



MARALI VILELA DIAS

**FILMES A BASE DE QUITOSANA
INCORPORADOS COM α -TOCOFEROL E
MONTMORILONITA PARA APLICAÇÃO EM
EMBALAGENS FUNCIONAL E
ANTIOXIDANTE**

LAVRAS - MG

2013

MARALI VILELA DIAS

**FILMES A BASE DE QUITOSANA INCORPORADOS COM α -
TOCOFEROL E MONTMORILONITA PARA APLICAÇÃO EM
EMBALAGENS FUNCIONAL E ANTIOXIDANTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Soraia Vilela Borges

Coorientadora

Dra. Nilda de Fátima Ferreira Soares

LAVRAS - MG

2012

Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA

Dias, Marali Vilela.

Filmes a base de quitosana incorporados com α -tocoferol e montmorilonita para aplicação em embalagens funcional e antioxidante / Marali Vilela Dias. – Lavras : UFLA, 2013.

172 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Soraia Vilela Borges.

Bibliografia.

1. Salmão. 2. Embalagens ativas. 3. Caracterização. 4. Migração.
5. Nanocompósitos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 664.092

MARALI VILELA DIAS

**FILMES A BASE DE QUITOSANA INCORPORADOS COM α -
TOCOFEROL E MONTMORILONITA PARA APLICAÇÃO EM
EMBALAGENS FUNCIONAL E ANTIOXIDANTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 18 de dezembro de 2012.

Dr. Eber Antônio Alves Medeiros	UFV
Dr. Mário César Guerreiro	UFLA
Dra. Fabiana Queiroz	UFLA
Dr. João de Deus Souza Carneiro	UFLA

Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

Dra. Nilda de Fátima Ferreira Soares
Coorientadora

LAVRAS – MG
2012

A Deus, por estar presente em
todos os momentos de minha
vida me protegendo com saúde
e sabedoria.

OFEREÇO

Aos meus queridos pais, Alaor e Maria; às minhas
irmãs Elmara e Liliane; às minhas sobrinhas Ana Laura, Larissa, Ana Júlia e
Geovanna,
aos meus cunhados Ricardo e André e ao Matheus

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e sabedoria para a realização desta pesquisa.

Às orientadoras, professora Soraia Vilela Borges pela amizade, incentivo e confiança e professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, pela oportunidade.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos

Ao professor João José, pelo auxílio na realização da análise de raio x.

Ao professor Eduardo Alves e à equipe do Laboratório de Ultraestrutura e Microscopia Eletrônica, pelo auxílio nas análises de microscopias.

Aos membros da banca examinadora, prof. Mário César Guerreiro, Profa. Fabiana Queiroz, prof. João de Deus Souza Carneiro e Eber Antônio Alves Medeiros.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio institucional e pelas facilidades oferecidas.

À Universidade Federal de Lavras e aos professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos, pelos conselhos e ensinamentos.

A toda equipe do Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, pela ajuda, conselhos e encorajamento contínuos na pesquisa.

A Isadora, pelo companheirismo e ajuda durante o experimento.

A Viviane pela ajuda e incentivo e também pela agradável convivência na república, juntamente com Gabi.

Aos meus pais, irmãos e familiares, pela força, confiança e ao Matheus pelo apoio e carinho.

Finalmente, agradeço a meus amigos e colegas, em especial a Luisa, Carla, Kátia que contribuíram na elaboração desta tese.

A todos, meu sincero agradecimento, muito obrigada!

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidas dois tipos de embalagens ativas: uma embalagem funcional a base de quitosana (QUI) incorporada com α -tocoferol encapsulado (toc-encap) e montmorilonita sódica (MMTNa) e outra embalagem antioxidante de QUI com α -tocoferol não encapsulado e montmorilonita organofílica (MMT15A). Estas embalagens foram caracterizadas com relação a estrutura, morfologia, propriedades térmicas, ópticas, mecânicas e resistência ao vapor de água. Para avaliar o efeito antioxidante, as embalagens de quitosana com α -tocoferol e MMT15A foram aplicadas em salmão refrigerado por oito dias. As análises realizadas no alimento foram: análise de oxidação lipídica, cor, migração de α -tocoferol e de minerais presentes na MMT15A. Como resultados, para os filmes funcionais o uso de toc-encap até 10% auxiliou na intercalação da MMTNa resultando em filmes com permeabilidade ao vapor de água (PVA) reduzida, superfície mais hidrofóbica e menor UE (umidade no equilíbrio). Os filmes ficaram levemente mais amarelos com o aumento de toc-encap e também menos transparentes. A Tg (temperatura de transição vítrea) variou de 134 - 185° C. O uso de toc-encap e MMTNa na matriz de QUI deslocou os estágios de perda de massa para temperaturas mais altas. Pelo teste de tração, para os filmes com MMTNa, observou-se aumento no valor de resistência a tração (RT) e módulo de elasticidade (ME) com até 10% de toc-encap. Com a adição de toc-encap, os filmes ficaram menos resistentes e menos elásticos sob estresse acentuado (teste de punctura). Para os filmes antioxidantes, o tocoferol e MMT15A deixaram os filmes mais hidrofóbicos, com menor valor de UE, mais opacos, com valores de L* e b* menores e maiores respectivamente em relação ao filme de QUI. O tocoferol também aumentou a estabilidade térmica dos filmes de QUI e agiu como plastificante diminuindo a RT e ME no teste de tração, reduzindo a resistência a punctura no teste de punctura e reduzindo também a Tg dos filmes em função da maior mobilidade das cadeias poliméricas. A argila MMT15A auxiliou na manutenção da integridade da superfície ao estresse provocado pelos glóbulos de tocoferol, evitando orifícios na superfície dos filmes. Como resultados da aplicação dos filmes antioxidantes no alimento, as amostras acondicionadas nos filmes com 10% e 15% de tocoferol + MMT 15 apresentaram valores inferiores a 0,14 mg de tocoferol/g de salmão e este valor foi suficiente para reduzir a oxidação lipídica no alimento. O teor de magnésio em salmão acondicionados em nanocompósitos aumentou depois de 8 dias mostrando que ocorre migração destas cargas incorporadas na matriz polimérica para o alimento. Diante destes resultados, recomenda-se o uso de toc-encap de até 10% para se ter filmes funcionais homogêneos e também o uso de MMTNa para melhorar as propriedades dos filmes. Para o desenvolvimento de

nanocompósitos antioxidantes recomenda-se o uso de 10% de tocoferol por esta quantidade não alterar a estrutura dos filmes e também o uso de MMT15A para auxiliar nas propriedades. A partir dos resultados de migração, mais estudos são necessários com relação a toxicidade dos nanocompósitos para garantir a segurança do consumidor.

Palavras-chave: Embalagens ativas. Caracterização. Salmão. Migração. Nanocompósitos.

ABSTRACT

In this work we developed two types of active packaging: a functional packaging of chitosan (CHI) incorporated with α -tocopherol encapsulated (toc-encap) and montmorillonite (MMTNa) and other antioxidant packaging with α -tocopherol unencapsulated and organophilic montmorillonite (MMT15A). These packages were characterized with respect to structure, morphology, thermal, optical, mechanical properties and resistance to water vapor. To evaluate the effect of antioxidant packages of chitosan with α -tocopherol and MMT15A were applied to salmon cooled for eight days. The analyzes conducted in food were: analysis of lipid oxidation, color, migration of α -tocopherol and minerals present in MMT15A. As a result, for functional films using toc-encap to 10% helped intercalation of MMTNa resulting in films with permeability to water vapor (PVA) reduced, surface more hydrophobic and less UE (at equilibrium moisture content). The films were slightly more yellow with increasing toc-encap and also less transparent. The Tg (glass transition temperature) ranging from 134 -185 °C. The use of toc-encap and MMTNa in matrix CHI shifted stages of mass loss for higher temperatures. For the tensile test to films with MMTNa, there was an increase in the amount of tensile strength (RT) and modulus of elasticity (ME) with up to 10% of encap-toc. With the addition of toc-encap, the films were less resistant and less elastic under severe stress test (puncturing). For films antioxidant tocopherol and MMT15A left the more hydrophobic films, with lower values of the UE, more opaque, with values of L * and b * lower and higher respectively compared to CHI film . Tocopherol also increased the thermal stability of the films of CHI and acted as a plasticizer lowering the RT and ME in tensile testing, reducing the resistance to puncture in puncture test and also reducing the Tg of the films due to the higher mobility of the polymer chains. The clay MMT15A helped keep the surface integrates the stress caused by blood tocopherol, avoiding holes in the surface of the films. As a result of the application of antioxidants films in food , the samples packaged in the films with 10% and 15% tocopherol + MMT15A showed values below 0.14 mg of tocopherol / g of salmon and this amount was sufficient to reduce lipid oxidation in food. The magnesium content in salmon packed in nanocomposites increased after 8 days showing that migration occurs such fillers incorporated in the polymer matrix for food. Given these results, it is recommended to use toc-encap up to 10% functional films to have homogeneous and also the use of MMTNa to improve the properties of the films. For the development of nanocomposite antioxidants recommended the use of 10% tocopherol by this amount did not change the structure of the films and also the use of MMT15A to assist in properties.

From the results of migration, more studies are needed regarding the toxicity of nanocomposites to ensure consumer safety.

Keywords: Active packaging. Characterization. Salmon. Migration.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	12
1	INTRODUÇÃO	12
2.1	Quitosana	14
2.2	Montmorilonita (MMT)	16
2.3	Alfa- tocoferol	19
2.4	Nanotecnologia e embalagens para alimentos	21
2.5	Propriedade estrutural	23
2.6	Propriedades morfológicas	25
2.7	Propriedades térmicas	26
2.8	Propriedades mecânicas	29
2.9	Propriedades de resistência à umidade	32
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS	34
	REFERÊNCIAS	35
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	44
	ARTIGO 1 Desenvolvimento e caracterização de nanocompósitos funcionais de quitosana com montmorilonita e α-tocoferol encapsulado	44
	ARTIGO 2 Propriedades morfológicas, térmicas e mecânicas de filmes funcionais com α-tocoferol encapsulado e montmorilonita	76
	ARTIGO 3 Desenvolvimento e propriedades físicas e de resistência ao vapor de água de nanocompositos antioxidantes de quitosana/mmt15a/α-tocoferol	101
	ARTIGO 4 Avaliação morfológica, estrutural, térmica, mecânica e antioxidante de nanocompósitos de quitosana/mmt15a/α-tocoferol	124
	ARTIGO 5 Aplicação de filmes antioxidantes em salmão fresco	150

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Os polímeros sintetizados por organismos vivos, ou seja, de fontes renováveis, são os biopolímeros e representam uma alternativa para os plásticos derivados de petróleo que causam impacto negativo ao ambiente. Apesar de serem ambientalmente corretos, esses materiais não apresentam os requisitos necessários para exercer as funções básicas de uma embalagem que são transportar, proteger e conter o produto embalado.

Uma alternativa que vem sendo explorada é a aplicação da nanotecnologia para melhorar as propriedades desses materiais e torná-los mais competitivos. Nanotecnologia é o uso da matéria em escala nanométrica e nesta dimensão, os materiais apresentam propriedades diferenciadas em função da elevada área superficial. O uso de materiais inorgânicos como argila em escala nanométrica para reforçar biopolímeros orgânicos vem sendo explorada por diversos autores para se ter melhores propriedades de barreira, mecânica e térmica.

As nanopartículas além de atuarem como cargas para os polímeros, podem também auxiliar na liberação de agentes ativos que podem ser incorporados na matriz polimérica com o objetivo de somar uma nova função à embalagem. Estes agentes ativos como, por exemplo, substância antimicrobiana, antioxidante, aromatizante e nutrientes podem ser encapsulados ou adsorvidos pelas nanopartículas e, assim, controlar a liberação para o alimento auxiliando na obtenção de um produto com qualidade e segurança.

Para desenvolvimento de uma nova embalagem, antes da sua aplicação, é necessário o estudo da estrutura e também das suas propriedades a fim de se entender as interações e modificações resultantes da incorporação de diferentes

compostos na matriz polimérica.

Neste contexto, objetivou-se com este trabalho desenvolver biopolímero ativo de quitosana com α -tocoferol e nanopartícula montmorilonita com funções antioxidante e funcional. Para o biopolímero funcional utilizou-se α -tocoferol encapsulado (toc-encap) para evitar reações com os constituintes do alimento e perda de atividade pela degradação causada pela luz. A cápsula utilizada para proteger o α -tocoferol, é rompida apenas em pH baixo. Dessa forma, o α -tocoferol encapsulado migra para o alimento e a cápsula será rompida apenas no estômago do consumidor, exercendo desta forma a função de enriquecer nutricionalmente o alimento. O tocoferol foi encapsulado em amido e maltodextrina e para os filmes com toc-encap utilizou-se montmorilonita sódica (MMTNa) que apresenta característica hidrofílica compatíveis com os encapsulantes. Para a embalagem antioxidante foi utilizado o tocoferol não encapsulado para permitir o contato do toc-encap com o alimento e ação antioxidante através da doação de hidrogênios a radicais livres. Para os filmes antioxidante utilizou-se a montmorilonita organofílica (MMT15A) que é hidrofóbica e compatível com a natureza lipofílica do tocoferol. Após o desenvolvimento, caracterizou-se os biopolímeros desenvolvidos com relação às propriedades estruturais, morfológicas, mecânicas, resistência à umidade e térmicas, e por último aplicou-se a embalagem em alimento para avaliar a migração das substâncias incorporadas na embalagem (α -tocoferol e montmorilonita) e também o efeito antioxidante do α -tocoferol no alimento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Quitosana

Quitosana é um polissacarídeo catiônico derivado da quitina presente em cascas de camarão, caranguejo e insetos, é insolúvel em água e o segundo polímero natural mais abundante (LI et al., 2010). A quitosana é obtida pela desacetilação da quitina, que é a substituição de grupos acetilas (COCH_3) por grupos aminos livres ($-\text{NH}_2$) que podem ser protonados em meio ácido ($-\text{NH}_3^+$) fazendo com que a quitosana seja solúvel em soluções ácidas de ácidos como: acético, cítrico, ascórbico, láctico, málico, oxálico, succínico, adípico e propiónicos. O grau de desacetilação em quitina e quitosana é de 5 a 15% e de 70 a 95% respectivamente (SANTOS, 2006; ZHONG; SONG; LI, 2011).

Estruturalmente é constituída de um copolímero de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose unidos por ligações β 1-4 glicosídicas (Figura, 1) e de composição variável em função do grau médio de acetilação (CISSÉ et al., 2012; WANG et al., 2005).

A quitosana pode ser utilizada como biopolímero em função da propriedade de formar filmes; como agente encapsulante para sistemas de liberação controlada; agente quelante em tratamento de água e como agente antimicrobiano. Todas as possíveis aplicações da quitosana são devido à sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, não toxicidade, disponibilidade comercial e insolubilidade em soluções aquosas neutras e alcalinas que é influenciada pelo seu grau de desacetilação, estrutura molecular e força iônica do meio (BEVERLYA et al., 2008; LAVORGNA et al., 2010; MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012; PARK; ZHAO, 2004; SANTOS et al., 2003;

STECKEL; MINDERMANN-NOGLY, 2004; TRIPATHI; MEHROTRA; DUTTA, 2010; WOLF, 2010).

Filmes a base de quitosana apresentam propriedades de barreira moderada ao oxigênio, boas propriedades de barreira ao dióxido de carbono, mas alta permeabilidade ao vapor de água, devido à sua natureza hidrofílica (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010) o que limita a sua utilização. Esta é uma desvantagem da quitosana uma vez que um controle efetivo da transferência de água é uma propriedade desejável para a maioria dos alimentos (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). Isso pode ser solucionado pela adição de aditivos hidrófobos tais como ácidos graxos, lipídeos e agentes tensoativos (SU et al., 2010) já que a quitosana possui função emulsificante. As moléculas da quitosana são compostas de porções hidrofílicas e hidrofóbicas. Assim, a quitosana atua estabilizando hidrocolóides – mistura lipídicas, promovendo a formação da emulsão e estabilidade interfacial (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012; PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012).

A fim de tornar biopolímeros capazes de competir com os polímeros tradicionais que são mais fortes e mais dúcteis como o polietileno ou polipropileno, há necessidade de se melhorar suas propriedades incluindo térmicas, mecânicas e de barreira, além de diminuir o custo em relação aos derivados do petróleo. Estratégias utilizando blendas de polímeros, adição de plastificantes como glicerol que aumenta a flexibilidade do produto final, nanopartículas de prata, de silicatos dentre outras, tem sido usadas para melhorar o desempenho de polímeros biodegradáveis (ALMEIDA, 2010; GUNISTER et al., 2007; LAVORGNA et al., 2010; MARTIN; AVEROUS, 2001; WANG et al., 2005; ZHONG; SONG; LI, 2011).

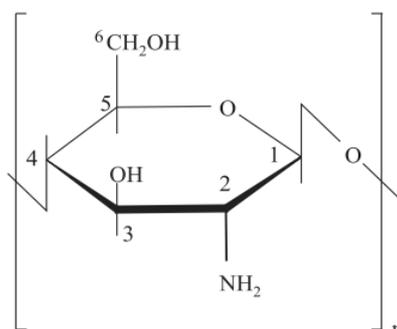


Figura 1 Fórmula estrutural do anel glicopiranosídico (unidade de repetição monomérica)

Fonte: Santos et al. (2003)

2.2 Montmorilonita (MMT)

A estrutura de cristal dos silicatos em camada consiste em uma folha central octaédrica com átomos de alumínio e oxigênio ligada a duas folhas tetraédricas que contém silício e oxigênio (Figura, 2). Se substituir o alumínio pelo magnésio a estrutura da montmorilonita (MMT) é formada (PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008). MMT é uma argila constituída por folhas empilhadas de silicato unidas por ligações de Van der Waals. Apresenta uma elevada relação entre comprimento e espessura (razão de aspecto) e uma estrutura em camadas (CUSHEN et al., 2012). Este tipo de argila é caracterizada por uma carga de superfície negativa compensada por cátions trocáveis tipicamente Na^+ e Ca^{2+} o que determina uma característica hidrofílica (GUNISTER et al., 2007; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

Geralmente, para permitir uma melhor interação da argila com polímeros orgânicos, os íons de sódio presentes na superfície da MMT para balancear a carga negativa da camada de silicato de magnésio, são trocados por moléculas orgânicas contendo um grupo de cátions, geralmente, íons de

alquilamônio, para produzir uma argila organofílica com característica hidrofóbica. Estes íons de alquilamônio permitem reduzir a energia superficial da argila, melhora a sua molhabilidade com a matriz polimérica e facilitam a penetração das moléculas orgânicas entre as camadas da argila (KUMAR et al., 2009; SOTHORNVIT et al., 2010).

A MMT como nanopartícula, apresenta uma ou mais dimensões em escala nanométrica e suas propriedades físicas e químicas são mensuravelmente diferentes das propriedades das mesmas partículas em escala macroscópica (KUMAR et al., 2009). Entre os materiais de carga em nanoescala empregados na produção de nanocompósitos, MMT é utilizada por ser relativamente barata, amplamente disponível, incorporação de quantidade muito pequena (normalmente menos que 5% em peso) e por resultar em um impacto significativo nas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira dos polímeros (ACHILIAS; SIAFAKA; NIKOLAIDIS, 2012; GUNISTER et al., 2007).

Bionanocompósitos são matérias biodegradáveis incorporados com cargas nanométricas para minimizar as desvantagens de não se utilizar materiais de embalagem tradicionais (SORRENTINO; GORRASI; VITTORIA, 2007). Nanotecnologia que é a aplicação da ciência e a manipulação da matéria em escala nanométrica, na área de embalagens é aplicada principalmente para melhorar o desempenho de barreira a gases como oxigênio, vapor de água e dióxido de carbono dos materiais. Utiliza-se também para melhorar o desempenho de barreira aos raios ultravioleta, bem como para adicionar resistência, rigidez, estabilidade dimensional e resistência ao calor (CUSHEN et al., 2012; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

O resultado da morfologia dos nanocompósitos é dependente da compatibilidade química entre polímero e superfície das lamelas. Devido à natureza hidrófila e policatiônica da quitosana em meio ácido, este biopolímero

apresenta boa miscibilidade com MMT e pode facilmente intercalar nas lamelas da argila por meio de troca catiônica (WANG et al., 2005).

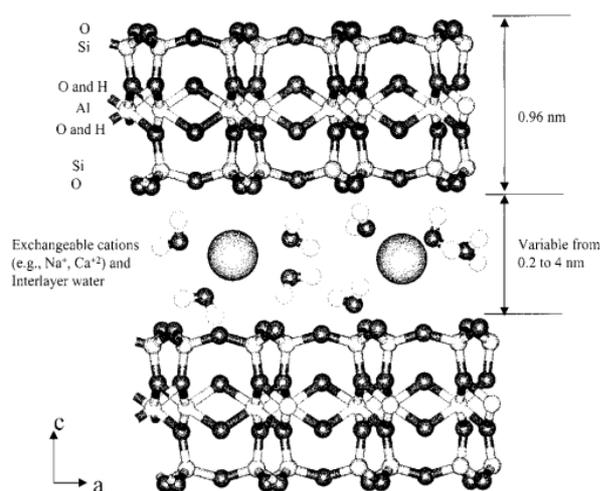


Figura 2 Projeção da estrutura de esmectita mostrando os cátions trocáveis e as moléculas de água na região interlamelar

Fonte: Johnston e Premachandra (2001)

Os polímeros nas dispersões de MMT interagem com as argilas, de acordo com o seu carácter iônico ou não iônico. Os polímeros iônicos induzem interações eletrostáticas, mas os polímeros não-iônicos são adsorvidos sobre a superfície da argila pelas interações estéricas. Concentrações do polímero, peso molecular e grupos hidrolisantes de polímero, tamanho e forma da partícula de argila, a carga de superfície, a concentração de argila em suspensão, o pH e temperatura podem afetar as interações entre argila e polímero (GUNISTER et al., 2007; TUNÇ; DUMAN, 2010).

As nanopartículas em camadas devem ser separadas para formar lamelas de dimensões nanométricas na matriz polimérica (isto é esfoliação). No entanto, não é fácil separar e dispersar estas camadas que devido a grande área superficial, tendem a se aglomerarem. Se o polímero não for capaz de intercalar

entre as lamelas, a estrutura é semelhante à convencional e conseqüentemente terá pouca ou nenhuma melhoria das propriedades dos materiais. Se as cadeias poliméricas se intercalam entre as camadas da argila aumentando a distância interlamelar, mas sem destruir o empilhamento natural, tem-se um nanocompósito intercalado. Se as cadeias poliméricas intercaladas nas lamelas forem capazes de aumentar a distância interlamelar a tal ponto de anular a atração entre as lamelas, o sistema é esfoliado (KUMAR et al., 2009). E ainda tem-se uma estrutura intermediária, floculada em que ocorre intercalação, entretanto as camadas de silicato são aglomeradas em função da interação borda - borda das argilas (união lateral) (LAVORGNA et al., 2010).

2.3 Alfa- tocoferol

Existe um interesse crescente nas atividades de remoção de radicais de alguns antioxidantes naturais, especialmente os naturais, que podem desempenhar um papel na prevenção de várias doenças crônicas (VAIO et al., 2010). Tocoferóis (vitamina E) são sintetizados somente por organismos fotossintéticos, são antioxidantes lipossolúveis e estruturalmente possuem uma cabeça de cromanol que contém dois anéis: um fenólico e um heterocíclico, e uma cauda fitilo (Figura, 3). Quimicamente, o α -tocoferol (cientificamente dL- α -tocoferol acetato) é a forma mais ativa da vitamina E em função dos grupos metil no anel cromanol que deixa o hidrogênio do grupo hidroxil do C-6 especialmente ativo facilitando a doação deste hidrogênio a radical peroxil (OUCHIKH et al., 2011; RYYNANEN et al., 2004).

DL- α -tocoferol acetato é preparado sinteticamente por uma mistura de oito diferentes isômeros ópticos de α -tocoferol, sendo utilizado na área de nutrição e cosméticos (CASTAN et al., 2005) e classificado como substância geralmente reconhecida como segura (GRAS) para produtos alimentícios (IWASE, 2000).

2.4 Nanotecnologia e embalagens para alimentos

Embalagens ativas são uma nova tendência da tecnologia de alimentos para assegurar qualidade e segurança ao consumidor. Através da incorporação de agentes ativos como, por exemplo, substâncias com função antimicrobiana, antioxidante, aromatizante, absorvedora de etileno e absorvedora de oxigênio na matriz polimérica e pela interação entre embalagem e alimento acondicionado, tem-se um aumento ou manutenção da qualidade e conseqüentemente maior vida de prateleira do produto (DIAS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2011; SANTIAGO-SILVA et al., 2009).

Dentro do conceito de embalagens ativas, pode-se pensar em embalagens funcionais. Através de concentração elevada de nutrientes como, por exemplo: vitaminas, minerais, aminoácidos incorporadas no material de embalagem, pode-se ter o enriquecimento dos alimentos pela migração destas substâncias. Esta tecnologia pouco explorada pode auxiliar no enriquecimento de alimentos que não são processados, como por exemplo, frutas e vegetais frescos (PARK; ZHAO, 2004) e também produtos processados. Dessa forma, evita-se a perda dos nutrientes em função de elevadas temperaturas utilizadas durante o processamento e armazenamento de alimentos.

Devido à interação entre embalagem e alimento, é necessário que tenha uma legislação para garantir a segurança ao consumidor. Nos EUA, embalagens ativas são submetidas à autorização do Food and Drug Administration se as substâncias ativas forem consideradas “aditivos alimentares” que são as substâncias que passam a ser componente do alimento. A União Européia possui um regulamento (450/2009/EC) que estabelece requisitos específicos para a comercialização de materiais de embalagens ativas e inteligentes destinados a entrar em contato com alimentos. Apenas os "componentes ativos e inteligentes" devem ser submetidos a autorização pela European Food Safety Authority

(EFSA) que avaliam os riscos considerando a migração das substâncias, propriedades toxicológicas e também produtos resultantes da possível degradação e reação química (RESTUCCIA et al., 2010). No Brasil ainda não há legislação para esse tipo de material.

Junto à demanda por produtos mais frescos e naturais, os consumidores estão exigindo materiais de embalagens que sejam ambientalmente corretos: de fonte renovável, biodegradáveis e/ ou recicláveis. Por esta razão, existe um interesse crescente no estudo e desenvolvimento de embalagens ativas com biopolímeros capazes de degradar por meio de processo de compostagem natural. Neste ambiente de novas tendências, tem-se também a nanotecnologia que vem sendo aplicada no mercado de embalagens para melhorar as propriedades dos biopolímeros e deixá-los aptos para substituir os polímeros sintéticos. Além disso, as nanopartículas podem ser usadas no encapsulamento ou adsorção de substâncias ativas e conseqüentemente proteger e controlar a liberação dos agentes ativos, melhorar a sua eficácia e estabilidade para aplicações em alimentos (LEMAY et al., 2002; MITSUMOTO et al., 2005; PERSICO et al., 2009; VARTIAINEN et al., 2003). O uso de nanopartículas para a liberação controlada foi relatado por Sanchez-Garcia et al. (2008) que desenvolveram nanocompósitos de policaprolactona e mica natural para liberação controlada de timol. Tunç e Duman (2011) relataram que o uso de MMT em filme de metilcelulose diminuiu a liberação de carvacrol.

É importante salientar que pode haver riscos para o consumidor pela migração das nanopartículas. Os resultados deste tipo de exposição não foram completamente determinados e a falta de tais dados apresenta um grande obstáculo para a avaliação dos riscos para consumo de alimentos em contato com nanoembalagens (CUSHEN et al., 2012).

Simon, Chaudhry e Bakoš (2008) fizeram previsões sobre a migração de nanopartículas utilizando conceitos fisico-químicos e concluíram que a

migração das nanopartículas a partir das embalagens para alimentos seria baixa e lenta.

Um estudo realizado por Avella et al. (2005) sobre migração mostrou aumento insignificante de minerais (silício) em vegetais embalados em nanocompósito de amido com MMT.

Em relação à legislação para a nanotecnologia, segundo Cushen et al. (2012) nos Estados Unidos várias agências federais regulam produtos associados à nanomateriais e são desafiadas pela complexidade da nanotecnologia. Mas ainda não existe uma legislação que oferece exames consistentes e abrangentes para a proteção do consumidor. Na Austrália, o National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS), órgão que regula produtos químicos para a proteção da saúde humana e meio ambiente ficou recentemente responsável por introduzir novos processos administrativos para abordar a nanotecnologia.

A pesquisa de avaliação de risco não está progredindo a uma velocidade suficiente para lidar com os avanços em nanotecnologias. Mais pesquisas são necessárias para alcançar um entendimento conclusivo sobre a migração destas nanopartículas.

2.5 Propriedade estrutural

Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é utilizada para determinar as possíveis interações e mudanças estruturais dos compostos utilizados para desenvolvimento dos filmes (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012; ZHONG; SONG; LI, 2011).

Espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria. A maior parte dos estudos em infravermelho refere-se à região média (400 a 4000 cm^{-1}) onde se localizam as frequências vibracionais fundamentais.

As frequências vibracionais de uma molécula dependem da natureza do movimento, massa dos átomos, geometria da molécula e natureza das ligações químicas (CANEVAROLO JÚNIOR, 2003).

A técnica FTIR pode ser usada para estudar as interações entre quitosana, tocoferol e MMT por meio da detecção e identificação dos grupos funcionais químicos presentes no polímero (ESPITIA et al., 2012).

Outra técnica utilizada para avaliar a estrutura dos filmes é a difração de raios x (DRX). Por meio de DRX, é possível controlar a posição, forma e intensidade das reflexões basais das camadas de argila e, por conseguinte, identificar as estruturas dos nanocompósitos (PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008). Para polímeros imiscíveis a estrutura de argila não é afetada e, portanto as características das reflexões basais não mudam. Nos nanocompósitos esfoliados a separação das camadas de argila é tão extensa que a estrutura empilhada das camadas de MMT é perdida e conseqüentemente os resultados apresentam ausência de qualquer pico de difração (ACHILIAS; SIAFAKA; NIKOLAIDIS, 2012). Assim, para estruturas esfoliadas o pico de difração no difratograma não é mais visível por causa da distância muito grande entre as camadas (> 8 nm) ou porque o nanocompósito não apresenta ordenação. Nanocompósitos intercalados apresentam apenas aumento da distância entre as camadas de argila (espaço interlamelar) fornecendo um pico de difração em ângulos inferiores. Em tais nanocompósitos a estrutura multicamada repetida é bem preservada, permitindo o espaço interlamelar ser determinado. Quando ocorre estrutura esfoliada e intercalada, o pico de difração é ampliado (KUMAR et al., 2009; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

DRX permite determinar o espaço entre as camadas de silicato utilizando a lei de Bragg:

$$\text{sen } \theta = n\lambda / 2d$$

Em que λ corresponde ao comprimento de onda do elemento utilizado para

gerar a radiação no equipamento, d é a distancia que se deseja calcular entre as lamelas da argila, θ é o ângulo onde se detecta o pico no difratograma.

A análise de difração de DRX já foi utilizada para verificar a modificação da cristalinidade dos nanocompósitos e dispersão das nanopartículas por diversos autores: Gunister et al. (2007), Lavorgna et al. (2010), Souza et al. (2012) e Tunç e Duman (2010). Achilias, Siafaka e Nikolaidis (2012) desenvolveram nanocompósitos de poli alquilmacrilato com diferentes MMT e observou pela análise de difração de raio x que a morfologia dos filmes com 1% de MMT foi esfoliada.

No entanto, embora DRX seja um método convencional para determinar o espaço interlamelar entre as camadas da argila, pouco pode ser dito sobre a distribuição espacial das camadas de argila, ou qualquer estrutura heterogenea em nanocompósito (KUMAR et al., 2009). Além disto, alguns silicatos em camadas não apresentam reflexões basais bem definidas. Portanto, conclusões sobre a formação do nanocompósito e estrutura baseados unicamente em padrões de DRX são apenas exploratórios.

2.6 Propriedades morfológicas

Microscopia eletrônica de transmissão (MET) é utilizada para complementar os resultados DRX com relação a distribuição das nanopartículas incorporadas nas matrizes poliméricas. A análise MET permite uma avaliação

qualitativa da estrutura dos filmes (PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

Uma vez que as camadas de silicato são compostas de elementos mais pesados (magnésio, silício, oxigênio) do que as camadas dos polímeros (carbono, hidrogênio, nitrogênio), elas aparecem mais escuras na imagem de MET e, geralmente, são as seções transversais das camadas de silicato (KUMAR et al., 2009).

Outra análise muito utilizada para embalagens ativas é a microscopia eletrônica de varredura (MEV) que permite a caracterização da morfologia da superfície do polímero e a observação da dispersão do agente ativo na matriz polimérica (ESPITIA et al., 2012).

2.7 Propriedades térmicas

A análise termogravimétrica (TGA) é realizada para avaliar o efeito da adição de argilas na decomposição térmica de polímeros (GUNISTER et al., 2007; LAVORGNA et al., 2010; WANG et al., 2005).

A argila pode ter duas funções opostas na estabilidade térmica dos nanocompósitos: um efeito de barreira o que deve melhorar a estabilidade térmica (PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008) ou então um efeito catalítico sobre a degradação da matriz de polímero, o que deve reduzir a sua resistência térmica (AMICO; MANFREDI; CYRAS, 2012).

As nanoargilas podem funcionar como isolante e barreira à transferência de massa para os produtos voláteis durante a decomposição, diminuindo a perda de massa (SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011). A decomposição térmica começa a partir da superfície dos nanocompósitos, conduzindo a um aumento do teor de MMT e a formação de uma "camada de proteção" pela

argila. Com a continuação da degradação, as lamelas de argila, impulsionadas por uma diminuição da energia livre superficial, migram gradualmente para a superfície e formam a barreira de proteção a perda de componentes voláteis (KUMAR et al., 2009; VYAZOVKIN et al., 2004). Esse comportamento está associado com a dispersão das argilas no polímero (AMICO; MANFREDI; CYRAS, 2012).

Por outro lado, as lamelas de argila podem acumular o calor e podem agir como catalisadores acelerando o processo de decomposição (AMICO; MANFREDI; CYRAS, 2012).

De acordo com Achilias, Siafaka e Nikolaidis (2012), análise de TGA mostrou que a degradação térmica da MMT sem a modificação orgânica é baixa mesmo a 500° C (menos que 3%) . Já as MMT organofílica iniciam a degradação térmica aproximadamente a 220° C até próximo de 380° C.

Amico, Manfredi e Cyras (2012) relataram que a adição de MMT organofílica (MMT15A) melhorou a estabilidade térmica de polihidroxibutirato (PHB). Por outro lado, MMT sem modificação (MMTNa) diminuiu a estabilidade térmica do polímero. MMT15A é mais hidrofóbica que a MMTNa e por isso, apresentou melhor dispersão no PHB resultando em propriedades térmicas melhoradas.

Wang et al. (2005), pela análise de TGA observaram que MMT retardou a perda de peso em nanocompósitos de quitosana principalmente em temperaturas acima de 400° C.

Martins, Cerqueira e Vicente (2012), em filmes de quitosana observaram três eventos térmicos, no entanto para as amostras com α -tocoferol um quarto evento relacionado a decomposição da estrutura aromática do α -tocoferol foi relatado.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) oferece mais informações a respeito da intercalação da argila. As interações entre polímero e nanopartícula quando estão intercalados diminui a mobilidade rotacional e translacional

aumentando a temperatura de transição vítrea (T_g), ou seja, precisa-se de mais energia para ocorrer a transição vítrea. O aumento considerável da T_g (quando ocorre interação entre fase orgânica e inorgânica) é uma propriedade importante dos nanocompósitos que permite a utilização destes materiais em temperaturas mais elevadas em comparação com o original, e, portanto estende seu domínio de aplicação (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

A T_g é uma transição termodinâmica e não é representada por um ponto nitidamente localizado. É definida como o centro de uma região em torno de 20° C ou mais, na qual a transformação ocorre. Abaixo da T_g , o material está em um estado vítreo que é caracterizado por um sólido rígido e quebradiço. Nos sistemas vítreos, a mobilidade ou difusão das moléculas é praticamente inexistente (CANEVAROLO JÚNIOR, 2003). Quando a temperatura aumenta através e acima da T_g , o material vítreo torna-se mole ou gomoso e demonstra uma considerável diminuição da viscosidade e um aumento da mobilidade. Na prática, os filmes desenvolvidos a serem utilizados como embalagens ativas devem estar em uma situação próxima, mas ligeiramente acima da temperatura de transição vítrea, pois abaixo desta, praticamente não haverá difusão. Daí a importância de se determinar a temperatura de transição vítrea dos filmes ativos antes da sua utilização.

Amico, Manfredi e Cyras (2012), para avaliar a influência da cristalinidade na estabilidade térmica de nanocompósitos de polyhidroxibutirato (PHB) com MMT (Na – sem modificação e 15A – com modificação) realizaram análise de DSC. Estes autores observaram que a cristalinidade reduziu ligeiramente com a MMT, provavelmente, pelo fato da argila estar presente na fase amorfa do polímero não afetando conseqüentemente o desenvolvimento de cristais na matriz polimérica. A T_g dos nanocompósitos foi ligeiramente maior com a adição dos MMT isso pelo fato da MMT diminuir o movimento das cadeias moleculares de PHB. Gunister et al. (2007) também relataram a T_g para nanocompósito de quitosana com MMT superior a T_g do filme apenas de

quitosana. Corroborando com estes resultados, Azeredo et al. (2010) observaram aumento na Tg de filmes de quitosana em função de nanofibras de celulose.

Por outro lado, Souza et al. (2012), em nanocompósitos de ácido polilático (PLA) com mica organofílica observaram redução na Tg em relação ao filme de apenas PLA por causa do efeito plastificante do intercalante utilizado para modificação da mica.

2.8 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas desejadas de um filme dependem de suas aplicações e subsequente transporte e manipulação de alimentos. A resistência mecânica é geralmente necessária para manter a integridade estrutural e propriedades de barreira das embalagens. No entanto, deformabilidade adequada também é desejada para facilitar o manuseio na maioria das aplicações (CHEN; LAI, 2008).

Existem vários tipos de testes mecânicos. Dentre eles, tem-se o teste de tração onde o filme é submetido a uma força vertical e é avaliado com relação a alguns parâmetros como, por exemplo, resistência à tração: que é a força suportada pelo filme antes de romper; módulo de elasticidade: que está diretamente relacionado com a rigidez do polímero e deformação que define o poder de escoamento das moléculas poliméricas durante o estiramento (CANEVAROLO JÚNIOR, 2002).

No Gráfico 1 é apresentada uma curva característica da relação força versus alongamento de filmes flexíveis submetidos ao teste de tração. Observa-se que inicialmente o material oferece resistência à solicitação de tração, deformando-se pouco (deformação elástica). A partir do ponto de escoamento, o material deforma-se com pouco ou nenhum aumento da força (deformação plástica). Continuando o alongamento, o material irá resistir até que ocorra sua ruptura (SARANTOPÓULOS, 2002).

Comportamento elástico é verificado quando se aplica uma força ao material e ocorre uma deformação que lhe é proporcional. Quando esta força é retirada, o corpo recupera a sua forma inicial. Já o comportamento plástico é aquele em que a deformação é irreversível, ou seja, a força aplicada remove os átomos para fora da posição de equilíbrio e os planos cristalinos se deslocam uns em relação aos outros (CALLISTER JÚNIOR, 2008; CANEVAROLO JÚNIOR, 2002).

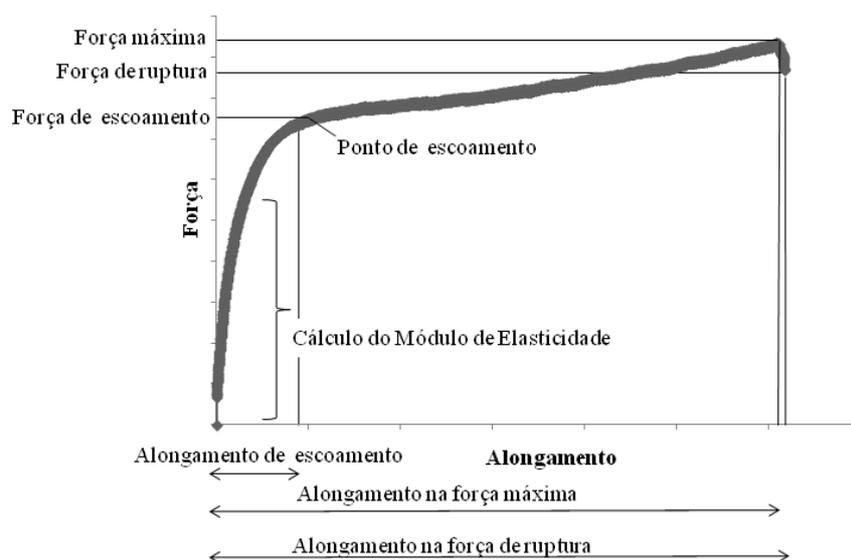


Gráfico 1 Curva característica do teste de tração de materiais poliméricos

Outro ensaio mecânico, é o teste de punctura que é realizado para determinar a resistência mecânica de filmes sob estresse acentuado. Uma sonda esférica é conectada a uma célula de carga que se move centralmente pela abertura da plataforma onde o filme está fixado. A partir deste teste mede-se a resistência à punctura e deformação que se referem a carga suportada pelo filme e a distancia que o filme alonga antes de romper respectivamente.

Com o objetivo de melhorar as propriedades dos polímeros biodegradáveis, vários autores vem aplicando a nanotecnologia no desenvolvimento de novos materiais. A ação do reforço de silicatos em camadas é semelhante ao reforço convencional. Cargas rígidas são naturalmente resistentes à deformação devido ao alto módulo. Portanto, uma matriz relativamente macia reforçada com carga torna-se altamente contida mecanicamente. Então quanto maior a superfície da carga (menor a escala) em contato com o polímero, maior será o efeito de reforço. As nanopartículas possuem razão de aspecto elevada e a área superficial exposta é muito maior aumentando significativamente o módulo do nanocompósito. A região do polímero que é fisicamente adsorvida na superfície do silicato é reforçada pela afinidade entre ambos (KUMAR et al., 2009; PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008).

Entretanto resultados opostos podem acontecer principalmente quando aglomeração das argilas é observada. Amico, Manfredi e Cyras (2012) observaram redução no valor de resistência de tração de filmes de poliidroxibutirato em função da adição de diferentes MMT.

Lavorgna et al. (2010) desenvolveram filmes de quitosana com e sem glicerol. Para os filmes sem glicerol, MMT não alterou significativamente a resistência à tração dos nanocompósitos. Por outro lado, os filmes contendo glicerol e argila apresentaram resistência à tração consideravelmente mais elevada do que os filmes sem MMT. A presença de glicerol permitiu uma melhor interação entre nanopartícula e matriz e, conseqüentemente, uma maior esfoliação das lamelas de argila ocorreu.

Azeredo et al. (2010) observaram que as respostas mecânicas (resistência a tração e módulo de elasticidade) de filme de quitosana foram favorecidos pelas concentrações elevadas de nanofibras de celulose e conteúdos baixos de glicerol. O aumento da resistência e módulo sugere a formação de um nanocompósito esfoliado com uma dispersão uniforme das fibras no interior da

matriz e interações de adesão favoráveis entre polímero e fibras.

Outra forma de reforçar as propriedades mecânicas é através da mistura de polímeros. Li et al. (2010) desenvolveram blendas de amido e quitosana e a resistência a tração destes filmes aumentou significativamente com o aumento da porcentagem de quitosana utilizada.

2.9 Propriedades de resistência à umidade

A taxa de transporte de vapor de água através de uma película de filme é composta pelas etapas de adsorção, difusão e dessorção. Primeiro as moléculas de água adsorvem em um lado do filme, movem-se dentro dos espaços vazios das moléculas do polímero e depois dessorvem a partir da superfície do polímero do outro lado do filme (SARANTOPÓULOS et al., 2002). Permeabilidade ao vapor de água (PVA) é considerada uma propriedade crucial para filmes destinados a serem utilizados como revestimentos de alimentos (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). Estrutura química, cristalinidade e umidade do ambiente são fatores relacionados à permeabilidade de filmes, sendo importante avaliar também estas propriedades (CHENGA et al., 2010).

A taxa de vapor de água através dos filmes difere, mas a PVA é uma constante, que deve ser independente da força motriz gradiente de pressão de vapor de água (a uma mesma temperatura). Isto não acontece com biopolímeros hidrofílicos, pois as moléculas de água interagem com os grupos polares da estrutura do filme causando plasticização ou inchaço. Permeabilidade de biopolímeros à base de materiais lipídicos também pode depender do gradiente de pressão de vapor de água, devido ao aglomeramento das moléculas de água na estrutura não polar do filme (GENNADIOS; WELLER; GOODING, 1994).

As nanopartículas melhoram as propriedades de barreira do polímero por aumentarem o caminho a ser percorrido pelo agente difusor (água, gás) em função

da tortuosidade imposta pela esfoliação das lamelas ao longo da matriz polimérica (KUMAR et al., 2009; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

Azeredo et al. (2010) observaram redução no valor de PVA para filmes de quitosana em função do uso de nanofibras de celulose. Aumento da propriedade de barreira ao vapor de água obtida pelo uso de nanopartículas foi relatada por outros autores: Fortunati et al. (2012) e Lavorgna et al. (2010).

Molhabilidade é um parâmetro que fornece informações sobre as propriedades da superfície dos filmes e pode ser determinada por meio da medição do ângulo de contato (BIALOPIOTROWICZ, 2003). O ângulo de contato com a água quantifica a hidrofobicidade medindo o quanto uma gota de água espalha sobre uma superfície (ESPITIA et al., 2012). Na ciência de superfície, o goniômetro é utilizado para medir o ângulo de contacto em que uma interface líquido-vapor encontra uma superfície sólida (HAMBLETON et al., 2009) que é o ângulo entre um plano tangente à gota e a superfície onde o líquido se encontra depositado.

A hidrofobicidade de um dado material é expressa também como a energia livre de interação entre dois entes físicos imersos na água. A energia livre de interação entre as moléculas pode ser atrativa ($\Delta G_{\text{hydroph}} < 0$) o que significa que as moléculas do sólido têm maior interação entre si do que pela água, apresentando características hidrofóbicas. Ou pode ser repulsiva ($\Delta G_{\text{hydroph}} > 0$) quando a superfície é considerada hidrofílica (ARAÚJO, 2010; ARAÚJO et al., 2009).

As medições de ângulo de contacto com líquidos diferentes (um polar e dois apolares) e com tensões superficiais conhecidas constituem a base para o cálculo do valor de energia de interação de superfície (ANDRADE, 2008) mas os resultados podem ser diferentes dependendo do método adotado (SHARMA; RAO, 2002). Aproximação de Van Oss já foi utilizada por outros autores (ARAÚJO et al., 2009; CAMILLOTO et al., 2010).

Outra maneira de avaliar a resistência dos filmes a umidade é através das isotermas de sorção que fornecem informações da capacidade do material absorver água em diferentes umidades relativas, o que é importante porque a água tem efeito plastificante (CHEN; KARIM; SEOW, 2008; SU et al., 2010). Acima de 75% de umidade relativa (UR), o material passa a absorver água com velocidade superior a absorção de água em atividades de água menores (ZHONG; SONG; LI, 2011).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Com a nanotecnologia, a embalagem do futuro será mais do que apenas um envoltório físico para proteger o alimento do ambiente circundante. O desenvolvimento de uma embalagem exige uma compreensão básica das interações moleculares dos constituintes e também da estrutura do material. O uso de diversas técnicas é importante para entender o comportamento dos nanocompósitos e também para gerar dados para estudos toxicológicos e legislações.

REFERÊNCIAS

ACHILIAS, D. S.; SIAFAKA, P.; NIKOLAIDIS, A. K. Polymerization kinetics and thermal properties of poly (alkylmethacrylate)/organomodified montmorillonite nanocomposites. **Polymer International**, London, v. 61, n. 10, p. 1510-1518, Oct. 2012.

AL-MALAIKA, S.; ISSENHUTH, S. The antioxidant role of α -tocopherol in polymers III: nature of transformation products during polyolefins extrusion. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 65, n. 1, p. 143-151, Apr. 1999.

ALMEIDA, A. S. **Obtenção e caracterização de nanocompósitos de poli(l-lactídeo) e nanopartículas de argila sódica, argilas organofílicas e óxidos de sílica**. 2010. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

AMICO, D. A. d'; MANFREDI, L. B.; CYRAS, V. P. Relationship between thermal properties, morphology, and crystallinity of nanocomposites based on polyhydroxybutyrate. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 123, n. 1, p. 200-208, 2012.

ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 400 p.

ARAÚJO, E. A. **Caracterização físico-química e ação antimicrobiana de nanopartículas de prata obtidas por uma nova síntese**. 2010. 110 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

ARAÚJO, E. A. et al. Hidrofobicidade de Ribotipos de *Bacillus Cereus* isolados de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 491-497, jul./set. 2009.

AVELLA, M. et al. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 3, p. 467-474, Dec. 2005.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2010.

BEVERLYA, R. L. et al. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 3, p. 534-537, May 2008.

BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 17, n. 2, p. 141-147, Mar. 2003.

CALLISTER JÚNIOR, W. D. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 817 p.

CAMILLOTO, G. P. et al. Effect of active packaging incorporated with triclosan on bacteria adhesion. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 8, p. 557-564, Oct. 2010.

CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um teste básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber, 2002. 282 p.

CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2003. 488 p.

CASTAN, S. et al. A fast, sensitive method for the simultaneous determination of α -tocopherol and α -tocopheryl acetate in mixed micelles. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 822, p. 339-346, 2005.

CHEN, C. H.; LAI, L. S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tso leaf gum films in the presence of plasticizer. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1584-1595, Dec. 2008.

CHENGA, W. et al. Impact of ultrasonic treatment on properties of starch film-forming dispersion and the resulting films. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 81, n. 3, p. 707-711, July 2010.

CISSÉ, M. et al. Influence of temperature and relative humidity on the immobilized lactoperoxidase system in a functional chitosan film. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 361-366, Aug. 2012.

CUSHEN, M. et al. Nanotechnologies in the food industry e recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 24, n. 1, p. 30-46, Mar. 2012.

DIAS, M. V. et al. Development of low-density polyethylene films with lemon aroma. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 50, n. 1, p. 167-171, Jan. 2013.

ESPITIA, P. J. et al. Bioactive peptides: synthesis, properties, and applications in the packaging and preservation of food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 11, n. 2, p. 187-204, 2012.

FORTUNATI, E. et al. Effects of modified cellulose nanocrystals on the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 90, n. 2, p. 948-956, Oct. 2012.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; GOODING, C. H. Measurement errors in water permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 21, n. 4, p. 395-409, 1994.

GRANDA-RESTREPO, D. M. et al. Migration of α -tocopherol from an active multilayer film into whole milk powder. **Food Research International**, Barking, v. 42, n. 10, p. 1396-1402, 2009.

GUNISTER, E. et al. Synthesis and characterization of chitosan-MMT biocomposite systems. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 67, n. 3, p. 358-365, Feb. 2007.

HAMBLETON, A. et al. Interface and aroma barrier properties of iota-carrageenan emulsion-based films used for encapsulation of active food compounds. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 93, n. 1, p. 80-88, July 2009.

IWASE, H. Determination of tocopherol acetate in emulsified nutritional supplements by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1/2, p. 243-249, June 2000.

JOHNSTON, C. T.; PREMACHANDRA, G. S. Polarized atr-ftir study of smectite in aqueous suspension. **Langmuir**, Washington, v. 17, n. 12, p. 3712-3718, 2001.

KUMAR, A. P. et al. Nanoscale particles for polymer degradation and stabilization-trends and future perspectives. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 34, n. 6, p. 479-515, June 2009.

LAVORGNA, M. et al. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 291-298, Sept. 2010.

LEMAY, M. J. et al. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 78, n. 3, p. 217-226, Oct. 2002.

LI, Y. et al. Preparation and functional properties of blend films of gliadins and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 2, p. 484-490, June 2010.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C. **Caracterização de polímeros**: determinação de peso molecular e análise térmica. Rio de Janeiro: E-Papers, 2001. 366 p.

MANZANAREZ-LÓPEZ, F. et al. Release of α -Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 104, n. 4, p. 508-517, June 2011.

MARTIN, O.; AVEROUS, L. Poly(lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. **Polymer**, Oxford, v. 42, n. 14, p. 6209-6219, June 2001.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P. et al. Chitosan composite films: thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 305-315, Sept. 2010.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 220-227, May 2012.

MITSUMOTO, M. et al. Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. **Meat Science**, Barking, v. 69, n. 4, p. 773-779, Apr. 2005.

OLIVEIRA, T. L. C. et al. Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 144, n. 3, p. 546-555, Jan. 2011.

OUCHIKH, O. et al. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 24, n. 1, p. 103-110, Feb. 2011.

PARK, S. I.; ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 7, p. 1933-1939, Apr. 2004.

PAVLIDOU, S.; PAPASPYRIDES, C. D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 33, n. 12, p. 1119-1198, Dec. 2008.

PELISSARI, F. M. et al. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch-chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 108, n. 2, p. 262-267, Jan. 2012.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, Jan. 2012.

PERSICO, P. et al. Nanocomposite polymer films containing carvacrol for antimicrobial active packaging. **Polymer Engineering and Science**, Stanford, v. 49, n. 7, p. 1447-1455, 2009.

QUIÑONES, J. P. et al. Self-assembled nanoparticles of modified-chitosan conjugates for the sustained release of DL- α -tocopherol. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 92, n. 1, p. 856-864, Jan. 2010.

RESTUCCIA, D. et al. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. **Food Control**, Guildford, v. 21, n. 11, p. 1425-1435, Nov. 2010.

RUPEREZ, F. J. et al. Chromatographic analysis of a-tocopherol and related compounds in various matrices. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 935, n. 1/2, p. 45-69, Nov. 2001.

RYYNANEN, M. et al. A small-scale sample preparation method with HPLC analysis for determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, n. 6, p. 749-765, Dec. 2004.

SANCHEZ-GARCIA, M. D. et al. Novel polycaprolactone nanocomposites containing thymol of interest in antimicrobial film and coating applications. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, London, v. 24, n. 3/4, p. 239-251, 2008.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 277-283, Sept. 2010.

SANTIAGO-SILVA, P. et al. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA 2351) on preservation of sliced ham. **Food Control**, Guildford, v. 20, n. 1, p. 85-89, Jan. 2009.

SANTOS, C. A. N. S. **Propriedades de filmes de quitosano:** influência do grau de acetilação e da massa molecular do biopolímero. 2006. 126 p. Dissertação (Mestrado em Química e Qualidade dos Alimentos) - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2006.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens polímeros. **Ciência e Tecnologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SARANTOPÓULOS, C. I. G. L. et al. **Embalagens plásticas flexíveis:** principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267 p.

SHARMA, P. K.; RAO, K. H. Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 98, n. 3, p. 341-463, Aug. 2002.

SILVESTRE, C.; DURACCIO, D.; CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 36, n. 12, p. 1766-1782, Dec. 2011.

SIMON, P.; CHAUDHRY, Q.; BAKOŠ, D. Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food: a physicochemical view. **Journal of Food and Nutrition Research**, San Diego, v. 47, n. 3, p. 105-113, 2008.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 18, n. 2, p. 84-95, Feb. 2007.

SOTHORNVIT, R. et al. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 2, p. 279-284, Mar. 2010.

SOUZA, D. H. S. et al. Structural evaluation and thermal properties of poly (lactic acid) and different synthetic micas nanocomposites. **Polymer Composites**, Brookfiel, v. 33, n. 4, p. 555-561, 2012.

STECKEL, H.; MINDERMANN-NOGLY, F. Production of chitosan pellets by extrusion/spheronization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, London, v. 57, n. 1, p. 107-114, Jan. 2004.

SU, J. F. et al. Moisture sorption and water vapor permeability of soy protein isolate/poly(vinyl alcohol)/glycerol blend films. **Industrial Crops and Products**, London, v. 31, n. 2, p. 266-276, Mar. 2010.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly(vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 79, n. 3, p. 711-716, Feb. 2010.

TUNÇ, S.; DUMAN, O. Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 414-424, Apr. 2010.

VAIO, C. D. et al. Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 126, n. 1, p. 50-55, Aug. 2010.

VARTIAINEN, J. et al. Antimicrobial and barrier properties of LDPE films containing imazalil and EDTA. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, New York, v. 19, n. 4, p. 249-261, Oct. 2003.

VYAZOVKIN, S. et al. Degradation and relaxation kinetics of polystyrene clay nanocomposite prepared by surface initiated polymerization. **Journal Physical Chemistry B**, London, v. 108, n. 31, p. 11672-11679, 2004.

WANG, S. F. et al. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 90, n. 1, p. 123-131, Oct. 2005.

WOLF, B. Polysaccharide functionality through extrusion processing. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, New York, v. 15, n. 1/2, p. 50-54, Apr. 2010.

ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, n. 1, p. 335-342, Feb. 2011.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS FUNCIONAIS DE QUITOSANA COM MONTMORILONITA E A-TOCOFEROL ENCAPSULADO

Artigo redigido conforme norma da revista Food Hydrocolloids “Versão Preliminar”

Resumo

Visando o desenvolvimento de embalagens ativas, nanocompósitos funcionais de quitosana (QUI) foram preparados com base em um planejamento fatorial completo variando o nível de montmorilonita sódica (MMTNa) e tocoferol encapsulado (toc-encap). As propriedades estruturais (DRX, FTIR), morfológicas (TEM), higroscópicas (permeabilidade ao vapor de água, hidrofobicidade, isothermas de sorção) e ópticas (haze, parâmetros de cor L, a, b) foram avaliadas. A QUI e o uso de toc-encap até 10% auxiliou na intercalação da MMTNa resultando em filmes com permeabilidade ao vapor de água reduzida, superfície mais hidrofóbica, e menor UE (umidade no equilíbrio). Acima dessa concentração houve aglomeração do toc-encap resultando em filmes com propriedades inferiores. Os filmes ficaram levemente mais amarelos com o aumento de toc-encap e também menos transparentes e mais irregulares (maior índice haze).

Palavras-chave: resistência a umidade, propriedade estrutural, propriedade morfológica.

1. INTRODUÇÃO

A quitosana é o segundo polissacarídeo mais abundante encontrado na natureza e apresenta características não tóxica, biodegradáveis, antimicrobiana e propriedade de formar filmes (LECETA; GUERRERO; CABA, 2012). Ela está disponível comercialmente a partir de uma fonte renovável, isto é, os resíduos da indústria de alimentos do mar (camarões e conchas de caranguejo) (BANGYEKAN; AHT-ONG; SRIKULKIT, 2006; ENNAJIH et al., 2012; PARK; ZHAO, 2004; PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012).

A introdução de partículas em escala nanométrica tem permitido melhorar as propriedades mecânicas e de barreiras em diferentes matrizes biopoliméricas (LAVORGNA et al., 2010; WANG et al., 2005) e destaca-se o amplo uso da argila montmorilonita (MMT) (SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

A argila é um tipo de material de silicato natural com uma estrutura em camadas e oferece várias possibilidades de aplicação como, por exemplo, adsorventes, filtros, catalisadores, agentes de carga para polímero nanocompósitos, materiais encapsulantes para as substâncias funcionais, moléculas e organismos vivos (ENNAJIH et al., 2012; SOTHORNVIT et al., 2010).

As camadas de silicato têm a tendência de se organizarem formando pilhas unidas por forças Van der Waals. Para obter polímeros com características melhoradas a partir do uso de MMT é necessário romper esta força de atração existente entre as camadas permitindo, assim, a entrada do polímero na estrutura da argila. Consequentemente, a distância entre as camadas irá aumentar e uma estrutura intercalada ou esfoliada será formada. Intercalação apresenta uma

distância inferior a 20-30 Å de separação entre as plaquetas. Por outro lado, as estruturas esfoliadas ou delaminadas são obtidas quando as camadas da argila são bem separadas umas das outras e individualmente dispersas na matriz do polímero. Neste caso, o polímero separa as plaquetas de argila por 80-100 Å ou mais. A esfoliação ou delaminação é de interesse uma vez que maximiza as interações polímero-argila o que resulta em mudanças mais significativas nas propriedades físicas (PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008).

Há grande possibilidade de que as camadas de argila sejam intercaladas pelas moléculas de quitosana por ser um polímero policatiônico e pelas camadas de silicato serem carregadas negativamente podendo ocorrer interações polares entre eles (ENNAJIH et al., 2012; LAVORGNA et al., 2010; PANDEY; MISHRA, 2011).

A vitamina E (á - tocoferol) é um antioxidante importante, que pode ajudar a reduzir o risco de doenças cardiovasculares, e é reconhecido geralmente como uma substância segura (GRAS). O á-tocoferol é a forma mais abundante e biologicamente ativa da vitamina E e é largamente utilizado nas indústrias de alimentos, de cosméticos e farmacêutica (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012). No entanto, as suas aplicações são limitadas, devido à sua natureza altamente hidrofóbica e sensibilidade ao oxigênio, calor e luz (LIANG; TREMBLAY-HÉBERT; SUBIRADE, 2011).

O encapsulamento de componentes ativos como o tocoferol na embalagem, pode ser uma alternativa para preservar as funções, controlar a difusão e também garantir a eficácia da embalagem como fonte de vitamina para os consumidores (MALHEIROS et al., 2010), tendo desta forma uma embalagem funcional com a função de enriquecer os alimentos embalados.

Diante do exposto objetivou-se com este trabalho desenvolver filmes funcionais, avaliar as propriedades morfológicas (microscopia eletrônica de transmissão), estruturais (difração de raio x, espectroscopia na região do

infravermelho), resistência ao vapor de água (permeabilidade, hidrofobicidade da superfície, sorção de umidade) e ópticas dos nanocompósitos de quitosana/MMTNa e α -tocoferol encapsulado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A quitosana (QUI) utilizada neste trabalho foi adquirida da Polymar Ciência e Nutrição S/A (Fortaleza, Brasil), a qual possui peso molecular elevado (PM = 71,3 kDa) e um grau de desacetilação de 85,9 %. Ácido acético glacial foi obtido pela Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil) e usado como solvente para a QUI. DL- α -tocoferol-acetato encapsulado (toc-encap) foi fornecido pela DSM Nutritional Products Ltda (São Paulo, Brasil). Toc-encap apresenta uma composição de 50% de DL-alfa-tocoferol, 24,5% de maltodextrina, 24,5% amido e 10% de dióxido de silício. A argila utilizada foi uma montmorilonita natural sódica (MMTNa) fornecida pela Southern Clay Products, Inc., (Texas, EUA).

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um planejamento fatorial completo com os seguintes fatores: nível de MMTNa e nível de toc-encap de acordo com a Tabela 1. O experimento foi conduzido usando um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

Tabela 1 Filmes desenvolvidos

Filmes	MMTNa ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	Toc –encap ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)
1	0	0
2	1	0
3	0	5
4	0	10

5	0	20
6	1	5
7	1	10
8	1	20

2.3 Preparação dos filmes

Filmes a base de QUI foram preparados de acordo com Zhong, Song e Li (2011), com algumas modificações. Solução filmogênica de QUI foi preparada dissolvendo 2,0 g de QUI em 100 mL de solução de ácido acético 0,5 % (v/v). A mistura de ácido acético e QUI foi deixada em repouso durante duas horas para a hidratação do polissacarídeo. Para a completa dissolução, esta solução foi deixada durante 6 h sob agitação (1000 rpm), utilizando um agitador magnético, à temperatura ambiente (24° C). A solução filmogênica foi filtrada com a ajuda de papel de filtro e uma bomba de vácuo para remoção da QUI não solubilizada. O pH da solução filmogênica foi ajustado para 4,9 com ácido acético, a fim de evitar qualquer alteração estrutural da MMTNa e proporcionar grupos aminos protonados ($-NH_3^+$) na estrutura da QUI (PANDEY; MISHRA, 2011). Esta solução filmogênica foi utilizada para o desenvolvimento de todos os filmes.

A concentração da MMTNa (1,0% p/p MMTNa/QUI) foi escolhida com base em experimentos preliminares (dados não apresentados). O filme 2 (QUI + 1% de MMTNa) foi preparado por aquecimento da solução filmogênica a 40° C e subsequente adição da argila. A solução filmogênica foi agitada durante 30 minutos, utilizando um agitador magnético a 40 °C e posteriormente submetida a agitador ultrassônico durante 36 minutos com potencia de 80 W. A temperatura de transição vítrea da QUI é de 40 °C (SANTOS et al., 2003). Nesta temperatura, as cadeias poliméricas apresentaram maior movimentação facilitando a incorporação de MMTNa nas moléculas de quitosana.

Concentrações de 5, 10 e 20% de toc-encap foram adicionadas na

solução filmogênica e as misturas foram agitadas durante 30 minutos, utilizando um agitador magnético, à temperatura ambiente. Essas suspensões foram homogeneizadas com um homogeneizador Ultra-Turrax (T 25, Ika-Werke, Alemanha) em 5 ciclos, cada um com duração de 2 min a 15.000 rpm. Finalmente, as soluções foram submetidas ao ultrassom nas condições citadas anteriormente. Desta forma foram obtidos os filmes 3, 4 e 5 (Tabela 1).

Para os filmes 6, 7 e 8 primeiro foram preparadas as mistura de toc-encap (5, 10 ou 20% p /p toc-encap /QUI) e MMTNa (1,0% p / p MMTNa/ QUI). Estas misturas foram agitadas durante 30 minutos, utilizando um agitador magnético, à temperatura ambiente e então submetidas ao ultrassom por 45 min a 80 W para facilitar a intercalação das moléculas de toc-encap nas lamelas da argila. Subsequentemente as soluções de toc-encap com MMTNa e solução filmogênica de QUI foram aquecidas a 40 °C separadamente e então misturadas. A homogeneização em agitador magnético, Ultra-Turrax e agitador ultrassônico foram realizadas nas mesmas condições citadas anteriormente.

Para obtenção dos filmes, 145 mL de cada solução foi colocada sobre placas de vidro de 608 cm² mantidas a 25° C durante 24 h. Em seguida foram armazenados a 20° C e 54 % de umidade relativa (UR) em um dessecador contendo solução saturada de nitrato de magnésio até a realização das análises.

2.4 Difração de raios x (DRX)

Análises foram realizadas em um difratômetro Philips modelo PW1840 usando como fonte de irradiação o cobalto (CoK α , λ = 1.725 Å) operando a 35 kV e 25 mA. Os dados foram registrados ao longo de um intervalo 2 θ de 2 - 35 ° com um intervalo de passo de 0,02 °. As curvas foram tratadas com o software Origin 8.0. O espaçamento basal nos compósitos foi calculado pela equação de Bragg:

$$\text{sen } \theta = \lambda / 2 d$$

onde λ corresponde ao comprimento de onda do elemento utilizado para gerar a

radiação no equipamento, d é a distancia que se deseja calcular entre as lamelas da argila, θ é o ângulo onde se detecta o pico no difratograma.

2.5 Microscopia eletrônica de transmissão

A morfologia das partículas na solução filmogênica contendo toc-encap foi observada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Zeiss EM 109) com uma voltagem de aceleração de 80 kV. Uma gota da solução filmogênica foi colocada em uma grade de cobre (400 mesh) e o excesso do líquido foi removido com papel de filtro. A grade foi seca ao ar e contrastada em acetato de uranila (2%) (AZEREDO et al., 2010).

A partir dos resultados das soluções filmogênicas, selecionou-se um filme com uma concentração de toc-encap com MMTNa para visualização das argilas.

A dispersão das argilas dos nanocompósitos selecionados foi visualizada por MET (Tecnai G2-12 - Spiritbiotwin Fei) a uma voltagem de aceleração de 120 kV. Filmes de 1 mm de largura foram colocados em *ependorfs* e foram infiltrados gradualmente a 24° C utilizando gradiente de resina Spurr /etanol (30% de resina, durante 8 horas, 70% de resina por 12 horas e três vezes de 100% de resina por 24 horas cada uma). Após a infiltração os filmes foram montados no molde e curados em estufa a 65 ° C durante 24 horas.

Cortes transversais com a espessura de 60 nm foram obtidos utilizando um ultramicrotomo com uma lâmina de diamante e colocados diretamente sobre as grades de cobre.

2.6 Espectroscopia na região do infravermelho

Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada para determinar as características da matriz polimérica, bem como as alterações de interação intermoleculares dos nanocompósitos (ZHONG; SONG; LI, 2011). Quando os compostos são misturados, interações químicas e ligações físicas refletem mudanças nos picos espectrais (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012).

FTIR dos filmes foram medidas em espectrofotômetro equipado com um detector KBr-DTGS e um divisor de feixe KBr (FTIR-Thermo Scientific Nicolet 6700, USA). Amostras de cada filme foram utilizadas para a realização de 56 varreduras na faixa média do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}), com resolução espectral de 4 cm^{-1} para obtenção dos espectros.

2.7 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada de acordo com American Society Standard Testing and Materials - ASTM (2000b), método de E96, com algumas modificações. O filme foi selado em uma célula de permeação contendo cloreto de cálcio anidro. A célula de permeação foi então colocada em uma câmara de umidade com temperatura controlada mantida a 75% de umidade relativa (UR) e $23 \pm 2^\circ \text{C}$ para manter um gradiente de 75% de UR através da película. Uma vez que a UR do interior da célula foi sempre menor do que o lado de fora, o transporte de vapor de água foi determinado com base na quantidade de massa de vapor de água absorvida pela célula de permeação. As amostras foram pesadas até um peso constante ser atingido e os valores de ganho de peso foram representados como uma função do tempo. A inclinação de cada linha foi calculada por regressão linear ($R^2 > 0,9$), e a taxa de transmissão de vapor de água (TTVA, g/h/m^2) foi calculada a partir da inclinação da reta dividida pela área do filme exposta (m^2). A PVA ($\text{g} /$

(m·s·Pa)) do filme foi calculada como se segue:a equação:

$$PVA = \frac{Q \cdot PVA \cdot x}{\Delta P}$$

em que x é a espessura dos filmes, e ΔP representa a diferença de pressão de vapor entre as faces do filme:

$\Delta P = S \cdot (R_1 - R_2)$: S é a pressão de vapor saturado na temperatura do teste (2809 kPa), R_1 é a UR do lado externo da cápsula (75%) e R_2 é a UR dentro da cápsula que continha cloreto de cálcio (0%).

2.8 Hidrofobicidade da superfície

A hidrofobicidade da superfície dos filmes foi determinada por meio da técnica de ângulo de contacto, em goniômetro (Krüss®, Alemanha) equipado com um software de análise de imagem. Gotas (2 µL) de água mili-Q, formamida (Sigma Aldrich - São Paulo, Brasil) e α -bromonaftaleno (Sigma Aldrich - São Paulo, Brasil) foram depositadas no filme e as medições de ângulo de contacto (°) foram realizados.

Para interpretar a energia livre de superfície em relação às forças de interação intermolecular na interface e para determinar a energia livre de hidrofobicidade ($\Delta G_{\text{Hydroph}}$), vários autores já utilizaram a aproximação Van Oss, a qual é também conhecida como Lifshitz-van der Waals / aproximação ácido-base (ARAÚJO et al., 2009; BIALOPIOTROWICZ, 2003; CAMILLOTO et al., 2010). De acordo com esta abordagem, a equação de Young deve ser determinada pelo ângulo de contacto (θ) medido com pelo menos três líquidos diferentes (dois dos quais devem ser polares). Esta equação relaciona o ângulo de contato formado pelo líquido sobre uma superfície sólida:

$$(1 + \cos \theta) \gamma_1 = 2(\sqrt{\gamma_s^{LW} \gamma_l^{LW}} + \sqrt{\gamma_s^+ \gamma_l^-} + \sqrt{\gamma_s^- \gamma_l^+})$$

Onde γ_1 é a tensão superficial do líquido; γ^{LW} é a componente apolar, ou

Lifshitz-van der Waals (que compreende as contribuições de dispersão, de indução e também de orientação para as interações de Van der Waals com a superfície (γ_s) ou líquido (γ_l)); γ^+ é o parâmetro acceptor de elétrons do componente polar da tensão superficial e γ^- é o parâmetro doador de elétrons do componente polar da tensão superficial (s) ou líquido (l) (ARAÚJO, 2010; ARAÚJO et al., 2009).

A clara subdivisão entre interações apolar (ou componente Lifshitz-van der Waals, LW) e polar (ou componente ácido-base de Lewis, AB), também tornou possível chegar à uma definição quantitativa de interações hidrofóbicas que é também referido como interação interfacial total (SHARMA; RAO, 2002).

A energia livre de interação hidrofóbica (ΔG_{Hydrop}) é de acordo com Oss (1995):

$$\Delta G_{Hydrop} = \Delta G_{sws}^{LW} + \Delta G_{sws}^{AB}$$

Em que ΔG_{sws}^{LW} é a energia de interação adesiva apolar (Lifshitz-Van der Waals) entre superfície e água:

$$\Delta G_{sws}^{LW} = -2 \left(\sqrt{\gamma_s^{LW}} - \sqrt{\gamma_w^{LW}} \right)^2$$

e ΔG_{sws}^{AB} é a energia de interação coesiva polar entre os elétrons aceptores e elétrons doadores da superfície ($\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_s^-}$); a energia de interação coesiva polar entre os elétrons aceptores e elétrons doadores das moléculas de água ($\sqrt{\gamma_w^+ \gamma_w^-}$); a energia de interação adesiva polar entre os elétrons aceptores da superfície e os elétrons doadores das moléculas da água ($\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_w^-}$); a energia de interação adesiva polar entre os elétrons doadores da superfície e elétrons aceptores das moléculas de água ($\sqrt{\gamma_w^+ \gamma_s^-}$):

$$\Delta G_{sws}^{AB} = -4 \left(\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_s^-} + \sqrt{\gamma_w^+ \gamma_w^-} - \sqrt{\gamma_s^+ \gamma_w^-} - \sqrt{\gamma_w^+ \gamma_s^-} \right)$$

2.9 Sorção de umidade

De acordo com Zhong, Song e Li (2011), teor de água nos filmes de QUI aumenta em função do aumento da atividade de água. Além disso, os aumentos são lentos em atividades de água baixa e aumentam notavelmente em atividades de água acima de 0,75. Considerando isto, a sorção de umidade foi determinada de acordo com o método descrito por Pereda, Amica e Marcovich (2012). Os filmes (1,8 x 1.8 cm) foram secos a 40° C durante três dias (50 ± 5 mm Hg) em uma estufa à vácuo. Depois, os filmes secos foram colocados no interior de um dessecador com 75% de UR e mantidos a 23 ± 1° C. As amostras foram pesadas com uma precisão de ± 0,0001 g a intervalos de tempo regulares. As curvas foram ajustadas de acordo com a equação de Fick para difusão unidimensional de um soluto em uma chapa plana (CRANK, 1975):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[- \left(\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D t}{\delta^2} \right) \right]$$

em que M_t é o teor de umidade dos filmes em função do tempo, M_∞ é o teor de água absorvida no equilíbrio, D é o coeficiente de difusão efetivo, t é o tempo e δ é a espessura média do filme. Esta equação é válida apenas no caso específico do transporte de massa através de uma chapa plana com condições de contorno constantes e a distribuição de umidade inicial uniforme, em que os efeitos de borda podem ser desconsiderados. Conteúdo de umidade no equilíbrio (UE) dos filmes condicionados a 75% UR também foi calculado.

2.10 Propriedades ópticas

A cor dos filmes foi medida usando um colorímetro Color Quest XE (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA) e sistema CIELab com uma fonte de luz D65, ângulo observador de 10° e modo reflectância. Os

seguintes parâmetros foram medidos: índice haze, luminosidade (L^*), intensidade da cor amarela/azul (b^*) e índice de saturação ($c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) dos filmes.

A transparência dos filmes foi determinada medindo a porcentagem de transmitância (%T) a 600 nm usando um espectrofotômetro (GBC UV/VIS 918, Shimadzu, Japão) de acordo com Sothornvit et al. (2010). A transparência (T_{600}) foi calculada usando a seguinte equação:

$$T_{600} = \frac{\log \%T}{\delta}$$

em que δ é a espessura do filme (mm).

2.11 Análise dos resultados

Os dados do teste de PVA, UE, D, $\Delta G_{\text{hydroph}}$ e propriedades ópticas dos filmes foram analisados pelo software Sisvar® (FERREIRA, 2000). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos gerados para representar as respostas foram avaliados em termos dos valores de F e coeficiente R^2 .

Os dados de FTIR, DRX e MET foram submetidos à análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os filmes ficaram translúcidos, flexíveis, homogêneos, e, aparentemente, sem poros ou fissuras. Os filmes 5 e 8 ficaram quebradiços.

3.1 Difração de raios x (DRX)

O filme de QUI (Filme 1) não apresentou picos cristalinos, indicando a formação de uma estrutura amorfa (Figura, 1). Ausência de cristalinidade no filme de QUI é atribuída a presença de resíduo do solvente ácido acético, o que

pode dificultar a formação de ligações hidrogênio inter e intramolecular em QUI resultando em estrutura menos organizada (WANG et al., 2005). De acordo com Wang et al. (2005), os filmes secos de QUI ainda apresentam uma pequena quantidade de ácido acético na forma de acetato de quitosana. Lavorgna et al. (2010) encontraram para filmes de QUI picos característicos de cristalinidade e também um pico largo correspondente à estrutura amorfa. A estrutura cristalina de QUI é fortemente dependente do seu tratamento, processamento, bem como sua origem e constituição molecular, tais como grau de desacetilação e peso molecular (SRINIVASA; RAMESH; THARANATHAN, 2007).

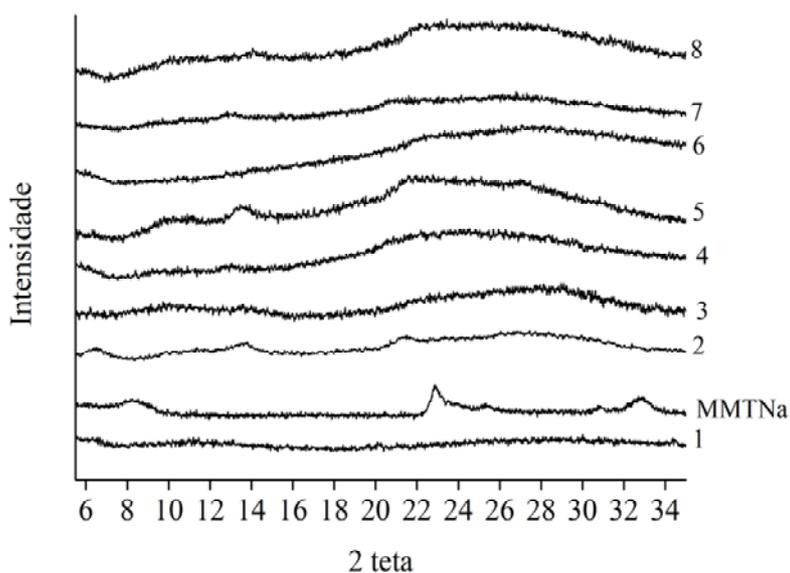


Figura 1 DRX de nanocompósitos de quitosana e da montmorilonita (MMTNa): 1: filme de QUI; 2: QUI + MMTNa; 3: QUI + 5% de toc-encap; 4: QUI + 10% de toc-encap; 5: QUI + 20% de toc-encap; 6: QUI + 5% de toc-encap + MMTNa; 7: QUI + 10% de toc-encap + MMTNa; 8: QUI + 20% de toc-encap + MMTNa

O difratograma da argila MMTNa mostrou um pico de difração característico em aproximadamente $2\theta = 8.09^\circ$ e $22,85^\circ$, correspondente ao

espaçamento entre as plaquetas de silicato de cerca de $d = 12,68$ e $4,51$ Å, respectivamente.

A estrutura da QUI foi alterada pela adição da argila MMTNa e toc-encap. A QUI é susceptível a modificações estruturais, devido à grande quantidade de grupos reativos tais como grupos hidroxila e amino (SANTOS et al., 2003).

Após a incorporação de MMTNa na QUI (Filme 2) os picos de difração deslocam-se para $6,35$ e $21,37^\circ$ (isto é, o espaçamento d igual a $16,15$ e $4,82$ Å) que corresponde a uma expansão das lamelas da argila. Isto mostra que as macromoléculas de QUI são capazes de intercalar as lamelas de MMTNa. O uso de MMTNa em QUI, fez surgir uma outra região cristalina, em torno de $2\theta = 13,67^\circ$ (espaçamento $d = 7,52$ Å). O filme 2 pode ter resultado em uma estrutura floculada que pode ser atribuída às interações borda-borda através de ligação de hidrogênio entre as hidroxilas presentes nas bordas das camadas de silicato (LAVORGNA et al., 2010). O movimento da reflexão basal de MMTNa para ângulos inferiores indica a formação de uma nanoestrutura intercalada, enquanto que o alargamento do pico indica uma estrutura desordenada intercalada ou esfoliada (WANG et al., 2005). No entanto, para dar conclusões definitivas sobre a estrutura do nanocompósitos apenas com análise MET.

O Filme 3 (com 5% de toc-encap) apresentou estrutura amorfa. O filme 4 (10% de toco-encap) apresentou pico em torno de $20,6^\circ$ e o filme 5 apresentou-se mais cristalino em função da alta concentração de toc-encap com picos em $13,27^\circ$, $9,73^\circ$ e um pico mais amplo em $21,43^\circ$. Isso indica que o amido utilizado para o encapsulamento do tocoferol alterou a estrutura dos filmes deixando-as mais organizadas com regiões cristalinas. De acordo com outros autores o amido apresenta estrutura cristalina em torno de 15 , 17 e 23° . E a maltodextrina caracteriza-se por uma estrutura amorfa (BAI; SHI, 2011; WALISZEWSKI et al., 2003).

O filme 6 (com 5% de toc-encap + 1% de MMTNa) apresentou apenas um amplo pico em $21,78^\circ$ com espaçamento $d = 4,74 \text{ \AA}$. Isso pode ser indicativo da esfoliação da MMTNa, baixa concentração de MMT ou então boa interação entre MMTNa e toc-encap. De acordo com Tunç e Duman (2010), a MMTNa possui características hidrofílicas e apresenta facilidade para se dispersar em água. Na produção destes filmes, a MMTNa foi tratada com agitador ultrassônico juntamente com toc-encap e água. Este tratamento pode ter melhorado a dispersão das argilas.

O filme 7 (10% toc-encap + 1% MMTNa) apresentou pico em $12,83^\circ$ e $20,63^\circ$ com espaçamento d igual a $8,00$ e $5,00 \text{ \AA}$ respectivamente sendo estes valores superiores aos do filme 2.

O filme 8 (20% toc-encap + 1% MMTNa) apresenta amplo pico em $21,77^\circ$ (espaçamento $d = 4,74 \text{ \AA}$) e um amplo pico de $9,51^\circ$ a $13,67^\circ$. Este filme com mesma quantidade de toc-encap do filme 5 (20% toc-encap) mas com MMTNa, apresenta picos mais amplos indicando que MMTNa e toc-encap apresentam boa interação. Segundo Zhong, Song e Li (2011), a existência de um largo pico amorfo indica que as interações intermoleculares entre os componentes limita os movimentos das cadeias do polímero impedindo o processo de cristalização.

Na presença de toc-encap, a MMTNa se liga ao amido promovendo o aumento da distância interlamelar. Isto facilita a intercalação da argila resultando em distância interlamelares maiores.

3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Estudos de MET são necessários para confirmar o grau de intercalação e esfoliação da argila alcançado. Micrografias eletrônicas de transmissão a, b e c (Figura, 2) são as soluções filmogênicas dos filmes 3, 4 e 5 respectivamente aumentadas 12000x. Verificam-se as partículas de toc-encap dispersas na

solução filmogênica. Observa-se que a solução com 20% de toc-encap (Figura, 2c) apresentou aglomeração e que com 10 % o tamanho das partículas de toc-encap foram menores (Figura, 2b), resultando em um filme mais homogêneo e com prováveis melhores propriedades. A solução filmogênica com 5 % de toc-encap apresentou partículas bem distribuídas, entretanto grandes (Figura, 2a).

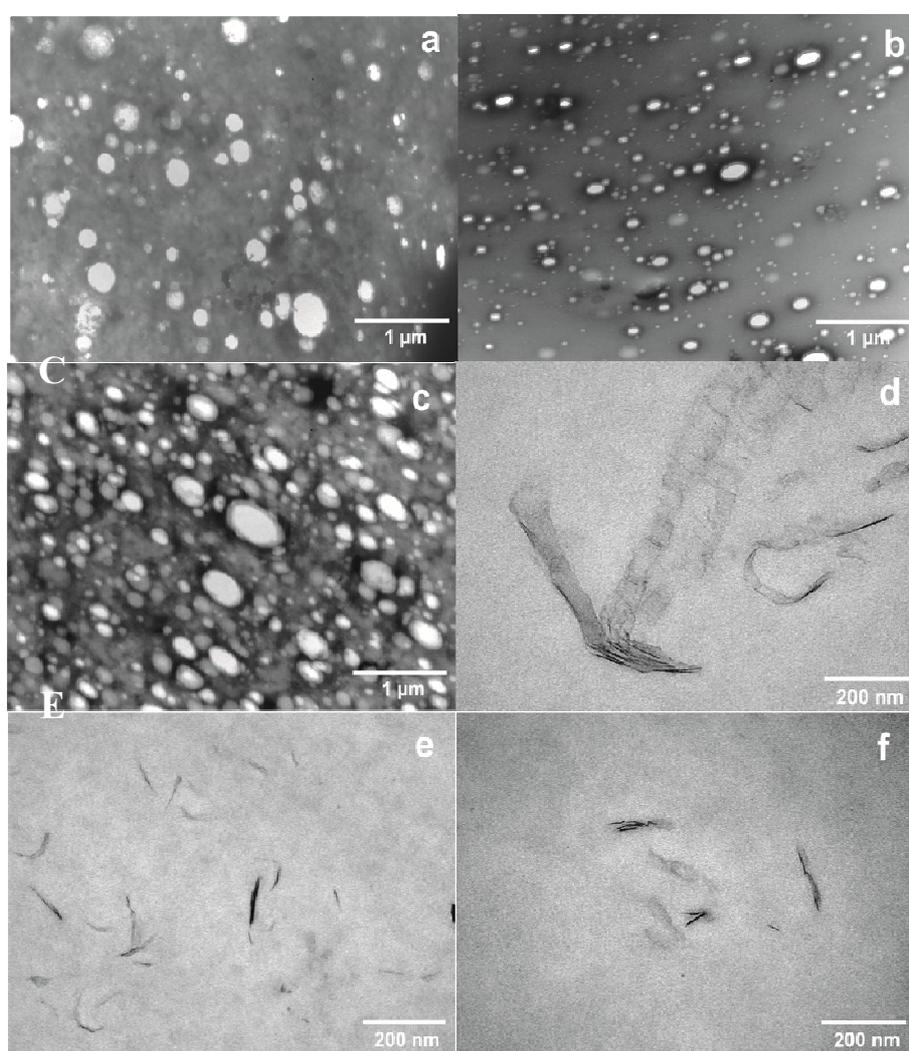


Figura 2 Micrografias eletrônicas de transmissão das soluções filmogênicas e de nanocompósitos de quitosana: Solução filmogênicas com 5% de toc-encap (a), com 10% de toc-encap (b) e 20% de toc- encap (c). Filmes 2: QUI + MMTNa - (d); e 7: QUI + 10% toc-encap + MMTNa - (e, f)

Pelas micrografias eletrônicas de transmissão observa-se algumas estruturas esfoliadas e intercaladas no filme 2 (Figura, 2 d aumento de 98000x). No Filme 7 (10% de toc-encap + 1% de MMTNa) encontra-se essencialmente estruturas esfoliada e poucas estruturas intercaladas (Figura, 2e e 2f com aumento de 49000x e 98000x respectivamente).

Em nanocompósitos, uma estrutura esfoliada é preferível a uma estrutura intercalada (TUNÇ; DUMAN, 2010). Quando é feita uma comparação entre os filmes 2 e 7, o último preparado com toc-encap mostra uma percentagem mais elevada de estruturas esfoliadas. Esta observação é consistente com o resultado da análise de DRX.

3.3 Espectroscopia na região do infravermelho

A Figura 3 mostra os espectros de FTIR dos filmes de QUI contendo tocoferol e MMTNa.

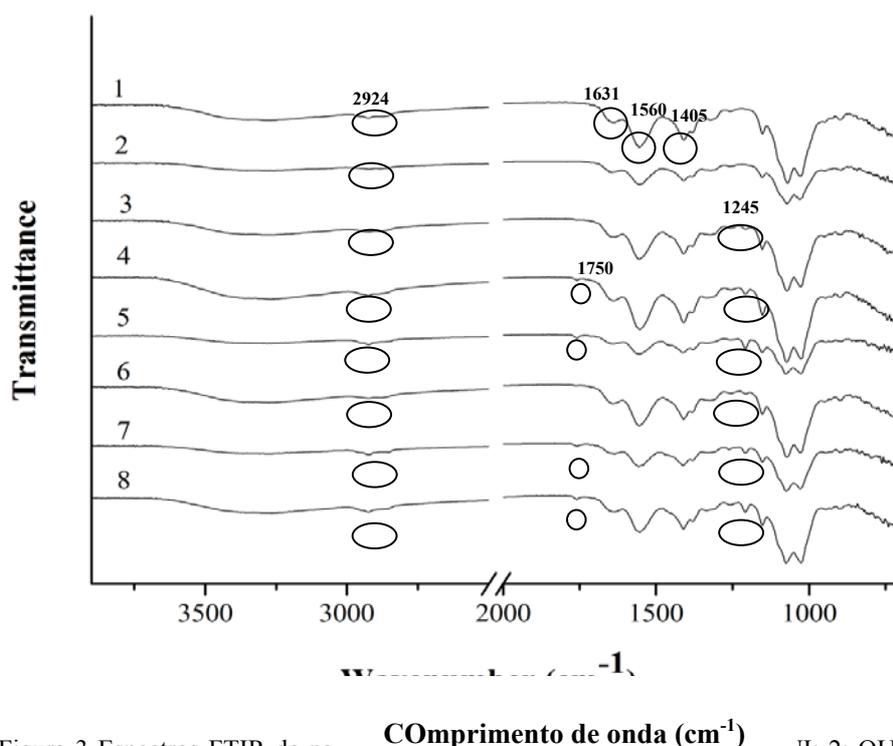


Figura 3 Espectros FTIR de na **COMPRIMENTO DE ONDA (cm⁻¹)** 1: QUI; 2: QUI + MMTNa; 3: QUI + 5% de toc-encap; 4: QUI + 10% de toc-encap; 5: QUI + 20% de toc-encap; 6: QUI + 5% de toc-encap + MMTNa; 7: QUI + 10% de toc-encap + MMTNa; 8: QUI + 20% de toc-encap + MMTNa

Todos os filmes, exceto 2, 5 e 7, apresentam uma banda larga na região de 3700-3000 cm⁻¹ relacionadas com vibração de estiramento do grupo -OH (LI et al., 2010; MARTÍNEZ-CAMACHO et al., 2010; MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012). O filme 2 não apresentou este pico pois os grupos -OH da QUI e amido estão ligados a MMTNa. O Filme 5 com 20% de toc-encap, apresenta uma alta concentração de encapsulante (amido e maltodextrina) que se aglomeraram não sendo detectados pelo FTIR os grupos -OH neste filme. O filme 7 com 10% de toc-encap + 1% de MMTNa possui os grupos OH ligados a argila, não apresentando pico na região característica do grupo -OH.

A banda a 2924 cm⁻¹ é atribuída a vibração de estiramento C - H (LI et

al., 2010; TRIPATHI; MEHROTRA; DUTTA, 2010). Nos espectros de FTIR os filmes QUI mostram claramente o pico a 1560 cm^{-1} o que corresponde à vibração do grupo amino protonado com ácido acético, acetato de quitosana ($-\text{NH}_3^+ \text{Ac}^-$) (WANG et al., 2005). A presença de $-\text{NH}_3^+ \text{Ac}^-$ é responsável pela estrutura amorfa do filme de QUI que foi comprovada pela análise de DRX. O pico a 1750 cm^{-1} , característico da presença de um grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012), aparece nos filmes 4, 5, 7 e 8 que contém 10 e 20 % de toc-encap.

As principais bandas de absorção características dos filmes de QUI aparecem em 1631 cm^{-1} , devido à combinação do estiramento de C-O (amida I) e de flexão -NH. Em 1405 cm^{-1} pico aparece um pico característico de -C-N (LI et al., 2010), em todos os filmes.

Na região da banda entre $1200 - 1300\text{ cm}^{-1}$, um novo pico aparece em 1245 cm^{-1} quando toc-encap é adicionado, o que pode estar relacionado com a vibração dos grupos -OH do amido e maltodextrina (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012).

3.4 Permeabilidade ao vapor de água

A presença de MMTNa influenciou significativamente o resultado de PVA sendo diferente ($P < 0,05$) a média dos filmes com e sem MMTNa (Tabela 2).

Tabela 2 Valores de Permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{g}/\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$)

Filmes	PVA $\times 10^{11}$
Com MMTNa	$3,48 \pm 0,25^b$
Sem MMTNa	$4,49 \pm 1,00^a$

Na presença de MMTNa os filmes apresentaram menor valor de PVA. O

processo de transferência de vapor de água depende das ações simultâneas de solubilidade da água e difusibilidade na matriz polimérica (ZHONG; SONG; LI, 2011). Portanto, MMTNa reduziu a solubilidade da água ao se ligar com os grupos hidroxila (-OH) da QUI e também da maltodextrina e amido utilizados na encapsulamento do tocoferol. A difusibilidade do permeante também foi reduzida ao deixar o caminho mais tortuoso do vapor de água ao longo da matriz polimérica. O uso de nanopartículas em biofilmes aumenta o caminho do permeante ao longo da matriz polimérica, reduzindo a difusividade e resultando em melhor propriedade de barreira ao vapor de água do filme. As moléculas de QUI entraram no espaço interlamelar aumentando a distancia entre as lamelas e conseqüentemente potencializaram o efeito de tortuosidade das MMTNa.

Valores similares de PVA para filmes de QUI já foram relatados por outros pesquisadores. Lavorgna et al. (2010) encontraram $2,38$ e $2,14$ $\text{g/m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa} \times 10^{-11}$ (ΔUR de 50% a 25° C) para filmes de QUI e para filmes de QUI com 3% de MMTNa respectivamente. Por outro lado, Sánchez-González et al. (2010) reportaram um valor de 124 $\text{g Pa}^{-1}\text{s}^{-1}\text{m}^{-1} \times 10^{-11}$ de PVA para filme de QUI em ΔUR de 50% e a 20° C. Essa variação pode ser pela diferença da fonte de QUI e também pela diferença de grau de desacetilação, peso molecular entre outros.

3.5 Hidrofobicidade da superfície

Quando a energia livre de interação hidrofóbica ($\Delta G_{\text{Hydroph}}$) é menor que zero, a energia livre de interação entre as moléculas é atrativa, existindo uma menor afinidade pelas moléculas de água em relação as próprias moléculas. Portanto, o material é hidrofóbico. Se o oposto ocorre ($\Delta G_{\text{Hydroph}} > 0$), o filme é hidrofílico (CAMILLOTO et al., 2010).

Pela análise de variância, a interação entre os fatores MMTNa e

tocoférol foi significativa para $\Delta G_{\text{Hydroph}}$ e as equações ajustadas são apresentadas na Tabela 3.

Pode ser observado pela Figura 4 que a adição de toc-encap diminuiu a hidrofobicidade nos filmes sem MMTNa e apresentou um comportamento não constante para os filmes adicionados de MMTNa. Para os filmes sem MMTNa, maior $|\Delta G_{\text{Hydroph}}|$ foi encontrado para o filme sem toc-encap, indicando ser o mais hidrofóbico. QUI precisa de solução ácida para protonar seus grupos $-\text{NH}_2^+$ e assim se dissolver em água. Entretanto na ausência de ácido, apresenta maior afinidade pelas suas moléculas do que pelas moléculas de água. A adição de toc-encap diminuiu a $\Delta G_{\text{hydroph}}$, significando um aumento da hidroflicidade. Isto se deve à destruição da estrutura cristalina da molécula amido, usado como encapsulante, pré-gelatinizado pelo ácido acético presente na formulação durante aquecimento da solução filmogênica, resultando em grupos hidroxílicos livres e consequente aumento na higroscopicidade (BOURTOOM; CHINNAN, 2008; PELISSARI et al., 2012). A maior hidrofobicidade do filme de QUI em relação ao filme de amido já foi relatada por Bangyekan, Aht-Ong e Srikulkit (2006).

Para os filmes incorporados com MMTNa e toc-encap, observou-se uma interação entre estes fatores ($P < 0.05$). A interação entre MMTNa e amido (ponte de hidrogênio) reduziu a disponibilidade de grupos hidrofílicos, diminuindo assim a hidroflicidade (LAVORGNA et al., 2010; PELISSARI et al., 2012).

Esta interação fez aumentar as distâncias entre as lamelas da argila deixando o filme mais hidrofóbico com o aumento da concentração de toc-encap. Isto foi observado para a concentração de até 10%. Acima desta quantidade de toc-encap, a atração entre as moléculas encapsulantes do tocoferol, amido e maltodextrina, prevalece e consequentemente uma aglomeração destas partículas ocorre como pode ser visto pelas micrografias de MET. Consequentemente acima de 10% de toc-encap, ocorre menor interação

do amido com MMTNa deixando o filme mais hidrofílico.

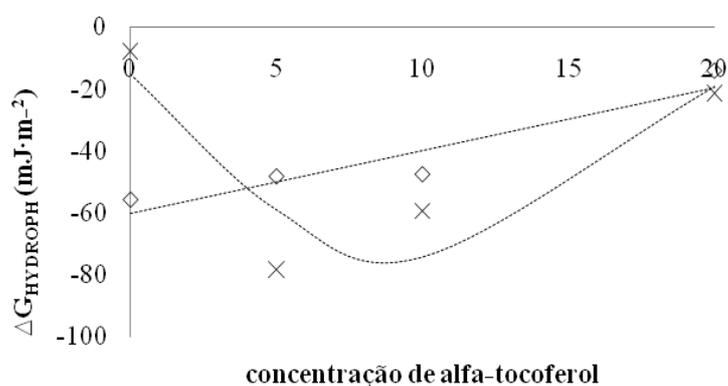


Figura 4 Energia livre de interação hidrofóbica de nanocompósitos de quitosana em função da concentração de toc-encap. Filmes sem MMTNa (◇) e com MMTNa (x). As linhas tracejadas representam os valores ajustados

De acordo com Su et al. (2010), o ângulo de contato com a água é um bom indicador do grau de hidrofilicidade dos filmes. Ângulo de contato com a água diminui quando a hidrofilicidade da superfície é maior. Ângulos superiores a 50° indicam uma superfície hidrofóbica (ARAÚJO et al., 2009). Leceta, Guerrero e Caba (2012) apresentaram ângulo de contato com a água de 105° para filmes de QUI sendo portanto hidrofóbicos.

3.6 Sorção de umidade

O fator toc-encap foi significativo ($P < 0,05$) para umidade no equilíbrio (UE) e para coeficiente de difusão (D). As equações ajustadas para estas duas respostas estão na Tabela 3.

Em ambiente de 75% de umidade, ocorrem hidratação e inchaço (*swelling*) dos grupos hidrofílicos da QUI e encapsulantes (amido e maltodextrina). Nesta situação as cadeias poliméricas se encontram

intumescidas, com reduzido número de sítios livres para absorver água. Com o aumento do teor de toc-encap, maior é o grau de inchaço e menor é a disponibilidade de espaço para moléculas de água, e conseqüentemente, menor é o UE do filme.

A hidratação se deve ao fato de que a QUI tem forte afinidade pela água e, no estado sólido, as macromoléculas podem apresentar estruturas distorcidas, que são facilmente hidratadas (SANTOS et al., 2003).

Em contrapartida, a difusão envolve o transporte do permeante através das regiões não cristalinas e é potencializada pela movimentação das cadeias poliméricas que criam espaços vazios (SARANTOPÓULOS et al., 2002). Com o aumento do toc-encap, as estruturas dos filmes ficaram mais cristalinas mas a água adsorvida pelas cadeias poliméricas durante o inchaço, romperam as interações intermoleculares e estrutura de cristais, aumentando assim a mobilidade das cadeias poliméricas e a velocidade de transmissão de água.

Tabela 3 Equações ajustadas para energia livre de interação hidrofóbica ($\Delta G_{\text{Hydroph}}$, $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$), parâmetros de cor (b^* , c^* , L^*), transparência (%), índice haze (%), conteúdo de umidade no equilíbrio (UE) e coeficiente de difusão (D, $\text{mm}^2/\text{min} \times 10^{-7}$).

Análises	Filmes	
	Com MMTNa	Sem MMTNa
$\Delta G_{\text{Hydroph}}$	$-15,25 - 11,6x + 0,57x^2$ ($R^2=0,80$)	$-60,36 + 2,04x$ ($R^2 = 0,82$)
b^*	$10,48 + 0,34x$ ($R^2=0,74$)	$12,87 + 0,15x$ ($R^2=0,65$)
c^*	$10,56 + 0,33x$ ($R^2=0,74$)	$12,94 + 0,15x$ ($R^2=0,65$)
L^*	$90,11 - 0,19x$ ($R^2=0,84$)	$88,92 - 0,1x$ ($R^2 = 0,83$)
Análises	Todos os filmes	
Transparência	$42,89 - 0,96x$ ($R^2 = 0,96$)	
Índice haze	$55,36 + 0,72x - 0,03x^2$ ($R^2 = 0,50$)	
UE	$22,2 - 0,49x$ ($R^2 = 0,84$)	
D	$17,15 + 1,53x$ ($R^2=0,53$)	

x: concentração de toc-encap

Portanto, quanto maior a quantidade de toc-encap, maior o efeito de inchaço, maior a movimentação das cadeias e maior a quantidade de moléculas que se difundem através do polímero e por fim maior o coeficiente de difusão.

3.7 Propriedades ópticas

3.7.1 Transparência e índice haze

Propriedades ópticas são essenciais para definir a aplicabilidade dos filmes (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). Certos alimentos precisam de proteção à luz enquanto outros podem ser acondicionados em embalagens transparentes para permitir a visualização do produto pelo consumidor.

Para os parâmetros transparência e índice haze o fator tocoferol foi significativo. O nível de transparência tem relação com a estrutura interna dos filmes (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010). O aumento da concentração de toc-encap deixou a estrutura dos filmes mais cristalinas prevenindo a transmissão da luz através do filme, ou seja, reduziu a transparência dos filmes. Portanto, filmes com toc-encap são mais opacos que os filmes de QUI (Tabela 3).

As camadas de montmorilonita possuem espessura inferior ao comprimento de onda de luz visível, e por isso, não desviam a luz, sendo então transparentes (FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2012).

Na transmissão, a dispersão da luz por uma amostra é responsável pela redução na visualização dos objetos vistos através dela e é medida pelo índice haze. A luz que é dispersa ao passar através de uma película ou filme de um material pode produzir um campo nebuloso ou esfumado quando os objetos são vistos através do material (ASTM, 2000a).

Índice haze está relacionado com as irregularidades e heterogeneidade da superfície e é influenciado pelos parâmetros específicos envolvidos na formação dos filmes tais como o grau de dispersão, tipo de argila,

compatibilidade dos componentes, tamanho de partículas etc. (SOTHORNVIT et al., 2010). O uso de toc-encap aumentou o índice haze dos filmes indicando que o uso do toc-encap além de deixar os filmes mais cristalinos, deixou os filmes com superfície mais irregulares.

Em geral os filmes apresentaram índice haze muito maior que filmes de polipropileno que segundo Asuka et al. (2006) é de 25%.

3.7.2 Parâmetros L*, b* and c*

A interação dos fatores para os parâmetros L*, b* e c* foi significativa ($P < 0,05$). Os filmes com e sem MMTNa apresentaram o mesmo comportamento para estes parâmetros. Croma que é a medida da saturação da cor (ZHONG; SONG; LI, 2011) e valor b* (coloração amarela) aumentaram para todos os filmes com a concentração de toc-encap. Entretanto os filmes sem MMT apresentaram um aumento no valor de c* e b* menos acentuado ao se comparar com os filmes adicionados de MMTNa. Sothornvit et al. (2010) reportaram aumento no valor b* em função do uso de MMTNa para filmes de isolado de proteína de soro de leite.

O aumento de toc-encap reduziu o valor de L* para todos os filmes. Os filmes com MMTNa foram mais claros que os filmes sem argila.

4. Conclusão

A QUI e o uso de toc-encap até 10% auxiliou na intercalação da MMTNa resultando em filmes com PVA reduzida, superfície mais hidrofóbica, e menor UE. Acima desta concentração houve aglomeração do toc-encap resultando em filmes com propriedades inferiores. Os filmes ficaram levemente mais amarelos com o aumento de toc-encap e também menos transparentes e mais irregulares (maior haze index).

Agradecimentos:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro.

Referências

AL-SALEM, S. M. Influence of natural and accelerated weathering on various formulations of linear low density polyethylene (LLDPE) films. **Materials and Design**, New York, v. 30, n. 5, p. 1729-1736, May 2009.

AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for enthalpies of fusion and crystallization of polymers by Differential Scanning Calorimetry (DSC): D3417**. Philadelphia, 1999. 13 p.

_____. **Standard test method for water vapor transmission of materials: E96-00**. Philadelphia, 2000b. 12 p.

_____. **Standard test method for haze and luminous transmittance of transparent plastics: D1003-00**. Philadelphia, 2000a. 7 p.

_____. **Standard test method for transition temperatures of polymers by differential scanning calorimetry: D3418**. Philadelphia, 2003. 7 p.

ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 400 p.

ARAÚJO, E. A. **Caracterização físico-química e ação antimicrobiana de nanopartículas de prata obtidas por uma nova síntese**. 2010. 110 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

ARAÚJO, E. A. et al. Hidrofobicidade de Ribotipos de *Bacillus Cereus* isolados de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 491-497, jul./set. 2009.

- ASUKA, K. et al. Effects of silica particles on the transparency of polypropylene based nanocomposites. In: SHIONO, T.; NOMURA, K.; TERANO, M. (Ed.). **Progress in olefin polymerization catalysts and polyolefin materials**. New York: Elsevier, 2006. p. 237-240.
- AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2010.
- BAI, Y.; SHI, Y. C. Structure and preparation of octenyl succinic esters of granular starch, microporous starch and soluble maltodextrin. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 83, n. 2, p. 520-527, Jan. 2011.
- BANGYEKAN, C.; AHT-ONG, D.; SRIKULKIT, K. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 63, n. 1, p. 61-71, Jan. 2006.
- BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 17, n. 2, p. 141-147, Mar. 2003.
- BOSSOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. **Electron microscopy**. Boston: Jones and Bartlett, 1998. 670p.
- BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 41, n. 4, p. 1633-1641, Apr. 2008.
- BYUN, Y.; KIM, Y. T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 100, n. 2, p. 239-244, Sept. 2010.
- CAMILLOTO, G. P. et al. Effect of active packaging incorporated with triclosan on bacteria adhesion. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 8, p. 557-564, Oct. 2010.
- CHEN, C. H.; LAI, L. S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1584-1595, Dec. 2008.

CISSÉ, M. et al. Influence of temperature and relative humidity on the immobilized lactoperoxidase system in a functional chitosan film. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 361-366, Aug. 2012.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. 2nd ed. Oxford: Clarendon, 1975. 421 p.

ENNAJIH, H. et al. Chitosan-montmorillonite bio-based aerogel hybrid microspheres. **Microporous and Mesoporous Materials**, Amsterdam, v. 152, n. 1, p. 208-213, Apr. 2012.

FARIA, F. O.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 487-492, 2012.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

KOKOSZKA, S. et al. Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. **International Dairy Journal**, Barking, v. 20, n. 1, p. 53-60, Jan. 2010.

LAVORGNA, M. et al. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 291-298, Sept. 2010.

LECETA, I.; GUERRERO, P.; CABA, K. Functional properties of chitosan-based films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, 2012. In press.

LI, Y. et al. Preparation and functional properties of blend films of gliadins and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 2, p. 484-490, June 2010.

LIANG, N. et al. α -Tocopherol succinate-modified chitosan as a micellar delivery system paclitaxel: preparation, characterization and in vitro/in vivo evaluations. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 423, n. 2, p. 480-488, Feb. 2012.

MALHEIROS, P. S. et al. Effect of nanovesicle-encapsulated nisin on growth of *Listeria monocytogenes* in milk. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 1, p. 175-178, Feb. 2010.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P. et al. Chitosan composite films: thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 305-315, Sept. 2010.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 220-227, May 2012.

OSS, C. J. van Hydrophobicity of biosurfaces: origin, quantitative determination and interaction energies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 5, n. 3/4, p. 91-110, 1995.

PANDEY, S.; MISHRA, S. B. Organic-inorganic hybrid of chitosan/organoclay bionanocomposites for hexavalent chromium uptake. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 361, n. 2, p. 509-520, Sept. 2011.

PARK, S. I.; ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 7, p. 1933-1939, Apr. 2004.

PAVLIDOU, S.; PAPASPYRIDES, C. D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 33, n. 12, p. 1119-1198, Dec. 2008.

PELISSARI, F. M. et al. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch-chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 108, n. 2, p. 262-267, Jan. 2012.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, Jan. 2012.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 277-283, Sept. 2010.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens polímeros. **Ciência e Tecnologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

- SARANTOPÓULOS, C. I. G. L. et al. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267 p.
- SHARMA, P. K.; RAO, K. H. Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 98, n. 3, p. 341-463, Aug. 2002.
- SILVESTRE, C.; DURACCIO, D.; CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 36, n. 12, p. 1766-1782, Dec. 2011.
- SOTHORNVIT, R. et al. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 2, p. 279-284, Mar. 2010.
- SRINIVASA, P. C.; RAMESH, M. N.; THARANATHAN, R. N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 1113-1122, Oct. 2007.
- SU, J. F. et al. Moisture sorption and water vapor permeability of soy protein isolate/poly(vinyl alcohol)/glycerol blend films. **Industrial Crops and Products**, London, v. 31, n. 2, p. 266-276, Mar. 2010.
- TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly(vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 79, n. 3, p. 711-716, Feb. 2010.
- TUNÇ, S.; DUMAN, O. Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 414-424, Apr. 2010.
- WALISZEWSKI, K. N. et al. Changes of banana starch by chemical and physical modification. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 52, n. 3, p. 237-242, May 2003.
- WANG, S. F. et al. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 90, n. 1, p. 123-131, Oct. 2005.

ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, n. 1, p. 335-342, Feb. 2011.

ARTIGO 2

PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS, TÉRMICAS E MECÂNICAS DE FILMES FUNCIONAIS COM A-TOCOFEROL ENCAPSULADO E MONTMORILONITA

Artigo redigido conforme norma da revista Polymer Testing “Versão Preliminar”

Resumo

Nanocompósitos funcionais de quitosana foram preparados com base em um planejamento fatorial completo variando o nível de montmorilonita sódica (MMTNa) e tocoferol encapsulado (toc-encap). As propriedades morfológicas (microscopia eletrônica de varredura), térmicas (temperatura de transição vítrea-Tg e análise termogravimétrica) e mecânicas (teste de tração e punctura) foram avaliadas. A Tg variou de 134 - 185° C, sendo reduzida e elevada pela adição de MMT e toc-encap, respectivamente. O uso de toc-encap e MMTNa na matriz de QUI deslocou os estágios de perda de massa para temperaturas mais altas. Pelo teste de tração, para os filmes sem MMTNa o uso de toc-encap reduziu a resistência a tração (RT) e o módulo de elasticidade (ME) e para os filmes com MMTNa, observou-se aumento no valor de RT e ME com até 10% de toc-encap. Com a adição de toc-encap, os filmes ficaram menos resistentes e menos elásticos sob estresse acentuado (teste de punctura). Recomenda-se o uso de toc-encap de até 10% para se ter filmes homogêneos e também o uso de MMTNa para melhorar a resistência a tração e módulo de elasticidade e aumentar a estabilidade térmica dos filmes.

Palavras-chave: quitosana, montmorilonita sódica, caracterização.

1. INTRODUÇÃO

Embalagem biodegradável (quitosana, acetato de celulose, amido, pectina, ácido polilático) ou não (polietileno, polipropileno), incorporada com substância ativa tem sido utilizada com função antimicrobiana, antioxidante ou aromatizante (BYUN; KIM; WHITESIDE, 2010; CAMILLOTO et al., 2010; DIAS et al., 2013; MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012; PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). O uso de embalagem ativa para enriquecer nutricionalmente o alimento, é uma tecnologia promissora, mas ainda pouco explorada (PARK; ZHAO, 2004).

A produção de alimentos saudáveis e mais próximos ao “natural” pode ser obtida com o uso de embalagens funcionais que apresentam função ativa continua de enriquecer o alimento. A adição de nutrientes na embalagem com objetivo dessas substâncias migrarem para o alimento apresenta a vantagem de evitar a perda dos nutrientes em função do processamento (tratamento térmico) em que os alimentos são submetidos. Após o processamento do alimento ele será enriquecido na etapa de acondicionamento em embalagens contendo substâncias funcionais como vitaminas, minerais ou aminoácidos.

α - tocoferol é a forma mais abundante e biologicamente ativa da vitamina E e é amplamente utilizado nas indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012). No entanto, as suas aplicações são limitadas, devido à sua natureza altamente hidrofóbica e sensibilidade ao oxigênio, calor e luz (LIANG; TREMBLAY-HÉBERT; SUBIRADE, 2011). Além disso, o contato com os constituintes do alimento podem degradar ou diminuir a função de agentes ativos. Portanto, o encapsulamento de componentes ativos como o tocoferol, pode ser uma alternativa para preservar as funções, controlar a difusão e também garantir a

eficácia da embalagem como fonte de vitamina para os consumidores (MALHEIROS et al., 2010).

Nas últimas décadas, os novos materiais desenvolvidos a partir de polímeros naturais tem atraído o interesse da comunidade científica, uma vez que são uma alternativa aos plásticos derivados do petróleo, que causam impacto negativo sobre o ambiente (DUTTA; TRIPATHI; DUTTA, 2011; GORRASI; BUGATTI; VITTORIA, 2012; VIEIRA et al., 2011). Materiais de embalagem biodegradáveis naturais apresentam pobres propriedades de barreira, mecânicas e térmicas. Pesquisas tem mostrado que filmes nanocompósitos de polímero com silicato em camadas podem melhorar as propriedades do material de embalagem (TUNÇ; DUMAN, 2010; WANG et al., 2005). De fato, foi relatado que a montmorilonita sódica natural (MMTNa) melhora as propriedades térmicas e mecânicas de quitosana (LAVORGNA et al., 2010).

Antes da aplicação dos filmes desenvolvidos em alimento, uma compreensão básica da interação molecular e estrutural dos compostos é essencial para estabelecer relações entre a preparação, processamento e propriedades.

Objetivou-se com este trabalho avaliar as propriedades térmicas (temperatura de transição vítrea e análise termogravimétrica), morfológicas (microscopia eletrônica de varredura) e mecânicas (teste de tração e punctura) de filmes de quitosana com MMTNa e tocoferol encapsulado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O material e delineamento experimental utilizados juntamente com o desenvolvimento dos filmes estão descritos no artigo 1.

2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para obter as micrografias, filmes de aproximadamente 2 mm foram analisados. As amostras foram colocadas em “stubs” com fita de carbono e foram banhados a ouro por 180 segundos (metalização), fixados no microscópio e fotomicrografados. Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 1430 VP, Inglaterra) com uma voltagem de aceleração de 20 KV (BOSSOLA; RUSSELL, 1998).

2.2 Análises térmicas

2.2.1 Temperatura de transição vítrea

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada em calorímetro diferencial de varredura (DSC modelo TA 60) a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. A sequência utilizada foi : 1) aquecimento de 25 a 230 °C e manutenção do material nesta temperatura durante 5 min para eliminar a história térmica; 2) o material foi resfriado de 230 a 20 °C e mantido nesta temperatura por 5 min; e 3) um segundo aquecimento foi realizado até 230 °C (AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS - ASTM, 1999, 2003). A partir das curvas de DSC, a temperatura de transição vítrea (T_g) foi analisada. O limite de detecção do aparelho é de 0,3 W.

2.2.2 Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica e perfil de degradação de todas as amostras de compósitos de QUI foi determinada por análise termogravimétrica (TGA) com um DTA-TG Shimadzu 60 H. TGA foi realizada sob atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de 50 mL /min a partir de 45° C a 800° C com uma razão de aquecimento de 10° C/min. As amostras de filme (aproximadamente 5 mg) foram colocadas em recipientes de aço inoxidável (WANG et al., 2005).

2.3 Propriedades mecânicas

2.3.1 Teste de tração

As propriedades de tração foram determinadas com um analisador de textura (Stable Microsystems, modelo TATX2i, Inglaterra) de acordo com o método padrão D882-02 (ASTM, 2002) com os seguintes parâmetros: célula de carga de 1 kN e uma velocidade de $125 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Para cada filme, oito amostras com dimensões de 27 mm x 100,6 milímetros foram analisadas. A resistência à tração (RT, MPa) e módulo de elasticidade (ME, MPa) foram medidos. RT foi calculada dividindo a carga máxima pela área da seção transversal do filme, e ME foi calculado pela inclinação da parte linear do diagrama de tensão-deformação.

2.3.2 Teste de punctura

Teste de punctura foi realizado utilizando um analisador de textura (Stable Microsystems, modelo TATX2i, Inglaterra). Os filmes foram cortados em quadrados de 9 cm^2 de área e fixados em um suporte com orifício central (2,1 cm de diâmetro). Uma sonda esférica de 5,0 mm de diâmetro foi deslocada perpendicularmente à superfície da película a uma velocidade constante de 0,8 mm/s até a sonda passar através do filme (CHEN; LAI, 2008). A resistência a punctura/ espessura (N/mm) foi calculada dividindo o valor da força no ponto de ruptura pela espessura do filme para eliminar o efeito da variação da espessura (PARK; ZHAO, 2004) e a deformação (mm) dos filmes foi determinada no ponto de ruptura também. Para cada amostra, foram realizadas oito repetições.

2.4 Análise dos resultados

Os resultados de RT e ME (teste de tração), RP e D (teste de punctura) dos filmes foram analisados utilizando o software Sisvar[®]. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos gerados para representar as respostas foram avaliados em termos dos valores de F e coeficiente R².

Os resultados de MEV, T_g and TGA foram submetidos à análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias obtidas por MEV (Figura, 1) mostraram que o filme 1 (Figura, 1.1) apresenta superfície homogênea. Filme 2 (Figura, 1.2) mostra estrutura de MMTNa com tamanho de partícula médio inferior a 10 µm. Tunç e Duman (2010) observaram a dimensão média das partículas de MMT de 15 µm por análise de MEV.

As micrografias mostraram que os filmes de QUI adicionados de toc-encap (filmes 3, 4 e 5) são relativamente homogêneos, com superfície lisa e com a quantidade de partículas de toc-encap em formato cristalino aumentando de acordo com o aumento da concentração de toc-encap utilizada (Figura, 1.3, 1.4,1.5). A solução de toc-encap apresentou boa miscibilidade com a solução de QUI, sugerindo uma interação favorável entre eles.

A MMTNa incorporada nos filmes 6, 7 e 8 não foram visualizadas pelas micrografias de MEV (Figura, 1.6, 1.7, 1.8). Nestes filmes aparecem apenas estruturas semelhantes ao toc-encap. Filme 7 apresentou superfície bem homogênea e o filme 8 apresentou-se mais rugoso, diferente dos demais.

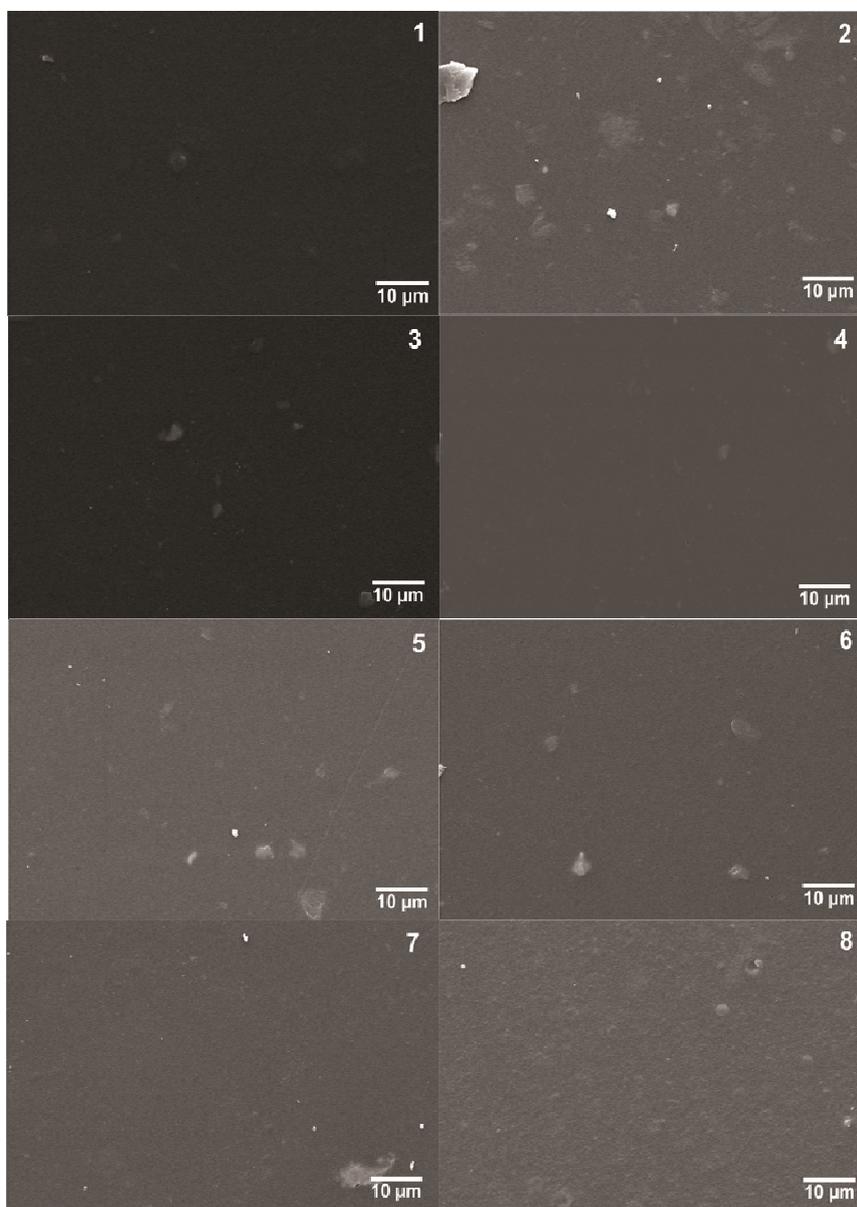


Figura 1 Micrografias eletrônicas de varredura dos nanocompósitos de quitosana aumentados 3000x: (1): quitosana; (2): 1% MMTNa; (3): 5% toc-encap; (4): 10% toc-encap; (5): 20% toc-encap; (6): 1% MMTNa + 5% toc-encap; (7): 1% MMTNa + 10% toc-encap; (8): 1% MMTNa + 20% toc-encap

3.2 Análises térmicas

3.2.1 Temperatura de transição vítrea (Tg)

O valor de Tg diminuiu de 185° C para o filme de QUI para 166° C para o nanocompósito com MMTNa (Tabela 1). A Tg depende principalmente da flexibilidade da cadeia polimérica, do peso molecular, ramificação/ reticulação, atração intermolecular e dos efeitos estereoquímicos (CANEVAROLO JÚNIOR, 2002). Yang et al. (2007) elaboraram nanocompósitos de resina epóxi com concentrações de 1, 2 e 3% de MMT. Como resultado observaram que 1 % de argila aumentou a Tg e que 2 e 3 % de argila reduziram o valor da Tg em relação ao polímero epoxi. Segundo estes autores, a mobilidade das cadeias poliméricas caiu devido à interação entre a MMT modificada e moléculas do polímero, resultando em maior Tg. Já em nanocompósitos com excesso de MMT, a reticulação das moléculas de epóxi parece ter sido interrompida pelas argilas. Assim, as moléculas de epóxi puderam se mover a temperatura mais baixa.

Tabela 1. Temperatura de transição vítrea (Tg, ° C)

Filmes	Tg
1	185,36
2	166,53
3	Não detectada
4	178,86
5	186,33
6	134,09
7	155,04
8	187,67

Toc-encap possui 24,5% de amido e 24,5 % de maltodextrina na sua composição (segundo o fabricante). A Tg do amido e da maltodextrina são inferiores a da QUI ($\approx 91^\circ\text{C}$ e 60°C respectivamente) (CAROLINA et al., 2007; CHANG; KARIM; SEOW, 2006). Ao misturar estes componentes, formou-se

uma mistura miscível com uma única T_g intermediária (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001). Isso foi observado para os filmes 4, 6 e 7. Para os filmes 5 e 8 as T_g s foram próximas a do filme de QUI provavelmente pela grande quantidade de toc-encap utilizada (20% de toc-encap) que não permitiu a formação de uma estrutura homogênea. A transição vítrea para o filme 3 foi inferior a $0,3 W$ não sendo detectada em função da sensibilidade do equipamento utilizado.

Valores de T_g para filmes de QUI de $170,0$; $130,1$ e $162,0^\circ C$ foram citados por Azeredo et al. (2010), Li et al. (2010) e Martínez-Camacho et al. (2010).

3.2.2 Análise termogravimétrica (TGA)

Análise termogravimétrica determina as alterações no peso das amostras de filmes com o aumento da temperatura (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012) (Figura, 2) e os resultados encontram-se resumidos na Tabela 2.

Pode-se observar 2 estágios de degradação para a maioria dos filmes (Figura, 2). Este resultado é similar aos resultados reportados por outros autores: Tripathi, Mehrotra e Dutta (2010) e Wang et al. (2005). O primeiro estágio (temperatura de degradação inicial: $T_{inicial} = 47,0^\circ C$) esta associado com a perda de água e material volátil presente no filme (MARTINEZ-CAMACHO et al., 2010). O segundo estágio corresponde à degradação da QUI: decomposição de unidades amino (MARTINEZ-CAMACHO et al., 2010), despolimerização e a decomposição pirolítica do polissacarídeo (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012).

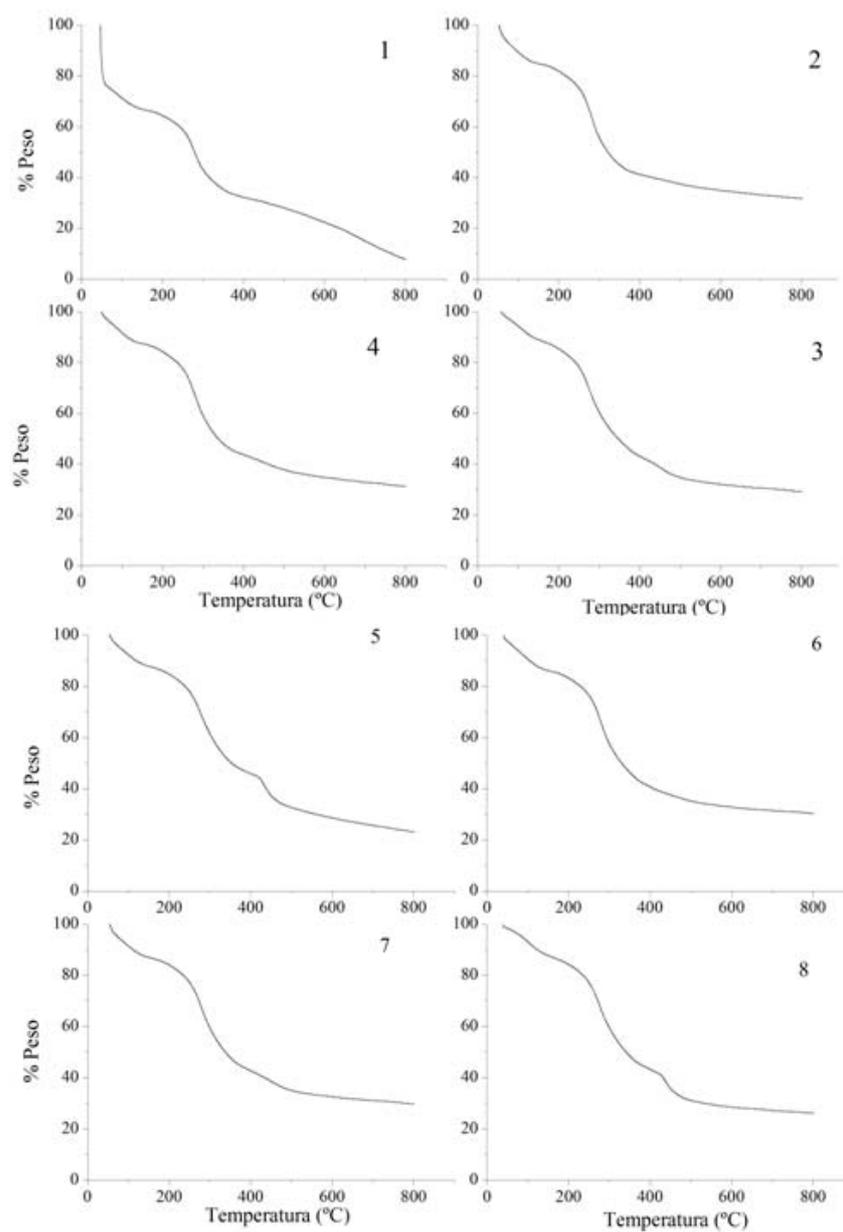


Figura 2 Curvas termogravimétricas dos nanocompósitos de quitosana: 1: filme de QUI; 2: QUI + MMTNa; 3: QUI + 5% de toco-encap; 4: QUI + 10% de toco-encap; 5: QUI + 20% de toco-encap; 6: QUI + 5% de toco-encap + MMTNa; 7: QUI + 10% de toco-encap + MMTNa; 8: QUI + 20% de toco-encap + MMTNa

O filme de QUI (Figura, 2.1) apresentou grande perda de massa no primeiro estágio. Como reportado no resultado de FTTIR (Artigo 1), o filme de QUI apresentou resíduo de ácido acético, e segundo Wang et al. (2005) este resíduo diminui a estabilidade térmica acelerando a degradação da QUI.

O uso de toc-encap na concentração de 5% (Filme 3) aumentou as $T_{inicial}$ e temperatura de degradação máxima (T_{max}) e reduziu a perda de massa do primeiro estágio. Além disto, o resíduo a 800° C aumentou. Este resultado indica a forte interação entre as moléculas de QUI e as moléculas dos agentes encapsulantes (amido, maltodextrina) do tocoferol. Mohammad et al. (2012) relataram que a estabilidade térmica de filmes de QUI melhoraram com a adição de amido (diminuiu perda de massa). Além disso, o tocoferol apresenta estabilidade térmica a altas temperaturas, sendo utilizado como antioxidante em filmes extrusados (AL-MALAIKA; ISSENHUTH, 1999).

Os filmes com 10 e 20% de toc- encap (4, 5, 7 e 8) apresentaram um terceiro estágio de degradação. De acordo com Martins, Cerqueira e Vicente (2012), este estágio está associado com a decomposição das estruturas aromáticas do α -tocoferol.

A incorporação de MMTNa na matriz de QUI (Filme 2) deslocou os estágios de perda de massa para temperaturas mais altas. A adição de MMTNa, que é extremamente estável termicamente e mostra mais de 90% de resíduo sólido a 750° C (WANG et al., 2005) diminuiu a perda de massa e aumentou a T_{max} dos dois estágios, e também aumentou o resíduo sólido em relação ao filme de QUI a 800° C.

Pelo fato das espécies inorgânicas apresentarem boa estabilidade térmica, geralmente a introdução destes componentes inorgânicos em materiais orgânicos melhoraram as propriedades térmicas do composto (GUNISTER et al., 2007).

Tabela 2 Comportamento térmico dos filmes: Temperaturas de degradação inicial (T_{inicial} , °C) e máxima (T_{max} , °C), perda de massa (Massa, %) e resíduo a 800° C (Res, %).

Filmes											
1			2			3			4		
T_{inicial}	Massa	T_{max}									
47,2	20,3	47,9	53,0	14,08	56,5	62,1	12,1	87,7	73,2	10,7	106,8
245,3	58,3	279,4	248,6	51,9	281,4	250,1	54,2	280,7	246,5	39,9	276,4
-	-	-	-	-	-	-	-	-	379,0	16,1	451,4
Res:	8,3		Res:	32,2		Res:	31,5		Res:	28,9	
Filmes											
5			6			7			8		
T_{inicial}	Massa	T_{max}									
56,2	11,7	92,7	56,9	13,1	89,1	56,0	12,2	59,0	68,5	11,7	101,1
241,4	39,3	278,4	250,6	54,2	278,9	248,1	38,8	279,8	245,5	40,2	275,7
422,8	21,96	435,5	-	-	-	367,4	15,6	449,9	428,4	17,7	439,5
Res	23,3		Res	30,1		Res	30,3		Res	26,4	

A MMT age como um isolante térmico e barreira à perda de massa para os produtos voláteis gerados durante a decomposição, e também auxilia na formação de carvão após a decomposição térmica (PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008).

Para os filmes com MMTNa e toc-encap, as maiores alterações foram observados para os filmes com 10 e 20% em relação ao filme 2 (apenas MMT). A perda de massa diminuiu nos dois primeiros estágios de degradação, mas o resíduo sólido a 800° C não alterou. O toc-encap agiu atrasando a degradação térmica, ou seja aumentou a estabilidade térmica dos filmes 7 e 8.

3.3 Propriedades mecânicas

3.3.1 Teste de tração

Resistência à tração (RT, MPa) indica a força de tração máxima que o filme pode sustentar e módulo de elasticidade (ME, MPa) é uma medida da rigidez do filme (ASTM, 2008).

A interação dos fatores MMTNa e toc-encap foi significativa ($P < 0,05$) para RT e ME. As equações ajustadas para estes parâmetros estão apresentadas na Tabela 3.

Para os filmes sem MMTNa o uso de toc-encap enfraqueceu as ligações entre as cadeias poliméricas de QUI. Na presença de amido, ocorre a formação de interações intermoleculares entre grupo $-NH_2$ presente na estrutura da QUI e o grupo $-OH$ de amido. No processo de *casting*, a formação de pontes de hidrogênio entre o amido e QUI é aumentada devido à protonação do grupo amino ($-NH_3^+$) resultantes da utilização de ácidos para a solubilização da QUI (PELISSARI et al., 2012). Além disso, em soluções de ácido acético, as estruturas ordenadas cristalinas das moléculas de amido são destruídas com o processo de gelatinização, o que resulta em grupos $-OH$ expostos e livres para

formar ligações de hidrogênio com $-NH_3^+$ da QUI (BOURTOOM; CHINNAN, 2008). A adição de toc-encap deixou a matriz dos filmes menos densa, afetou a resistência dos filmes devido a ruptura das interações entre as cadeias do polímero. Com isso a matriz polimérica ficou menos coesa, os filmes passaram a suportar uma força menor, ficando menos resistente a tração.

Bourtoom e Chinnan (2008) desenvolveram blendas de filmes biodegradáveis de amido de arroz e QUI e os seus resultados demonstraram que a RT das blendas aumentou com a adição de QUI, e o máximo ocorreu para o filme de amido de arroz e QUI na proporção de 0,5:1,0 com 38 MPa de RT.

Nos filmes com MMTNa, o toc-encap se liga por ponte de hidrogênio com a argila, favorecendo a esfoliação e a formação de uma matriz densa, mais forte e mais rígida uma vez que MMTNa apresenta uma dureza superior a da matriz polimérica. Esse comportamento foi observado para os filmes com até 10% de toc-encap (Figura, 3). Acima desta concentração, o valor de RT reduziu, provavelmente em função de aglomeração do toc-encap e formação de filme mais rugoso como observado nas imagens de MET e MEV respectivamente.

Na ausência de MMTNa, observa-se que com o uso de toc-encap, o ME diminui indicando que esses filmes ficaram mais elásticos. Isto pode ser explicado pelas discontinuidades na matriz do polímero introduzida pela incorporação toc-encap e por alterações nas interações da cadeia de polímero quando componentes do toc-encap estão presentes, que resulta em uma resposta mecânica fraca.

Tabela 3 Equações ajustados para resistência à tração (RT, MPa), módulo de elasticidade (ME, MPa), deformação na ruptura (D, mm), resistência à punctura / espessura (RP, N/mm).

Análises	Filmes	
	Com MMTNa	Sem MMTNa
RT	$40,99 + 1,72 x - 0,09 x^2 (R^2 = 0,1)$	$54,24 - 1,48 x + 0,05 x^2 (R^2 = 0,84)$
ME	$2105,92 + 11,01 x - 1,49 x^2 (R^2 = 0,97)$	$2422,11 - 71,26 x + 2,55 x^2 (R^2 = 0,92)$
Análises	Todos os filmes	
D	$3,81 - 0,14 x + 0,004 x^2 (R^2 = 0,99)$	
RP	$668,17 - 11,09 x (R^2 = 0,99)$	

x: concentração de toc-encap

Nos filmes com MMTNa, a adição de até 10% de toc-encap aumentou levemente o valor de ME. A alta razão de aspecto das nanopartículas sugere que as partículas podem afetar a mobilidade das cadeias do polímero, desde que o MMTNa sejam eficientemente dispersas na matriz polimérica (HEDENQVIST et al., 2006). Estes resultados confirmam que as fortes interações eletrostáticas e ligação de hidrogênio entre o toc-encap e as camadas dispersas MMTNa são significativas para deixar o filme mais resistente a tração e para restringir o movimento das cadeias poliméricas, e esta restrição conduz à melhoria do módulo de elasticidade e resistência a tração dos filmes de QUI (CHEN; ZHANG, 2006). O aumento no valor de RT e ME foi observado em filmes com MMTNa e com até 10% de toc-encap. O toc-encap em concentração acima de 10% pode ter alterado a estrutura das cadeias de QUI deixando o filme menos rígido, ou seja, o filme apresentou maior deformação e com isso, observa-se uma redução no valor de ME nestes filmes.

Sánchez-González et al. (2010) encontraram para filmes de QUI valor de ME próximo ao valor deste trabalho, 2182 MPa mas para RT, o valor encontrado por estes autores foi superior, 113 MPa. A fonte de QUI, o ácido utilizado para dissolver o polímero, as condições experimentais (concentração, pH, UR utilizados para desenvolvimento do filme) e as condições do teste mecânico (velocidade, tamanho da amostra) podem explicar as diferenças observadas nas propriedades mecânicas. Pereda, Amica e Marcovich (2012) encontraram para filme de QUI valor de RT de 8,4 MPa. Zhong, Song e Li (2011) encontraram valor de 13,70 MPa de RT para blendas de filmes de QUI com amido.

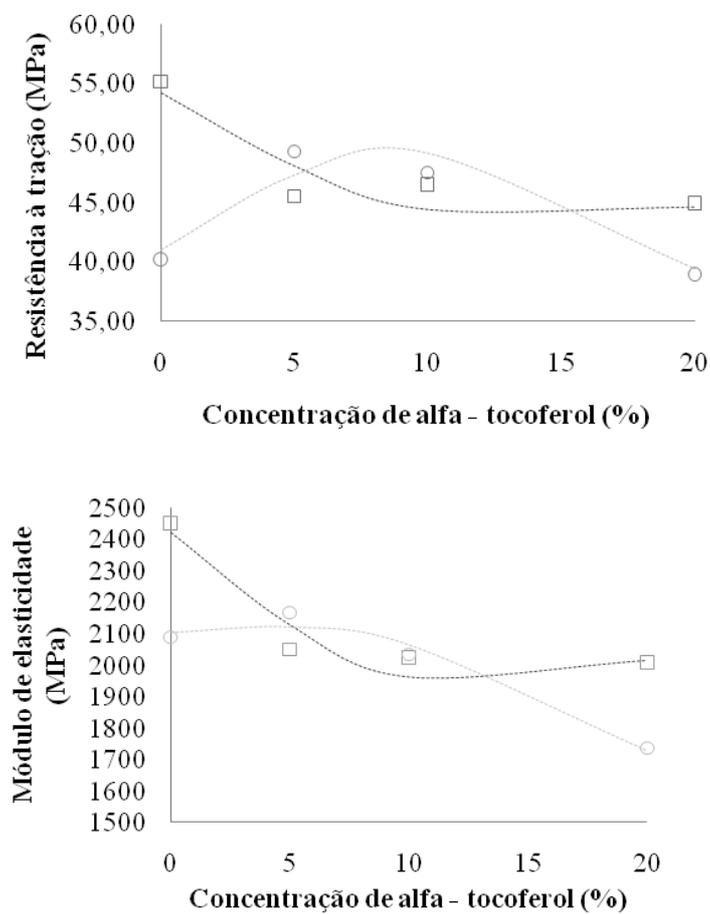


Figura 3 Resistência a tração e módulo de elasticidade dos filmes em função da concentração de tocoferol. Filmes sem MMTNa (□) e com MMTNa (○). As linhas tracejadas representam os valores ajustados

3.3.2 Teste de punctura

Resistência a punctura é a medida da dureza de filme sob a tensão aplicada perpendicularmente à sua superfície. A deformação no teste de punctura é a medida da elasticidade do filme sob tensão verticalmente aplicada. Ambos os valores de resistência à tração e à punctura podem ser utilizados como medida da dureza dos filmes (PARK; ZHAO, 2004).

Os filmes comportaram-se diferentemente sob tração e estresse acentuado. A resposta mecânica depende do tipo de força aplicada e também da orientação das cadeias poliméricas, podendo o filme apresentar melhor desempenho em determinado tipo de teste mecânico. No ensaio de punctura a MMTNa não agiu como nanocarga reforçando os filmes. Para este teste apenas o fator tocoferol foi significativo para deformação na ruptura (D) e resistência a punctura/espessura (RP). As equações ajustadas estão na Tabela 3.

Com a adição de toc-encap, os filmes passaram a suportar uma tensão menor, ficaram menos resistentes e menos elásticos (Figura 4). Possivelmente a estrutura da rede de filmes de QUI com toc-encap foi relativamente simples, e rompeu ligações entre moléculas de QUI-QUI. Como resultado, foi necessária energia menor para romper os filmes no teste de punctura. Pela análise de raios x (Artigo 1), observa-se que a adição de toc-encap aumentou a cristalinidade dos filmes (Filmes 4 e 5) em função do amido usado para o encapsulamento do tocoferol. Essa cristalinidade resultou em filmes menos elásticos e conseqüentemente redução na deformação na ruptura.

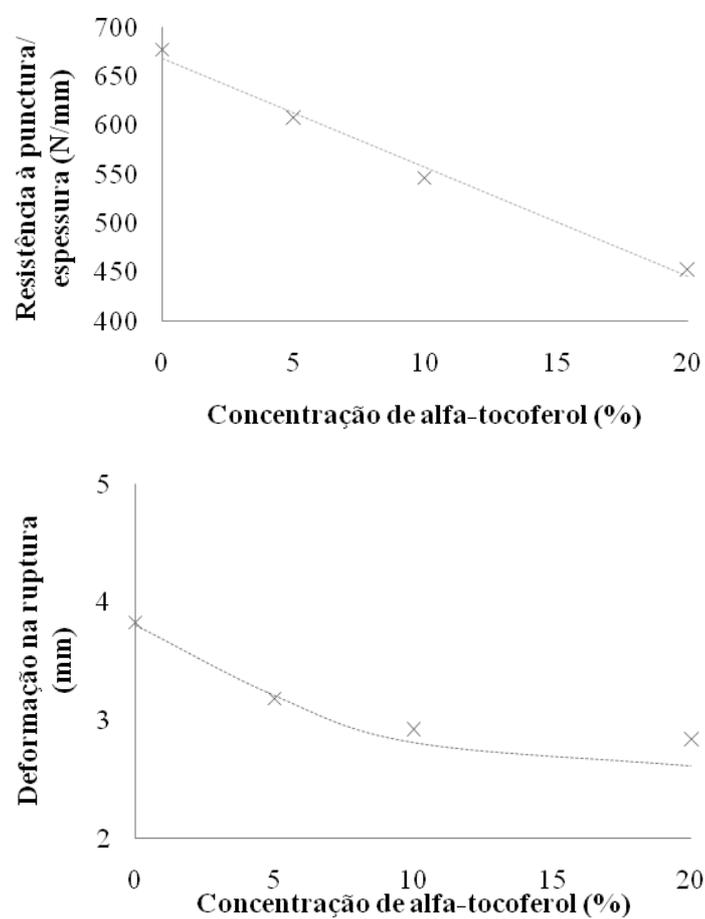


Figura 4 Resistência a punctura/ espessura e deformação na ruptura dos filmes em função da concentração do tocoferol. Linhas tracejadas representam os valores ajustados

Park e Zhao (2004) desenvolveram filmes de QUI com glicerol e ácido láctico e encontraram resistência a punctura/espessura deformação de punctura de 71,90 N/mm e 5,46 mm respectivamente.

4. Conclusão

Para o desenvolvimento de filmes funcionais recomenda-se o uso de tocap de até 10% para se ter filmes homogêneos e também o uso de MMTNa para melhorar a resistência a tração e módulo de elasticidade e aumentar a estabilidade térmica dos filmes

Agradecimentos:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro.

Referências

AL-MALAIKA, S.; ISSENHUTH, S. The antioxidant role of α -tocopherol in polymers III: nature of transformation products during polyolefins extrusion. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 65, n. 1, p. 143-151, Apr. 1999.

AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-02**. Philadelphia, 2002. 10 p.

_____. **Standard test method for enthalpies of fusion and crystallization of polymers by Differential Scanning Calorimetry (DSC): D3417**. Philadelphia, 1999. 13 p

_____. **Standard test method for water vapor transmission of materials: E96-00**. Philadelphia, 2000b. 12 p.

_____. **Standard test method for transition temperatures of polymers by differential scanning calorimetry: D3418**. Philadelphia, 2003. 7 p.

_____. **Standard test method for tensile properties of plastics: D638-08**. Philadelphia, 2008. Disponível em: <<http://www.wmtr.com/Content/AstmD638.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2012.

ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 400 p.

ARAÚJO, E. A. **Caracterização físico-química e ação antimicrobiana de nanopartículas de prata obtidas por uma nova síntese**. 2010. 110 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

ARAÚJO, E. A. et al. Hidrofobicidade de Ribotipos de *Bacillus Cereus* isolados de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 491-497, jul./set. 2009.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2010.

BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 17, n. 2, p. 141-147, Mar. 2003.

BOSSOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. **Electron microscopy**. Boston: Jones and Bartlett, 1998. 670p.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 41, n. 4, p. 1633-1641, Apr. 2008.

BYUN, Y.; KIM, Y. T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 100, n. 2, p. 239-244, Sept. 2010.

CAMILLOTO, G. P. et al. Effect of active packaging incorporated with triclosan on bacteria adhesion. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 8, p. 557-564, Oct. 2010.

CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber, 2002. 282 p.

CAROLINA, B. C. et al. Glass transition temperatures and some physical and sensory changes in stored spray-dried encapsulated flavors. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 40, n. 10, p. 1792-1797, Dec. 2007.

CHANG, Y. P.; KARIM, A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 1, p. 1-8, Jan. 2006.

CHEN, C. H.; LAI, L. S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsaio leaf gum films in the presence of plasticizer. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1584-1595, Dec. 2008.

CHEN, P.; ZHANG, L. Interaction and properties of highly exfoliated soy protein/montmorillonite nanocomposites. **Biomacromolecules**, London, v. 7, n. 6, p. 1700–1706, 2006.

DIAS, M. V. et al. Development of low-density polyethylene films with lemon aroma. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 50, n. 1, p. 167-171, Jan. 2013.

DUTTA, J.; TRIPATHI, S.; DUTTA, P. K. Needs for food applications progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study. **Food Science and Technology International**, London, v. 18, n. 1, p. 3-34, 2011.

GORRASI, G.; BUGATTI, V.; VITTORIA, V. Pectins filled with LDH-antimicrobial molecules: preparation, characterization and physical properties. **Carbohydrate Polymer**, Barking, v. 89, n. 1, p. 132-137, June 2012.

GUNISTER, E. et al. Synthesis and characterization of chitosan-MMT biocomposite systems. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 67, n. 3, p. 358-365, Feb. 2007.

HEDENQVIST, M. S. et al. Morphology and diffusion properties of

whey/montmorillonite nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Kidlington, v. 66, n. 13, p. 2350-2359, Oct. 2013.

LAVORGNA, M. et al. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 291-298, Sept. 2010.

LI, Y. et al. Preparation and functional properties of blend films of gliadins and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 2, p. 484-490, June 2010.

LIANG, L.; TREMBLAY-HÉBERT, V.; SUBIRADE, M. Characterisation of the b-lactoglobulin/a-tocopherol complex and its impact on a-tocopherol stability: rapid communication. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 3, p. 821-826, 2011.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C. **Caracterização de polímeros**: determinação de peso molecular e análise térmica. Rio de Janeiro: E-Papers, 2001. 366 p.

MALHEIROS, P. S. et al. Effect of nanovesicle-encapsulated nisin on growth of *Listeria monocytogenes* in milk. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 1, p. 175-178, Feb. 2010.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P. et al. Chitosan composite films: thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 305-315, Sept. 2010.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 220-227, May 2012.

MOHAMMAD, O. et al. Modification of mechanical and thermal property of chitosan-starch blend films. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 81, n. 10, p. 1659-1668, Oct. 2012.

OSS, C. J. van Hydrophobicity of biosurfaces: origin, quantitative determination and interaction energies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 5, n. 3/4, p. 91-110, 1995.

PARK, S. I.; ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or

vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 7, p. 1933-1939, Apr. 2004.

PAVLIDOU, S.; PAPASPYRIDES, C. D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 33, n. 12, p. 1119-1198, Dec. 2008.

PELLISSARI, F. M. et al. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch-chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 108, n. 2, p. 262-267, Jan. 2012.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, Jan. 2012.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 277-283, Sept. 2010.

SHARMA, P. K.; RAO, K. H. Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 98, n. 3, p. 341-463, Aug. 2002.

SILVESTRE, C.; DURACCIO, D.; CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 36, n. 12, p. 1766-1782, Dec. 2011.

SU, J. F. et al. Moisture sorption and water vapor permeability of soy protein isolate/poly(vinyl alcohol)/glycerol blend films. **Industrial Crops and Products**, London, v. 31, n. 2, p. 266-276, Mar. 2010.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly(vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 79, n. 3, p. 711-716, Feb. 2010.

TUNÇ, S.; DUMAN, O. Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 414-424, Apr. 2010.

VIEIRA, M. G. A. et al. Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review. **European Polymer Journal**, London, v. 47, n. 3, p. 254-263, Mar. 2011.

WANG, S. F. et al. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 90, n. 1, p. 123-131, Oct. 2005.

YANG, J. P. et al. Cryogenic mechanical behaviors of MMT/epoxy nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Kidlington, v. 67, n. 14, p. 2934-2940, Nov. 2007.

ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, n. 1, p. 335-342, Feb. 2011.

ARTIGO 3

**DESENVOLVIMENTO E PROPRIEDADES FÍSICAS E
DE RESISTÊNCIA AO VAPOR DE ÁGUA DE
NANOCOMPOSITOS ANTIOXIDANTES DE
QUITOSANA/MMT15A/A-TOCOFEROL**

**Artigo redigido conforme norma da revista Food Science and Technology
“Versão Preliminar”**

Resumo

Ojetivou-se com este trabalho avaliar as propriedades de resistência à umidade: permeabilidade ao vapor de água, sorção de umidade, ângulo de contato e também as propriedades ópticas (cor) e estrutural (espectroscopia na região do infravermelho) dos filmes a base de quitosana adicionados de antioxidante α -tocoferol e montmorilonita MMT15A. Oito tratamentos com diferentes concentrações de MMT15A (0-1) e tocoferol (0, 5, 10, 20) foram avaliados. Todos os filmes com tocoferol apresentaram atividade antioxidante. O tocoferol e MMT15A não alteraram significativamente o valor de PVA, mas deixaram os filmes mais hidrofóbicos (maior ângulo de contato), com menor valor de UE (umidade no equilíbrio), mais opacos, com valores de L^* e b^* menores e maiores respectivamente, em relação ao filme de quitosana. Para o desenvolvimento de nanocompósitos antioxidantes recomenda-se o uso de 10% de tocoferol por esta quantidade não alterar a estrutura dos filmes e também o uso de MMT15A para auxiliar nas propriedades de resistência a umidade.

Palavras-chave: embalagem antioxidante, montmorilonita organofílica,

quitosana

1. INTRODUÇÃO

Os polímeros obtidos a partir de fontes renováveis, geralmente biodegradáveis em condições ambientais normais, podem ser uma solução viável para a redução de resíduos de materiais de embalagem de plástico para alimentos, e, por essa razão, têm sido amplamente investigados ao longo dos últimos anos (KOKOSZKA et al., 2010). A fim de competir com plásticos sintéticos, os biopolímeros devem ter propriedades mecânicas e de barreira comparáveis as embalagens tradicionais. Isto é especialmente difícil de obter no que diz respeito às propriedades de barreira à umidade, devido à natureza hidrofílica da maioria dos biopolímeros que está em contraste com a natureza hidrofóbica da maioria dos polímeros sintéticos utilizados nas embalagens de alimentos (LAVORGNA et al., 2010). A baixa barreira à umidade é devido à presença de grupos hidroxilas livres na matriz, que interagem fortemente com as moléculas de água (CHENG; KARIM; SEOW, 2008). Quitosana (QUI), como os demais filmes a base de polissacarídeo tendem a exibir permeabilidade seletiva aos gases, mas a resistência à transmissão de água é baixa (WONG et al., 1992). Isto é um inconveniente importante, pois o controle eficaz da transferência de umidade é uma propriedade desejável para a maioria dos alimentos.

Esta propriedade pode ser melhorada através da adição de materiais hidrofóbicos, em que ambos os componentes hidrófilicos e hidrófobicos são dispersos em um co-solvente e em seguida secos (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010) ou através da mistura de polímeros para formação de filmes compósitos (LI et al., 2010) ou ainda pelo uso de nanopartículas.

A QUI atua como estabilizador e promove a formação de emulsão uma vez que as suas moléculas são compostas de porções hidrofílicas e hidrofóbicas (ENNAJIH et al., 2012; PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). Assim, é frequentemente utilizada como emulsificante para estabilizar gotículas de lipídeo em sistemas de emulsão (LIANG et al., 2012) e também em soluções de formação de filme (PARK et al., 2004).

O α -tocoferol (Vitamina E) apresenta natureza hidrofóbica pela presença de anel aromático e longa cadeia de carbono, sendo muito utilizado como antioxidante tanto em alimentos como em filmes (AL-MALAIKA; ISSENHUTH, 1999; MANZANAREZ-LOPEZ et al., 2011); atua prevenindo várias doenças crônicas (VAIO et al., 2010), é classificado como substância geralmente reconhecida como segura (GRAS) para alimentos (GRANDA-RESTREPO et al., 2009a, 2009b) e pode enriquecer nutricionalmente o alimento embalado (PARK; ZHAO, 2004).

As argilas organofílicas são sintetizadas a partir da troca dos cátions inorgânicos da MMT (tipicamente sódio) por cátions orgânicos, chamados modificadores orgânicos (geralmente íons de alquilamônio, sendo os mais usados sal de amônio quaternário). Estes íons de alquilamônio promovem a redução da energia superficial da argila, melhorando a sua interação com polímeros orgânicos, além de facilitar a penetração das moléculas orgânicas entre as camadas da argila. A argila organofílica ou organomodificada tem energia superficial menor, compatível com líquidos orgânicos ou polímeros, podendo ser agente reforçante na síntese de nanocompósitos (KAKEGAWA; OGAWA, 2002). A MMT15A é organofílica e apresenta maior hidrofobicidade que a MMTNa (AMICO; MANFREDI; CYRAS, 2012).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar as propriedades de resistência à umidade: permeabilidade ao vapor de água, sorção de umidade, ângulo de contato e também as propriedades ópticas (cor) e

estrutural (espectroscopia na região do infravermelho) dos filmes a base de quitosana com antioxidante α -tocoferol e nanocarga MMT15A.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Quitosana (QUI) utilizada neste trabalho foi comprada da Polymar Ciência e Nutrição S/A (Fortaleza, Brasil). Esta quitosana possui peso molecular elevado (PM = 71,3 kDa) e um grau de desacetilação de 85,9 %. Ácido acético glacial foi obtido pela Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil) e usado como solvente para a QUI. DL- α -tocoferol-acetato (tocoferol) foi fornecido pela DSM Nutritional Products Ltda (São Paulo, Brasil). A argila utilizada foi uma montmorilonita modificada (MMT15A) com sal de amônio quaternário com cadeias de hidrocarboneto e foi fornecida pela Southern Clay Products, Inc., (Texas, EUA).

2.2 Delineamento experimental

Foram testados 8 tratamentos de filmes de quitosana incorporados com MMT15A e tocoferol (Tabela 1). O experimento foi conduzido usando um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

Tabela 1 Filmes desenvolvidos

Filmes	MMT 15 A	Tocoferol
1	0	0
2	0	5
3	0	10
4	0	20
5	1	0
6	1	5

7	1	10
8	1	20

2.3 Preparação dos filmes

Filmes a base de QUI foram preparados de acordo com Zhong, Song e Li (2011) com algumas modificações. Solução filmogênica foi preparada dissolvendo 2,0 g de QUI em 100 mL de solução de ácido 0,5 % (v/v). A mistura de ácido acético e QUI foi deixada em repouso durante duas horas para a hidratação da QUI. Para a completa dissolução, esta solução foi deixada durante 6 h sob agitação (1000 rpm), utilizando um agitador magnético, à temperatura ambiente (24° C). A solução filmogênica foi filtrada com a ajuda de papel de filtro e uma bomba de vácuo para remoção da QUI não solubilizada. O pH da solução filmogênica foi ajustado para 4,9 com ácido acético, a fim de evitar qualquer alteração estrutural da MMT15A e proporcionar grupos $-NH_3^+$ na estrutura da QUI (PANDEY; MISHRA, 2011). Esta solução filmogênica foi utilizada para o desenvolvimento de todos os filmes.

A concentração da MMT15A (1,0% p /p MMT15A /CHI) foi escolhida com base em experimentos preliminares (dados não apresentados). O filme 2 (QUI + 1% de MMT15A) foi preparado por aquecimento da solução filmogênica a 40° C e subsequente adição de MMT15A. A mistura de solução filmogênica e MMT15A foi agitada durante 30 minutos, utilizando um agitador magnético a 40° C e posteriormente foi submetida a agitador ultrassônico durante 36 minutos a 80 W. A temperatura de transição vítrea da QUI é de 40° C segundo Santos et al. (2003). Nesta temperatura, as cadeias poliméricas apresentam maior movimentação facilitando a incorporação de tocoferol e MMT15A nas moléculas de quitosana.

Concentrações de 5, 10 e 20% de tocoferol foram adicionadas na solução filmogênica e agitada durante 30 minutos utilizando um agitador magnético à temperatura ambiente. Essas suspensões foram homogeneizadas com um homogeneizador Ultra-Turrax (T 25, Ika-Werke, Alemanha) em 5 ciclos, cada um com duração de 2 min a 15.000 rpm. Finalmente as soluções

foram submetidas a agitador ultrassônico nas condições citadas anteriormente. Dessa forma foram obtidos os filmes 3, 4 e 5 (Tabela 1).

Para os filmes 6, 7 e 8 primeiro foram preparadas as mistura de tocoferol (5, 10 ou 20% p /p tocoferol /QUI) e MMT15A (1,0% p/p de QUI). Estas misturas foram agitadas durante 30 minutos, utilizando um agitador magnético, à temperatura ambiente e então submetidas a agitador ultrassônico durante 45 minutos a 80 W. Subsequentemente a solução de tocoferol com MMT15A e solução filmogênica de QUI foram aquecidas a 40 °C separadamente e então misturadas. A homogeneização em agitador magnético, Ultra-Turrax e agitador ultrassônico foram realizadas nas mesmas condições citadas anteriormente.

Para obtenção dos filmes, 145 mL de cada solução foi colocada sobre placas de vidro de 608 cm² mantidas a 25° C durante 24 h. Em seguida foram armazenados a 20° C e 54 % de umidade relativa (UR) em um dessecador contendo solução saturada de nitrato de magnésio até a realização das análises.

2.4 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

DPPH (2,2–difetil–1–picril –hidrazil) é um radical utilizado para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos filmes. Filme (0,1 g) foi cortado em pequenos pedaços e misturado com 3 mL de metanol 80%. A mistura foi agitada em vortex durante 3 minutos e mantida em repouso à temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, foi novamente agitada em agitador de tubos por 3 min e centrifugada a 3783 x g durante 5 minutos (Centrífuga 4 K-15, Sigma, EUA). O sobrenadante obtido foi analisado quanto a atividade antioxidante pelo captura do radical DPPH. Uma alíquota do extrato de metanol (0,1 mL) foi misturado com 3,9 ml de 0,1 mM DPPH em metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em agitador de tubos durante 1 minuto e depois foi deixada em repouso à temperatura ambiente no escuro durante 30 min. A absorvância foi medida a 517

nm utilizando um espectrofotômetro de UV (GBC UV / VIS 918, Shimadzu, Japão). O equipamento foi zerado com metanol 80% e o controle foi preparado com adição de 3,9 mL de DPPH à 0,1 mL de metanol 80 % (BYUN; KIM; WHITESIDE, 2010). Atividade antioxidante total (AAT) pela captura do radical DPPH foi calculada a partir da seguinte equação:

$$AAT (\%) = \left(1 - \left(\frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \right) \right) \times 100$$

2.5 Caracterização dos filmes

As análises de permeabilidade ao vapor de água (PVA), sorção de umidade: conteúdo de umidade no equilíbrio (UE) e coeficiente de difusão (D), hidrofobicidade da superfície (ângulo de contato com a água), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), propriedades ópticas (transparência, índice haze, L* e b*), foram realizadas de acordo com as metodologias citadas anteriormente (Artigo 1).

2.6 Análises dos resultados

Os dados de AAT, PVA, UE, D, ângulo de contato com a água e parâmetros de cor (transparência, índice haze, L* e b*) dos filmes foram submetidos a análise de variância (Anova), e as médias dos tratamentos foram comparadas usando o teste Scott-Knott com 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas no Software Sisvar[®] (FERREIRA, 2000).

Os dados FTIR foram submetidos à análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em geral, os filmes foram todos lisos, flexíveis, homogêneos e aparentemente sem poros ou fissuras. Os filmes 5, 7 e 8 (Tabela 1) ficaram ligeiramente oleosos.

3.1 Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

Os filmes sem tocoferol (1 e 2) não apresentaram a atividade antioxidante total (AAT) (Tabela 2). A AAT dos demais filmes aumentou em função do aumento da concentração de tocoferol. A atividade antioxidante do tocoferol é principalmente devido à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos a radicais livres lipídicos (LIANG; TREMBLAY-HÉBERT; SUBIRADE, 2011).

De acordo com Byun, Kim e Whiteside (2010), a incorporação de α -tocoferol em filme de ácido polilático (PLA) com hidroxitolueno butilado (BHT) e polietileno glicol aumentou a AAT de 14,2 para 90,43%.

3.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

O valor de PVA do filme de QUI foi de $3,89 \cdot 10^{-11} \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$. Todos os valores de PVA foram da ordem de $10^{-11} \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$, e são o suficiente para evitar migração de umidade de frutas para o ambiente durante congelamento e descongelamento segundo Pereda, Amica e Marcovich (2012).

O uso de MMT15A no filme 2 reduziu levemente o valor de PVA em relação ao filme 1 apesar de não ser significativa essa diferença ($P>0,05$).

Normalmente usa-se a adição de materiais hidrofóbicos em filmes hidrofílicos para melhorar a propriedade de barreira ao vapor de água (FERNÁNDEZ et al., 2007). Entretanto o uso de tocoferol não reduziu o valor de PVA. Em concentrações elevadas, o tocoferol pode ter alterado a estrutura da QUI que pode ter ficado menos densa devido ao efeito plastificante do tocoferol

e conseqüentemente, o uso de lipídeo não alterou a propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes. O tocoferol possui longa cadeia e pode ter desestabilizado a matriz de QUI por meio da formação de ponte de hidrogênio intermolecular entre $-NH_2$ presente na estrutura de QUI e o grupo $-OH$ presente no tocoferol, aumentando assim o espaço intersticial na matriz de QUI e permitindo um aumento da taxa de difusão das moléculas de água através dos filmes.

Em nível elevado de gradiente de umidade relativa, a água atua como um plastificante forte em polímeros hidrofílicos, tais como a QUI, diminuindo as suas propriedades de barreira, independentemente da presença de lipídeo. A este nível de hidratação, as moléculas de água dissolvem parcialmente as moléculas de QUI formando um gel e a estrutura mais compacta é perdida, a mobilidade das cadeias é aumentada e o coeficiente de difusão de água é acentuadamente aumentado (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012).

Tabela 2 Média e desvio padrão de atividade antioxidante total (AAT, %); permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$); conteúdo de umidade no equilíbrio (UE, %); coeficiente de difusão (D, $\text{mm}^2\cdot\text{min}$) e ângulo de contato com a água ($^\circ$).

Filmes	AAT	PVA x 10¹¹	UE	D x 10⁷	Ângulo de contato
1	2,49 ± 1,52 ^a	3,89 ± 1,49 ^a	23,67 ± 0,47 ^c	10,10 ± 0,34 ^a	89,60 ± 2,44 ^c
2	2,05 ± 0,89 ^a	3,60 ± 0,35 ^a	16,89 ± 1,22 ^a	18,62 ± 2,29 ^a	110,07 ± 2,90 ^a
3	47,53 ± 2,30 ^b	3,57 ± 0,21 ^a	20,61 ± 0,11 ^b	29,95 ± 2,95 ^a	91,77 ± 2,51 ^c
4	66,20 ± 4,83 ^c	4,20 ± 0,84 ^a	17,04 ± 0,6 ^a	19,94 ± 1,47 ^a	104,50 ± 1,25 ^b
5	80,39 ± 0,35 ^d	3,39 ± 0,09 ^a	16,37 ± 1,56 ^a	38,62 ± 2,78 ^b	109,47 ± 0,91 ^a
6	49,32 ± 2,61 ^b	4,21 ± 0,51 ^a	16,84 ± 0,06 ^a	25,01 ± 1,47 ^a	88,97 ± 5,88 ^c
7	68,61 ± 0,83 ^c	3,70 ± 0,60 ^a	14,77 ± 0,74 ^a	58,92 ± 9,46 ^c	102,07 ± 1,21 ^b
8	84,65 ± 0,78 ^d	3,57 ± 0,64 ^a	15,60 ± 0,11 ^a	37,88 ± 1,17 ^b	105,27 ± 0,91 ^b

Mesma letra na mesma coluna significa que não há diferença significativa ($P > 0,05$), de acordo com o teste de média Scott-Knott.

De acordo com Chen e Lai (2008), a permeabilidade dos filmes de uma emulsão é influenciada pelos impedimentos estéricos e tortuosidade para a difusão de moléculas de água e também pela existência de defeitos como poros, fendas e rachaduras. Além disso, as moléculas de água podem ainda permear através da fase não lipídica. Por outro lado, a distribuição não homogênea da substância hidrofóbica na rede pode induzir a uma eficiência mais baixa na redução da transferência de vapor de água.

Srinivasa, Ramesh e Tharanathan (2007) encontram valor de PVA para filme de QUI de $1,53 \times 10^{-10} \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$. A diferença de PVA entre materiais iguais, pode ser devido à origem da QUI, ácido utilizado e também pela maneira como os filmes foram preparados.

Sánchez-González et al. (2010) desenvolveram filmes de QUI incorporados com óleo essencial de bergamota e avaliaram a PVA dos filmes em UR de 100 - 54,4 % a 20° C. Como resultado, observaram uma redução linear no valor de PVA em função da concentração de óleo essencial no filme. Por outro lado Srinivasa, Ramesh e Tharanathan (2007) reportaram que nenhuma diferença nos valores de PVA foi observada em filmes de QUI com e sem ácidos graxos (ácidos esteárico e palmítico). Cheng, Karim e Seow (2008) desenvolveram filmes de polissacarídeo com óleo palmítico e observaram menor valor de PVA (gradiente de UR de 22% através do filme a 30° C) para o filme sem material hidrofóbico.

A adição de ácidos capríco e láurico em filmes de amido com 20% de glicerol diminuiu consideravelmente os valores de PVA (UR de 0-33% e 33-64%). Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que estes ácidos graxos apresentam cadeias de carbono curtas e isso facilitou a incorporação na matriz do filme, permitindo maior interação com outros componentes da matriz polimérica. Para o ΔUR de 64-97% os valores de PVA de todas as amostras foram muito próximos, isto pode ser explicado pelo fato de que em alta UR

ocorre a saturação do filme e a permeabilidade é quase totalmente devida ao coeficiente de solubilidade do permeante no filme (NOBREGA et al., 2012).

Para parâmetro de comparação, Piringer e Baner (2000) relataram valor de PVA de polietileno de baixa densidade ($0,922 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) a 25° C de $0,05 \times 10^{-13} \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$, valor menor na ordem de 4 grandezas decimais em relação ao filme de QUI.

3.3 Ângulo de contato

O ângulo de contato formado entre a superfície e a água é o critério primário de avaliação qualitativa da hidrofobicidade e permite avaliar o caráter hidrofóbico ou hidrofílico de uma superfície (ARAÚJO et al., 2009).

Todos os filmes apresentaram características hidrofóbicas pelo valor do ângulo de contato com a água (Tabela 2), pois apresentaram valores maiores que 60° (ARAÚJO et al., 2009) indicando que os filmes possuem maior afinidade com as próprias moléculas do que com a água. A presença de MMT15A no filme 2 deixou o filme mais hidrofóbico em relação ao filme 1 ($P < 0,05$) em função do íon de amônio quaternário com cadeias de hidrocarboneto hidrogenado linear presente na argila organofílica. Ângulo de contato com a água aumenta em função da maior hidrofobicidade da superfície. O tocoferol aumentou a hidrofobicidade dos filmes e conseqüentemente o ângulo de contato.

Apenas os filmes 3 e 6 (5% de tocoferol com e sem MMT15A respectivamente) apresentaram hidrofobicidade igual ao filme 1 (apenas QUI) provavelmente em função da menor quantidade de tocoferol utilizada. Isto também pode ser explicado pela estrutura química dos componentes do filme. Estrutura química do tocoferol apresenta caráter hidrofóbico predominante devido ao anel aromático e cadeia longa de carbono. Contudo, ele também contém um grupo hidroxila que confere certo grau de hidroflicidade ao composto. Filme de QUI apresenta propriedades anfílicas (PEREDA; AMICA;

MARCOVICH, 2012). Portanto, o tocoferol é emulsionado pela QUI que é exposta à interface do filme, reduzindo o grau de hidrofobicidade em filmes com baixas concentrações de tocoferol.

Hoven et al. (2007) e Leceta, Guerrero e Caba (2012) encontraram características hidrofóbicas para filmes de QUI pela análise de ângulo de contato com a água sendo os valores de 105° e 80° respectivamente.

3.4 Sorção de umidade

A umidade de equilíbrio (UE) está relacionada com o teor de umidade final da amostra depois de ter sido condicionada em uma determinada UR e temperatura por certo tempo. Pela Tabela 2 observa-se que o uso de MMT15A e tocoferol reduziram a UE em relação ao filme de QUI. MMT15A agiu diminuindo os sítios hidrofílicos da QUI, ou seja, diminuiu a afinidade do filme de QUI pela água e conseqüentemente reduziu o valor de UE e PVA, e aumentou o valor do ângulo de contato com a água. O uso de tocoferol, substância hidrofóbica causou redução da fase hidrofílica do polímero, diminuiu a capacidade de sorção de água dos filmes, e conseqüentemente reduziu UE.

Sánchez-González et al. (2010) observaram redução no valor de UE em filmes de QUI com óleo essencial de bergamota. Srinivasa, Ramesh e Tharanathan (2007) observaram que blendas de QUI com ácidos graxos (ácidos esteárico e palmítico) apresentaram UE menor que filmes apenas de QUI.

O tocoferol não diminuiu o valor do coeficiente de difusão (D) dos filmes, e para alguns filmes (5, 7 e 8) aumentaram o valor de D (Tabela 2). A difusão envolve o transporte do permeante através das regiões não cristalinas dos polímeros (SARANTOPÓULOS et al., 2002) e o tocoferol apresentou função plastificante nos filmes aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas, criando espaços vazios e aumentando a difusão da água através do filme. Além disto, em ambiente com UR de 75% observa-se o efeito de inchaço

(*swelling*) dos filmes que é a absorção de água pelos segmentos do polímero em UR elevada, e conseqüentemente aumento da mobilidade das cadeias poliméricas em função do efeito plastificante da água, reduzindo desta forma o efeito hidrofóbico do tocoferol.

Pereda, Amica e Marcovich (2012) encontraram valor de D de $5.0 \times 10^{-5} \text{ mm}^2/\text{min}$ para filmes de QUI e para filmes com óleo de oliva, valores inferiores ao do filme de QUI.

3.5 Propriedades ópticas

Propriedades ópticas são essenciais para definir a habilidade dos filmes de serem aplicados como embalagens de alimentos, uma vez que filmes transparentes que não ocultam o aspecto do produto revestido são desejados (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012).

O filme de QUI apresentou o maior índice de transparência (Tabela 3). O tocoferol e MMT15A diminuíram a transparência da maioria dos filmes de QUI. Gotículas de óleo dispersas na matriz de carboidratos afetam a transparência, impedindo a transmissão de luz através do filme. Este comportamento de transparência para filmes com lipídeo já foi observado por outros autores: Filmes de QUI e óleo de oliva foram muito mais opacos que os filmes apenas de QUI (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012) e a adição de ácido esteárico aumentou a opacidade de filmes de isolado de proteína de soro de leite (FERNÁNDEZ et al., 2007).

Não houve diferenças significativas entre os filmes 1, 2 e 5 ($P > 0,05$). Apenas MMT15A (filme 2) não alterou a transmissão de luz através do filme em comparação ao filme de QUI ($P > 0,05$). A estrutura do filme 5, com 20% de tocoferol foi alterada pela presença da fase dispersa de óleo, onde as gotículas de óleo interromperam a continuidade da matriz de QUI deixando-a menos densa com estrutura mais aberta e tão transparente quanto o filme de QUI apesar da

presença de óleo. Este efeito também foi observado para filmes com óleo essencial de bergamota por Sánchez-González et al. (2010).

Tabela 3 Média e desvio padrão de transparência (%), índice haze (%) e dos parâmetros L^* e b^* .

Filmes	Transparência	Índice haze	L^*	b^*
1	43,42 ± 6,63 ^a	54,91 ± 1,36 ^a	89,32 ± 0,13 ^a	11,88 ± 0,26 ^c
2	38,74 ± 0 ^a	53,38 ± 1,49 ^a	89,04 ± 0,22 ^a	13,33 ± 0,17 ^d
3	27,02 ± 0,08 ^b	56,31 ± 0,93 ^a	85,90 ± 0,06 ^c	21,44 ± 0,24 ^a
4	31,25 ± 0,16 ^b	55,23 ± 0,79 ^a	84,58 ± 0,92 ^c	22,72 ± 0,72 ^a
5	41,34 ± 6,94 ^a	55,89 ± 0,38 ^a	85,35 ± 0,04 ^c	22,12 ± 0,22 ^a
6	31,02 ± 0,11 ^b	55,79 ± 0,81 ^a	87,03 ± 0,75 ^b	17,08 ± 1,42 ^c
7	26,81 ± 3,14 ^b	55,61 ± 0,11 ^a	85,40 ± 0,63 ^c	19,63 ± 1,52 ^b
8	22,48 ± 0,10 ^b	52,66 ± 5,30 ^a	85,27 ± 0,56 ^c	19,67 ± 0,66 ^b

O índice haze não apresentou diferença entre os filmes ($P < 0,05$) e a média de todos os tratamentos foi de 54,97% indicando que o uso de tocoferol e MMT15A não aumentaram a irregularidade dos filmes, uma vez que o índice haze apresenta relação com os defeitos de superfície dos filmes (Tabela 3). Byun, Kim e Whiteside (2010) observaram que a incorporaram de α -tocoferol em filme de ácido polilático (PLA) com hidroxitolueno butilado (BHT) e polietileno glicol resultou em filmes com índice haze maior.

Para parâmetro de comparação, filmes de polietileno de baixa densidade linear apresentaram índice haze de 33% e transparência de 90,55 segundo Al-Salem (2009).

O filme com MMT15A (filme 2) não apresentou diferença com relação ao filme de QUI para o parâmetro L^* ($P < 0,05$). A incorporação de tocoferol reduziu o valor de L^* de todos os filmes em relação ao filme de QUI indicando uma redução na luminosidade (Tabela 3).

O filme 1 (QUI) apresentou menor valor de b^* ($P < 0,05$). Em geral, MMT15A e tocoferol aumentaram o valor do parâmetro b^* indicando um aumento na intensificação da coloração amarela nos filmes (Tabela 3).

Sothornvit et al. (2010) observaram que a dispersão de MMT em filmes de isolado protéico de soro de leite reduziu a luminosidade e alterou a cor dos filmes em função da quantidade de argila usada.

De acordo com Martins, Cerqueira e Vicente (2012), a incorporação de tocoferol em filme de QUI diminuiu a transparência e o parâmetro L^* . Já para o parâmetro b^* esses autores observaram um aumento nos filmes em função da adição do tocoferol.

Park e Zhao (2004) observaram que filmes de QUI ficaram com uma coloração mais amarela com a presença de tocoferol.

Estes resultados sugerem que a presença de tocoferol pode resultar em filmes mais opacos e mais escuros (menor L^*), possivelmente devido à coloração amarela do tocoferol.

3.6 Espectroscopia na região do infravermelho

A estrutura dos filmes de QUI foi analisada por espectroscopia FTIR (Figura 1). A vibração na região $3600 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ é atribuída ao estiramento vibracional de O-H (MARTÍNEZ-CAMACHO et al., 2010; ZHONG; SONG; LI, 2011) que segundo Martins, Cerqueira e Vicente (2012) sobrepõe o estiramento vibracional de -N-H. Esses grupos estão presentes na estrutura da QUI e, no caso do grupo O-H na estrutura do tocoferol também.

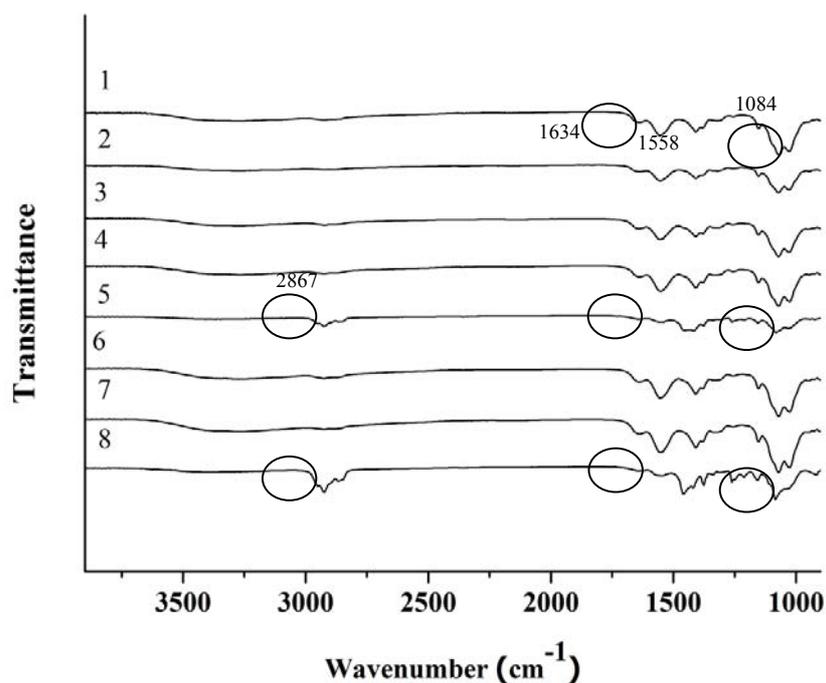


Figura 1 Espectros FTIR de filmes nanocompósitos de quitosana

Vibração em aproximadamente 2867 cm^{-1} está associada ao -C-H alifático presente no tocoferol e também na quitosana (GUNISTER et al., 2007; LI et al., 2010). Aumento na intensidade desse comprimento de onda nos filmes 5 e 8 reflete a alta concentração de tocoferol usada que foi de 20% (p/p) . Vibração em 1634 cm^{-1} é característica de -N-H presente na estrutura da QUI e aparece em todos os filmes mas com menor intensidade nos filmes 5 e 8, que apresentam maior quantidade de tocoferol. O pico 1558 cm^{-1} se refere a presença do grupo amina protonado de QUI com ácido acético ($-\text{NH}_3^+\text{Ac}^-$), acetato de quitosana (WANG et al., 2005). O pico em 1084 cm^{-1} é atribuído ao estiramento do grupo funcional -C-O (ZHONG; SONG; LI, 2011) e é observado em todos os filmes.

A estrutura global dos filmes com até 10 % de tocoferol não apresenta grandes alterações em relação ao filme de QUI, sugerindo a existência de interação entre o tocoferol e a QUI.

4. CONCLUSÃO

Todos os filmes com adição de tocoferol apresentaram atividade antioxidante. O tocoferol e MMT15A não alteraram significativamente o valor de PVA, mas deixaram os filmes mais hidrofóbicos (maior ângulo de contato), com menor valor de UE, mais opacos, com valores de L^* e b^* menores e maiores respectivamente em relação ao filme de quitosana. Para o desenvolvimento de nanocompósitos antioxidantes recomenda-se o uso de 10% de tocoferol por esta quantidade não alterar a estrutura dos filmes e também o uso de MMT15A para auxiliar nas propriedades de resistência a umidade.

Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro.

Referências

- AMICO, D. A. d'; MANFREDI, L. B.; CYRAS, V. P. Relationship between thermal properties, morphology, and crystallinity of nanocomposites based on polyhydroxybutyrate. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 123, n. 1, p. 200-208, 2012.
- AL-MALAIKA, S.; ISSENHUTH, S. The antioxidant role of α -tocopherol in polymers III: nature of transformation products during polyolefins extrusion. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 65, n. 1, p. 143-151, Apr. 1999.

ALMEIDA, A. S. **Obtenção e caracterização de nanocompósitos de poli(l-lactídeo) e nanopartículas de argila sódica, argilas organofílicas e óxidos de sílica**. 2010. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

AL-SALEM, S. M. Influence of natural and accelerated weathering on various formulations of linear low density polyethylene (LLDPE) films. **Materials and Design**, New York, v. 30, n. 5, p. 1729-1736, May 2009.

ARAÚJO, E. A. et al. Hidrofobicidade de Ribotipos de *Bacillus Cereus* isolados de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 491-497, jul./set. 2009.

BYUN, Y.; KIM, Y. T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 100, n. 2, p. 239-244, Sept. 2010.

CHEN, C. H.; LAI, L. S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsoa leaf gum films in the presence of plasticizer. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1584-1595, Dec. 2008

CHENG, L. H.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Characterisation of composite films made of konjac glucomannan (KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 411-418, Mar. 2008.

ENNAJIH, H. et al. Chitosan-montmorillonite bio-based aerogel hybrid microspheres. **Microporous and Mesoporous Materials**, Amsterdam, v. 152, n. 1, p. 208-213, Apr. 2012.

FERNÁNDEZ, L. et al. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 224, n. 4, p. 415-420, Feb. 2007.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

GRANDA-RESTREPO, D. M. et al. Release of antioxidants from co-extruded active packaging developed for whole milk powder. **International Dairy Journal**, Barking, v. 19, n. 8, p. 481-488, Aug. 2009.

- GUNISTER, E. et al. Synthesis and characterization of chitosan-MMT biocomposite systems. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 67, n. 3, p. 358-365, Feb. 2007.
- HOVEN, V. P. et al. Surface-charged chitosan: preparation and protein adsorption. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 68, n. 1, p. 44-53, Mar. 2007.
- KAKEGAWA, N.; OGAWA, M. The intercalation of h-carotene into the organophilic interlayer space of dialkyldimethylammonium-montmorillonites. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 22, n. 9, p. 137-144, 2002.
- KOKOSZKA, S. et al. Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. **International Dairy Journal**, Barking, v. 20, n. 1, p. 53-60, Jan. 2010.
- LAVORGNA, M. et al. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 291-298, Sept. 2010.
- LECETA, I.; GUERRERO, P.; CABA, K. Functional properties of chitosan-based films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, 2012. In press
- LI, Y. et al. Preparation and functional properties of blend films of gliadins and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 2, p. 484-490, June 2010.
- LIANG, L.; TREMBLAY-HÉBERT, V.; SUBIRADE, M. Characterisation of the b-lactoglobulin/a-tocopherol complex and its impact on a-tocopherol stability: rapid communication. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 3, p. 821-826, 2011.
- LIANG, N. et al. α -Tocopherol succinate-modified chitosan as a micellar delivery system paclitaxel: preparation, characterization and in vitro/in vivo evaluations. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 423, n. 2, p. 480-488, Feb. 2012.
- MANZANAREZ-LÓPEZ, F. et al. Release of a-Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 104, n. 4, p. 508-517, June 2011.
- MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 220-227, May 2012.

NOBREGA, M. M. et al. Effects of the incorporation of saturated fatty acids on the mechanical and barrier properties of biodegradable films. **Journal of Applied Polymer Science**, Darmstadt, v. 124, n. 5, p. 3695-3703, 2012.

PANDEY, S.; MISHRA, S. B. Organic-inorganic hybrid of chitosan/organoclay bionanocomposites for hexavalent chromium uptake. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 361, n. 2, p. 509-520, Sept. 2011.

PARK, S. I.; ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 7, p. 1933-1939, Apr. 2004.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, Jan. 2012.

PIRINGER, O. G.; BANER, A. L. **Plastic packaging materials for food barrier function, mass transport, quality assurance, and legislation**. Oxford: Wiley-VCH, 2000. 596 p.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 277-283, Sept. 2010.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens polímeros. **Ciência e Tecnologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SARANTOPÓULOS, C. I. G. L. et al. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267 p.

SOTHORNVIT, R. et al. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 2, p. 279-284, Mar. 2010.

SRINIVASA, P. C.; RAMESH, M. N.; THARANATHAN, R. N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 1113-1122, Oct. 2007.

VAIO, C. D. et al. Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 126, n. 1, p. 50-55, Aug. 2010.

WANG, S. F. et al. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 90, n. 1, p. 123-131, Oct. 2005.

WONG, D. W. S. et al. Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. **Journal of Agriculture of the Food Chemistry**, Easton, v. 40, n. 4, p. 540-544, Apr. 1992.

ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, n. 1, p. 335-342, Feb. 2011.

ARTIGO 4

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA, ESTRUTURAL, TÉRMICA, MECÂNICA E ANTIOXIDANTE DE NANOCOMPÓSITOS DE QUITOSANA/MMT15A/A- TOCOFEROL

Artigo redigido conforme norma da revista *Journal of Plastic Film & Sheeting* “Versão Preliminar”

Resumo

Objetivou-se com este trabalho caracterizar as propriedades térmicas (temperatura de transição vítrea e análises termogravimétricas), morfológicas (microscopia eletrônica de transmissão e de varredura), estrutural (difração de raio x), mecânicas (teste de tração e punctura) e antioxidante de nanocompósitos a base de quitosana (QUI) com tocoferol e MMT15A. O planejamento utilizado foi fatorial completo, cujas variáveis foram os níveis de MMT15A (0-1) e tocoferol (0-20). Tocoferol apresentou atividade antioxidante, aumentou a estabilidade térmica dos filmes de QUI e agiu como plastificante diminuindo a resistência a tração e módulo de elasticidade no teste de tração, reduzindo a resistência a punctura no teste de punctura e reduzindo também a Tg dos filmes em função da maior mobilidade das cadeias poliméricas. A argila MMT15A junto com o tocoferol melhorou as respostas mecânicas no teste de tração, manteve a atividade antioxidante em relação aos filmes com apenas tocoferol, auxiliou a manter a superfície íntegra ao estresse provocado pelos glóbulos de tocoferol, evitando buracos na superfície dos filmes, aumentou a dispersão das argilas e na concentração de 10 e 20% de tocoferol aumentou a estabilidade

térmica dos nanocompósitos. Recomenda-se para desenvolvimento de filmes antioxidantes de quitosana o uso de MMT15A e a concentração de 10% de tocoferol para obtenção de filmes com propriedades melhoradas.

1. INTRODUÇÃO

Os polímeros sintéticos são os materiais mais utilizados para embalagem de alimentos. Estes polímeros não são de fontes renováveis e também não são biodegradáveis. O desenvolvimento de polímeros biodegradáveis de origem natural, que substituem parcialmente ou totalmente os sintéticos, representa uma boa oportunidade para os consumidores e fabricantes, do ponto de vista ambiental (FERNÁNDEZ et al., 2007).

A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, é o segundo polímero natural mais abundante depois da celulose e é obtido a partir das cascas de camarão, caranguejo, exoesqueletos de insetos, conchas de crustáceos, e paredes celulares de fungos (HOVEN et al., 2007; SRINIVASA; RAMESH; THARANATHAN, 2007). Os filmes formados a partir desses materiais são fracos em relação aos plásticos comumente usados. Por isso, uma opção é o uso da nanotecnologia a partir da incorporação de pequenas quantidades de cargas em escala nanométrica na matriz polimérica para melhorar as propriedades de uma maneira geral desses materiais.

Nanocompósitos de polímero e argila podem ser caracterizados como imiscíveis (tactoides), intercalados, parcialmente esfoliado ou esfoliado de acordo com a distância interlamelar das argilas no polímero. A estrutura final depende do teor de argila, da natureza química do agente modificador orgânico e do método de obtenção do filme. Em geral, um sistema esfoliado é mais provável com menor teor de argila (cerca de 1% em peso), enquanto que uma estrutura intercalada é frequentemente observada para nanocompósitos com alto teor de argila (ACHILIAS; SIAFAKA; NIKOLAIDIS, 2012).

Através da incorporação de agentes ativos na embalagem tem-se as

embalagens ativas, que apresetam como objetivo melhorar ou manter as características do produto embalado. Estas embalagens fornecem segurança alimentar e qualidade para o consumidor. Além disto, estas embalagens podem também enriquecer nutricionalmente os alimentos por exemplo por meio da incorporação de vitaminas, minerais e aminoácidos no material de embalagem

Antioxidante, anticancerígeno, anti-inflamatório e prevenção de doenças cardiovasculares são características associadas ao tocoferol, que por isto vem sendo amplamente estudado (QUIÑONES et al., 2010). Vários autores já desenvolveram filmes antioxidante para alimentos com o tocoferol (BARBOSA-PEREIRA et al., 2013; BYUN; KIM; WHITESIDE, 2010; PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012).

Por outro lado, além da função ativa os filmes devem satisfazer uma série de requisitos, tais como apresentar boas propriedades mecânicas e térmicas. É importante também conhecer a influência dos constituintes na estrutura dos filmes e conseqüentemente, a partir da estrutura explicar as propriedades e poder determinar embalagens otimizadas para determinado uso e funcionalidade (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010).

Portanto, objetivou-se com este trabalho caracterizar as propriedades térmicas (temperatura de transição vítrea e análises termogravimétricas), morfológicas (microscopia eletrônica de transmissão e de varredura), estrutural (difração de raio x), mecânicas (teste de tração e punctura) e antioxidante de nanocompósitos a base de quitosana com tocoferol e MMT15A.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os materiais utilizados foram os citados no Artigo 3.

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um planejamento fatorial completo (Tabela 1) com os seguintes fatores: nível de MMT15A e nível de tocoferol. O experimento foi conduzido usando um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

Tabela 1 Filmes desenvolvidos

Filmes	MMT 15 A	Tocoferol
1	0	0
2	1	0
3	0	5
4	0	10
5	0	20
6	1	5
7	1	10
8	1	20

2.3 Desenvolvimento e caracterização dos filmes

Os filmes foram desenvolvidos conforme metodologia citada no Artigo 3. A atividade antioxidante total (AAT), propriedades mecânicas (testes de tração e punctura); análises térmicas (temperatura de transição vítrea -Tg e análise termogravimétrica -TGA), difração de raios x (DRX) e análise de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas seguindo as metodologias citadas nos Artigos 2 e 3.

2.4 Microscopia eletrônica de transmissão

A capacidade da quitosana em formar emulsão com o tocoferol foi observada em microscópio eletrônico de transmissão (MET) (ZEISS EM 109) com voltagem de aceleração de 80 kV de acordo com a metodologia citada anteriormente (Artigo 1). Alguns tratamentos foram selecionados para visualização das argilas e submetidos a infiltração e emblocamento conforme Artigo 1.

2.5 Análise dos resultados

Os dados da atividade antioxidante, do teste de tração e do teste de punctura dos filmes foram analisados pelo software Sisvar®. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos gerados para representar as respostas foram avaliados em termos dos valores de F e coeficiente R^2 (FERREIRA, 2000).

Os resultados de DRX, MET, Tg e an ATG foram submetidos a análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

A atividade antioxidante total (AAT) dos filmes foi influenciada pela concentração de tocoferol ($P < 0,05$). Pela equação ajustada (Tabela 2) observou-se um aumento na AAT em função do tocoferol. Os filmes com tocoferol apresentaram atividade antioxidante, conforme discutido no Artigo 3.

Tabela 2 Equações ajustados para resistência a tração (RT, MPa), módulo de elasticidade (ME, MPa), resistência a punctura / espessura (RP, N/mm), atividade antioxidante total (AAT, %).

Análises	Filmes	
	Com MMT15A	Sem MMT15A
RT	$50,79 - 0,40x$ ($R^2=0,83$)	$55,64 - 2,85x + 0,10 x^2$ ($R^2 = 0,99$)
ME	$2270,09 - 36,09 x$ ($R^2 = 0,97$)	$2233,78 - 41,18 x$ ($R^2 = 0,71$)
Análises	Todos os filmes	
RP	$625,75 - 9,68 x$ ($R^2 = 0,83$)	
AAT	$3.87 + 9.44 x - 0.28 x^2$ ($R^2 = 99$)	

x: teor de tocoferol

3.2 Difração de raios x (XRD)

O filme de QUI apresentou uma estrutura amorfa sem picos de cristalinidade (Figura 1). De acordo com Wang et al. (2005), a ausência de cristalinidade em filmes de QUI pode ser atribuída a presença de resíduo de ácido acético na estrutura do filme, o que pode dificultar a formação de ligações de hidrogênio inter e intramolecular em QUI e consequentemente resultar em estrutura sem ordem. A argila organofílica MMT15A apresenta um único pico a $27,07^\circ$ o que corresponde a um espaçamento de $3,82 \text{ \AA}$.

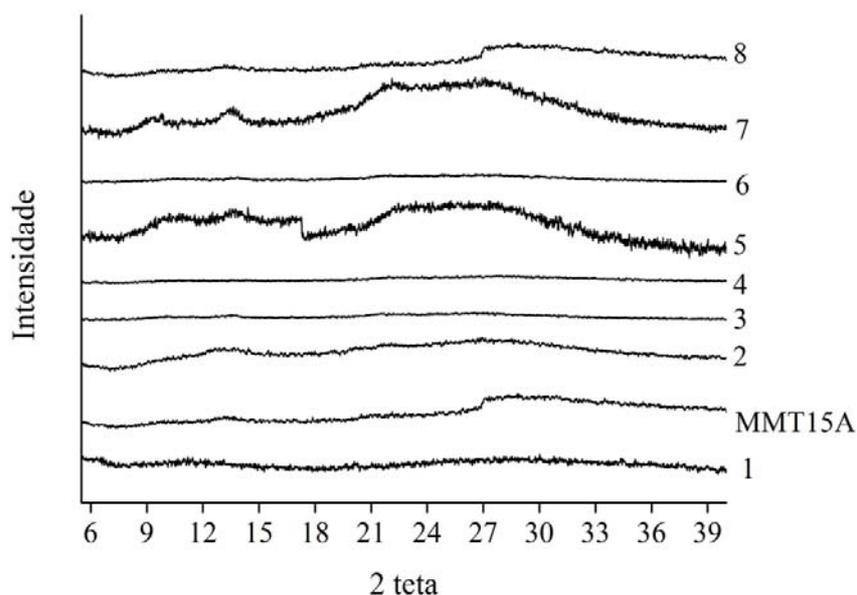


Figura 1 DRX dos nanocompósitos de quitosana e da montmorilonita (MMT15A): 1: filme de QUI; 2: QUI + MMT 15 A; 3: QUI + 5% de tocoferol; 4: QUI + 10% de tocoferol; 5: QUI + 20% de tocoferol; 6: QUI + 5% de tocoferol + MMT15A; 7: QUI + 10% de tocoferol + MMT15A; 8: QUI + 20% de tocoferol + MMT15A

O filme 2 apresentou um pico em $12,97^\circ$ que ficou deslocado para a direita em relação ao pico da MMT15A. Segundo Achilias, Siafaka e Nikolaidis (2012) esse deslocamento significa aumento no espaçamento basal das lamelas da argila devido a penetração das cadeias macromoleculares do polímero.

Os filmes 3, 4 e 6 (5 e 10% de tocoferol e 5% de tocoferol + MMT15A respectivamente) apresentaram uma estrutura amorfa e o filme 5, com 20% de tocoferol, apresenta picos em $10,33^\circ$; $13,51^\circ$ e um amplo pico entre $22,61^\circ$ e $26,81^\circ$. A incorporação de 20% de tocoferol aumentou a mobilidade do polímero e provavelmente permitiu uma maior organização das cadeias de QUI resultando em polímero semi-cristalino.

O filmes 7 com 10 % de tocoferol mais MMT15A apresentou picos em $9,45^\circ$ ($10,86 \text{ \AA}$), $13,77^\circ$ ($7,46 \text{ \AA}$) e $22,11^\circ$ ($4,66 \text{ \AA}$). Observou-se que o último pico ficou deslocado para região de 2θ inferior a região do pico da MMT15A pura, indicando aumento na distancia interlamelar da argila. O filme 8 (20% de tocoferol + MMT15A) apresentou um único pico em $27,03^\circ$ indicando ausência de aumento no espaçamento das lamelas de argilas.

Achilias, Siafaka e Nikolaidis (2012) desenvolveram filmes de metil metacrilato *in situ* com 1, 2 e 3% de MMT15A e observaram que os picos foram deslocados para valores inferiores de 2θ comparados ao valor de 2θ para MMT15A.

A baixa intensidade dos picos pode ser em função da concentração de MMT15A utilizada. O aumento na intensidade dos picos em função da concentração de argila, já foi observado em estudos anteriores (AMICO; MANFREDI; CYRAS, 2012).

Amico, Manfredi e Cyras (2012), em nanocompósitos de polihidroxibutirato (PHB) e MMT15A observaram pela análise de raio x um deslocamento do pico basal para ângulos maiores em relação a MMT15A. Esse

fenômeno foi atribuído ao rearranjo das cadeias de alquil da argila modificada durante a preparação dos nanocompositos.

3.3 Microscopia eletrônica de transmissão

Pela micrografia (Figura 2a) da solução filmogênica do filme 5 (20% de tocoferol), observou-se que a QUI em solução agiu como emulsificante estabilizando os glóbulos de lipídeo de tocoferol. As emulsões apresentaram distribuição homogênea, mas em função da alta concentração de tocoferol, durante a evaporação do solvente e formação do filme, pode ter ocorrido uma aproximação dos glóbulos, aumento do tamanho das partículas de tocoferol e consequente separação de fase (lipídeo e polímero) que pode ser vista nas imagens de MEV. Imagens semelhantes foram observadas por Liang, Tremblay-Hébert e Subirade (2012) para micelas de α -tocoferol succinato em solução de QUI.

Pela Figura 2b (Filme 2), observou-se a formação de uma estrutura intercalada em função do aumento da distância entre as lamelas e também atração borda-borda das argilas o que impediu a formação de uma estrutura esfoliada. Na Figura 2c tem-se uma estrutura parcialmente esfoliada (perdeu a estrutura de camada) e consequentemente uma maior distribuição das lamelas de argila. A natureza hidrofóbica do tocoferol pode ter facilitado a intercalação nas lamelas de argila que apresenta características hidrofóbicas, resultando em maior dispersão da MMT15A no filme de QUI.

Argila organofílica obtida pela troca de cátions localizados entre as camadas da argila por cátions surfactantes (cátions de alquilamônio) incham em solventes orgânicos e podem adsorver as moléculas orgânicas no espaço interlamelar por interações hidrofóbicas (KAKEGAWA; OGAWA, 2002). Estas características podem tornar possível a introdução de tocoferol no espaço interlamelar da MMT15A.

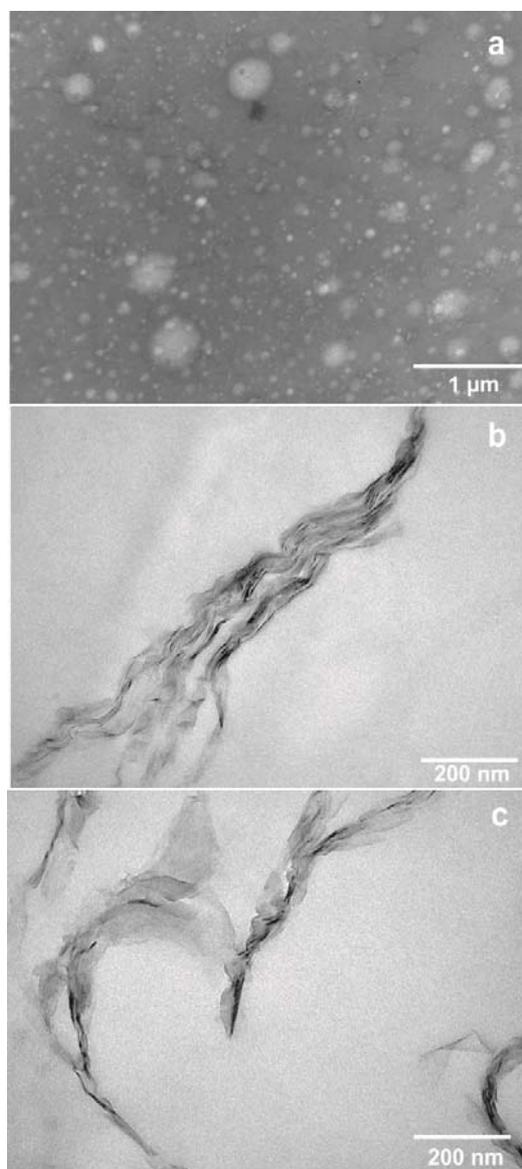


Figura 2 Micrografias eletrônicas de transmissão da solução filmogênica aumentada 20000x (a) e dos filmes de quitosana com MMT15A (b) e filme com MMT15A + 10% de tocoferol (c) aumentadas 98000x.

3.4 Microscopia eletrônica de varredura

Figura 3 mostra a morfologia dos filmes de QUI com aumento de 3000x. Figura 3.1 mostra uma estrutura compacta, indicando que uma matriz contínua é formada com filmes de QUI sem poros ou rachaduras. Na Figura 3.2 (Filme 2) são observadas estruturas lamelares da argila. Neste filme a matriz de QUI também é compacta e densa, mas rachaduras aparecem em função da presença de MMT15A. A matriz densa e rígida foi incapaz de tolerar a perturbação provocada pela presença de MMT15A.

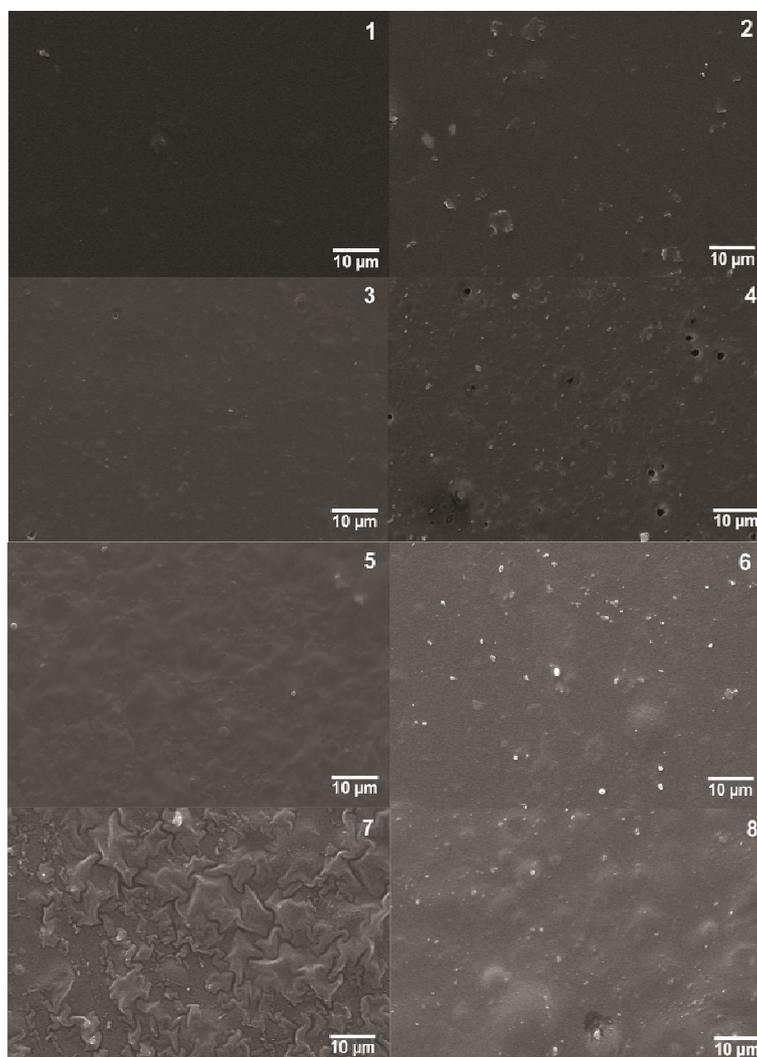


Figura 3 Micrografias eletrônicas de varredura dos nanocompósitos de quitosana: 1: filme de QUI; 2: QUI + MMT 15 A; 3: QUI + 5% de tocoferol; 4: QUI + 10% de tocoferol; 5: QUI + 20% de tocoferol; 6: QUI + 5% de tocoferol + MMT15A; 7: QUI + 10% de tocoferol + MMT15A; 8: QUI + 20% de tocoferol + MMT15A

A Figura 3.3 (Filme 3) apresenta glóbulos de tocoferol bem distribuídos.

A propriedade emulsificante da QUI (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012) foi capaz de reter os glóbulos sem rachaduras ou buracos. O filme de QUI + 10% tocoferol (Figura 3.4) foi coberto por crateras tipo buracos. Isso porque a QUI não manteve a integridade da superfície quando foi submetida ao estresse dos glóbulos de tocoferol durante a secagem. Já o filme com 20% de tocoferol (Figure 3.5) apresenta glóbulos grandes com separação de fase. A fase oleosa ficou na parte superior. Segundo Martins, Cerqueira e Vicente (2012), filmes com concentrações de tocoferol acima de 20% (p/p), apresentam-se oleosos na superfície. Na Figura 3.6 (Filme 6) observa-se estruturas que provavelmente são as argilas MMT15A. O filme 7 mostrou estrutura heterogênea (Figura 3.7), entretanto buracos não apareceram. Isto sugere que os glóbulos de tocoferol nos filmes com 10% de tocoferol ficaram muito mais estabilizados dentro da estrutura de QUI com MMT15A durante a secagem, em comparação com o filme sem MMT (Filme 4). A resistência melhorada do filme à formação dos glóbulos pode ser atribuída à interação entre as moléculas de QUI, tocoferol e MMT15A. A capacidade da QUI de estabilização da emulsão nos filmes de 10% de tocoferol durante a secagem foi aumentada na presença de MMT15A. O Filme 8 (Figura 3.8) apresentou ondulações (saliências) mas a integridade da superfície foi mantida.

3.5 Análises térmicas

3.5.1 Temperatura de transição vítrea

As amostras apresentaram transição vítrea, não sendo detectadas transições de cristalização e fusão com a corrida utilizada. A temperatura de transição vítrea (T_g) é aquela na qual se inicia o movimento de segmentos da cadeia polimérica. A passagem do estado vítreo (mais ordenado) para o estado gomoso (mais flexível e menos ordenado) é uma transição de segunda ordem

(variação na capacidade calorífica da amostra) que se manifesta como variação da linha base da curva de calorimetria exploratória diferencial (DSC) (CANEVAROLO JÚNIOR, 2003). A maior Tg foi observada para filme de QUI (Tabela 3). A quantidade de MMT15A utilizada não foi suficiente para aumentar a Tg do filme de QUI o que geralmente ocorre pela redução da movimentação das cadeias poliméricas imposta pelas argilas que possuem maior dureza. A redução da Tg em função do uso de nanopartículas já foi citada por Souza et al. (2012). Segundo estes autores o intercalante utilizado para a modificação da mica pode agir como um plastificante reduzindo a Tg dos polímeros.

O tocoferol reduziu a Tg dos filmes, reforçando sua ação como plastificante nos filmes por aumentar a mobilidade das cadeias. Martins, Cerqueira e Vicente (2012) pela análise de DSC percebeu o efeito plastificante do uso do tocoferol através da redução da cristalinidade das amostras.

Para os filmes com MMT15A e tocoferol (6,7 e 8) observa-se que a Tg aumentou com a concentração de tocoferol. O tocoferol pode ter aumentado a intercalação das camadas da argila e conseqüentemente permitiu maior distribuição da MMT15A ao longo do polímero. Com a corrida de DSC realizada, a Tg do filme 8, com 20% de tocoferol + MMT15A não foi detectada. Provavelmente, a transição vítrea deste filme deslocou para temperaturas superiores.

Tabela 3 Temperatura de transição vítrea (Tg, ° C).

Filmes	Tg
1	185,36
2	170,50
3	177,81
4	166,37
5	161,18
6	148,62
7	180,27
8	Não detectada

Li et al. (2010) reportaram Tg de filme de QUI de 162° C, valor próximo

ao obtido neste trabalho.

3.5.2 Análise termogravimétrica

As análises termogravimétricas determinam as alterações no peso das amostras de filmes (Figura 4), com o aumento da temperatura (CANEVAROLO JÚNIOR, 2003). A Tabela 4 mostra os estágios de perda de massa, as temperaturas em que ocorrem estes eventos e também a perda de massa dos filmes. Os filmes apresentaram dois eventos térmicos, no entanto as amostras 4, 5, 7 e 8 apresentaram uma etapa adicional de perda de massa que está associada com a decomposição de estruturas aromáticas de tocoferol em temperaturas acima de 380° C (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012).

Segundo Wang et al. (2005), os filmes secos de QUI ainda apresentam ácido acético formando o composto acetato de quitosana. De acordo com estes autores, a degradação destes filmes é mais rápida e conseqüentemente são menos estáveis do que os filmes de QUI sem resíduo de ácido acético. Isso explica a alta perda de massa no primeiro estágio do filme 1 (Figura 4).

O primeiro estágio é resultante do processo de evaporação da água e de materiais voláteis presentes nos filmes (MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012). O segundo estágio está relacionado com a decomposição de grupos amino, com a degradação do grupo - CH₂OH, despolimerização e a decomposição pirolítica da cadeia polissacarídica (MARTÍNEZ-CAMACHO et al., 2010; MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012).

Menor perda de massa, aumento nas T_{inicial} e T_{max} (temperaturas de degradação inicial e máxima respectivamente) do primeiro estágio foram observadas para os filmes com tocoferol (3, 4 e 5) em relação ao filme de QUI. Isso indica forte interação entre moléculas de QUI e tocoferol. Apenas o filme 5 apresentou resíduo a 800° C próximo ao resíduo da QUI em função da alta concentração de tocoferol utilizada (20%) que pode ter desestabilizado a

emulsão formada pela QUI, e conseqüentemente ter formado uma estrutura de filme fraca. Martins, Cerqueira e Vicente (2012) relataram que a adição de α -tocoferol não teve nenhuma influência sobre a estabilidade térmica de filmes de QUI.

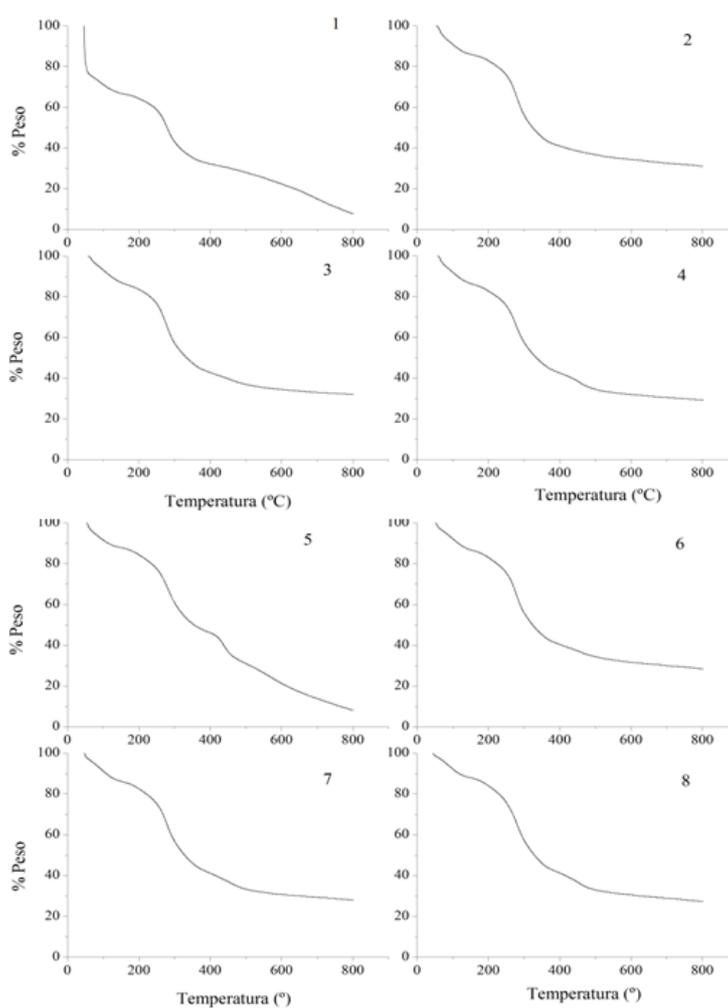


Figura 4 Curvas termogravimétricas dos nanocompósitos de quitosana: 1: filme de QUI; 2: QUI + MMT 15 A; 3: QUI + 5% de tocoferol; 4: QUI + 10% de tocoferol; 5: QUI + 20% de tocoferol; 6: QUI + 5% de tocoferol + MMT15A; 7: QUI + 10% de tocoferol + MMT15A; 8: QUI + 20% de tocoferol + MMT15A

A MMT15A diminuiu a perda de massa no filme 2, deslocou o primeiro estágio para temperaturas mais elevadas com relação ao filme de QUI e aumentou o resíduo a 800° C. O aumento das temperaturas de decomposição tem sido atribuído a capacidade das lamelas de argila obstruírem a perda de voláteis produzidos pela decomposição térmica (ACHILIAS; SIAFAKA; NIKOLAIDIS, 2012).

Para os filmes com MMT15A e tocoferol (Filmes 6, 7 e 8) o primeiro estágio de degradação foi deslocado para temperaturas mais elevadas em relação ao filme com MMT15A (Filme 2). A MMT15A no filme com 20% de tocoferol aumentou o resíduo a 800° C em relação ao filme sem MMT e com a mesma concentração de tocoferol. A argila apresenta boa estabilidade térmica, reforçou a estrutura do polímero e atuou como uma barreira de calor auxiliando na retenção de voláteis e perda de massa (GUNISTER et al., 2007; WANG et al., 2005).

Tabela 4 Comportamento térmico dos filmes: Temperaturas de degradação inicial ($T_{\text{início}}$, ° C) e máxima (T_{max} , ° C), perda de massa (Massa, %) e resíduo a 800° C (Res, %)

1			2			3			4		
$T_{\text{início}}$	Massa	T_{max}									
47,2	20,3	47,9	56,9	13,6	64,2	65,9	13,3	103,8	58,5	13,0	65,0
245,3	58,3	279,4	252,3	52,4	279,8	248,7	51,5	276,3	246,7	39,8	277,4
-	-	-	-	-	-	-	-	-	437,3	12,8	451,7
Res	8,3		Res	31,7		Res	32,7		Res	29,9	
5			6			7			8		
$T_{\text{início}}$	Massa	T_{max}									
55,3	10,9	59,5	65,5	12,9	103,3	72,6	12,2	99,3	115,0	10,5	90,4
241,3	38,1	281,6	249,9	56,0	278,2	246,0	43,03	278,2	243,1	43,2	281,0
421,7	36,8	436,5	-	-	-	434,7	12,4	459,9	432,4	13,5	456,3
Res	9,12		Res	28,8		Res	28,2		Res	27,3	

3.6 Propriedades mecânicas

3.6.1 Teste de tração

A interação dos fatores MMT15A e tocoferol foi significativa ($P < 0,05$) para resistência a tração (RT) e módulo de elasticidade (ME). As equações ajustadas para estes parâmetros estão apresentadas na Tabela 2.

A RT e o ME podem ser usados para descrever a forma como as propriedades mecânicas estão relacionadas com a sua estrutura química (SRINIVASA; RAMESH; THARANATHAN, 2007).

O valor de RT reduziu com a concentração de tocoferol. O tocoferol agiu como plastificante diminuindo a resistência à tração dos filmes e consequentemente passaram a suportar uma tensão menor ou seja ficaram mais fracos. Isto pode ser explicado pelas descontinuidades na matriz do polímero causadas pela incorporação do tocoferol que resultou em uma resposta mecânica fraca. Entretanto a redução foi menor para os filmes com MMT15A (Figura 5). A MMT é uma carga inorgânica e apresenta uma dureza maior em relação a QUI. Para os filmes com MMT15A e tocoferol a redução na RT foi mais suave em função da resistência da MMT15A que diminui a mobilidade das cadeias, deixando os filmes mais fortes e com menor deformação.

O mesmo comportamento foi observado para ME. O tocoferol aumentou a mobilidade das cadeias deixando os filmes menos rígidos, ou seja, reduziu o valor de ME. Essa redução foi maior para os filmes sem MMT15A. A alta razão superfície/volume das nanopartículas sugere que as partículas podem afetar a mobilidade das cadeias poliméricas, desde que as moléculas de polímero estejam eficientemente ligadas às partículas de carga (HEDENQVIST et al., 2006).

O efeito plasticizante causado pela incorporação de materiais hidrófobos numa matriz hidrófila, que resultou em uma redução nas propriedades mecânicas

foi observado por Cheng, Karim e Seow (2008). Estes autores relataram que a incorporação de óleo de palma em filmes de carboximetilcelulose e glucomana reduziu o valor de RT.

Srinivasa, Ramesh e Tharanathan (2007) relataram valores de RT e ME de 39,10 MPa e 1875 MPa respectivamente para filmes de QUI e valores menores para os filmes incorporados com ácidos graxos como o ácido palmítico e ácido esteárico.

Já Byun, Kim e Whiteside (2010) relataram que a incorporação de tocoferol em filme de ácido poliláctico + hidroxitolueno butilado (BHT) + polietilenoglicol não alterou significativamente a RT do filme.

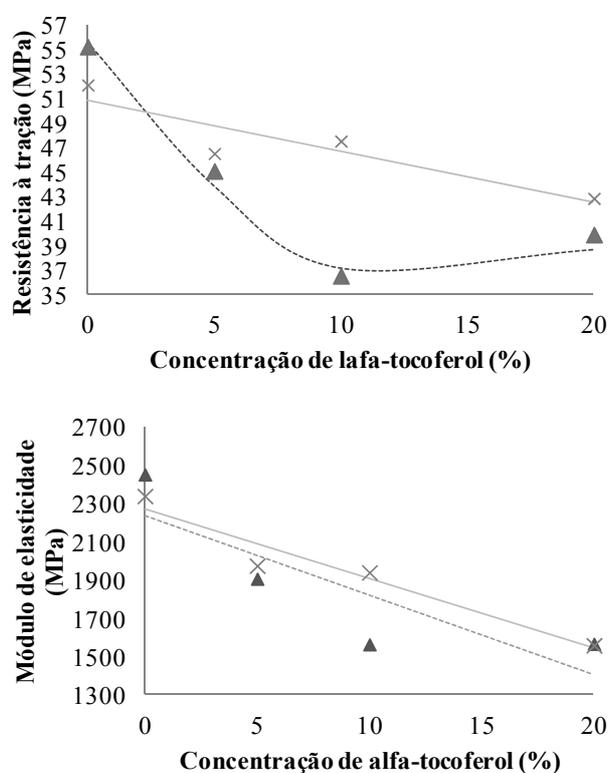


Figura 5 Resistência à tração e módulo de elasticidade dos filmes como função da concentração de tocoferol. Filmes com MMT15A (▲), sem MMT 15 A (x). Linhas sólidas representam os dados ajustados para filmes com MMT15A. Linhas tracejadas representam os dados ajustados para filmes sem MMT15A

A adição de ácidos graxos insaturados não modificaram o alongamento e reduziram um pouco a resistência à tração de filmes de isolado protéico de soro de leite (FERNÁNDEZ et al., 2007). Pereda, Amica e Marcovich (2012) encontraram para filmes de QUI valor de resistência a tração de 8,4 MPa. Estes autores incorporaram óleo de oliva em filmes de QUI e observaram aumento da resistência à tração e módulo de tensão de forma significativa ($P < 0,05$). A forte interação entre o polímero e o óleo de oliva produziu um efeito de reticulação, o que diminui o volume livre e a mobilidade molecular do polímero.

3.6.2 Teste de punctura

O teste de punctura não é muito explorado mas é um teste importante por simular um estresse acentuado que ocorre por exemplo durante a impressão ou selagem da embalagem. O filme pode comportar de maneira diferente de acordo com o tipo de força aplicada. Normalmente esta diferença de comportamento resulta do fato de que o ensaio de punctura proporciona a redução de tamanho dos defeitos (falhas, microtrincas) do processamento enquanto o ensaio de tração acentua estas falhas aumentando as microtrincas em função do maior tamanho da amostra (CANEVAROLO JÚNIOR, 2002).

A deformação na ruptura dos filmes neste teste não foi influenciada pelos fatores estudados apresentando uma média geral de $3,33 \pm 0,4$ mm. Com relação à resistência a punctura o tocoferol foi significativo ($P < 0,05$) e reduziu a resistência dos filmes deixando os mais fracos (Tabela 2) em função da alteração da estrutura das cadeias de QUI.

Park e Zhao (2004) desenvolveram filmes de QUI com glicerol e ácido láctico e encontraram valores de resistência a punctura/espessura e deformação na punctura de 71,90 N/mm e 5,46 mm respectivamente.

4. CONCLUSÃO

O tocoferol apresentou atividade antioxidante, aumentou a estabilidade térmica dos filmes de QUI e agiu como plastificante diminuindo a RT e ME no teste de tração, reduzindo a RP no teste de punctura e reduzindo também a Tg dos filmes em função da maior mobilidade das cadeias poliméricas.

A argila MMT15A junto com o tocoferol melhorou as respostas mecânicas no teste de tração, manteve atividade antioxidante em relação aos filmes com apenas tocoferol, auxiliou a manter a superfície íntegra ao estresse provocado pelos glóbulos de tocoferol, evitando buracos na superfície dos filmes, aumentou a dispersão das argilas e na concentração de 10 e 20% de

tocoferol aumentou a estabilidade térmica dos nanocompósitos. Portanto para desenvolvimento de filmes antioxidantes de quitosana é importante o uso de MMT15A e a concentração de 10% de tocoferol para obtenção de filmes com propriedades melhoradas.

Agradecimentos:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro.

Referências

ACHILIAS, D. S.; SIAFAKA, P.; NIKOLAIDIS, A. K. Polymerization kinetics and thermal properties of poly (alkylmethacrylate)/organomodified montmorillonite nanocomposites. **Polymer International**, London, v. 61, n. 10, p. 1510-1518, Oct. 2012.

AMICO, D. A. d'; MANFREDI, L. B.; CYRAS, V. P. Relationship between thermal properties, morphology, and crystallinity of nanocomposites based on polyhydroxybutyrate. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 123, n. 1, p. 200-208, 2012.

BARBOSA-PEREIRA, L. et al. Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. **Food Control**, Guildford, v. 31, n. 1, p. 236-243, May 2013.

BYUN, Y.; KIM, Y. T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 100, n. 2, p. 239-244, Sept. 2010.

CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um teste básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber, 2002. 282 p.

CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2003. 488 p.

CHENG, L. H.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Characterisation of composite films made of konjac glucomannan (KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 411-418, Mar. 2008.

FERNÁNDEZ, L. et al. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 224, n. 4, p. 415-420, Feb. 2007.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

GUNISTER, E. et al. Synthesis and characterization of chitosan-MMT biocomposite systems. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 67, n. 3, p. 358-365, Feb. 2007.

HEDENQVIST, M. S. et al. Morphology and diffusion properties of

whey/montmorillonite nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Kidlington, v. 66, n. 13, p. 2350-2359, Oct. 2013.

HOVEN, V. P. ET AL. SURFACE-CHARGED CHITOSAN: PREPARATION AND PROTEIN ADSORPTION. **CARBOYDRATE POLYMERS**, BARKING, V. 68, N. 1, P. 44-53, MAR. 2007

KAKEGAWA, N.; OGAWA, M. The intercalation of h-carotene into the organophilic interlayer space of dialkyldimethylammonium-montmorillonites. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 22, n. 9, p. 137-144, 2002.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P. et al. Chitosan composite films: thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 305-315, Sept. 2010.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 220-227, May 2012.

MOHAMMAD, O. et al. Modification of mechanical and thermal property of chitosan-starch blend films. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 81, n. 10, p. 1659-1668, Oct. 2012

PARK, S. I.; ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 7, p. 1933-1939, Apr. 2004.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, Jan. 2012

QUIÑONES, J. P. et al. Self-assembled nanoparticles of modified-chitosan conjugates for the sustained release of DL- α -tocopherol. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 92, n. 1, p. 856-864, Jan. 2010.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 2, p. 277-283, Sept. 2010.

SOUZA, D. H. S. et al. Structural evaluation and thermal properties of poly (lactic acid) and different synthetic mica nanocomposites. **Polymer Composites**, Brookfiel, v. 33, n. 4, p. 555-561, 2012.

SRINIVASA, P. C.; RAMESH, M. N.; THARANATHAN, R. N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 1113-1122, Oct. 2007.

WANG, S. F. et al. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 90, n. 1, p. 123-131, Oct. 2005.

WONG, D. W. S. et al. Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. **Journal of Agriculture of the Food Chemistry**, Easton, v. 40, n. 4, p. 540-544, Apr. 1992.

ARTIGO 5

APLICAÇÃO DE FILMES ANTIOXIDANTES EM SALMÃO FRESCO

Artigo redigido conforme norma da revista Revista Meat Science “Versão Preliminar”

Resumo

Para avaliar efeito antioxidante, alteração de cor e migração de tocoferol e de MMT15A, filé de salmão foi acondicionado em nanocompósitos de quitosana por 8 dias a 4° C. Foi utilizado um planejamento fatorial completo com os seguintes fatores: níveis de MMM 15A (0 - 1%), níveis de tocoferol (0 - 15%) e tempo de análise (0 - 8 dias), com três repetições. Os filmes desenvolvidos foram eficientes para minimizarem a alteração de cor ao longo dos 8 dias. As amostras acondicionadas nos filmes com 10% de tocoferol e 15% de tocoferol + MMT15A apresentaram valores inferiores a 0,14 mg de tocoferol/g de salmão e este valor foi suficiente para reduzir a oxidação lipídica em salmão. Teores superiores a 0,14 mg de tocoferol/g de salmão, agiram como pro-oxidante no salmão. O teor de magnésio em salmão acondicionados com nanocompósitos aumentou depois de 8 dias mostrando que ocorreu migração destas cargas incorporadas na matriz polimérica para o alimento.

1. INTRODUÇÃO

A embalagem é um componente essencial do mercado para todos os setores. Cada produto, até mesmo os alimentos cultivados organicamente precisam de algum tipo de embalagem durante a sua vida de prateleira para proteção, transporte, manuseio, armazenamento e uso.

Peixes ricos em gordura como o salmão, cavala, sardinha são excelentes fontes de proteína para o consumo humano e, além disto, contém ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), da família ômega-3 e ômega-6. Esses ácidos graxos conferem benefícios à saúde como redução nos triglicérides, redução da pressão arterial e melhoria na coagulação do sangue (ABREU et al., 2011). A American Heart Association (AHA) defende o consumo de peixe gordo, pelo menos duas vezes por semana, como uma forma segura e eficaz de obter os benefícios para a saúde cardíaca (SALLAM, 2007a).

Durante o manuseio e armazenamento, a deterioração da qualidade de peixe fresco ocorre rapidamente e limita o prazo de validade do produto. Peixes gordos são altamente susceptíveis à oxidação lipídica o que pode criar problemas de qualidade, como gosto (rançoso) e cheiro desagradáveis, e também pode produzir alterações na textura, cor e valor nutricional, mesmo em armazenamento em temperaturas abaixo de zero (SIGURGISLADOTTIR et al., 1994; YAGIZ et al., 2010). Ranço oxidativo é uma importante característica organoléptica para rejeição ou aprovação de peixes após o armazenamento prolongado, perdendo apenas para as alterações microbiológicas (ABREU et al., 2010).

A qualidade de peixe se degrada, devido a um processo complexo, em que ocorre deteriorações físicas, químicas e microbiológicas. Reações enzimáticas e químicas são geralmente responsáveis pela perda inicial de frescura enquanto a atividade microbiana é responsável pela deterioração e, assim, a vida de prateleira do produto é determinada. Vida de prateleira de

salmão fresco a 1° C, é de aproximadamente 8 dias (ABREU et al., 2010; SALLAM, 2007b; SONE; OLSEN; HEIA, 2012; YAGIZ et al., 2010).

Para controlar e prolongar a vida de prateleira, diversas tecnologias de embalagens estão sendo desenvolvidas para o peixe fresco e produtos da pesca. Para peixes gordos, como salmão embalagem com atmosfera modificada, ou sob vácuo tem sido utilizadas (SONE et al., 2012). Filmes antioxidantes também são alternativas promissoras para reduzir ou minimizar a deterioração oxidativa durante o armazenamento (TORRIERI et al., 2011).

O tocoferol pertence ao grupo de compostos antioxidantes solúveis em solvente apolar, do tipo fenólico, que atua como aceptores de radicais livres formando compostos estáveis que não se propagam em posterior oxidação. Tocoferol tem um papel importante na manutenção da qualidade de carne de peixe, incluindo a cor de salmão, por auxiliar na estabilidade oxidativa dos lípidos (SIGURGISLADOTTIR et al., 1994). α -tocoferol é muito utilizado como antioxidante adicionado diretamente aos alimentos ou através da incorporação em embalagens ativas.

Recentemente, o desenvolvimento de nanocompósitos pela incorporação de agentes de carga nanométricas em matriz de polímeros ou biopolímeros tem possibilitado o desenvolvimento de novos materiais compósitos de origem renovável com propriedades melhoradas (AMICO; MANFREDI; CYRAS, 2012; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

Embora a evidência indica que a embalagem ativa com nanopartículas seja uma tecnologia promissora para alimentos, o seu potencial não pode ser plenamente aplicado a menos que os principais problemas técnicos sejam superados. Mais pesquisas relacionadas com o controle da migração dos agentes ativos em taxas adequadas para diferentes sistemas alimentares são necessárias, além do conhecimento da migração e toxicidade das nanopartículas para garantir a saúde do consumidor. São poucos os resultados disponíveis sobre a possível

migração de nanocompostos em alimentos (AZEREDO, 2009; RESTUCCIA et al., 2010), principalmente em função da escassez de métodos para a detecção de nanopartículas em matrizes de alimentos (BOUWMEESTER et al., 2009). Šimon, Chaudhry e Bakos (2008) fizeram predições utilizando conceitos físico-químicos e concluíram que a migração de nanopartículas de embalagens para os alimentos é muito lenta e baixa. Entretanto mais estudos toxicológicos se faz necessário para que esta tecnologia seja utilizada sem risco para o consumidor e um dos estudos prévios é o da migração de nanopartículas em diferentes sistemas alimentícios.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito antioxidante, alteração de cor, migração de tocoferol e de MMT15A em salmão resfriado acondicionado em nanocompósitos antioxidantes de quitosana por 8 dias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Amostras de salmão filetadas *in natura* (*Salmo salar*) foram adquiridas do comércio local de Viçosa- MG. Os demais materiais utilizados estão descritos no Artigo 3.

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um planejamento fatorial completo com os seguintes fatores: nível de MMT; nível de tocoferol e tempo de análise (0, 2, 4, 6 e 8 dias) de acordo com a Tabela 1 O experimento foi conduzido usando um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

Tabela 1 Filmes desenvolvidos.

Filmes	MMT15A (g·100g ⁻¹)	Tocoferol (g·100g ⁻¹)
1	0	0
2	1	0
3	0	10
4	0	15
5	1	10
6	1	15

2.3 Desenvolvimento dos filmes

Os filmes foram desenvolvidos de acordo com a metodologia citada no Artigo 3 com as concentrações descritas na Tabela 1.

2.4 Caracterização do salmão

2.4.1 Teor de umidade

A umidade do salmão foi determinada em estufa 105° C por 24 horas segundo Instituto Adolfo Lutz (2005).

2.4.2 Extrato etéreo

Foram pesadas 5 g da amostra em cartucho de celulose que por sua vez foi acoplado no extrator de Soxhlet. Enquanto isto o balão de fundo chato foi previamente mantido em estufa a 105 °C, resfriado em dessecador e pesado em balança. O balão foi acoplado ao extrator e foi adicionado éter de petróleo em quantidade suficiente para encher um Soxhlet e meio. O sistema foi mantido sob aquecimento em chapa de aquecimento elétrica continuamente por 8 horas e foi adaptado a um refrigerador de bolhas. Após esse período o éter foi destilado e o balão foi removido e colocado em estufa a 105°C por cerca de uma hora. Em seguida foi resfriado em dessecadores e pesado. O processo de aquecimento e

resfriamento foi repetido até atingir um peso constante (intervalos de 30 min por máximo de 2 horas) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

2.4.3 Método de determinação de resíduo por incineração – Cinzas

Foram pesadas 10 g de salmão em cápsulas de porcelana previamente aquecidas em mufla a 550 °C, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas. As amostras foram carbonizadas em chapa aquecedora e foram incineradas em mufla a 550 °C até eliminação completa da parte carbônica (durante 5 horas) obtendo-se cinzas de coloração acinzentadas. Em seguida foram resfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e pesadas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

2.5 Aplicação dos filmes no alimento

Filé de salmão com aproximadamente 100 g foram envoltos em filmes antioxidantes (embalagem primária) e colocados em bandejas semi-rígidas de alumínio. As embalagens foram fechadas com tampa de papel cartão revestido com alumínio e armazenadas em expositor refrigerado, a $4 \pm 2^\circ \text{C}$.

2.6 Análise dos filmes

2.6.1 Quantificação do α -tocoferol

Pedaços de filme com dimensões de 4 x 4 cm foram picado e adicionado de 25 mL de metanol. Três ciclos de extração com metanol foram realizados para assegurar a eficiência da extração. No primeiro ciclo, os filmes em contato com o metanol ficaram em agitação (74 rpm) por 18 a 20 horas com temperatura de 40° C. Foi retirada uma alíquota para análise da primeira extração em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE). Novo metanol foi adicionado (segunda extração) e deixado em agitação por mais 12 horas à 40° C. A terceira

extração foi realizada da mesma maneira que a segunda extração. Os frascos ficaram protegidos da luz ao longo de toda a extração (MANZANAREZ-LÓPEZ et al., 2011).

O limite de quantificação do equipamento para o α -tocoferol foi determinado como sendo $0,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para quantificar o tocoferol, uma curva padrão com diferentes concentrações conhecidas do tocoferol foi obtida com o tempo de retenção de 9,2 minutos.

Alíquotas de $10 \mu\text{L}$ foram injetadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência - CLAE (Shimadzu, Modelo 10 AVP, Kioto, Japan) utilizando coluna de fase reversa C18 (VP-ODS) ($15 \text{ cm} \times 4.6 \text{ mm}$). A detecção do tocoferol foi realizada com detector de arranjo diodo (DAD) a 284 nm , em fluxo de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, usando fase móvel metanol:água (98:2) (CASTAN et al., 2005).

2.7 Análises no alimento

2.7.1 Análise de cor

Medições de cor foram determinadas utilizando-se o colorímetro Color Quest XE Huber Lab (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA) no sistema CIELab operando com fonte iluminante D65 e ângulo de observação de 10° . Os parâmetros medidos foram: L^* = luminosidade que varia de 0 (preto, escuro) a 100 (branco); a^* =intensidade de cor vermelha(+)/verde (-), b^* =intensidade da cor amarela (+)/azul (-). Os parâmetros avaliados foram: diferença global de cor (ΔE^*) e ângulo de tonalidade (h^*). Os ΔL^* , Δa^* e Δb^* foram calculados pela diferença entre o valor da amostra e o valor da amostra padrão. O salmão *in natura* no tempo zero foi utilizado como padrão. O parâmetro ΔE^* foi calculado pela seguinte equação:

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

As medições foram realizadas em três localizações no file de salmão em triplicata, girando 45° entre as medidas (VEISETH-KENT et al., 2010).

2.7.2 Medida de oxidação lipídica

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas segundo Torrieri et al. (2011). Uma amostra de 5 g foi misturada com 25 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5% em água para extração do malonaldeído (MDA). As amostras foram homogeneizadas em Ultra Turrax por 1 minuto e filtradas com funil e filtro de papel. Uma alíquota de 5 mL foi retirada do material filtrado e adicionou-se 5 mL TBA (0,02 M em água). A mistura foi aquecida a 70° C durante 15 min em banho de água e em seguida resfriada. A leitura da absorbância foi determinada em espectrofotômetro (GBC, UV/VIS 918, SHIMADZU, Japão), a 538 nm, contra um branco contendo todos os reagentes, exceto a amostra.

O malondialdeído (MDA) é uma dos produtos finais mais estáveis gerados a partir da oxidação secundária de lipídeos e de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) (JONGJAREONRAK et al., 2008). Este composto reage com o TBA formando um composto de cor rosada que é determinada espectrofotometricamente por medição da absorbância a aproximadamente 530 nm (BARBOSA-PEREIRA et al., 2013).

O teor de malonaldeído na amostra (mg de MDA/1000 g de amostra) foi calculado utilizando-se a equação da curva padrão obtida por meio de 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera malonaldeído na proporção de 1:1 mol.

2.7.3 Quantificação do α -tocoferol

A amostra do alimento também foi submetida a 3 ciclos de extração. 5 g de salmão acondicionado nos filmes antioxidantes foram picados e adicionados de 50 mL de metanol. Os frascos foram deixados em agitação (74 rpm) por 18 a 20 horas com temperatura de 40° C. Posteriormente as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 5000 x g e a porção líquida foi filtrada em filtros de 0,22 mm (Millipore, Cork, Irlanda), antes da injeção no CLAE. A segunda e terceira extração foram realizadas conforme metodologia citada anteriormente (2.6.1). Os frascos ficaram protegidos da luz ao longo de toda a extração (GRANDA-RESTREPO et al., 2009a, 2009b).

2.7.4 Quantificação de minerais

Para verificar se os minerais presentes na argila migraram para o alimento, foi realizada análise de quantificação de magnésio (Mg) e silício (Si) nas amostras de salmão acondicionadas por 8 dias nos filmes antioxidantes incorporados com MMT15A. Como controle o salmão *in natura*, sem contato com embalagem, também foi avaliado.

A determinação dos minerais foi realizada a partir de digestão via seca em mufla (Electro Therm) a 550° C, sendo as cinzas dissolvidas em 10 mL de HCl 0,5 M e agitadas por uma hora. Os minerais foram analisados por espectrometria de absorção atômica (Varian modelo SpectrAA 220FS, Austrália) (AVELLA et al., 2005). O comprimento de onda utilizado na determinação do magnésio foi 285,2 nm e do silício 251,6 nm.

2.8 Análise dos resultados

Os resultados de cor (ΔE^* e h^*), medida de oxidação lipídica (TBARS) e quantificação de tocoferol no filme e no salmão foram analisados utilizando o software Sisvar[®]. Os resultados foram submetidos à análise de

variância (ANOVA) e os modelos linear, quadrático e cúbico foram testados para as respostas. Os modelos foram avaliados em termos dos valores de F e coeficiente R². Para avaliar o resultado de migração de minerais, os dados foram submetidos ao teste de média Scott-Knott com 5% de probabilidade (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do salmão

O salmão apresentou $85,78 \pm 5,25$ % de umidade, $1,13 \pm 0,08$ % de cinzas e $10,40 \pm 1,49$ % de extrato etéreo na matéria integral. Valores próximos de cinzas e extrato etéreo foram citados por Tonial et al. (2010). Estes mesmos autores encontram valor de umidade inferior para o salmão *in natura*.

3.2 Análise dos filmes

3.2.1 Quantificação do α -tocoferol

A interação dos fatores estudados (tocoferol, MMT 15 A e tempo) foi significativa ($P < 0,05$) para a recuperação de tocoferol dos filmes. Foi realizado um desdobramento do tempo para a combinação dos fatores MMT15A e tocoferol. As equações ajustadas estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 Equações ajustadas para tocoferol recuperado dos filmes.

Filmes	Equação	R ²
3	Não ajustou equação	
4	$9,14 - 1,85t + 0,19t^2$	0,81
5	Não ajustou equação	
6	$16,05 - 1,23t + 0,26 t^2$	0,61

t: tempo

O tocoferol apresenta um grupo hidroxil que pode se ligar por ponte de hidrogênio à molécula de quitosana que apresenta características anfífilas e por isso pode emulsionar lipídeos (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). A interação entre quitosana e tocoferol, e o estado vítreo destes filmes à temperatura ambiente (abaixo da Tg) minimiza a migração do tocoferol a partir dos filmes e conseqüentemente explica a baixa recuperação desta substância nos filmes.

O maior valor de tocoferol para os filmes 4 e 6 que foram incorporados com 15% de tocoferol no tempo zero (Figura 1), é explicado pelo excesso de tocoferol livre na matriz polimérica não ligado a quitosana.

Com o contato entre filme e salmão, que apresenta alta atividade de água, ocorre a absorção da água do alimento pelo filme. Por sua vez, a água age como plastificante aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e conseqüentemente a transição vítrea dos filmes (temperatura em que o estado vítreo, sem movimento, passa para o estado gomoso) ocorre em temperaturas mais baixas, permitindo assim uma maior liberação de tocoferol para o alimento acondicionado e também uma maior recuperação do tocoferol no filme.

Ao longo do tempo, os filmes 3 e 5 apesar do efeito plastificante da água, apresentaram a menor concentração de tocoferol, indicando que as concentrações de 10% de tocoferol ou 10% de tocoferol + MMT 15 A utilizadas nestes filmes possibilitaram a formação de uma matriz coesa com interações favoráveis entre os constituintes.

Jongjareonrak et al. (2008) desenvolveram filmes de gelatina incorporados com α -tocoferol e observaram que a interação entre o antioxidante e matriz polimérica resultou na libertação reduzida do antioxidante para o produto. As interações entre o antioxidante e filme de gelatina podem ser formadas por meio de pontes de hidrogênio, particularmente durante a formação do filme. Como resultado, uma pequena quantidade de antioxidante foi extraída.

Segundo estes autores, atividade antioxidante avaliada por atividade sequestradora de radicais livres (DPPH) do extrato metanólico dos filmes de gelatina aumentou com o tempo de armazenamento (armazenados a 50% de UR e 28° C). A renaturação das cadeias de gelatina durante o armazenamento pode ter permitido a libertação do antioxidante a partir da matriz do filme. Consequentemente, maior quantidade de α -tocoferol pode ser extraída a partir do filme com o tempo de armazenamento.

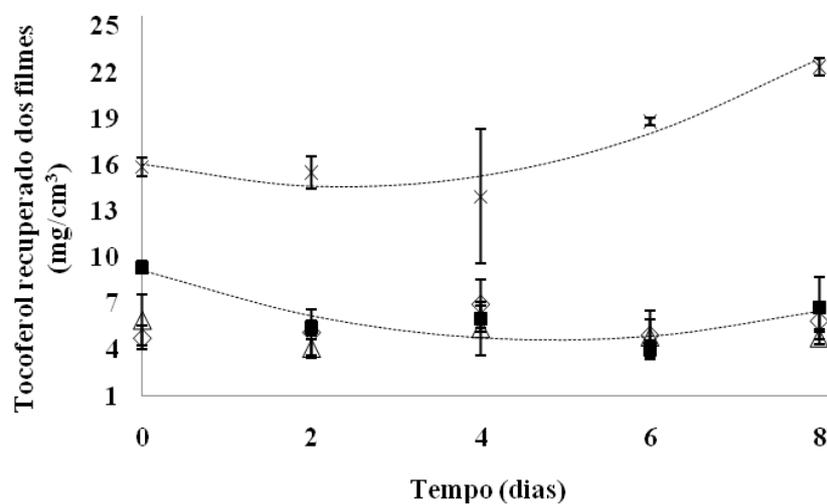


Figura 1 Tocoferol recuperado dos filmes em contato com o salmão ao longo do tempo. Os pontos representam os dados observados e as linhas tracejadas representam os dados ajustados: (◇) filme 3: 10% de tocoferol; (■) filme 4: 15 % de tocoferol; (△) filme 5: 10% de tocoferol + MMT15A; (x) filme 6: 15% de tocoferol + MMT15A

3.3 Análises no alimento

3.3.1 Quantificação do α -tocoferol no salmão

A interação dos fatores estudados (tocoferol, MMT15A e tempo) foi significativa ($P < 0,05$) para a recuperação de tocoferol do salmão. O desdobramento do fator tempo dentro das combinações de MMT15A e tocoferol não se ajustou aos modelos testados. O comportamento da recuperação de tocoferol no salmão ao longo do tempo pode ser observado na Figura 2.

Ao longo do tempo a recuperação de tocoferol no salmão aumentou. Isso pelo efeito plastificante da água nos filmes que aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas e conseqüentemente a difusão do agente incorporado nos filmes.

Observando as Figuras 1 e 2 observa-se também que a recuperação de tocoferol nos filmes 4 e 5 reduziram ao longo do tempo e corroborando com este resultado, a recuperação de tocoferol das amostras de salmão acondicionadas neste filmes, aumentou com o tempo e apresentaram os maiores valores de tocoferol em relação aos demais tratamentos no tempo 8.

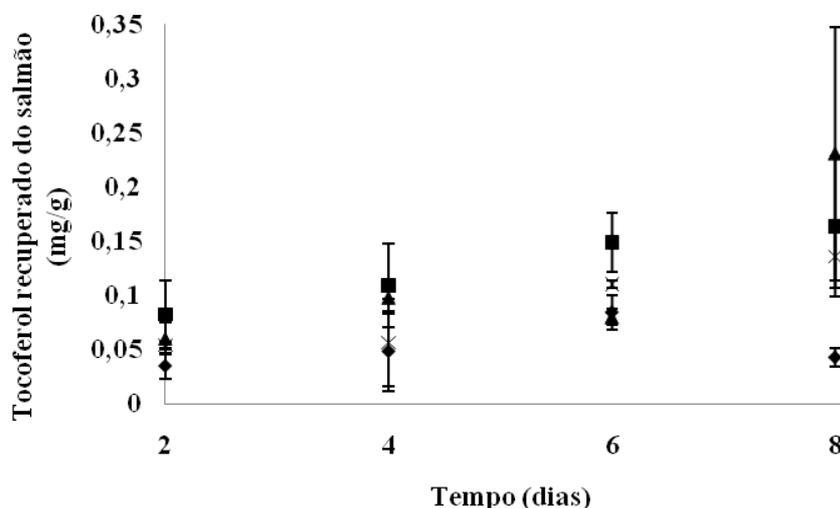


Figura 2 Tocoferol recuperado do salmão em contato com filmes antioxidantes ao longo do tempo: (◆) salmão no filme 3 (10% de tocoferol); (■) salmão no filme 4 (15 % de tocoferol); (▲) salmão no filme 5 (10% de tocoferol + MMT15A); (x) salmão no filme 6 (15% de tocoferol + MMT15A)

Pela resolução nº 4 de 1988, o uso de tocoferol como antioxidante geralmente o máximo é de aproximadamente 0,03 a 0,05 g/100g. Apenas o salmão acondicionado no filme 3 (10% de tocoferol) não excedeu essa quantidade depois de 8 dias de contato com o filme. Desta forma, os demais filmes tiveram função de enriquecer nutricionalmente o salmão.

Segundo a Portaria nº 33, de 1998 a ingestão diária recomendada (IDR) é a quantidade de vitaminas, minerais e proteínas que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia (BRASIL, 1998). A IDR de tocoferol (vitamina E) para adultos é de 10 mg por dia. Considerando por exemplo o salmão acondicionado no filme 6 (15% de tocoferol + MMT15A), seria necessário o consumo de aproximadamente 70 gramas de salmão para alcançar a IDR de tocoferol.

3.3.2 Medida da oxidação lipídica

O efeito antioxidante do filme foi determinado pela capacidade de inibir a oxidação dos lipídios em salmão durante o armazenamento a 4° C pelo método TBARS. Pela análise de variância, a interação dos fatores tempo, tocoferol e MMT15A foi significativa ($P < 0,05$). Foi realizado um desdobramento do tempo para a combinação dos fatores mmt15a e tocoferol.

O salmão acondicionado no filme de quitosana (Filme 1) apresentou aumento linear ao longo do tempo para os valores de TBARS (Tabela 3). Os filmes 1 e 2, sem tocoferol apresentaram no oitavo dia de acondicionamento valores similares, 1,976 e 2,045 mg de MDA/kg de salmão respectivamente.

Tabela 3 Equações ajustadas em função do tempo para os valores de substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) do salmão acondicionado em diferentes filmes antioxidantes.

Filmes	Equação	R ²
1	$0,331 + 0,201t$	0,96
2	Não ajustou equação	
3	$0,312 + 0,08t$	0,93
4	$0,472 - 0,231t + 0,06t^2$	0,90
5	$0,463 - 0,275t + 0,06t^2$	0,91
6	$0,32 + 0,10t$	0,83

t: tempo em dias

O salmão acondicionado nos filmes 3 e 6 (10% de tocoferol e 15% de tocoferol + MMT 15 A respectivamente) apresentaram também um comportamento de TBARS linear entretanto em uma taxa menor que o observado para o salmão do filme 1 (Figura 3). Depois de 8 dias, as amostras de salmão dos filmes 3 e 6 apresentaram valores inferiores de TBARS em relação ao salmão do filme 1. O salmão acondicionado nestes filmes foram as amostras que apresentaram menor concentração de tocoferol no tempo 8.

O salmão dos filmes 4 e 5 apresentaram valores inferiores de TBARS em relação ao controle até o sexto dia de acondicionamento, entretanto, no

oitavo dia, os valores de TBARS para estas amostras foram superiores a do controle. Segundo Crowe et al. (2012), nível de TBARS acima de 2,0 mg MDA/kg está associado com odor e sabor rançoso em peixes. Apenas estes dois tratamentos 4 e 5 com oito dias apresentaram TBARS superiores a 2,0 mg MDA/kg. As amostras de salmão acondicionadas nestes filmes apresentaram o maior teor de tocoferol (Figura 3). Em concentrações muito elevadas, o α -tocoferol pode apresentar efeito pro-oxidante. Isto acontece porque em concentrações elevadas, α -tocoferol, perde a sua atividade de inibir a formação de hidroperóxidos demonstrando uma baixa efetividade na inibição da oxidação primária (BARBOSA-PEREIRA et al., 2013).

Barbosa-Pereira et al. (2013) observaram que aumentando a concentração de tocoferol em filmes de polietileno de baixa densidade, a oxidação em salmão a 4° C por 10 dias medida por TBARS não reduziu.

Sallam (2007a) relataram 0,4 mg de MDA/kg de salmão no tempo 0 e de aproximadamente 1,1 mg de MDA/kg de salmão depois de 8 dias a 1° C.

Crowe et al. (2012) relataram valores de TBARS para salmão armazenado a 4° C no tempo zero de 0,35 mg MDA/kg e depois de 10 dia valor de TBARS de 1,74 mg / kg. Barbosa-Pereira et al. (2013) acharam valor de TBARS de 5 mg de MDA/kg de salmão a 4° C com 8 dias em filme controle e 3,2 mg de MDA/kg de amostra para salmão em filme com tocoferol.

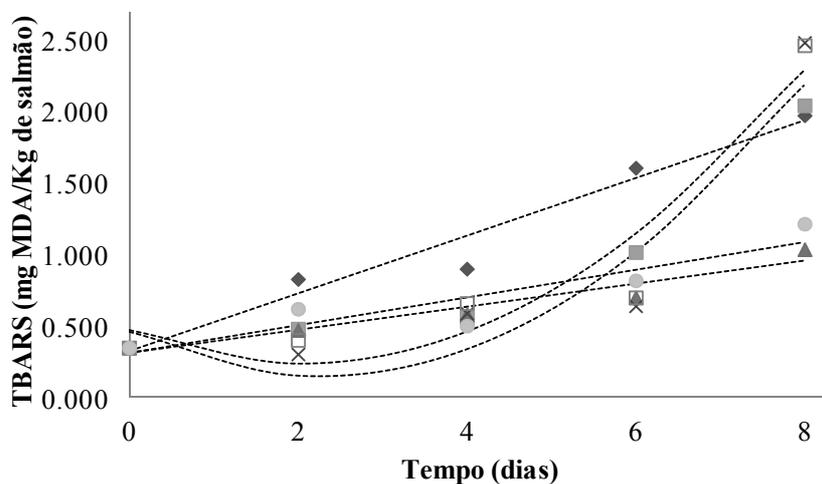


Figura 3 Oxidação lipídica do salmão acondicionado em filmes antioxidantes ao longo do tempo. Os pontos representam os dados observados e as linhas tracejadas representam os dados ajustados: (◆) filme de quitosana; (■) filme de quitosana + MMT 15 A; (▲) filme de quitosana + 10% de tocoferol; (x) filme de quitosana + 15% de tocoferol; (□) filme de quitosana + 10% de tocoferol + MMT15A; (●) filme de quitosana + 15% de tocoferol+ MMT15A

Jongjareonrak et al. (2008) desenvolveram filmes de gelatina incorporados com hidroxitolueno butilado (BHT) ou α -tocoferol e a partir dos resultados observaram que não houve diferenças no valor TBARS para o produto (banha de porco) acondicionado em filmes de gelatina incorporados com e sem antioxidante. Filmes de gelatina podem funcionar como barreira a permeabilidade do oxigênio e, conseqüentemente reduzir a taxa de oxidação do produto. Além disso, os antioxidantes incorporados podem não ter migrado para o alimento em função da interação com a matriz polimérica.

3.3.3 Análise de cor

O salmão no tempo 0 apresentou $L^* = 40,35$; $a^* = 8,78$; $b^* = 7,58$ e $h^* = 40,83^\circ$. Rora et al. (1998) relataram parâmetros de cor para salmão de 45,5; 11,4; 15,6 e $53,9^\circ$ para L^* , a^* , b^* e h^* respectivamente. Skrede e Storebakken (1986) relataram valores de L^* , a^* , b^* , h^* para salmão de 40,3; 13,4; 14,4 e $47,1^\circ$ respectivamente.

O h^* (ângulo de tonalidade) das amostras nos demais tempos variou de $34,27 - 45,97^\circ$, ou seja as amostras de salmão pela localização no sólido de cor são predominantemente de coloração laranja (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Para o parâmetro ΔE^* a interação dos fatores tocoferol e tempo foi significativa. Foi realizado um desdobramento do tempo para a concentração de tocoferol. ΔE^* avalia a diferença global de cor entre um padrão e uma amostra qualquer. Diferenças da ordem de 5 podem ser facilmente detectadas pelo olho humano (RAMOS; GOMIDE, 2007). Nenhum tratamento apresentou diferença maior que 5 (Figura 4). As embalagens utilizadas, mesmo as sem tocoferol foram eficientes para minimizarem a alteração da coloração do salmão ao longo do tempo. O simples uso de embalagem reduz a concentração de oxigênio com o produto, auxiliando na redução da oxidação (JONGJAREONRAK et al., 2008).

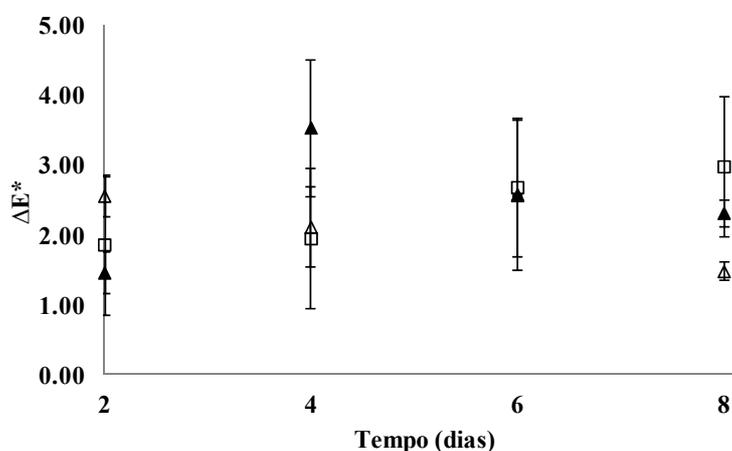


Figura 4 Valores de ΔE^* dos filmes antioxidantes com diferentes concentrações de tocoferol ao longo do tempo: (Δ) filmes sem tocoferol; (\square) filmes com 10% de tocoferol; (\blacktriangle) filmes com 15% de tocoferol

Yagiz et al. (2010) relataram valores de ΔE^* para salmão acondicionado a 4° C de 7,2 e 5,7 para o tempo 0 e seis dias respectivamente.

3.3.4 Quantificação de minerais

Para verificar a migração de minerais da argila para o salmão, fez-se um teste de média para comparar os resultados de minerais do salmão acondicionado nos filmes com MMT15A e do salmão *in natura* (Tabela 4).

Hellanda et al. (2005) relataram valor inferior de magnésio para salmão, 282,3 mg/kg. A concentração de magnésio nas amostras embaladas em filmes com MMT15A foi maior ($P < 0,05$) que a concentração do salmão sem contato com os nanocompósitos. Segundo a Portaria nº 33, de 1998 a IDR de magnésio é de 300 mg (BRASIL, 1998). Para o mineral silício, não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 4 Quantidade de magnésio (Mg, mg/100g de salmão) e silício (Si, mg/100g de salmão) em salmão sem contato com o filme antioxidante (salmão *in natura*) e salmão acondicionado por 8 dias em diferentes filmes.

Filmes	Mg	Si
Salmão <i>in natura</i>	0,478 ± 0,106 ^a	0,013 ± 0,002 ^a
2	1,286 ± 0,167 ^b	0,017 ± 0,004 ^a
5	1,448 ± 0,404 ^b	0,007 ± 0,000 ^a
6	1,628 ± 0,134 ^b	0,022 ± 0,008 ^a
<i>F</i>	0,003	0,127

Avela et al. (2005) avaliaram a migração de minerais em vegetais embalados em nanocompósitos de amido e MMT e não detectaram aumento no teor de magnésio nos vegetais. Enquanto que o teor de Si nos vegetais em contato com as embalagens com MMT foi maior.

4. CONCLUSÃO

Os filmes desenvolvidos foram eficientes para minimizarem a alteração de cor ao longo dos 8 dias. As amostras acondicionadas nos filmes com 10% de tocoferol e 15% de tocoferol + MMT 15 A apresentaram valores inferiores a 0,14 mg de tocoferol/g de salmão e este valor foi suficiente para reduzir a oxidação lipídica em salmão. Teores superiores de tocoferol, agiram como pro-oxidantes no salmão. O teor de magnésio em salmão acondicionados com nanocompósitos aumentou depois de 8 dias mostrando que ocorre migração destas cargas incorporadas na matriz polimérica para o alimento. Mais estudos sobre a toxicidade destes nanocompósitos são necessários para garantir a segurança ao consumidor.

Agradecimentos:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro.

Referências

ABREU, D. A. P. de et al. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Food Research International**, Barking, v. 43, n. 5, p. 1277-1282, June 2010.

_____. Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film containing antioxidants. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 1, p. 315-320, May 2011.

AVELLA, M. et al. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 3, p. 467-474, Dec. 2005.

BARBOSA-PEREIRA, L. et al. Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. **Food Control**, Guildford, v. 31, n. 1, p. 236-243, May 2013

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 33**, de 13 de janeiro de 1998. Adota a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas, minerais e proteínas a ser utilizada como parâmetro de ingestão desses nutrientes por indivíduos e diferentes grupos populacionais. Brasília, 1998. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/regutec.htm>>. Acesso em: 6 dez. 2012.

BOUWMEESTER, H. et al. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Duluth, v. 53, n. 1, p. 52-62, Feb. 2009.

CROWE, K. M. et al. Application of ozone sprays as a strategy to improve the microbial safety and quality of salmon fillets. **Food Control**, Guildford, v. 25, n. 2, p. 464-468, June 2012.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

GRANDA-RESTREPO, D. M. et al. Release of antioxidants from co-extruded active packaging developed for whole milk powder. **International Dairy Journal**, Barking, v. 19, n. 8, p. 481-488, Aug. 2009.

HELLANDA, S. et al. Mineral balance and bone formation in fast-growing Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) in response to dissolved metabolic carbon dioxide and restricted dietary phosphorus supply. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 250, n. 1/2, p. 364-376, Nov. 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, 2005. 1017 p.

JONGJAREONRAK, A. et al. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 449-458, May 2008.

MANZANAREZ-LÓPEZ, F. et al. Release of α -Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 104, n. 4, p. 508-517, June 2011.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Viçosa, MG: UFV, 2007. v. 1, 599 p.

RORA, A. M. B. et al. Process yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) in relation to raw material characteristics. **Food Research International**, Barking, v. 31, n. 8, p. 601-609, 1998.

SALLAM, K. I. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. **Food Control**,

Guildford, v. 18, n. 5, p. 566-575 May 2007a.

_____. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 2, p. 592-600, Jan. 2007b.

SIGURGISLADOTTIR, S. et al. Effects of astaxanthin feeding natural tocopherols and on Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillet quality. **Food Research International**, Barking, v. 27, n. 12, p. 23-32, Dec. 1994.

SKREDE, G.; STOREBAKKENZ, T. Instrumental colour analysis of farmed and wild atlantic salmon when raw, baked and smoked. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 53, n. 3/4, p. 279-286, May 1986.

SONE, I.; OLSEN, R. L.; HEIA, K. Spectral Changes of Atlantic Salmon

(*Salmo salar* L.) muscle during cold storage as affected by the oxidation state of

Heme. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 38, p. 9719-9726, Sept. 2012.

SONE, I. et al. Classification of fresh Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets stored under different atmospheres by hyperspectral imaging. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 109, n. 3, p. 482-489, Apr. 2012.

TONIAL, I. B. et al. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 1, p. 93-98, jan./mar. 2010.

TORRIERI, E. et al. Effect of modified atmosphere and active packaging on the shelf-life of fresh bluefin tuna fillets. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 105, n. 3, p. 429-435, Aug. 2011.

VEISETH-KENT, E. et al. The effect of postmortem processing treatments on quality attributes of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) measured by sensory and instrumental methods. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 1, p. 275-281, July 2010.

YAGIZ, Y. et al. Correlation between astaxanthin amount and a* value in fresh Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle during different irradiation doses. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 1, p. 121-127, May 2010.

Conclusão geral

Para o desenvolvimento de filmes funcionais com tocoferol encapsulado indica-se o uso de 10% de toc-encap + NaMMT para se ter filmes mais resistentes;

Para o desenvolvimento de filmes antioxidantes com tocoferol, recomenda-se o uso de até 10% de tocoferol + MMT 15A para evitar o efeito pro-oxidante do agente ativo e para se ter filmes com propriedades melhoradas;

A partir dos resultados de migração de minerais da MMT 15A, mais estudos sobre a toxicidade desses nanocompósitos são necessários para garantir a segurança ao consumidor.