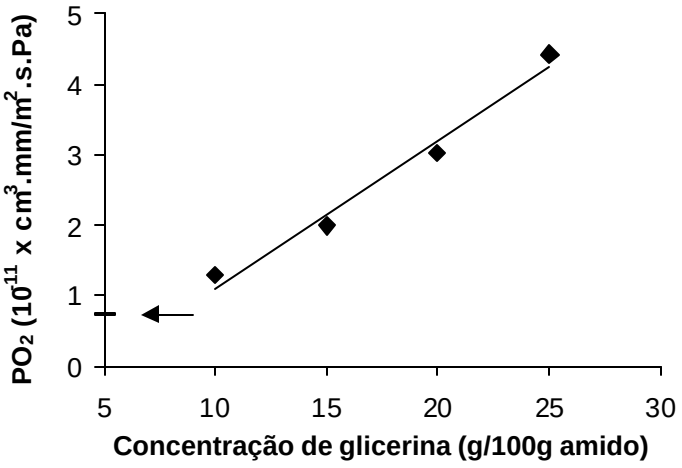


Figura 92: Taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2) e permeabilidade ao oxigênio (PO_2) a 23ºC, de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina. (⟵ indica 0% de plastificante).

Quadro 31: Parâmetros da equação da reta (Y=A+BX), obtidos por regressão linear, das propriedades de barreira (Y) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**R^2**
TPO_2 (10^{-5} x $cm^3/m^2.s$)	-1 x 10^{-5}*	3 x 10^{-6}*	0,977
PO_2 (10^{-11} x $cm^3.mm/m^2.s.Pa$)	-1 x 10^{-11}*	2 x 10^{-12}*	0,977

*significativo P<0,05

4.4.6 Propriedades óticas

4.4.6.1 Cor

Exemplos de espectro de cor para os filmes de fécula de mandioca plastificados com glicerina estão apresentados na Figura 93. Observou-se que, praticamente em todos os filmes, a luminosidade foi uniforme em todo o espectro de cores.

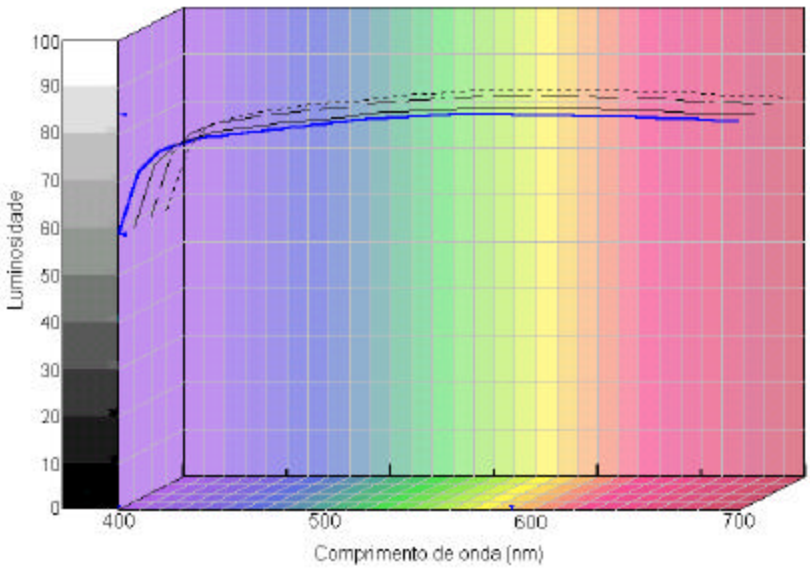


Figura 93: Espectro característico da diferença de cor de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de glicerina (? ? ? 10% - - - 15% ?? 20% ?? 25%).

Os resultados das medidas de cor, representados pela diferença de cor (?E*), dos filmes de fécula de mandioca estão apresentados na Figura 94. Observou-se que o incremento de glicerina, dietileno glicol e propileno glicol de 10 para 25% provocou uma aumento linear da diferença de cor de 2,24 para 2,45, de 2,46 para 2,77 e de 2,38 para 2,49, respectivamente. Entretanto, os parâmetros da equação da reta foram significativos ($P<0,05$) apenas para os filmes plastificados com dietileno glicol (Quadro 33). Para os filmes plastificados com sorbitol, a diferença de cor manteve-se constante, em torno de 2,3, valor este muito próximo dos filmes sem plastificante que foi 2,4.

Resultados semelhantes foram observados por Gennadios *et al.* (1996) para filmes à base de ovoalbumina, onde o aumento da concentração de glicerina polietileno glicol e sorbitol provocou leve aumento na diferença de cor dos filmes.

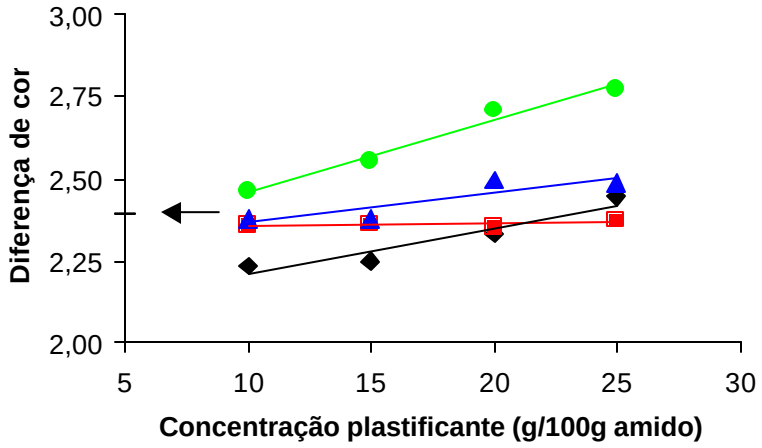


Figura 94: Diferença de cor (?E*) de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (◄— indica 0% de plastificante).

Quadro 32: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), da diferença de cor (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**R^2**
Glicerina	2,065	0,0143	0,908
Sorbitol	2,349	0,0007	0,280
Dietileno glicol	2,242*	0,0218*	0,977
Propileno glicol	2,277	0,009	0,760

*significativo P<0,05

Os valores dos cromas *a* e *b*, bem como a luminosidade (L) dos filmes de fécula de mandioca não variaram nem com o tipo nem com a concentração de plastificante, com valores médios de -0,73; 3,03 e 92,90, respectivamente. Como os valores de *a* e *b* situaram-se muito próximos de zero pode-se considerar que os filmes apresentaram coloração levemente acinzentada. Gennadios *et al*. (1996) também não observaram alterações para os cromas a e b e para a luminosidade de filmes de ovoalbumina com o aumento da concentração de plastificantes.

4.4.6.2 Opacidade

Como para a diferença de cor, a opacidade dos filmes de fécula de mandioca também foi influenciada pelo tipo e pela concentração dos plastificantes (Figura 95). O aumento da concentração de glicerol, dietileno glicol e propileno glicol elevou os valores da opacidade de 3,39 para 3,91%, de 3,59 para 4,19% e de 4,10 para 4,65%, respectivamente. No caso dos filmes plastificados com sorbitol, observou-se redução da opacidade, isto é um aumento da transparência dos filmes com o incremento da concentração de 10 para 25%.

No trabalho de Irissin-Mangata *et al*. (2001), a opacidade de filmes à base de glúten de trigo, medida por absorbância em espectrofotômetro, foi mais afetada pelo tipo de plastificante do que pela sua concentração. Os filmes de glúten plastificados com glicerina foram um pouco mais transparentes que os filmes plastificados com dietanolamina e trietanolamina.

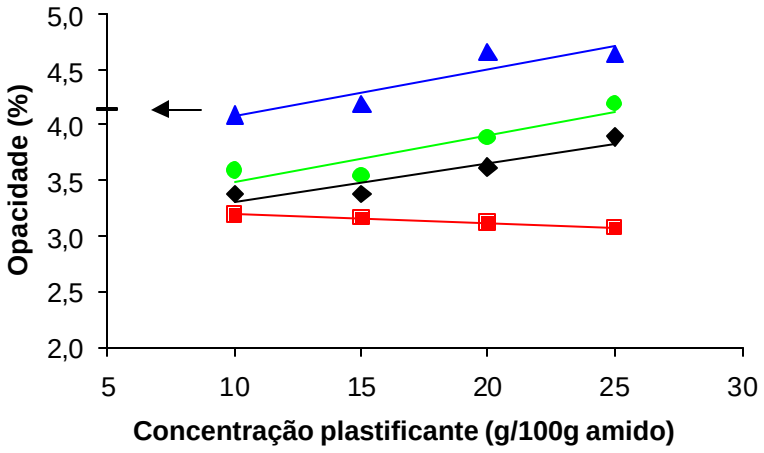


Figura 95: Opacidade de filmes de fécula de mandioca em função da concentração de plastificantes (◆ glicerina sorbitol dietileno glicol propileno glicol) (← indica 0% de plastificante).

Quadro 33: Parâmetros das equações, calculados por regressão linear (Y=A+BX), da opacidade (Y) de filmes de fécula de mandiocas em função da concentração de plastificantes (X).

Plastificantes	**A**	**B**	**R^2**
Glicerina	2,943	0,0359	0,874
Sorbitol	3,293*	-0,0089*	0,986
Dietileno glicol	3,057	0,0426	0,848
Propileno glicol	3,659	0,0424	0,847

*significativo P<0,05

4.5 Considerações Gerais

Os filmes de fécula de mandioca sem aditivo apresentaram ótimo aspecto visual, de fácil manuseabilidade e com superfície homogênea e estrutura compacta. Os filmes elaborados com solução filmogênica contendo 2% de amido apresentaram resíduo de cristalinidade, enquanto que aqueles elaborados com 4% de amido, apresentando-se completamente amorfos.

A temperatura de transição vítrea (Tg) dos filmes de fécula de mandioca diminuiu com o aumento da sua umidade. Entretanto, mesmo para os filmes armazenados em alta atividade de água (0,90) a Tg ficou em torno de 60ºC, isto é, acima da temperatura ambiente. Por isso os filmes tiveram um caráter vítreo, caracterizado por resistência elevada e baixa extensibilidade.

O controle da espessura na elaboração de filmes de amido pela técnica de *casting*, é de extrema importância. A espessura dos filmes influenciou fortemente as propriedades mecânicas, principalmente nos testes de perfuração e relaxamento de tensão, a permeabilidade ao vapor de água e as propriedades óticas.

De maneira geral, os filmes de fécula de mandioca mostraram-se pouco solúveis em espessura acima de 0,040mm, resistentes, porém pouco flexíveis, altamente permeáveis ao vapor de água, com coloração levemente acinzentada e transparentes, sendo a transparência também afetada pela concentração de amido na solução filmogênica.

A análise dos espectros na região do infravermelho médio das amostras de fécula de mandioca mostrou que o amido nativo foi característico de material semicristalino, e que o espectro dos filmes foi típico de amido amorfo, conseqüência do tratamento térmico da solução filmogênica. A análise por componentes principais (ACP) dos espectros foi capaz de classificar as propriedades funcionais dos filmes à base de fécula em função da concentração de amido nas respectivas soluções filmogênicas, e também em função da espessura. A análise dos espectros através da regressão PLS, mostrou que as propriedades funcionais dos filmes de fécula de mandioca em função da espessura, estão altamente correlacionadas com a banda de absorbância a 996 cm^{-1}, a qual está relacionada com as ligações de hidrogênio intermolecular entre as cadeias de amido.

Os filmes de fécula de mandioca com diferentes concentrações de glúten apresentaram-se flexíveis e manuseáveis, entretanto, os filmes com 20 e 40% de glúten mostram-se frágeis. A incorporação de glúten aos filmes de fécula de mandioca alterou as propriedades mecânicas diminuindo a resistência mecânica (diminuição da força e da tensão na ruptura), aumentado a elasticidade (diminuição do módulo de elasticidade) e elevando a extensibilidade (aumento da deformação na ruptura), porém reduziu a permeabilidade ao vapor de água e prejudicou as propriedades óticas.

A análise dos espectros na região do infravermelho médio dos filmes de fécula de mandioca/glúten mostrou bandas típicas das proteínas e do amido. A análise por componentes principais (ACP) dos espectros foi capaz de classificar as propriedades funcionais dos filmes à base de fécula em função da concentração de glúten e a análise dos espectros através da regressão PLS. As propriedades mecânicas, desses filmes foram altamente correlacionadas com o conteúdo de glicerina e também com interação amido/glúten.

Os filmes de fécula de mandioca plastificados com glicerina e sorbitol apresentaram duas Tg: uma ocorrendo em baixa temperatura relacionada com a fração rica em plastificante, e a outra, em temperatura mais alta, relacionada com a fração rica de amido, indicando separação de fases entre o biopolímero e plastificante.

O aumento da concentração de glicerina e dietilenoglicol causou depressão da Tg; entretanto, para os filmes com sorbitol e propilenoglicol, observou-se aumento da Tg, porém menos acentuado para o sorbitol. O modelo de Couchmann e Karask, para sistemas ternários, representou adequadamente, os pontos experimentais de Tg dos filmes plastificados com glicerina, porém o mesmo não ocorreu para o sorbitol.

A glicerina, o sorbitol e o dietilenoglicol apresentaram considerável efeito plastificante sobre as propriedades mecânicas dos filmes, reduzindo a resistência mecânica e elevando a distensibilidade dos mesmos. Entretanto, o propilenoglicol apresentou um efeito antiplastificante piorando as propriedades mecânicas dos filmes. A diferença de cor e a opacidade também foram influenciadas, aumentando com o incremento da concentração dos plastificantes, com exceção do sorbitol o qual não alterou esta propriedade. A glicerina apresentou efeito plastificante mais importante nos filmes de fécula de mandioca, sendo os melhores resultados obtidos na concentração de 25%.

5 CONCLUSÕES

De maneira geral, o uso de filmes de fécula de mandioca pura não é viável para o uso em pós-colheita de frutas e hortaliças devido a sua alta permeabilidade ao vapor de água. A incorporação de glúten aos filmes de fécula de mandioca só foi eficiente na redução da permeabilidade ao vapor de água em altas concentrações. Porém, os filmes de fécula de mandioca pura podem ser utilizados para embalar produtos secos ou com atividade de água intermediária.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R.M.V; OLIVEIRA, L.M. de; COLTRO, L.; GARCIA, E.E.C.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; PADULA, M. *Ensaios para avaliação de embalagens plásticas rígidas*. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 1998. 224p.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists.* St. Paul, 1975.

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

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-95a). In: ___. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: ASTM, 1995. (CD-ROM)

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test methods for determination of oxygen gas transmission rate, permeability and permeance at controlled relative humidity through barrier materials using a coulometric detector. (F 1927). In: ___. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: ASTM, 1995. (CD-ROM)

ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C.G. Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. *Carbohydr. Polym.*, v.38, p.47-58, 1999.

ARVANITOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. *Carbohydr. Polym.*, v.36, 105-119, 1998.

ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Part 1. *Carbohydr. Polym.*, v.31, n.4, p.179-192, 1996.

ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S.; YAMAMOTO, N. Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols, part 3. *Food Chem.*, v.60, n.4, p.593-604, 1997.

ASAOKA, M.; BLANSHARD, J.M.V.; RICKARD, J.E. Seasonal effects on the physico-chemical properties of starch from four cultivars of cassava. *Starch/Stärke*, v.43, n.12, p.455-459, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.* 16th ed. vol.1 e 2, Gaithersburg: AOAC International, 1996. 1094p.

AYDT, T.P.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Mechanical and barrier properties of edible corn and wheat protein films. *Trans. ASAE*, v.34, n.1, p.207-211, 1991.

BADER, H.G.; GÖRITZ, D. Investigations on high amylose corn starch films. Part 2: water vapor sorption. *Starch/Stärke*, v.46, n.7, p.249-252, 1994.

BANKER, G.S. Film coating theory and practice. *J. Pharm. Sci.*, v.55, p.81-92, 1966.

BANKER, G.S.; GORE, A.Y.; SWARBRICK, J. Water vapor transmission properties of free polymer films. *J. Pharm. Pharmac.*, v.18, p.457-466, 1966.

BAUER, C.; AMRAM, B.; AGNELY, M.; CHARMOT, D.; SAWATZKI, J.; DUPUY, N.; HUVENNE, J. P. On-line monitoring of a latex emulsion polymerization by fiber-optic FT-Raman spectroscopy. Part I: calibration. *Appl. Spectrosc.*, v.54, n.4, p.528-535, 2000.

BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v. 69**,** p.60-78, 1991.

BILIADERIS, C.G.; MAURICE, T.J.; VOSE, J.R. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.*, v.45, n.6, p.1669-1680, 1980.

BILIADERIS, C.G.; LAZARIDOU, A.; ARVANITOYANNIS, I. Glass transition and physical properties of polyol-plasticised pullulan-starch blends at low moisture. *Carbohydr. Polym.*, v.40, n.1, p.29-47, 1999.

BILIADERIS, C.G.; PAGE, C.M.; MAURICE, T.J.; JULIANO, B.O. Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch. *J. Agric. Food Chem.*, v.34, n.1, p.6-14, 1986.

BIZOT, H. Using the GAB model to construct sorption isotherms. In: JOWIT, R., ESCHER, F., HALLISTROM, B., MEFFERT, H.F.T., SPIESS, W.E.L., VOS, G. (Ed.). *Physical properties of foods*. London: Applied Science Publishers, 1983. p.43-53.

BIZOT, H.; BAIL, P.L.; LEROUX, B.; DAVY, J.; ROGER, P.; BULÉON, A. Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched polyanhydroglucose compounds. *Carbohydr. Polym.*, v.32, 33-50, 1997.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. *Química do processamento de alimentos*. 2.ed., 1.reimpr. São Paulo: Livraria Varela, 1995. 151p.

BORNET, F. Technologie des amidons, digestibilité et effects métaboliques. *Cah. Nutr. Diét*., v.27, n.3, p.170-8, 1991.

BRASIL. Resolução n.º 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Aprova as normas técnicas especiais do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas). *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, jul. 1978. Seção 1, pt I.

BRISTON, J.H. *Plastic films*. 3.ed. New York: Wiley, 1988.

CARVALHO, R.A. de. *Desenvolvimento e caracterização de biofilmes a base de gelatina*. 1997. 128p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)–Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

CEREDA, M.P.; BERTOLINI, A.C.; SILVA, A.P.; EVANGELISTA, R.M. Uso do amido em substituição às ceras na elaboração de "películas" na conservação pós-colheita de frutas e hortaliças. Estabelecimento de curvas de secagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 7, 1992, Recife. *Anais* ... Recife, 1992. p.107.

CEREDA, M.P.; BERTOLINI, A.C.; SILVA, A.P. de; OLIVEIRA, M.A. de; EVANGELISTA, R.M. Películas de almidón para la preservación de frutas. In: POLÍMEROS BIODEGRADABLES. AVANCES Y PERSPECTIVAS, 1995, Buenos Aires. *Anais* ... Buenos Aires, 1995.

CHANDRA, P.K.; SOBRAL, P.J.A. Calculation of viscoelastic properties of edible films: application of three models. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.20, n.2, p.250-256, 2000.

CHANG, Y. P.; CHEAH, P.B.; SEOW, C.C. Plasticizing-antiplasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state. *J. Food Sci.*, v.65, n.3, p.445-451, 2000.

CHERIAN, G.; GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; CHINACHOTI, P. Thermomechanical behavior of wheat gluten films: effect of sucrose, glycerin, and sorbitol. *Cereal Chem.*, v.72, n.1, p.1-6, 1995.

CHO, S.Y.; RHEE, C. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v.35, n.2, p.151-157, 2002.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M.L. (Ed.). *Active food packagings*. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1995a. p.111-142.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Thermal properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by moisture content. *Polymer*, v.38, n.10, p.2399-2405, 1997a.

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrilar proteins: formulation and functional properties. *J. Food Sci.*, v.60, n.6, p.1369-1374. 1995b.

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

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Rheological model for the mechanical properties of myofibrillar protein-based films. *J. Agric. Food Chem.*, v.44, n.4, p.1116-1122, 1996b.

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

CUQ, B.; CHARLIER, P.; COEFFIC, M.; COUARRAZE, G.; CUCCO, G.; DEBEAUFORT, F.; GONTARD, N.; POURRIAS, M.; REDL, A.; GUILBERT, E. Les substances alimentaires filmogènes. *Industries Alimentaires et Agricoles*, v.115, n.11, p.15-23, 1998.

DAMASCENO, S.; MORO, E.; FERREIRA, G.; ERIG, P.R.; FOGAÇA, L.A.; OLIVEIRA, P.V.S. Estudo da qualidade pós-colheita de frutos de atemóia (Annona cherimola x Annona squamosa) submetidos a aplicação de película de fécula de mandioca. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4, 2001, Campinas. *Livro de Resumos* ... Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, 2001. p.227.

DAMASCENO, S.; OLIVEIRA, P.V.S. de; MORO, E.; MACEDO JR., E.K.; LOPES, M.C.; VICENTINI, N.M.; CEREDA, M.P. Efeito da aplicação de película de fécula de mandioca na conservação pós-coheita de tomate. *Ciênc. Tecnol. Aliment.:* Campinas, 2003. (*in press*)

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Methylcellulose-base edible films and coatings: 2. Mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content. *J. Agric. Food Chem.*, v.45, n.3, p.685-689, 1997.

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

DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J.A. Physico-chemical properties of cassava starch. *Starch/Stärke*, v.50, n.2-3, p.58-64, 1998.

DEMIATE, I.M. *Desenvolvimento de fécula de mandioca auto-expansível.* 1999. 149p. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

DEMIATE, I.M.; DUPUY, N.; HUVENNE, J.P.; CEREDA, M.P.; WOSIACKI, G. Relationship between baking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy. *Carbohydr. Polym.*, v.42, n.2, p.149-158, 2000.

DIB, A.P.S. *Conservação pós-colheita de raízes tuberosas de yacon (Polymnia sonchifolia Poep. & Endl.) com o uso de película de fécula de mandioca.* 2000. 48p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

DONHOWE, I.G.; FENNEMA, O. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions, and testing methods. In: KROCHTA, J. M., BALDWIN, E. A. and NISPEROS-CARRIEDO, M. O. (Ed.). *Edible coatings and films to improve food quality.* Lancaster: Technomic Publishing Co., INC., 1994. p.1-24.

DONOVAN, J.W. Phase transitions of starch-water system. *Biopolymers*, v.18, 263-275, 1979.

DUPUY, N.; WOJCIECHOWSKI, C.; TA, C. D.; HUVENNE, J. P.; LEGRAND, P. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics in corn starch classification. *J. Mol. Struct.*, v.410-411, 551-554, 1997.

DUPUY, N.; DUPONCHEL, L.; AMRAM, B.; HUVENNE, J.P.; LEGRAND, P. Quantitative analysis of latex in paper coating by ATR-FTIR spectroscopy. *Applied Spectroscopy, 8,* 333-347. 1994

EVANS, I.D.; HAISMAN, D.R. The effect of solutes on the gelatinized temperature of potato starch. *Starch/Stärke*, v.34, p.224-232, 1982.

FERRAZ, M.V. *Avaliação da utilização de películas de amiláceas na conservação pós-colheita de rosa (Rosa hybrida var. Grand Galla).* 2000. 77p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura)–Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

FERREIRA, V.L.P. *Princípios e aplicações da colorimetria em alimentos*. Campinas: Ital, 1981. 85p. (Instruções Técnicas, n.19).

FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. *Propriedades gerais do amido*.

Campinas: Fundação Cargill, 2001. 224p. (Série Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas, v.1)

FULLER, M.P.; GRIFFITHS, P.R. Diffuse reflectance measurements by infrared Fourier transform spectrometry. *Anal. Chem.*, v.50, n.13, p.1906-19-10, 1978.

GALAT, A. Study of the raman and infrared absorption spectra of branched polysaccharides. *Acta Biochim. Polon.*, v.27, n.2, p.135-142, 1980.

GALLIARD, D.T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: GALLIARD, D.T. (Ed.) *Starch: properties and potencial*. Chichester: Willey, 1987. p.55-78. (Critical Reports on Applied Chemistry, 13).

GARCIA, E.E.C.; PADULA, M.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. *Embalagens plásticas: propriedades de barreira*. Campinas: ITAL, 1989. 42p.

GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D.J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. *Starch/Stärke*, v.49, n.5, p.171-179, 1997.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; FORSSELL, P.M.; COLONNA, P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. *Carbohydr. Polym.*, v.43, p.33-37, 2000.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. *Cereal Chemistry*, v.70, n.4, p.426-429, 1993a.

GENNADIOS, A; WELLER, C.L.; HANNA, M.A; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *J. Food Sci*., v.61, n.3, p.585-589, 1996.

GENNADIOS, A.; BRANDENBURG, A.H.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem.*, v.41, n.11, p.1835-1839, 1993b.

GHORPADE, V.M.; GENNADIOS, A.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Soy protein isolate/poly(ethylene oxide) films. *Cereal Chem.*, v.72, n.6, p.559-563, 1995.

GIACOMETTO, A.P. *Amido de cará-de-rama (Discorea bulbifera L.); propriedades dos grânulos e das pastas*. Londrina, 1984. 62p. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Londrina.

GNANASAMBANDAM, R.; HETTIARACHCHY, N.S.; COLEMAN, M. Mechanical and barrier properties of rice bran films. *J. Food Sci.*, v.62, n.2, p.395-398, 1997.

GONTARD, N. *Films et enrobages comestibles: étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten*. 1991. 174p. Tese (Doctorat Biochime, Biologie Cellulaire et

Moleculaire/Sciences des Aliments), Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1991.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. *Bol. SBCTA*, v.30, n.1, p.3-15, 1996.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, v.57, n.1, p.190-199, 1992.

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

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *Int. J. Food Sci. Technol.*, v.29, p.39-50, 1994.

GOODFELLOW, B.J.; WILSON, R.H. A Fourier transform IR study of the gelation of amylose and amylopectin. *Biopolymers*, v.30, 1183-1189, 1990.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In: MATHLOUTHI, M. (Ed.). *Food packaging and preservation, theory and practice*. New York: Elsevier Applied Science Publishing, 1986. p.371-394.

GUILBERT, S.; BIQUET, B. Les films et enrobages comestibles. In: BUREAU, G.; MULTON, J.J. (Ed.). *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*. Paris: Technique et Documentation, Lavoisier, Apria, 1989. p.320-359.

GUILBERT, S.; GONTARD, N. Edible and biodegradable food packaging. In: ACKERMANN, P.; JAGERTAD, M.; OHLSSON, T. (Ed.). *Foods and packaging materials - chemical interaction*. London: The Royal Society of Chemistry, 1995. p.159-168.

GUILBOT, A.; MERCIER, C. Starch. In: ASPINALL, G.O. *The polysaccharides*. Orlando: Academic Press INC., 1985. v.3, cap.3,p.209-282.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydr. Polym.*, v.49, n.4, p.425-437, 2002.

HAALAND, D.M.; THOMAS, E.V. Partial least-squares methods for spectral analyses. 1. Relation to other quantitative calibration method and the extraction of qualitative information. *Anal. Chem.*, v.60, n.11, p.1193-1202, 1988.

HANDA, A.; GENNADIOS, A.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L.; KURODA, N. Physical and molecular properties of egg-white lipid films. *J. Food Sci.*, v.64, n.5, p.860-864, 1999.

HARTLEY, L.; CHEVANCE, F.; HILL, S.E.; MITCHELL, J.R.; BLANSHARD, J.M.V. Partitioning of water in binary biopolymer mixtures at low water content. *Carbohydr. Polym.*, v.28, 83-89, 1995.

HECKMAN, E. Starch and its modifications for food industry. In: GRAHAM, H.D. (ed.) *Food Coloids*. Westport: The AVI Publishing Company Inc., 1977. p.464-499. Connecticut

HENRIQUE, C.M. *Utilização de ethefon e película de fécula de mandioca na conservação pós-colheita de limão Siciliano (Citrus limon, (Linn) Burn)*. 1999. 165p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)–Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

HENRIQUE, C.M.; CEREDA, M.P. Utilização de biofilmes na conservação pós-colhetita de morango (*Fragaria ananassa* Duch) CV IAC Campinas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.19, n.2, p.231-233, 1999.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydr. Polym.*, v.45, 253-267, 2001.

HUNTER ASSOCIATES LABORATORY. Universal Software Versions 3.2 and Above. User's Manual. Manual Version 1.5. Hunter Associates Laboratory. Reston Virginia, 1997.

IMBERTY, A.; BULEON, A.; TRAN, V.; PERES, S. Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Stärke*, v.43, n.10, p.375-84, 1991.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituito Adolfo Lutz.* 3.ed. São Paulo, 1986. v.1, 533p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Norme internationale: Dosage l'amidon*. Suisse, 1987a. 4p. (ISO 6647).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Norme internationale: Riz determination de la teneur en amylose. Suisse, 1987b. 5p. (ISO 6647).

IRISSIN-MANGATA, J.; BAUDUIN, G.; BOUTEVIN, B.; GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. *European Polymer Journal*, v.37, 1533-1541, 2001.

JOKAY, L.; NELSON, G.E.; POWELL, E.L. Development of edible amylaceous coatings for foods. *Food Technol.*, 21, 12-24, 1967.

KALICHEVSKY, M.T.; JAROSZKIEWICZ, E.M.; ABLETT, S.; BLANSHARD, J.M.V.; LILLFORD, P.J. The glass transition of amylopectin measured by DSC, DMTA and NMR. *Carbohydr. Polym.*, v.18, 77-88, 1992.

KARIM, A.A.; NORZIAH, M.H.; SEOW, C.C. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chem.*, v.71, n.1, p.9-36, 2000.

KAWABATA, A.; SAWAGARMA, S.; NAGASHIMA, N.; DEL ROSARIA, R.R.; NAKAMURA, M. Some physico-chemical properties of starches from cassava, arrowroot and sago. *Journal of the Japanese Society of Starch Science*, v.81, n.4, p.224-232, 1984.

KESTER, J.J.; FENNEMA, O. Edible films and coatings: a review. *Food Technol.*, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

KETIKU, A.O.; OYENUGA, V.A. Changes in the carbohydrate constituents of cassava root-tuber (*Manihot utilissima* Pohl) during growth. *J. Sci. Food Agric.*, v.23, p.1451-1456, 1972.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.*, v.51, n.2, p.60-74, 1997.

KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Ed.). *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster: Technomic Publishing Co., INC., 1994.

KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A; WELLER, C.L. Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chem.*, v.74, n.2, p.115-118, 1997.

LABUZA, T.P., Sorption phenomena in foods. *Food Technol.*, v.22, 263-272, 1968.

LABUZA T. Standard procedure for isotherm determination. *Cereal Foods World*, v.28, n.4, p.258, 1983.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C. G. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydr. Polym.*, v.48, 179-190, 2002.

LEHNINGER, A.L; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Princípios de bioquímica*. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 725p.

LEWIS, M.J. *Propriedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado*. Zaragoza: Acribia, S.A., 1993. 494p.

LINDSAY, M.P.; SKERRITT, J.H. The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives. *Trends Food Sci. Technol.*, v.10, p.247-253. 1999.

LIU, H.; LELIEVRE, J.; AYOUNG-CHEE, W. A study of starch gelatinization using differential scanning calotimetry X-ray, and birefringence measurements. *Carbohydr. Res.*, v.210, 79-87. 1991.

LOURDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydr. Polym.*, v.27, n.4, p.261-270, 1995.

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, v.38, n.21, p.5401-5406, 1997.

MAHMOUD, R.; SAVELLO, P.A. Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein films. *J. Dairy Sci.*, v.75, n.4, p.942-946, 1992.

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

MAMADOU, S. *Etude du procédé de fabrication de barquettes a base de produits amylaces expanses; application au manioc*. 1994. 53p. Diplome d'études approfondies (D.E.A.) en génie des procédés option agro-alimentaire-L'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (E.N.S.I.A.), Massy, 1994.

MANGAVEL, C.; BARBOT, J.; POPINEAU, Y.; GUÉGUEN, J. Evolution of wheat gliadins conformation during film formation: a Fourier transform infrared study. *J. Agric. Food Chem.*, v.49, 867-872, 2001.

MANNERS, D.J. Starch. In: DEY, P.M., DIXON, R.A. (Ed.). *Biochemistry of storage carbohydrates in green plants.* London: Academic Press, 1985. cap.4, p.149-203.

MARK, A.M.; ROTH, W.B.; MEHLTRETTER, C.L.; RIST, C.E. Oxygen permeability of amylomaize starch films. *Food Technol.*, v.20, n.1, p.75-77, 1966.

MARTENS, H. Factor analysis of chemical mixtures. *Anal. Chim. Acta*, 112, p.423-442, 1979.

MARTENS, H.; NAES, T. *Multivariate calibration*. New York: John Wiley, 1989. p. 97-100

MARTIN-POLO, M.; MAUGUIN, C.; VOILLEY, A Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of the film preparation technique. *J. Agric. Food Chem.*, v.40, n.3, p.407-412, 1992.

MAURICE, T.J.; SLADE, L.; SIRETT, R.R.; PAGE, C.M. Polysaccharide-water interactions-Thermal behavior of rice starch. In: SIMATOS, D.; MULTON, S.L. (Ed.) *Influence of water on food quality stability.* Dordrecht: Netherlands, 1985. 211p.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Milk-protein-based edible films and coatings. *Food Technol.*, v.48, n.1, p.97-103, 1994a.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Permeability properties of edible films. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Ed.). *Edible coatings and films to improve food quality.* Lancaster: Technomic Publishing Co., INC., 1994b. p.139-187.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Sorbitol-vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J. Agric. Food Chem.*, v.42, n.4, p.841-845, 1994c.

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

MILLAR, S.; ROBERT, P.; DEVAUX, M. F.; GUY, R.C.E.; MARIS, P. Near-infrared spectroscopic measurements of structural changes in starch-containing extruded products. *Appl. Spectrosc.*, v.50, n.9, p.1134-1139, 1996.

MILLER, K.S.; KROCHTA, J.M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. *Food Sci. Technol.*, v.8, n.7, p.228-237, 1997.

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.

MONTERREY-QUINTERO, E.S. *Caracterização físico-química de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes*. 1998. 83p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia/Qualidade e Produtividade Animal)–Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1998.

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para elaboração de biofilmes. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.35, n.1, p.179-189, 2000.

MORGANO, M.A.; QUEIROZ, S.C.N.; FERREIRA, M.M.C. Aplicação da análise exploratória na diferenciação de vegetais. *Braz. J. Food Technol.*, v.2, n.1/2, p.73-79, 1999.

MOUSIA, Z.; FARHAT, I.A.; BLACHOT, J.F.; MITCHELL, J.R. Effect of water partitioning on the glass-transition behaviour of phase separated amylopectin-gelatin mixtures. *Polymer*, v.41, 1841-1848, 2000.

MYLLÄRINEN, P.; PARTANEN, R.; SEPPÄLÄ, J.; FORSSELL, P. Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydr. Polym.*, v.50, n.4, p.355-361, 2002.

NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem*., v.135, p.136-375, 1944.

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

OLIVEIRA, M.A.; CEREDA, M.P. Efeito da película de mandioca na conservação de goiabas. *Braz. J. Food Technol.*, v.2, n.1-2, p.97-102, 1999.

OLIVEIRA, L.M. de; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. *Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis*. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 1996. 219p.

ORFORD, P.D.; PARKER, R.; RING. S.G.; SMITH, A.C. Effect of water as a diluent on the glass transition behaviour of malto oligosaccharides, amylose and amylopectin. Int. *J. Biol. Macromol.*, v.11, p.91-96, 1989.

PARK, H.J.; CHINNAN, M.S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *J. Food Eng.*, v.25, p.497-507, 1995.

PARK, H.J.; WELLER, C.L.; VERGANO, P.J.; TESTIN, R.F. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *J. Food Sci.*, v.58, n.6, p.1361-1364, 1993.

PELEG, M. Characterization of stress relaxation curves of solid foods. *J. Food Sci*., v.44, p.277-283, 1979.

PÉZOLET, M.; BONENFANT, S.; DOUSSEAU, F.; POPINEAU, Y. Conformation of wheat gluten proteins. Comparison between functional and solution states as determined by infrared spectroscopy. *FEBS Lett.*, v.299, n.3, p.247-250, 1992.

PSOMIADOU, E.; ARVANITOYANNIS, I.; YAMAMOTO, N. Edible films made from natural resources; microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols-Part 2. *Carbohydr. Polym.*, v.31, n.4, p.193-204, 1996.

RANKIN, J.C.; WOLFF, I.A.; DAVIS, H.A.; RIST, C.E. Permeability of amylose film to moisture vapor, selected organic vapors and the common gases. *Ind. Eng. Chem.*, v.3, 1p.120-123. 1958.

RHIM, J.W.; GENNADIOS, A.; HANDA, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A. Solubility, tensile, and color properties of modified soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem.*, v.48, n.10, p.4937-4941, 2000.

RINDLAV, A.; HULLEMAN, S.H.D.; GATENHOLM, P. Formation of starch films with varying crystallinity. *Carbohydr. Polym.*, v.34, n.1-2, p.25-30, 1997.

RINDLAV-WESTLING, A.; STADING, M.; HERMANSSON, A.M.; GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydr. Polym.*, v.36, 217-224, 1998.

ROOS, Y. *Phase transitions in food*. San Diego: Academic Press, 1995. 360p.

ROTH, W.B.; MEHLTRETTER, C.L. Some properties of hydroxypropylates amylomaize starch films. *Food Technol.*, v.21, n.1, p.72-74, 1967.

SARMENTO, S.B.S. *Caracterização da fécula de mandioca (Manihot esculenta C.) no período de colheita de cultivares de uso industrial*. 1997. 162p. Tese (Doutorado/Alimentos e Nutrição Experimental)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

SARMENTO, S.B.S.; REIS, M.M.; FERREIRA, M.M.C.; CEREDA, M.P.; PENTEADO, M.V.C.; ANJOS, C.B. dos. Análise quimiométrica de propriedades físicas, físico-químicas e funcionais de féculas de mandioca. *Braz. J. Food Technol.*, v.2, n.1/2, p.131-137, 1999.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chem.*, v.36, n.8, p.1627-1639, 1964.

SCHOCH, T.J.; LEACH, H.W. Determination of absolute density-liquid displacement. In: WHISTLER. RL. (Ed). *Methods in carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, 1964. v.4, p.101-103.

SCHOCH, T.J.; MAYWALD, E.C. Preparation and properties of various legume starches. *Cereal Chem.*, v.45, n.6, p.564-73, 1968.

SEARS, F.; ZEMANSKY, M.W.; YOUNG, H.D. *Física: mecânica dos fluidos, calor, movimento ondulatório*. 2.ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 1984. v.2, 510p.

SILVA, A.P. da; EVANGELISTA, R.M.; CEREDA, M.P. Utilização de películas de amido na conservação pós-colheita de banana. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS, 1, CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 9, 1996, São Pedro. *Anais* ... Botucatu: Centro de Raízes e Amidos Tropicais, Universidade Estadual Paulista, 1996. n.137.

SOBRAL, P.J.A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. *Ciência & Engenharia*, 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. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.35, n.6, p.1251-1259, 2000a.

SOBRAL, P.J.A. *Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes*. 2000. 158p. Tese (Livre-Docência)-Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2000b.

SOBRAL, P.J.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Phase transitions of pigskin gelatin. *Food Hydrocolloids*, v.15, 377-382, 2001.

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

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

SOCRATES, G. *Infrared characteristic group frequencies. Tables and charts.* 2.ed. New York: John Wiley & Sons, s.d. 248p.

SPIES, W.E.L.; WOLF, W.R. The results of the COST 90 Project on water activity. In: JOWITT, R.; ESCHER, F.; HALLSTROM, B.; MEFFERT, H.F.Th; SPIESS, W.E.L.; VOS, G. (Ed.) *Physical properties of food*. London: Applied Science Publishers, p.65-87. 1983.

STADING, M.; RINDLAV-WESTLING, A.; GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylose and amylopectin films. *Carbohydr. Polym.*, v.45, 209-217, 2001.

SWINKELS, J.J.M. Composition and properties of commercial native starches. *Starch/Stärke*, v.37, n.1, p.1-5, 1985.

TAKO, M.; HIZUKURI, S. Gelatinization mechanism of potato starch. *Carbohydr. Polym.*, v.48, 397-401, 2002.

TANADA-PALMU, P.S.; HELÉN, H.; HYVÖNEN, L. Preparation, properties and aplications of edible films from wheat gluten. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 3, 1999, Campinas. *Livro Programa e Resumos* ... Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, 1999. n.593.

TANADU-PALMU, P.S.; GROSSO, C.R.F. Obtenção de filmes de glúten e utilização na extensão da vida útil de morangos frescos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17, 2000, Fortaleza. *Livro de Resumos* ... Fortaleza: SBCTA, 2000. v.1, n.1.12.

TOMASULA, P.M.; PARRIS, N.; YEE, W.; COFFIN, D. Properties of films made from CO2-precipitated casein. *J. Agric. Food Chem.*, v.46, n.11, p.4470-4474, 1998.

VANDEERSTRAETEN, F.; WOJCIECHOWSKI, C.; DUPUY, N.; HUVENNE, J.P. Reconnaissance de l'origine et des modifications d'amidons para traitement chimiométrique de données spectrales. *Analusis Magazine*, v.26, n.8, p.57-62, 1998.

van SOEST, J.J.G.; de WIT, D.; TOURNOIS, H.; VLIEGENTHART, J.F.G. Retrogradation of potato starch as studied by Fourier transform infrared spectroscopy. *Starch/Stärke*, v.46, n.12, p.453-457, 1994.

van SOEST, J.J.G.; TOURNOIS, H.; de WIT, D.; VLIEGENTHART, J.F.G. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydr. Res.*, v.279, 201-214, 1995.

VICENTINI, N.M. *Utilização de películas de fécula de mandioca para a conservação pós-colheita de couve-flor (Brassica oleraceae var. botrytis*). 1999. 85p. Dissertação (*Mestrado em Agronomia/Horticultura)*-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

VICENTINI, N.M.; CEREDA, M.P. Uso de filmes de fécula de mandioca em pós-colheita de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Braz. J. Food Technol.*, v.2, n.1-2, p.87-90, 1999.

VICENTINI, N.M.; CASTRO, T.M.R.; CEREDA, M.P. Influência de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.19, n.1, p.127-130, 1999a.

VICENTINI, N.M.; CEREDA, M.P.; CÂMARA, F.L.A. Revestimentos de fécula de mandioca, perda de massa e alteração da cor de frutos de pimentão. *Sci. Agric.*, v.56, n.3, p.713-716, 1999b.

VIEITES, R.L.; ARRUDA, M.C. de; GODOY, L.S.G. de. Utilização de cera e película de fécula no armazenamento da laranja pêra sob refrigeração. *Semina*, v.17, n.1, p.83-88, 1996.

VONACH, R.; LENDL, B.; KELLNER, R. High-performance liquid chromatography with real-time Fourier-transform infrared detection for the determination of carbohydrates, alcohols and organic acids in wines. *J. Chromatogr. A*, v.824, p.159-167, 1998.

WHISTLER, R.L.; HILBERT, G.E. Mechanical properties of films from amylose, amylopectin, and whole starch triacetates. *Ind. Eng. Chem.*, v.36, n.9, p.796-798, 1944.

WOLFF, I.A.; DAVIS, H.A.; CLUSKEY, J.E.; GUNDRUM, L.J.; RIST, C.E. Preparation of films from amylose. *Ind. Eng. Chem.*, v.43, n.4, p.915-919, 1951.

WURZBURG, O.B. *Modified starches: properties and uses*. Boca Raton: CRC Press Inc., 1986. 277p.

ZELEZNAK, K.J.; HOSENEY, R.C. The glass transition in starch. *Cereal Chem.*, v.64, n.2, 121-124. 1987.

ZOBEL, H.F. X-ray analysis of starch granules. In: WHISTLER, R.L. *Methods in carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, 1964. v.4, p.109-113.