



VIVIANE MACHADO DE AZEVEDO

**NANOCOMPÓSITOS COM ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE AMIDO DE
MILHO/ISOLADO PROTEICO DE SORO DE
LEITE/ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM
OBTIDOS POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA**

LAVRAS – MG

2016

VIVIANE MACHADO DE AZEVEDO

**NANOCOMPÓSITOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AMIDO
DE MILHO/ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE/ ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM OBTIDOS POR EXTRUSÃO
TERMOPLÁSTICA**

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.

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges

Orientadora

LAVRAS - MG

2016

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Azevedo, Viviane Machado de.

Nanocompósitos com atividade antioxidante de amido de milho/isolado proteico de soro de leite/ óleo essencial de alecrim obtidos por extrusão termoplástica / Viviane Machado de Azevedo. – Lavras : UFLA, 2016.

187 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientadora: Soraia Vilela Borges.

Bibliografia.

1. Extrusão. 2. Nanocompósitos. 3. Microencapsulação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

VIVIANE MACHADO DE AZEVEDO

**NANOCOMPÓSITOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AMIDO
DE MILHO/ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE/ ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM OBTIDOS POR EXTRUSÃO
TERMOPLÁSTICA**

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 1º de abril de 2016.

Profa. Dra. Maria Irene Yoshida	UFMG
Prof. Dr. José Manoel Marconcini	Embrapa Instrumentação
Profa. Dra. Marali Vilela Dias	UFLA
Prof. Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli	UFLA

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

LAVRAS - MG

2016

AGRADECIMENTOS

A Deus, por caminhar sempre ao meu lado e, em outros momentos, me carregar no colo. Por guiar todos os meus passos e permitir a conquista de mais esta vitória em minha vida.

Aos meus pais, Maria José e Vitor, pelo amor, confiança, apoio, incentivo e por me ensinarem que conhecimento é algo que ninguém tira, e que o caminho certo da vida é aquele sentimento que vem do coração. Serei eternamente grata, pois sem vocês eu não chegaria até aqui!!!

A minha irmã Liliane pelo amor e força, por sempre acreditar em mim, pelo amor que temos uma pela outra, minha amiga e companheira de todas as horas.

Ao meu marido Anselmo, uma pessoa especial que a vida me apresentou, pelo amor, compreensão, incentivo, pela paciência em me ouvir, auxiliar em todos os momentos, e que crescer juntos é muito melhor do que crescer sozinho. A minha linda família Barbosa, pelo incentivo, atenção e amor.

A minha orientadora, Dr. Soraia Vilela Borges, pela orientação, conselhos, confiança, amizade, apoio, dedicação e por sempre me ouvir. Serei eternamente grata por tudo que me proporcionou até hoje. Simplesmente lhe digo: Muito obrigada amiga!!!

À professora Maria Irene Yoshida do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais pelos ensinamentos com as análises térmicas e pela paciência com os infinitos *e-mails* tirando dúvidas, exemplo de dedicação e profissionalismo.

Ao prof. Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli do Departamento de Ciências Florestais da UFLA principal responsável pelo meu caminho entre UFLA e Embrapa.

A Camila e a Tamara, minhas queridas bolsistas de iniciação científica, que me acompanharam durante todo o doutorado, na UFLA e na Embrapa, pela amizade, companhia e diversos momentos de risadas e choros em São Carlos, serei eternamente grata a vocês. Sem vocês duas eu estaria perdida! É com imenso carinho que sempre me lembrarei de vocês, contem sempre comigo!!!

A Regiane e ao Diego, um casal maravilhoso que a UFLA me presenteou, pelos momentos de conversas e conselhos, em especial à minha amiga Regiane, uma pessoa serena e de enorme coração, sempre disposta a me ouvir e auxiliar todos que estão ao seu redor.

A Joyce uma amiga, companheira, por me conceder a primeira oportunidade de pesquisa na UFLA, por estar sempre presente em minha vida e por acreditar que a distância na verdade aproxima e fortalece ainda mais os verdadeiros amigos.

Ao Eric pela amizade, companheirismo, infinitas horas de trabalhos acadêmicos, e por me fazer acreditar que em breve a aposentadoria chega.

A Telma pela amizade, carinho e atenção, a amizade será para sempre!

A Marali Vilela Dias pela amizade, atenção, pelo convívio na época de república e por me orientar sempre que precisei.

Ao Gerson, pela amizade, atenção e por me auxiliar com o desenvolvimento das microcápsulas para execução deste trabalho.

A Gabriella Santos, pela amizade, companheirismo, pelos momentos de emoções, pelas infinitas horas de conversas durante a madrugada e por mostrar que a vida nos ensina a cada dia, amiga de todas as horas, minha irmãzinha de república, de coração e para toda a vida.

A todos os meus amigos do nosso novo, pequeno e aconchegante Laboratório de Embalagens da UFLA, em especial Raíssa, Pedro, Jayne, Rhana e Eloá pelo carinho e atenção.

Ao meu supervisor na Embrapa Instrumentação, Dr. José Manoel Marconcini pela orientação, apoio e confiança depositada para a realização deste trabalho e principalmente por me receber na Embrapa.

Ao Professor Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso presidente da Embrapa Instrumentação.

A Mirella Carelli e Kelen Amaral, pela atenção, carinho e por me receberem de braços abertos na Embrapa.

Aos técnicos de Laboratório da Embrapa, em especial, Alice Raabe, Viviane, Adriana Thomazi, Silviane e Paulo Renato, de quem eu nunca ouvi um simples “não” e que me acolheram com muito carinho em todos os momentos que precisei. A todos os integrantes da Embrapa por fazerem da Unidade um excelente ambiente de trabalho e por promoverem um intercâmbio de conhecimentos com alunos de várias Universidades do Brasil e Exterior.

Aos amigos que conquistei na Embrapa Instrumentação que me proporcionaram momentos felizes com muitas risadas e muita produtividade, pelos horários de almoço todos os dias juntos, em especial, Elaine, Amanda Giroto, André Esteves, Francys, Alfredo Sena e Kele Carvalho.

Aos estagiários, Pedro e Fernando Ken pela boa vontade e por me auxiliarem nos processos de extrusão. Contem sempre comigo!!!

À Embrapa Instrumentação por toda estrutura disponibilizada para a realização dos experimentos desta tese, um local com oportunidades únicas.

Ao CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro durante a graduação, mestrado e doutorado e recursos para o desenvolvimento deste projeto.

Enfim, a minha eterna gratidão à Universidade Federal de Lavras (UFLA), pelo ensino gratuito e de qualidade e a todos os professores, laboratoristas e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela colaboração, carinho e atenção durante toda a minha vida acadêmica.

A todos os meus amigos, que com simples gestos de carinho e amizade, estiveram presentes durante todo o período de UFLA. É com muita alegria e uma saudade que chega a doer que aqui me despeço da Universidade Federal de Lavras!!

RESUMO GERAL

A fim de melhorar a qualidade e segurança dos alimentos, as embalagens ativas surgem como uma nova tecnologia com base na liberação de compostos que são benéficos aos produtos alimentares. Assim, filmes biodegradáveis incorporados com substâncias ativas possuem a função de agir como barreira a elementos externos, protegendo o produto e aumentando sua vida útil. São elaborados a partir de proteínas, polissacarídeos, lipídeos ou da combinação desses compostos. No entanto, existe a necessidade de melhorar as propriedades de desempenho dessas embalagens, assim a nanotecnologia surge com o estudo de várias nanopartículas como aditivos para modificar o desempenho de polímeros biodegradáveis. Diante disto, objetivou-se desenvolver um filme ativo antioxidante de blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite com óleo essencial de alecrim ou microcápsulas de óleo essencial de alecrim reforçado com nanopartículas de montmorilonita sódica (MMTNa⁺) pela técnica de extrusão. Os filmes foram desenvolvidos e caracterizados em uma primeira etapa para seleção da melhor blenda polimérica pelas seguintes análises: permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades mecânicas, propriedades ópticas, termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Na segunda etapa, foram adicionados nanopartículas de argila montmorilonita como reforço e óleo essencial de alecrim para avaliar seu efeito antioxidante. Em uma terceira etapa, foi estudada a adição de microcápsulas de óleo essencial de alecrim (MA) como forma de proteção do agente ativo e seu potencial antioxidante nos filmes. Os resultados indicaram que o desenvolvimento de blendas poliméricas com 30% de substituição de amido de milho é o mais indicado para trabalhos futuros. A adição de óleo essencial de alecrim ou microcápsulas de óleo essencial de alecrim possibilitaram a obtenção de nanocompósitos com potencial antioxidante para aplicação em embalagens para alimentos.

Palavras-chave: Blendas Poliméricas. Óleo essencial. Nanotecnologia.

GENERAL ABSTRACT

In order to improve the quality and safety of food, the active packaging emerges as a new technology based on the release of composites beneficial to food products. Thus, biodegradable films incorporated with active substances have the function of acting as a barrier to external elements, protecting the product and increasing its shelf life. They are formulated from proteins, polysaccharides, lipids or from the combination of these compounds. However, there is a need to improve the performance properties of these packages. Nanotechnologies, then, emerges with the study of many nanoparticles as additives to modify the performance of biodegradable polymers. With this, we aimed at developing and active antioxidant film of corn starch blenders and whey protein isolate with rosemary essential oil or microcapsules of rosemary essential oil reinforced with sodium montmorillonite (MMTNa⁺) nanoparticles by extrusion. The films were developed and characterized in a first stage for the selection of the best polymeric blender using the following analyses: water vapor permeability (WVP), mechanical properties; optical, thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), x-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). In the second stage, montmorillonite clay nanoparticles and rosemary essential oil were added as reinforcement to evaluate its antioxidant effect. In a third stage, we studied the addition of microcapsules of rosemary essential oil (MR) as a form of protecting the active agent and its antioxidant potential in the films. The results indicate that the development of polymeric blender with 30% of corn starch substitution is the most indicated for future work. The addition of rosemary essential oil or microcapsule of rosemary essential oil allowed for the obtaining of nanocomposites with antioxidant potential for application in food packages.

Keywords: Polymeric blenders. Essential oil. Nanotechnology.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	11
1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Amido de milho	15
2.2	Soro de leite	18
2.2.1	Proteínas do soro de leite e filmes biodegradáveis	20
2.3	Blendas poliméricas	23
2.4	Nanotecnologia e nanopartículas	24
2.4.1	Montmorilonita	27
2.5	Óleos essenciais e óleo essencial de alecrim	30
2.6	Microencapsulação de óleos essenciais	32
2.7	Processamento de filmes biodegradáveis pela técnica de extrusão 35	
2.8	Embalagens ativas	37
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS	39
4	CONCLUSÃO GERAL	41
	REFERÊNCIAS	43
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	61
	ARTIGO 1 - EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO AMIDO DE MILHO POR ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE EM FILMES DE BLENDA BIODEGRADÁVEIS OBTIDOS POR EXTRUSÃO	61
	ARTIGO 2 - NANOCOMPÓSITOS ANTIOXIDANTES DE AMIDO TERMOPLÁSTICO/ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM OBTIDOS POR EXTRUSÃO	101

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Filmes de polímeros naturais incorporados com compostos para o desenvolvimento de embalagens ativas têm despertado interesse, pois, além de reduzir o impacto sobre o meio ambiente, proporcionam, de maneira saudável e eficaz, qualidade aos alimentos. Um dos tipos de embalagens ativas a fim de prolongar a vida útil de alimentos são as embalagens antioxidantes. O princípio de atuação desse tipo de embalagem é a adição de substâncias ao filme que são liberadas de maneira controlada e, por isso, estão presentes em menores quantidades no alimento (GÜÇBILMEZ; YEMENICIOĞLU; ARSLANOĞLU, 2007). Entre as substâncias ativas utilizadas, estão os compostos de origem natural, tais como vários componentes de óleos essenciais de plantas e aromas alimentares (ALMENAR et al., 2009; HAMILTON-KEMP et al., 1992). No entanto, embora a maioria destas substâncias sejam “GRAS” (Geralmente Reconhecido como Seguros), sua utilização é frequentemente limitada devido à sua influência sobre as características organolépticas do produto (ALMENAR et al., 2009).

Conhecido como óleo de alecrim, *Rosmarinus officinalis L.* é uma especiaria amplamente conhecida devido ao seu forte aroma e atividade antioxidante. O óleo essencial desta planta também tem sido estudado devido à sua atividade antimicrobiana (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; GENENA et al., 2008).

Pesquisas sobre as propriedades antimicrobianas e antioxidantes de filmes baseados em proteínas do leite, amido, quitosana, incorporados com vários óleos essenciais (orégano, alecrim, alho, pimenta, canela) (ABDOLLAHI; REZAEI; FARZI, 2012a, 2012b, 2014; ATARÉS; CHIRALT, 2016; BOTREL et al., 2010; GÓMEZ-ESTACA et al., 2010; HAFSA et al., 2016; MELO et al.,

2012; OUSSALAH et al., 2006; SEYDIM; SARIKUS, 2006; ZIVANOVIC; CHI; DRAUGHON, 2005) têm sido realizadas e apresentaram bons resultados. Porém, ainda existem poucos estudos sobre compostos antioxidantes com óleos essenciais em embalagens ativas a partir de blendas poliméricas biodegradáveis. Selecionar um agente antioxidante implica não só a avaliação da sua eficácia contra radicais livres, mas também de interações com o polímero que formará o filme. Estas interações podem prejudicar a atividade antioxidante e as propriedades do próprio filme, sendo ambos primordiais para o desenvolvimento de filmes ativos comercialmente bem sucedidos.

Para determinadas utilizações, alguns polímeros necessitam apresentar propriedades diferentes ou melhoradas como, por exemplo, brilho, flexibilidade, maior rigidez, transparência. Existe uma necessidade contínua para modificar as propriedades destes materiais para novas aplicações. Nesse caso, o desenvolvimento de blendas poliméricas a partir da adição de outro componente, pela mistura de biopolímeros, pode levar à obtenção de uma mudança nas propriedades de desempenho em relação ao polímero puro (FERREIRA et al., 2009; SOEST et al., 1996; ZALESKA; RING; TOMASIK, 2001). A mistura de dois ou mais polímeros de alta massa molar em conjunto com um plastificante e um solvente para a obtenção de novos materiais poliméricos é denominado blendas poliméricas. A mistura polimérica pode exibir propriedades superiores quando comparadas às propriedades de cada polímero puro (FERREIRA et al., 2009; LOPEZ et al., 2014; ZALESKA; RING; TOMASIK, 2001).

Existem poucas informações sobre blendas de polímeros biodegradáveis em comparação às blendas sintéticas. Filmes obtidos pela combinação de polissacarídeos (amidos, alginatos, celulose e quitosana) com proteínas (proteínas do leite, proteína de soja, proteína de ervilha, colágeno e gelatina) foram desenvolvidos (CHEN et al., 2013; CHENG et al., 2003; FERREIRA et al., 2009; LOPEZ et al., 2014; PEREDA; ARANGUREN; MARCOVICH, 2008;

SILVA et al., 2007; ZALESKA; RING; TOMASIK, 2001) tendo em vista a modificação das propriedades de filmes a partir de blendas poliméricas quando comparados aos filmes obtidos a partir do polímero puro.

No entanto, a fim de tornar biopolímeros capazes de competir com os polímeros tradicionais, ainda há uma necessidade de reduzir os custos de produção, modificar suas propriedades, incluindo a estabilidade térmica, propriedades mecânicas e propriedades de barreira (AZEVEDO et al., 2015; WANG et al., 2005). Assim, a nanotecnologia tem se difundido amplamente, visando à aplicação na área de embalagens para alimentos, uma vez que embalagens constituídas a partir de materiais poliolefinicos ou biodegradáveis, incorporadas com nanopartículas, apresentam propriedades mecânicas, ópticas, estruturais, antioxidantes e de barreira melhoradas. O desenvolvimento de novos materiais, novos produtos e processos baseados na incorporação de nanopartículas na matriz polimérica são vistos como a mais importante das nanotecnologias na área de alimentos (BAO; TJONG, 2008; BOUWMEESTER et al., 2009; CHO et al., 2009; DIAS et al., 2014; VARTIAINEN et al., 2010).

Várias nanopartículas inorgânicas têm sido reconhecidas como aditivos para modificar o desempenho do polímero. Alguns exemplos dessas nanopartículas são representados por sólidos em camadas, nanofibras, nanocelulose e nanotubos de carbono, nanopartículas de silicato, de prata e de magnésio (AZEVEDO et al., 2015; SORRENTINO; GORRASI; VITTORIA, 2007). Dentre elas, destaca-se a nanoargila montmorilonita, que apresenta elevada razão de aspecto, boa capacidade de delaminação, partículas resistentes a solventes, às temperaturas empregadas em polimerização, ao atrito e às temperaturas do processo de extrusão. Em seu estado natural, tende a ser hidrofílica e apresenta baixo custo (AVELLA et al., 2005; SOTHORNVIT; RHIM; HONG, 2009).

O método de extrusão é um dos mais promissores para o processamento industrial, devido à fácil escala, rapidez no processamento e possibilidade de moldagem de materiais. No entanto, não existem pesquisas sobre a extrusão de embalagens ativas incorporadas com óleos essenciais sendo necessários maiores estudos. Além disso, a extrusão de filmes biodegradáveis aumentaria seu potencial comercial, oferecendo várias vantagens em relação aos filmes desenvolvidos por *casting* (evaporação do solvente). Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um nanocompósito com atividade antioxidante de blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite com óleo essencial de alecrim, reforçado com nanopartículas de argila montmorilonita sódica (MMTNa^+) pela técnica de extrusão.

Os objetivos específicos deste estudo foram: avaliar a influência da substituição do amido por isolado proteico de soro de leite nos filmes desenvolvidos quanto às propriedades mecânicas, de barreira, ópticas, morfológicas, estruturais e térmicas (artigo 1). Estudar o efeito da adição de nanopartículas de argila montmorilonita sódica como reforço e óleo essencial de alecrim (artigo 2) e microcápsulas de óleo essencial de alecrim com nanopartículas de argila montmorilonita sódica (artigo 3) como nanocompósitos com atividade antioxidante.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Amido de milho

O amido é um dos materiais mais abundantes produzidos pela natureza sendo encontrado principalmente no milho, trigo, arroz, batata e mandioca sob a forma de grânulos de reserva. Esse polissacarídeo apresenta inúmeras aplicações industriais e suas variações de tamanho, forma e composição dependem de sua origem botânica (HARTMANN; KAPLAN, 1998; MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2012). O amido é formado por duas frações: amilose e amilopectina. A amilose representa entre 15 a 30% do amido (SRICHUWONG et al., 2005), sendo solúvel em água e é formada por unidades de glicose com ligações glicosídicas α -1,4 formando assim unidades de maltose (estrutura linear). Amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 com ramificações de glicose ligadas em α -1,6 (estrutura ramificada), sendo insolúvel em água (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; GARCÍA et al., 2011). Possui uma estrutura alternada de fase amorfa e cristalina, sendo a região das cadeias laterais de amilopectina responsáveis pela estrutura cristalina (LECORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012; OATES, 1997).

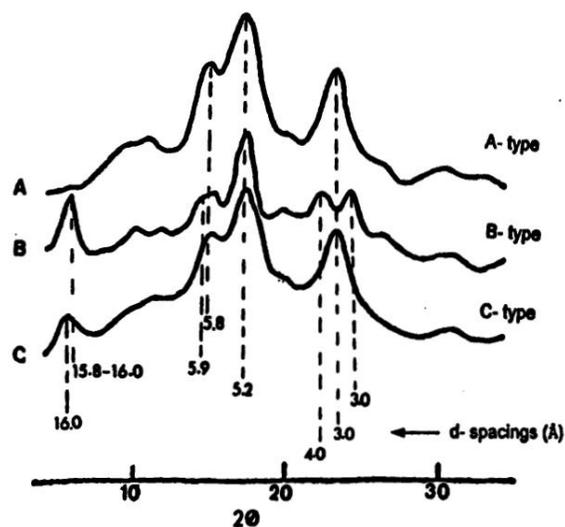
Dependendo do seu padrão de difração de raios X, os grânulos de amidos são classificados em estruturas cristalinas (polimorfos) que consistem no empacotamento das duplas hélices de amilopectina, chamados cristais dos tipos A, B e C (Figura 1) (BILIADERIS, 2009; JACOBS; DELCOUR, 1998; LECORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012). Quanto maior a quantidade de cristais em um plano de uma estrutura, mais intensos, pontiagudos e estreitos serão os picos na difração de raios X. Picos mais largos e menores são característicos de regiões amorfas (AZEVEDO et al., 2015; CANEVAROLO JUNIOR, 2004).

Os cristais do Tipo A são comuns em cereais e possuem estruturas de duplas hélices formadas por amilose e amilopectina, dispostas em arranjo

monocíclico. O Tipo B possui duplas hélices em arranjo hexagonal com estrutura aberta e altamente hidratada sendo encontrado em amidos de tubérculos. Os cristais do Tipo C correspondem a uma mistura dos Tipos A e B com forma polimórfica (JAYAKODY, 2002; LECORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012; SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). Quando ocorre recristalização do amido em presença de ácido graxo ou álcool de cadeia longa, surge uma estrutura do Tipo V. O padrão V é atribuído a um amido complexo, no qual as cadeias de resíduos de glicose formam uma hélice com o exterior hidrofílico e um centro hidrofóbico, contendo uma molécula apolar como um lipídeo (JAYAKODY, 2002; THOMAS; ATWELL, 1999).

O grau de cristalinidade para amidos Tipo “A” (31 a 37,1%) é maior que para amidos do Tipo “B” (27,2 a 29,8%) e C (27,8%) (SRICHUWONG et al., 2005), no qual exerce importante função na estrutura do grânulo e em suas características físico-químicas, como a susceptibilidade à ação enzimática e insolubilidade em água fria (TANG; MITSUNAGA; KAWAMURA, 2006).

Figura 1 - Padrões de cristalinidade dos grânulos de amido.



Legenda: A-Type (Tipo A) com picos em $15,27^\circ$ ($d = 5,8 \text{ \AA}$); $23,40^\circ$ ($d = 3,8 \text{ \AA}$); $17,05^\circ$ ($5,2 \text{ \AA}$) e $18,01^\circ$ ($4,9 \text{ \AA}$). B-Type (Tipo B) com picos em $5,6^\circ$ - $5,52^\circ$ ($d = 15,8-16 \text{ \AA}$); $15,01^\circ$ ($d = 5,9 \text{ \AA}$); $17,05^\circ$ ($5,2 \text{ \AA}$); $19,72^\circ$ ($d = 4,5 \text{ \AA}$); $22,22^\circ$ ($d = 4 \text{ \AA}$) e $24,04^\circ$ ($d = 3,7 \text{ \AA}$). C-Type (Tipo C) com os mesmos picos apresentados no Tipo A, porém com a adição do pico em $5,52^\circ$ ($d = 16 \text{ \AA}$).

Fonte: Jayakody (2002).

Para a maioria dos amidos, a gelatinização é um processo de transformação do amido granular em pasta viscoelástica causada pelo aquecimento do amido em excesso de água e consequente expansão e hidratação dos grânulos de amido. Refere-se a uma ruptura molecular (quebra de ligações de hidrogênio) no interior dos grânulos de amido, liberando a amilose para a fase aquosa, desaparecimento das regiões cristalinas, com irreversíveis alterações em propriedades como absorção de água, inchaço dos grânulos, fusão cristalina, perda de birrefringência, solubilização do amido e desenvolvimento de viscosidade (BILIADERIS, 2009; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; LECORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012). Porém, quando o aquecimento do amido é realizado em presença de pequenas quantidades de água, o fenômeno

que indica o rompimento de seus grânulos é conhecido como fusão. A gelatinização do amido é vista como um processo endotérmico (ocorre entre 60° a 75 °C), assim, a calorimetria exploratória diferencial (DSC) é muito utilizada para medir a entalpia e temperatura da gelatinização para acompanhar o processo (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; LECORRE; BRAS; DUFRESNE, 2012).

Conhecer algumas propriedades do amido e seu comportamento durante o processamento tornam-se fatores importantes para o desenvolvimento de amidos termoplásticos. O processamento de amidos termoplásticos é exotérmico devido à liberação de calor em função da mistura de amido e água, resultando em um cristal de amido que é homogeneizado através de energia térmica (exemplo, extrusora) diminuindo assim o ponto de fusão do amido. O processo endotérmico induz a formação de regiões cristalinas com consequente recristalização do amido quando em repouso. No exotérmico, o amido não se recristaliza, pois é praticamente livre de frações cristalinas (BONA, 2007; SEBIO, 2003).

2.2 Soro de leite

Descoberto há cerca de 3000 anos e valorizado como um agente medicinal nos séculos XVII e XVIII, o soro de leite era considerado um desperdício pela indústria de laticínios. Somente no final do século XX, apareceram legislações sobre o impedimento do descarte do soro de leite sem tratamento adequado. Com o passar dos anos, houve o reconhecimento sobre a importância da composição do soro. As proteínas e outros componentes adquiriram uma base sólida em relação ao valor nutricional, funcional, e novos avanços tecnológicos sobre seu processamento foram surgindo visando aplicações que lhe agregariam maior valor comercial. No início do século XXI, estes avanços adquiriram maior foco sobre a funcionalidade biológica dos

componentes do soro de leite. Devido ao baixo custo, o soro de leite tem sido alvo de pesquisas com o surgimento de novas técnicas de processamento e separação de seus componentes para obtenção de uma gama de isolados funcionais (AZEVEDO, 2013; SMITHERS, 2008).

Soro de leite é responsável por cerca de 20% (p / p) da proteína presente no leite. Constituído por uma alta concentração de lactose (> 75%), o soro de leite, um subproduto da fabricação de queijos, é considerado um dos alimentos mais poluentes com alta demanda bioquímica de oxigênio (QI; ONWULATA, 2011; SISO, 1996; SMITHERS, 2008).

Constituído de água, proteínas de alto valor biológico, lactose e sais minerais, o soro de leite possui alto valor nutricional sendo obtido após a coagulação da caseína, a partir do leite, através da adição de ácido ou ação da quimosina (coalho) ou mineral durante a fabricação de queijos (CAPITANI et al., 2005; SMITHERS, 2008; ZADOW, 1997). É um líquido opaco, amarelo-esverdeado causado pela presença de riboflavina (vitamina B2), e pode ser obtido a partir de qualquer tipo de leite. O soro de leite pode ser obtido, em laboratório ou na indústria, a partir de coagulação enzimática (enzima quimosina), com a coagulação de caseínas, no soro doce; por precipitação ácida no pH isoeletrico (pI), resultando na caseína isoeletrica, que é transformada em caseinatos e no soro ácido; e pela separação física das micelas de caseína por microfiltração, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro, na forma de concentrado ou isolado proteico. No Brasil, a produção de soro é constituída quase que exclusivamente de soro doce, rico em lactose (AZEVEDO, 2013; DE WIT, 2001; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

As proteínas do soro de leite apresentam uma mistura de proteínas globulares compreendendo cinco frações β -Lactoglobulina (β -Lg; 50 a 60% das proteínas), α -Lactoalbumina (α -La; 20%), imunoglobulinas (IgG; 10%) e albumina sérica bovina (BSA; 6%, p / p) dentre outras proteínas menores,

incluindo componentes lactoferrina, lactoperoxidase, lisozima e fatores de crescimento (AZEVEDO, 2013; SOTHORNVIT; KROCHTA, 2001; VILLADIEGO et al., 2005; WALSTRA; JENNESS, 1984).

Comercialmente, as proteínas do soro são produzidas a partir da separação da lactose por ultrafiltração, evaporação e consequente liofilização sendo obtidas proteínas de soro concentradas (CPS) com 35 a 80% de proteínas e proteínas isoladas de soro (IPS) com um conteúdo de proteína acima de 90% (AZEVEDO, 2013).

2.2.1 Proteínas do soro de leite e filmes biodegradáveis

As proteínas do soro de leite, além de possuir alto valor nutricional, são responsáveis pela capacidade de hidratação, gelatinização, solubilidade, formação de espuma, viscosidade e propriedades de emulsão em diferentes gêneros alimentícios, sendo uma excelente fonte de aminoácidos essenciais (GARCÍA et al., 2012).

Após o processamento do queijo, o soro de leite contém, aproximadamente, 93% de água e 0,6% de proteína. Sua composição encontra-se sob diferentes formas sendo então classificado conforme sua composição, relacionado ao teor de proteína. O concentrado proteico de soro de leite (CPS) apresenta uma composição entre 35% a 82% de proteína, 4% a 8% de lactose, 4% a 8% de lipídeos e 3% a 4% de cinzas. O isolado proteico (IPS) deve apresentar acima de 90% de proteínas, 0,5% a 1% de lactose, 0,5% a 1% de lipídeos e entre 2% a 3% de cinzas (HUFFMAN, 1996). O concentrado proteico de soro de leite e o isolado proteico de soro de leite são obtidos pela remoção dos constituintes não proteicos do soro pasteurizado. O método utilizado para a concentração é através de ultrafiltração utilizando uma membrana com porosidade que permite a separação de lactose, sais e minerais (permeado) das proteínas e gorduras (retentado), seguida de secagem por atomização,

concentrando entre 35-50% de proteína. Dependendo da concentração de proteínas requerida, ou seja, acima de 50%, o processo de diafiltração é aplicado. Esse processo consiste na adição de água no retentado, seguida por uma nova ultrafiltração, sendo o produto seco por atomização atingindo 80% de proteínas com conseqüente redução de lactose no produto (AZEVEDO, 2013; HUFFMAN, 1996). A obtenção do IPS é semelhante ao CPS, porém aplica-se mais um processo: a purificação por troca iônica, no qual o soro é circulado por meio de colunas com resinas catiônicas e aniônicas, aumentando o teor de proteína e reduzindo o teor de lactose e sais minerais (AZEVEDO, 2013; BRYANT; MCCLEMENTS, 1998; PEREZ-GAGO et al., 2003).

Existe um crescente aumento em pesquisas usando as proteínas do leite, como caseína, e proteínas do soro em conjunto com outros biopolímeros naturais no desenvolvimento de filmes comestíveis e biodegradáveis (GHOSH et al., 2010; OZDEMIR; FLOROS, 2008). A diferença entre o CPS e o IPS na formação de filmes está relacionada com a maior quantidade de lactose (impurezas) presentes no CPS, que poderia gerar descontinuidades na matriz de proteína e como conseqüência aumentar a permeabilidade a gases e diminuir as propriedades mecânicas (AZEVEDO, 2013; KHWALDIA et al., 2004; OSÉS et al., 2009; RAMOS et al., 2012).

Estudos sobre a extrusão de certos biopolímeros tais como o amido, proteína de soja, e o caseinato (DE GRAAF; JANSSEN, 2000; HERNANDEZ-IZQUIERDO et al., 2008; LI; LEE, 2000; MUNGARA; ZHANG; JANE, 1998; NABESHIMA; GROSSMANN, 2001) sugerem a possibilidade de extrusão de proteínas do soro de leite para formação de filmes.

Filmes à base de proteínas de soro de leite foram desenvolvidos com sucesso utilizando isolado proteico de soro em pó combinado com glicerol ou água através da moldagem por compressão térmica por Hernandez-Izquierdo et al. (2008). A extrusão de filmes com proteínas de soro de leite poderia aumentar

o potencial comercial e o interesse das indústrias de embalagens e alimentos (HERNANDEZ-IZQUIERDO et al., 2008).

Folhas de isolado proteico de soro com glicerol e água foram obtidas utilizando extrusora dupla rosca. A temperatura de fusão no momento da formação da folha estava entre 143 e 150 °C. Folhas obtidas sob diferentes concentrações de glicerol (46 a 52% de glicerol) e velocidades da rosca (200-275 rpm) apresentaram flexibilidade, transparência e exibiram comportamento termoplástico, o que permitiu a formação de filmes mais finos em relação à moldagem por compressão (HERNANDEZ-IZQUIERDO, 2007).

Filmes de isolado proteico de soja e glicerol foram desenvolvidos por moldagem por compressão em uma temperatura de 150 °C, pressão de 10 MPa, durante 2 min de compressão (CUNNINGHAM et al., 2000). A termogravimetria (TG) indicou que a proteína de soja degrada a temperaturas superiores a 180 °C. Condições semelhantes foram utilizadas para filmes de isolado proteico de soro de leite e glicerol na moldagem por compressão, mas acima de 2min ocorreu uma degradação do filme devido às altas temperaturas. Acima de 140 °C, a degradação do filme ocorreu na faixa de pressão estudada, entre 0,81MPa e 2,25MPa (SOTHORNVIT et al., 2003). O uso de altas temperaturas na moldagem por compressão promove um aumento de desnaturação das proteínas, resultando em maior reticulação e menor solubilidade. Sothornvit et al. (2003) relataram que filmes de isolado proteico de soro de leite com glicerol obtidos a 104 °C eram flexíveis e parcialmente solúveis, enquanto os filmes produzidos a 140 °C também eram flexíveis, mas quase insolúveis. Filmes insolúveis poderiam ser usados como embalagens ou invólucros para alimentos com um conteúdo de umidade um pouco mais elevado (HERNANDEZ-IZQUIERDO; KROCHTA, 2008).

2.3 Blendas poliméricas

Filmes produzidos a partir de polímeros biodegradáveis apresentam propriedades de desempenho inferior aos filmes produzidos a partir de polímeros sintéticos convencionais. Assim, uma estratégia promissora para melhorar as propriedades destes filmes é através da mistura de biopolímeros (ATARÉS; CHIRALT, 2016; FABRA et al., 2009).

Blendas poliméricas são obtidas por fusão, e constituem misturas físicas de dois ou mais polímeros, de alta massa molar em conjunto, frequentemente, com um plastificante e um solvente resultando em uma mistura miscível ou imiscível (DE BONA, 2007). A produção de blendas visa obter determinado material polimérico com propriedades diferentes às dos polímeros puros, a fim de satisfazer uma ou mais propriedades específicas, ou seja, melhorar propriedades físicas, químicas e mecânicas; aumentar a biodegradação do material e reduzir o custo total do material, visto que o alto custo prejudica a substituição dos polímeros sintéticos por polímeros biodegradáveis na área de embalagens.

Geralmente, a obtenção de materiais a partir de misturas de polímeros é mais fácil e apresenta baixo custo quando comparado à obtenção de novos polímeros. Porém, a compatibilidade do sistema é fator imprescindível para obter uma melhoria das propriedades desses materiais. Dentre as técnicas de obtenção de blendas, há: mistura em solução, mistura em emulsão, reação “in situ” e mistura no estado fundido. A técnica mais usual e econômica para obtenção de blendas é a mistura mecânica de polímeros no estado fundido. Esses polímeros são misturados em uma extrusora dupla rosca no qual provoca o cisalhamento do material, garantindo um material homogêneo. Como desvantagem, esse método pode ocasionar formação de ligações cruzadas ou degradação térmica do polímero. No entanto, o material resultante pode apresentar propriedades desejadas e com custo de produção inferior ao polímero

puro (PELLICANO, 2010; RABELLO, 2000; ROSA; PÂNTANO FILHO, 2003).

Blendas poliméricas podem ser miscíveis, imiscíveis ou parcialmente miscíveis. A miscibilidade relaciona-se com a capacidade de dois ou mais componentes se misturarem em nível molecular, resultando em uma mistura homogênea. A verificação da miscibilidade pode ser feita através das temperaturas de transição vítrea (T_g) do material. A transição vítrea é uma transição de segunda ordem na qual ocorre o início do movimento da cadeia polimérica com a passagem do estado vítreo (moléculas mais ordenadas) para o estado borrachoso (maior flexibilidade e menor ordenação) (CANEVAROLO JUNIOR, 2006; MOTHÉ; AZEVEDO, 2002). Nas blendas miscíveis, os polímeros formam uma única fase e estão misturados em nível molecular, apresentando somente um valor de T_g , entre os valores das T_g dos polímeros individuais. Nesse tipo de blenda, os polímeros estão dispersos ao acaso e, interações intermoleculares favoráveis provavelmente ocorrem entre os dois componentes da blenda. Nas blendas imiscíveis, os componentes (polímeros) são independentes e apresentam um número de fases relacionado à quantidade de seus componentes. Conseqüentemente, se os componentes individuais da blenda imiscível apresentarem transições vítreas, espera-se que as blendas apresentem valores de T_g praticamente iguais às dos polímeros individuais. As blendas parcialmente miscíveis devem apresentar, então, valores de T_g relativos aos seus componentes, mas situados entre os valores dos polímeros individuais (LUNA et al., 2015; MOTA, 2009).

2.4 Nanotecnologia e nanopartículas

A nanotecnologia é uma tecnologia transformadora que está revolucionando diversas áreas, incluindo energia, segurança, tecnologia da informação, agricultura, proteção ambiental e saúde. Atualmente, já existem

mais de 60 países que já lançaram programas nacionais de nanotecnologia (GAO et al., 2016; LIU et al., 2009). Entre esses países, os Estados Unidos tomaram a liderança desde o início, no começo dos anos 90. Em 2000, os Estados Unidos começaram o primeiro programa de nanotecnologia nacional do mundo: o “EUA National Nanotechnology Initiative (NNI)” (PHELPS; FISHER, 2011). Entre os anos de 2001 a 2014, cerca de U\$ 19.400.000.000 foi investido pelo governo federal em engenharia de nanoescala, ciência e tecnologia através do NNI. Em 2015, U\$ 1.500.000.000 foi investido no NNI. O investimento em nanotecnologia tem aumentado e faz dos Estados Unidos um líder global no campo (GAO et al., 2016; SARGENT JUNIOR, 2013).

Recentemente, nanociência e nanotecnologia tornaram-se um tópico científico e industrial amplamente discutido que tem e terá uma influência na tecnologia e na qualidade de vida dos indivíduos usando produtos à base de nanotecnologia (LÓPEZ-LORENTE; VALCÁRCEL, 2016). O termo “nanotecnologia” abrange o desenvolvimento tecnológico dentro da escala nanométrica. Um nanômetro equivale a um bilionésimo de um metro. A nanotecnologia envolve imagem, medição, modelagem e manipulação de matéria em escala neste tamanho (GAO et al., 2016; KUMAR et al., 2009). O prefixo “*nano*” tem origem grega e significa anão. Devido ao seu tamanho, cerca de 1 - 100 nm, (AZEREDO, 2009; ROCO, 2003) as nanopartículas possuem proporcionalmente maior área de superfície e, conseqüentemente, mais átomos na superfície quando comparada a microescala. Existe um crescente aumento da produção e utilização de nanopartículas na indústria de alimentos (LÓPEZ-LORENTE; VALCÁRCEL, 2016).

Aplicações da nanotecnologia na indústria incluem a utilização de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), nanoemulsões, nanocápsulas e o uso de nanocompósitos para a embalagem de alimentos (ASSIS et al., 2012). A utilização da nanotecnologia em embalagens para a indústria de alimentos se

tornou um tema de grande interesse. Há um incentivo à exploração de novos biomateriais de embalagem, a partir de recursos renováveis (ASSIS et al., 2012; THARANATHAN, 2003) devido ao grande potencial para melhorar a qualidade dos alimentos, aumentar sua vida útil e reduzir impactos ambientais. Apesar do potencial da nanotecnologia revolucionar o setor da indústria de alimentos, assuntos como segurança do consumidor, ambiental, política e ética são muito discutidos.

A adição de nanopartículas como aditivos em polímeros tem sido utilizada a fim de melhorar o desempenho e as propriedades de embalagens (ASSIS et al., 2012; AZEVEDO et al., 2015; BRADLEY; CASTLE; CHAUDHRY, 2011; OU; YANG; YU, 1998; RODRIGUEZ et al., 2003). Com o desenvolvimento da tecnologia nos processos de fabricação de novos materiais, surgem diferentes tipos de nanopartículas como nanofibras de celulose e nanoargilas (silicatos em camadas) (ASSIS et al., 2012; BAE et al., 2009; MOHANTY; DRZAL; MISRA, 2003) utilizados na área de polímeros. Estas nanopartículas proporcionam características únicas à matriz em função de seu grau de dispersão e orientação na matriz, adesão interfacial matriz-reforço, sua morfologia controlada e pequeno volume e grande área superficial (AZEVEDO, 2013; WU; WU, 2006).

A utilização de materiais biodegradáveis resolveria o problema de impactos ambientais gerados pelos plásticos sintéticos, porém, infelizmente problemas relacionados ao processamento, desempenho, como fragilidade e baixa barreira a gases e vapor de água e custo tornam o uso destes biomateriais limitado. Assim, a aplicação de nanocompósitos em embalagens (polímeros biodegradáveis) poderia apresentar acentuada melhora das propriedades de desempenho quando comparados com os polímeros convencionais (microescala) (AZEVEDO et al., 2015; SORRENTINO; GORRASI; VITTORIA, 2007; TUNC; DUMAN, 2010). Outra preocupação é sobre o pouco conhecimento

sobre os potenciais efeitos das nanopartículas para a saúde humana. Propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais em tamanho nanométrico podem ser diferentes dos convencionais e seus efeitos e impactos não podem ser previstos a partir do conhecimento existente de materiais convencionais. Outra questão seria sobre a possível migração dessas nanopartículas da embalagem para os alimentos apresentarem um impacto negativo sobre a saúde humana ou qualidade do alimento (BRADLEY; CASTLE; CHAUDHRY, 2011).

2.4.1 Montmorilonita

A montmorilonita é uma argila em camadas de alumino-silicato que consiste em uma camada de alumina octaédrica fundida entre duas camadas tetraédricas de sílica mantidas unidas por forças eletrostáticas e Van der Waals. Apresentam plaquetas com cerca de 1 nm de espessura e prolongamento das lamelas de aproximadamente 1.000 nm, estrutura cristalina, com uma proporção elevada (relação entre o comprimento e espessura) (SOTHORNVIT; RHIM; HONG, 2009). Esta argila possui a capacidade de troca de cátions que depende da substituição de íons de baixa valência, por exemplo, Mg^{2+} para Al^{3+} na folha octaédrica. Esta substituição gera uma carga negativa na camada, que é neutralizada por íons como Na^+ ou Ca^{2+} , localizados no espaço interlamelar. Assim a água e outras moléculas polares podem entrar entre as camadas levando à expansão da estrutura da rede (VARTIAINEN et al., 2010). Como consequência, dentre as nanocargas na preparação de nanocompósitos poliméricos, a argila montmorilonita é a mais utilizada, pois apresenta excelente capacidade de absorção, boa capacidade de delaminação, são resistentes a solventes, alta área superficial, capacidade de troca ou intercalação de íons ou moléculas e propriedades catalíticas, resistente às temperaturas empregadas em polimerização e às temperaturas de atrito do processo de extrusão, e em seu

estado natural tende a ser hidrofílica. Devido à presença de cátions de sódio entre os espaços das camadas, a montmorilonita natural é hidrofílica, sendo miscível com material hidrofílico. Devido a essas propriedades, a argila montmorilonita tem sido usada como reforço em biopolímeros hidrofílicos, adsorvente para a purificação e reciclagem de sistemas de água contaminados, remoção de elementos radioativos em água, recuperação de contaminantes explosivos, dentre outras aplicações (KUMAR et al., 2015; MAJDZADEH-ARDAKANI; NAZARI, 2010; MARTINS et al., 2015; PRASAD et al., 2012; SCHOLTZOVÁ et al., 2013).

Nanocompósitos são preparados pela dispersão das nanocargas na matriz polimérica e apresentam melhoria das propriedades de desempenho (térmicas, mecânicas, estrutural, estabilidade à umidade e resistência à água) devido à presença de camadas impermeáveis de nanoargila dispersas na matriz polimérica (MAJDZADEH-ARDAKANI; NAZARI, 2010; SCHOLTZOVÁ et al., 2013; SORRENTINO; GORRASI; VITTORIA, 2007). No entanto, essas nanopartículas não são facilmente dispersas na maioria dos polímeros devido à sua preferência de empilhamento e aglomeração. Fatores como concentração de polímero, massa molar e grupos funcionais dos polímeros, tamanho, forma e superfície das partículas de argila, concentração de argila na suspensão, pH e temperatura da suspensão podem afetar interações entre argilas e polímeros (ALEMDAR et al., 2005; TUNC; DUMAN, 2010; TUNÇ; DUMAN; UYSAL, 2008). Assim, a dispersão da argila dentro do polímero tem uma significativa influência sobre as propriedades finais dos nanocompósitos (ABD ALLA; NIZAM EL-DIN; EL-NAGGAR, 2006; TUNC; DUMAN, 2010). A natureza dos componentes (silicato em camadas, polímero, plastificante e solvente) e o método de preparação determinam os compósitos obtidos. Existem três tipos de compósitos que podem ser obtidos quando a montmorilonita está associada com um polímero (FIGURA 2). Quando o polímero não é capaz de se intercalar entre

as folhas de silicato, uma fase separada do composto é obtida e as camadas da argila permanecem em estado aglomerado, caracterizando um microcompósito, semelhante a um compósito convencional. Dois tipos de estruturas de nanocompósitos ainda podem ser obtidos: intercalada e esfoliada. Na estrutura intercalada, as camadas de argila estão dispersas no polímero, em estruturas de multicamadas, porém de forma bem ordenada, alternando entre as camadas inorgânicas e o polímero. Quando as camadas de argila estão completamente desordenadas na matriz polimérica aumentando as interações polímero-argila, tem-se a estrutura esfoliada ou delaminada. Esta estrutura promove significantes melhorias nas propriedades físicas e mecânicas dos nanocompósitos, superiores às de um compósito convencional (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000; ASSIS et al., 2012; TUNC; DUMAN, 2010).

Geralmente, a adição de nanopartículas de argila montmorilonita em concentrações abaixo de 5%, em massa, nos polímeros, ocasiona melhorias em torno de 20 - 30% nas propriedades físicas em relação a compósitos convencionais (CHEN; YOON, 2005; LAVORGNA et al., 2010; MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2011; PARK et al., 2003; WANG et al., 2009). Devido à sua estrutura de lamelas, as nanoargilas podem aumentar a tortuosidade do caminho de moléculas em difusão. Assim, uma melhoria significativa nas propriedades de barreira pode ser obtida com a adição de pequenas quantidades de argila montmorilonita (AZEVEDO et al., 2015; BOUWMEESTER et al., 2009; VARTIAINEN et al., 2010). Porém, uma concentração de argila acima do limite ocasionará aglomeração de preenchimento, no qual resultará em caminhos de fácil permeação de gases ou umidade e conseqüentemente maior difusão, diminuindo assim o desempenho de barreira. Normalmente não é possível uma completa esfoliação das nanoargilas em lamelas individuais, assim, uma morfologia mista constituída por partículas de tamanho reduzido juntamente com estruturas intercaladas e esfoliadas são

obtidos (AOUADA; MATTOSO; LONGO, 2011; SANCHEZ-GARCIA; LAGARON, 2010).

Figura 2 - Esquema dos três tipos de estruturas de compósitos.



Legenda: A) fase separada (microcompósito); B) nanocompósito intercalado; C) nanocompósito esfoliado.

Fonte: Assis et al. (2012) e Tunc e Duman (2010).

2.5 Óleos essenciais e óleo essencial de alecrim

Extraídos a partir de plantas e especiarias, os óleos essenciais tornam-se interessantes aditivos na indústria de alimentos, pois exibem propriedades antimicrobiana, antioxidantes e não apresentam efeitos negativos sobre a saúde humana (ALVES-SILVA et al., 2013; ATARÉS; CHIRALT, 2016; VIUDAMARTOS et al., 2010). Além disso, a maior parte deles é classificada como Geralmente Reconhecidos como Seguros (GRAS). Porém, devido ao seu forte sabor, sua utilização como conservante é normalmente limitada. Com o intuito de evitar este problema, os óleos essenciais podem ser incorporados em películas comestíveis e filmes (ATARÉS; CHIRALT, 2016; RUIZ-NAVAJAS et al., 2013). Nos últimos anos, várias pesquisas têm sido realizadas sobre óleos essenciais como aditivos em filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis.

Devido a sua natureza lipídica, espera-se que os óleos essenciais auxiliem na redução da permeabilidade ao vapor de água em filmes hidrofílicos e ocasionem algum impacto sobre outras propriedades do filme como tração, estrutural, ópticas, antioxidantes e/ou antimicrobiana (ATARÉS; CHIRALT, 2016). Assim, compostos ativos como óleos essenciais podem ser adicionados em filmes a fim de melhorar suas propriedades funcionais, tais como permeabilidade ao vapor de água, propriedades antimicrobianas e antioxidantes (SEYDIM; SARIKUS, 2006; TEIXEIRA et al., 2014).

Conhecida usualmente como alecrim, a espécie *Rosmarinus officinalis* L. é procedente da Região Mediterrânea e possui porte subarborescente lenhoso, ereto e pouco ramificado de até 1,5 m de altura. As folhas, muito aromáticas, medem de 1,5 a 4 cm de comprimento por 1 a 3 mm de espessura (LORENZI; MATOS; FRANCISCO, 2002) e atualmente é cultivado em quase todo território brasileiro (GENENA et al., 2008).

O óleo essencial de alecrim é usualmente isolado das folhas frescas por hidrodestilação tradicional ou extração por solvente orgânico (OKOH; SADIMENKO; AFOLAYAN, 2010), com rendimento de 0,5 a 1,5%. O óleo contém 1,8 cineol, α -pineno, borneol e cânfora, linalol e verbenona. A quantidade desses componentes pode variar consideravelmente de acordo com a região de produção da planta (GUILLÉN; CABO, 1996). O gênero *Rosmarinus* L., amplamente avaliado pela qualidade de seus óleos essenciais, inclui cinco espécies da região do Mediterrâneo: *Rosmarinus officinalis* L., *Rosmarinus eriocalyx*, *Rosmarinus laxiflorus*, *Rosmarinus lavandulaceus* e *Rosmarinus tomentosus* (ANGIONI et al., 2004; FERNANDES et al., 2013; MARTÍN; BERMEJO, 2000). O óleo essencial de alecrim é constituído por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, verbinol, terpineol, 3-octanona e acetato de isobornila. Os terpenoides são representados pelo carnosol, ácidos carnosílico, oleânico, ursólico, entre outros (SILVA et al.,

2008). O alecrim vem sendo bastante estudado devido a sua atividade antimicrobiana e antioxidante (BOZIN et al., 2007; CELIKTAS et al., 2007; GENENA et al., 2008).

2.6 Microencapsulação de óleos essenciais

O processo de microencapsulação surgiu há muitas décadas e oferece vários benefícios, como proteção e estabilidade de voláteis, melhores condições durante o armazenamento, além de maior facilidade para aplicação em produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos (COSTA et al., 2013; LEIMANN et al., 2009; MEDINA-TORRES et al., 2013; MURÚA-PAGOLA; BERISTAIN-GUEVARA; MARTÍNEZ-BUSTOS, 2009).

Na área de alimentos, os estudos foram iniciados em 1960 pelo Instituto de Pesquisas Southwest, nos Estados Unidos, com a microencapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma. Além dos aromas, a aplicação dessa tecnologia estendeu-se à incorporação de aditivos naturais e ingredientes (corantes, temperos, acidulantes, vitaminas e minerais) que alteram a textura, melhoram a qualidade nutricional, aumentam a vida útil controlando as propriedades dos alimentos processados (RE, 2006). Para a microencapsulação de alimentos, o método de encapsulação por “*spray drying*” é o mais comumente utilizado na indústria de alimentos (AHMED et al., 2010; FUCHS et al., 2006; MURÚA-PAGOLA; BERISTAIN-GUEVARA; MARTÍNEZ-BUSTOS, 2009; REINECCIUS, 2005; SOUZA et al., 2009, 2011) e tem sido amplamente utilizado para óleos essenciais (COSTA et al., 2013; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; YANG; XIAO; DING, 2009).

O processo de microencapsulação consiste na formação de uma estrutura de componentes múltiplos sob a forma de micropartículas que consistem, em geral, de duas substâncias: o material de núcleo e o encapsulante. Várias

propriedades dos materiais ativos podem ser alteradas por encapsulamento, e o manuseamento e propriedades de fluxo podem ser melhorados através da conversão de um líquido a um pó encapsulado (ADAMIEC, 2009; FERNANDES et al., 2013). A obtenção de microcápsulas por este processo envolve a formação de uma emulsão do material de parede e do recheio, seguida da atomização da emulsão em uma câmara de secagem contendo circulação de ar quente seco (COSTA et al., 2013; DRUSCH et al., 2006). O método físico de microencapsulação consiste na transformação de um líquido em sólido, de modo a facilitar sua manipulação, transporte e adição em formulações, solucionando limitações no emprego de ingredientes alimentícios, visto que pode suprimir ou atenuar aromas indesejáveis, reduzir a volatilidade e a reatividade, além de aumentar a estabilidade destes em condições ambientais adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos (COSTA et al., 2012; GHARSALLAOUI et al., 2007).

A estabilidade de óleos essenciais pode ser aumentada através da microencapsulação. A principal vantagem da microencapsulação é a formação de uma barreira entre o composto ativo e o ambiente externo. Esta barreira pode proteger o composto ativo contra umidade, temperatura, oxigênio e luz, além de prevenir o contato com outros componentes presentes em um alimento pronto ou, por exemplo, em uma difusão controlada do composto encapsulado. A eficiência de liberação controlada ou de proteção depende, principalmente, da composição e da estrutura da parede formulada, e das condições do processo (temperatura, pH, pressão, umidade) durante a produção e a utilização de tais partículas. A barreira é, geralmente, formada por componentes que criam uma rede por meio das propriedades hidrófilas ou hidrófobas (COSTA et al., 2013; FUCHS et al., 2006).

A seleção de um material da parede apropriado é fundamental para o microencapsulamento por atomização evitando-se alterações como resultadas da

oxidação, interações químicas ou volatilização e maximizando a retenção do óleo essencial após o processo de secagem (FERNANDES et al., 2013). Os principais fatores que afetam a eficiência de encapsulamento são as propriedades dos materiais de parede, do núcleo e condições de secagem (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; GHARSALLAOUI et al., 2007; JAFARI et al., 2008). Neste contexto, é de extrema importância estudar comparativamente os efeitos de diferentes transportadores sobre os óleos essenciais secos por atomização (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014).

Capsul® é um amido que é quimicamente modificado pela incorporação de um componente lipofílico destinado a conferir propriedades emulsificantes (ROCHA; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2012). Quando modificado com octenil anidrido succínico, o amido ceroso parcialmente hidrolisado, ganha um elemento hidrofóbico, sob a forma de grupos de octenil, resultando em moléculas inteiras com um caráter anfifílico (SWEEDMAN et al., 2013). Esta modificação dá a capacidade de ser um excelente material para a retenção de voláteis durante a secagem por atomização (ROCHA; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2012).

A maltodextrina é um amido hidrolisado produzido pela hidrólise parcial do amido com ácido ou enzimas normalmente utilizados como material de parede em microencapsulamento de ingredientes alimentares (GHARSALLAOUI et al., 2007). Ele oferece vantagens, tais como o custo relativamente baixo, aroma e sabor neutro, baixa viscosidade, em concentrações elevadas de sólidos e de proteção contra a oxidação. Maltodextrinas são utilizadas principalmente para reduzir os problemas de adesividade e aglomeração durante o armazenamento, melhorando assim a estabilidade do produto. No entanto, o maior problema deste material de parede é a sua baixa capacidade de emulsificação e baixa retenção de voláteis (BUFFO; REINECCIUS, 2000; KRISHNAN; KSHIRSAGAR; SINGHAL, 2005),

portanto, geralmente é utilizada em misturas com outros materiais de parede como o amido modificado.

2.7 Processamento de filmes biodegradáveis pela técnica de extrusão

Um das técnicas utilizadas na produção de filmes é denominada *casting* (evaporação de solvente). Uma suspensão é vertida sobre um suporte e deixada em repouso para evaporação do solvente e conseqüentemente desidratação do material, ocorrendo a formação do filme. É uma técnica usada em pequena escala, para pesquisa, porém, envolve várias etapas de processamento, o que pode encarecer a produção de filmes biodegradáveis. Assim, a extrusão torna-se o método de processamento de grande parte dos filmes comerciais devido à rapidez e menor número de etapas de produção quando comparada ao método de *casting* (COSTA, 2008).

Técnicas de extrusão, injeção, sopro e moldagem por compressão são métodos de produção de filmes denominados “processos secos” no qual utilizam o comportamento termoplástico apresentado por algumas proteínas e polissacarídeos com baixo teor de umidade (AZEVEDO, 2013; LIU; KERRY; KERRY, 2006; VERBEEK; BERG, 2010).

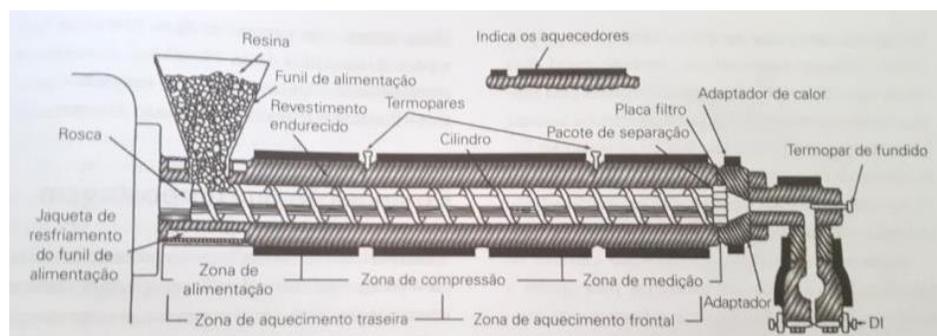
A extrusão é uma das mais importantes técnicas de processamento de polímeros utilizadas. A maioria dos plásticos sintéticos, tais como filmes de LDPE (polietileno de baixa densidade), é processada em extrusoras e geralmente passam por duas ou mais extrusoras antes da obtenção do produto final (HERNANDEZ-IZQUIERDO, 2007). Assim, a extrusão de filmes biodegradáveis aumentaria seu potencial comercial, oferecendo diversas vantagens em relação aos filmes desenvolvidos por *casting*. O processo de extrusão termoplástica apresenta baixo custo sendo utilizado em várias áreas como processamento de plásticos, amidos modificados, produtos instantâneos, rações animais, alimentos como *snacks* e cereais em geral. Consiste na mistura e

transporte do material através de uma rosca sem-fim, com objetivo de fusão ou amolecimento, homogeneização e plasticização do polímero com aquecimento contínuo e conversão de energia mecânica em térmica. É considerado um processo de baixo impacto ambiental devido à ausência de geração de efluentes e utilização de baixa concentração de água (DING et al., 2005; EINDE et al., 2004; MANRICH, 2005; SCAPIM, 2009; SOUSA, 2012; WANG; PADUA, 2003).

A extrusora é um equipamento muito utilizado na indústria de plásticos constituído por um canhão ou cilindro (zona de alimentação, zona de compressão, zona de controle de vazão ou medição), cabeçote, rosca, termopares e motor (Figura 3). A geometria da rosca influencia no processo sendo a parte mais importante da extrusora. Variáveis do processo como tipo de material, pressão, temperatura, velocidade da rosca, tamanho e forma da matriz, devem ser controladas a fim de submeter o material a diferentes condições de pressão e cisalhamento (DING et al., 2005; ROSA et al., 2004; SOUSA, 2012). Na zona de alimentação, o material, na forma de pó, grânulo ou *pellet* é introduzido pelo funil de alimentação que segue pelo cilindro de extrusão e começa seu processo de fusão ou amolecimento. Na zona de compressão, ocorre todo o processo de plastificação e homogeneização do material. Na zona de controle de vazão ou zona de medição, ocorre a máxima compactação, e sob condições de temperatura e pressão, o material fundido, ao final do cilindro misturador, entra na matriz. A matriz molda o plástico fundido conforme ele sai da extrusora. A matriz mais simples consiste em apenas um orifício (single-strand die), no qual extruda apenas um fio ligeiramente maior que o diâmetro de sua matriz. Matrizes com mais de um orifício, chamadas multiorifícios, criam vários fios simultaneamente (multiple-strand dies). Tem-se ainda matrizes para chapas, tubos, canos e perfis no qual forçam o material a assumir a forma desejada. Na saída da matriz, o material encontra-se fundido sendo necessário seu

resfriamento. Assim, para o resfriamento do material têm-se tanques com água, névoas de água e utilização de ar direto. Após resfriamento, puxadores, cortadores e enroladores manipulam o material mantendo-se um fluxo de extrusado a uma vazão constante (COSTA, 2008; LOKENSGARD, 2013; MANRICH, 2005). A extrusão de filmes é semelhante à extrusão de placa, porém existem diferenças quanto à espessura e matrizes de filmes que são mais leves com zonas de uniformização (câmara de relaxação) e mais curtas em relação a matrizes de placa (LOKENSGARD, 2013).

Figura 3 - Seção transversal de um extrusor de rosca simples.



Fonte: Lokensgard (2013).

2.8 Embalagens ativas

Para atender às novas exigências dos consumidores por produtos mais próximos ao natural, contendo menos conservantes e que sejam seguros, novas tecnologias de embalagens vêm sendo desenvolvidas em resposta a essa demanda. Assim, uma nova tendência para assegurar qualidade dos alimentos e segurança ao consumidor são as embalagens ativas. Essa técnica consiste na incorporação e, ou imobilização de agentes ativos como, por exemplo, substâncias com função antioxidante, antimicrobiana, aromatizante, absorvedores de oxigênio ou etileno na matriz polimérica e pela interação entre embalagem e alimento acondicionado. Assim, ocorre um aumento ou

manutenção da qualidade e, conseqüentemente maior vida útil do produto armazenado (DAINELLI et al., 2008; DIAS et al., 2013; FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2012). Nos últimos anos, diversas pesquisas sobre a aplicação de embalagens ativas em sistemas reais de alimentos têm sido estudadas com o objetivo de avaliar suas propriedades antioxidantes ou seu efeito antimicrobiano (ATARÉS; CHIRALT, 2016). São diversas as aplicações das embalagens ativas, dependendo da exigência do produto embalado, tais como absorvedores de oxigênio; absorvedores de etileno; eliminadores de CO₂, emissores de CO₂, enzimas, controladores de umidade, agentes antimicrobianos, preservadores de cor e controladores do mecanismo de liberação ou absorção de sabores (ADAY; CANER, 2013; FERNANDEZ ALVAREZ, 2000; PONCE et al., 2008). Outra tendência em pesquisas sobre embalagens ativas visa ao estudo das interações entre os materiais da embalagem e os alimentos, a fim de avaliar a migração controlada de substâncias ativas (ARRIETA et al., 2013; PELTZER; WAGNER; JIMÉNEZ, 2009).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A utilização da tecnologia por extrusão no desenvolvimento de materiais biodegradáveis proporciona às indústrias de plásticos uma alternativa para reduzir o volume de resíduos de plásticos descartados no meio ambiente todos os anos. O desenvolvimento e estudo sobre mistura de polímeros biodegradáveis (polissacarídeos, proteínas e lipídeos) com nanotecnologia é importante para entender o comportamento de nanocompósitos, além de possibilitar a obtenção de novos compósitos com propriedades de desempenho melhoradas em relação a polímeros puros.

4 CONCLUSÃO GERAL

Baseado no estudo do efeito da substituição de amido de milho por isolado proteico de soro de leite (IPS) no desenvolvimento de filmes de blendas biodegradáveis observou-se que a substituição do amido de milho por até 30% de IPS possibilitou a obtenção de blendas poliméricas com melhoria das propriedades de desempenho e que representam uma inovação para aplicação como materiais de embalagem.

Para o desenvolvimento de nanocompósitos antioxidantes com óleo essencial de alecrim observou-se que a utilização de baixas concentrações de argila montmorilonita e óleo essencial, favorecem a obtenção de materiais com atividade antioxidante e melhores propriedades de desempenho.

A utilização de microcápsulas de óleo essencial de alecrim foi efetiva como forma de proteção do agente ativo apresentando atividade antioxidante nos filmes após o processo de extrusão. Os filmes estudados com adição de nanopartículas de argila montmorilonita e microcapsulas de óleo essencial de alecrim apresentaram-se como uma alternativa no desenvolvimento de embalagens carreadoras de substâncias ativas, sendo o filme com 1% de MMT e 1% de microcápsulas o mais indicado para futuras aplicações.

REFERÊNCIAS

ABD ALLA, S. G.; NIZAM EL-DIN, H. M.; EL-NAGGAR, A. W. M. Electron beam synthesis and characterization of poly (vinyl alcohol)/montmorillonite nanocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 102, n. 2, p. 1129-1138, 2006.

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 47, n. 4, p. 847-853, 2012a.

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 49, n. 3, p. 811-818, 2014.

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 111, n. 2, p. 343-350, 2012b.

ADAMIEC, J. Moisture sorption characteristics of peppermint oil microencapsulated by spray drying. **Drying Technology**, New York, v. 27, n. 12, p. 1363-1369, 2009.

ADAY, M. S.; CANER, C. The shelf life extension of fresh strawberries using an oxygen absorber in the biobased package. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 52, n. 2, p. 102-109, 2013.

AHMED, M. et al. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 43, n. 9, p. 1307-1312, 2010.

ALEMDAR, A. et al. Effects of polyethyleneimine adsorption on rheology of bentonite suspensions. **Bulletin of Materials Science**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 287-291, 2005.

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

ALMENAR, E. et al. Optimization of an active package for wild strawberries based on the release of 2-nonanone. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 42, n. 2, p. 587-593, 2009.

ALVES-SILVA, J. M. et al. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, Guildford, v. 32, n. 2, p. 371-378, 2013.

ANGIONI, A. et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 11, p. 3530-3535, 2004.

AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H.; LONGO, E. New strategies in the preparation of exfoliated thermoplastic starch-montmorillonite nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, London, v. 34, n. 3, p. 1502-1508, 2011.

ARRIETA, M. P. et al. Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 114, n. 4, p. 486-494, 2013.

ASSIS, L. M. D. et al. Review: characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 48, p. 51-62, Feb. 2016.

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

AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, Barking, v. 42, n. 9, p. 1240-1253, 2009.

AZEVEDO, V. M. **Desenvolvimento de nanocompósitos de isolado proteico de soro de leite incorporados com agente antiescurecimento**. 2013. 133 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

AZEVEDO, V. M. et al. Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 48, p. 179-188, June 2015.

BAE, H. J. et al. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite films. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 42, n. 6, p. 1179-1186, 2009.

BAO, S.; TJONG, S. C. Mechanical behaviors of polypropylene/carbon nanotube nanocomposites: the effects of loading rate and temperature. **Materials Science and Engineering: A**, Lausanne, v. 485, n. 1, p. 508-516, 2008.

BILIADERIS, C. Structural transitions and related physical properties of starch. **Starch: Chemistry and Technology**, Weinheim, v. 1, p. 293-372, Dec. 2009.

BONA, J. C. de. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno**. 2007. 99 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BOTREL, D. A. et al. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 57, n. 3, p. 283-291, 2010.

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, 2009.

BOZIN, B. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 19, p. 7879-7885, 2007.

BRADLEY, E. L.; CASTLE, L.; CHAUDHRY, Q. Applications of nanomaterials in food packaging with a consideration of opportunities for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 22, n. 11, p. 604-610, 2011.

BRYANT, C. M.; MCCLEMENTS, D. J. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 9, n. 4, p. 143-151, 1998.

BUFFO, R.; REINECCIUS, G. Optimization of gum acacia/modified starch/maltodextrin blends for the spray drying of flavors. **Perfumer & Flavorist**, Wheaton, v. 25, n. 4, p. 45-54, 2000.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber, 2006. 280 p.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2004. 448 p.

CAPITANI, C. D. et al. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1123-1128, nov. 2005.

CELIK TAS, O. Y. et al. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 2, p. 553-559, 2007.

CHEN, G.; YOON, J. S. Nanocomposites of poly [(butylene succinate)-co-(butylene adipate)] (PBSA) and twice-functionalized organoclay. **Polymer International**, London, v. 54, n. 6, p. 939-945, 2005.

CHEN, Y. et al. Preparation and characterization of extruded thermoplastic zein-poly (propylene carbonate) film. **Industrial Crops and Products**, London, v. 49, p. 81-87, Aug. 2013.

CHENG, M. et al. Study on physical properties and nerve cell affinity of composite films from chitosan and gelatin solutions. **Biomaterials**, Surrey, v. 24, n. 17, p. 2871-2880, 2003.

CHO, J. et al. Characterisation of carbon nanotube films deposited by electrophoretic deposition. **Carbon**, Elmsford, v. 47, n. 1, p. 58-67, 2009.

COSTA, D. **Produção por extrusão de filmes de alto teor de amido termoplástico com poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT)**. 2008. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

COSTA, J. M. G. D. et al. Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 30, n. 8, p. 717-727, 2013.

COSTA, S. B. da et al. Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 110, n. 2, p. 190-199, 2012.

CUNNINGHAM, P. et al. Tensile properties of soy protein isolate films produced by a thermal compaction technique. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 4, p. 668-671, 2000.

DAINELLI, D. et al. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, p. S103-S112, 2008. Supplement.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010. 870 p.

DE GRAAF, R.; JANSSEN, L. The production of a new partially biodegradable starch plastic by reactive extrusion. **Polymer Engineering & Science**, Malden, v. 40, n. 9, p. 2086-2094, 2000.

DE WIT, J. **Lecturer's handbook on whey and whey products**. Brussels: European Whey Products Association, 2001. 91 p.

DIAS, M. V. et al. Development of chitosan/montmorillonite nanocomposites with encapsulated α -tocopherol. **Food Chemistry**, London, v. 165, p. 323-329, Dec. 2014.

DIAS, M. V. et al. Use of allyl isothiocyanate and carbon nanotubes in an antimicrobial film to package shredded, cooked chicken meat. **Food Chemistry**, London, v. 141, n. 3, p. 3160-3166, 2013.

DING, Q. B. et al. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 66, n. 3, p. 283-289, 2005.

DRUSCH, S. et al. Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. **Food Research International**, Barking, v. 39, n. 7, p. 807-815, 2006.

- EINDE, R. van den et al. Molecular breakdown of corn starch by thermal and mechanical effects. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 56, n. 4, p. 415-422, 2004.
- FABRA, M. et al. Effect of Fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. **Biomacromolecules**, London, v. 10, n. 6, p. 1500-1507, 2009.
- FARIA, F. de 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.
- FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 101, n. 30, p. 524-532, Jan. 2014.
- FERNANDES, R. V. D. B. et al. Microencapsulation of rosemary essential oil: characterization of particles. **Drying Technology**, New York, v. 31, n. 11, p. 1245-1254, 2013.
- FERNANDEZ ALVAREZ, M. Revisión: envasado activo de los alimentos. **Food Science and Technology International**, London, v. 6, n. 2, p. 97-108, 2000.
- FERREIRA, C. O. et al. Characterization of chitosan-whey protein films at acid pH. **Food Research International**, Barking, v. 42, n. 7, p. 807-813, 2009.
- FUCHS, M. et al. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 75, n. 1, p. 27-35, 2006.
- GAO, Y. et al. China and the United States-Global partners, competitors and collaborators in nanotechnology development. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, Philadelphia, v. 12, n. 1, p. 13-19, 2016.
- GARCÍA, L. et al. Glass transition temperatures of cassava starch-whey protein concentrate systems at low and intermediate water content. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 2, p. 1375-1382, 2012.

- GARCÍA, N. L. et al. Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, n. 1, p. 203-210, 2011.
- GENENA, A. K. et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 463-469, 2008.
- GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.
- GHOSH, A. et al. Structure-function characteristics of the biomaterials based on milk-derived proteins. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 46, n. 4, p. 404-411, 2010.
- GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, New York, v. 27, n. 7, p. 889-896, 2010.
- GÜÇBILMEZ, Ç. M.; YEMENICIOĞLU, A.; ARSLANOĞLU, A. Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 1, p. 80-91, 2007.
- GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Characterisation of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 70, n. 3, p. 359-363, 1996.
- HAFSA, J. et al. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 68, p. 356-364, May 2016.
- HAMILTON-KEMP, T. et al. Effects of some natural volatile compounds on the pathogenic fungi *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 18, n. 7, p. 1083-1091, 1992.
- HARTMANN, M.; KAPLAN, D. **Biopolymers from renewable resources**. New York: Springer-Verlag, 1998. 420 p.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. et al. Thermal transitions and extrusion of glycerol-plasticized whey protein mixtures. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 4, p. E169-E175, 2008.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V.; KROCHTA, J. Thermoplastic processing of proteins for film formation: a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 2, p. R30-R39, 2008.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M. **Thermal transitions, extrusion, and heat-sealing of whey protein edible films**. 2007. 110 p. Dissertation (Master) - University of California, Davis, 2007.

HUFFMAN, L. M. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technology**, Oxford, v. 50, n. 2, p. 49-52, 1996.

JACOBS, H.; DELCOUR, J. A. Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 8, p. 2895-2905, 1998.

JAFARI, S. M. et al. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, New York, v. 26, n. 7, p. 816-835, 2008.

JAYAKODY, J. L. P. **The effect of acid hydrolysis on granular morphology and physicochemical properties of native cereal starch granules**. 2002. 141 p. Dissertation (Máster of Science) - University of Newfoundland, Newfoundland, 2002.

KHWALDIA, K. et al. Milk proteins for edible films and coatings. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 44, n. 4, p. 239-251, 2004.

KRISHNAN, S.; KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 62, n. 4, p. 309-315, 2005.

KUMAR, J. P. et al. Montmorillonites supported with metal oxide nanoparticles for decontamination of sulfur mustard. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 116, p. 263-272, Nov. 2015.

KUMAR, A. P. et al. Nanoscale particles for polymer degradation and stabilization-trends and future perspectives. **Progress in Polymer Science**, Emsford, v. 34, n. 6, p. 479-515, 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, 2010.

LECORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n. 1, p. 658-666, 2012.

LEIMANN, F. V. et al. Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. **Materials Science and Engineering: C**, Lausanne, v. 29, n. 2, p. 430-436, 2009.

LI, M.; LEE, T. C. Effect of extrusion temperature on the solubility and molecular weight of lentil bean flour proteins containing low cysteine residues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 3, p. 880-884, 2000.

LIU, L.; KERRY, J. F.; KERRY, J. P. Effect of food ingredients and selected lipids on the physical properties of extruded edible films/casings. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 295-302, 2006.

LIU, X. et al. Trends for nanotechnology development in China, Russia, and India. **Journal of Nanoparticle Research**, London, v. 11, n. 8, p. 1845-1866, 2009.

LOKENS GARD, E. **Plásticos Industriais: teoria e aplicações**. São Paulo: Cengage Learning, 2013. 616 p.

LOPEZ, O. et al. Thermo-compression of biodegradable thermoplastic corn starch films containing chitin and chitosan. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 57, n. 1, p. 106-115, 2014.

LÓPEZ-LORENTE, Á. I.; VALCÁRCEL, M. The third way in analytical nanoscience and nanotechnology: involvement of nanotools and nanoanalytes in the same analytical process. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 75, p. 1-9, Jan. 2016.

LORENZI, H.; MATOS, F. J.; FRANCISCO, J. M. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

- LUNA, C. B. B. et al. Desenvolvimento de blendas poliméricas visando a tenacificação dos polímeros: uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Passo Fundo, v. 36, n. 1, p. 67-80, 2015.
- MAJZADEH-ARDAKANI, K.; NAZARI, B. Improving the mechanical properties of thermoplastic starch/poly (vinyl alcohol)/clay nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 70, n. 10, p. 1557-1563, 2010.
- MANRICH, S. **Processamento de termoplásticos: rosca única, extrusão e matrizes, injeção e moldes**. São Paulo: Artliber, 2005. 430 p.
- MARTÍN, J. P.; BERMEJO, J. E. H. Genetic variation in the endemic and endangered *Rosmarinus tomentosus* Huber-Morath & Maire (Labiatae) using RAPD markers. **Heredity**, Cary, v. 85, n. 5, p. 434-443, 2000.
- MARTINS, M. G. et al. Synthesis and characterization of montmorillonite clay intercalated with molecular magnetic compounds. **Journal of Solid State Chemistry**, San Diego, v. 228, p. 99-104, Aug. 2015.
- MEDINA-TORRES, L. et al. Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 50, n. 2, p. 642-650, 2013.
- MELO, A. A. M. D. et al. Microbiological quality and other characteristics of refrigerated chicken meat in contact with cellulose acetate-based film incorporated with rosemary essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 1419-1427, 2012.
- MOHANTY, A.; DRZAL, L.; MISRA, M. Nano reinforcements of bio-based polymers: the hope and the reality. **Polymeric Materials Science and Engineering**, Lausanne, v. 88, p. 60-61, 2003.
- MOTA, R. D. P. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio-do-brejo (*hedychium coronarium*) e de amido de fruto-do-lobo (*solanum lycocarpum* st. Hill)**. 2009. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) - Universidade Estadual de Goiás, Goiânia, 2009.
- MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise térmica de materiais**. São Paulo: Artliber, 2002. 324 p.

MÜLLER, C. M.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Composites of thermoplastic starch and nanoclays produced by extrusion and thermopressing. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 89, n. 2, p. 504-510, 2012.

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

MUNGARA, P.; ZHANG, J.; JANE, J. Extrusion processing of soy protein-based foam. In: PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 16., 1998, Washington. **Abstracts...** Washington: AMER Chemical Society, 1998. p. U118-U118.

MURÚA-PAGOLA, B.; BERISTAIN-GUEVARA, C.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 91, n. 3, p. 380-386, 2009.

NABESHIMA, E.; GROSSMANN, M. Functional properties of pregelatinized and cross-linked cassava starch obtained by extrusion with sodium trimetaphosphate. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 45, n. 4, p. 347-353, 2001.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 8, n. 11, p. 375-382, 1997.

OKOH, O.; SADIMENKO, A.; AFOLAYAN, A. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 1, p. 308-312, 2010.

OSÉS, J. et al. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 92, n. 1, p. 56-62, 2009.

OU, Y.; YANG, F.; YU, Z. Z. A new conception on the toughness of nylon 6/silica nanocomposite prepared via in situ polymerization. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, London, v. 36, n. 5, p. 789-795, 1998.

OUSSALAH, M. et al. Antimicrobial effects of alginate-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 69, n. 10, p. 2364-2369, 2006.

OZDEMIR, M.; FLOROS, J. D. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 86, n. 2, p. 215-224, 2008.

PARK, H. M. et al. Environmentally friendly polymer hybrids part I mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 38, n. 5, p. 909-915, 2003.

PELLICANO, M. **Desenvolvimento e caracterização de blendas PHBV/Ecoflex e suas modificações com amidos**. 2010. 130 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

PELTZER, M.; WAGNER, J.; JIMÉNEZ, A. Migration study of carvacrol as a natural antioxidant in high-density polyethylene for active packaging. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 26, n. 6, p. 938-946, 2009.

PEREDA, M.; ARANGUREN, M. I.; MARCOVICH, N. E. Characterization of chitosan/caseinate films. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 107, n. 2, p. 1080-1090, 2008.

PEREZ-GAGO, M. et al. Effect of solid content and lipid content of whey protein isolate-beeswax edible coatings on color change of fresh-cut apples. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2186-2191, 2003.

PHELPS, R.; FISHER, E. Legislating the laboratory?: promotion and precaution in a nanomaterials company. **Biomedical Nanotechnology: Methods and Protocols**, v. 726, p. 339-358, Feb. 2011.

PONCE, A. G. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 2, p. 294-300, 2008.

PRASAD, G. et al. Comparative evaluation of various sorbent decontaminants against sulphur mustard. **Journal of Scientific & Industrial Research**, New Delhi, v. 71, p. 205-209, 2012.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: a review. **Journal of Environmental Management**, New York, v. 110, p. 48-68, Nov. 2012.

QI, P.; ONWULATA, C. Physical properties, molecular structures, and protein quality of texturized whey protein isolate: effect of extrusion moisture content. **Journal of Dairy Science**, Madison, v. 94, n. 5, p. 2231-2244, 2011.

RABELLO, M. **Aditivação de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2000. 357 p.

RAMOS, Ó. L. et al. Features and performance of edible films, obtained from whey protein isolate formulated with antimicrobial compounds. **Food Research International**, Barking, v. 45, n. 1, p. 351-361, 2012.

RE, M. I. S. Formulating drug delivery systems by spray drying. **Drying Technology**, New York, v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006.

REINECCIUS, G. **Flavor chemistry and technology**. Boca Raton: CRC, 2005. 520 p.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, Davis, v. 90, n. 1, p. 37-42, 2012.

ROCO, M. C. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 14, n. 3, p. 337-346, 2003.

RODRIGUEZ, A. et al. Study of magnetic susceptibility of magnetite nanoparticles. **Journal of Applied Physics**, New York, v. 93, n. 10, p. 6963-6965, 2003.

ROSA, D. et al. The influence of starch gelatinization on the rheological, thermal, and morphological properties of poly (ϵ -caprolactone) with corn starch blends. **Materials Science and Engineering: C**, Lausanne, v. 24, n. 5, p. 663-670, 2004.

ROSA, D. S.; PÂNTANO FILHO, R. **Biodegradação: um ensaio com polímeros**. Itatiba: Moara, 2003. 78 p.

RUIZ-NAVAJAS, Y. et al. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. **Food Control**, Guildford, v. 30, n. 2, p. 386-392, 2013.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant starch-a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2006.

SANCHEZ-GARCIA, M.; LAGARON, J. Novel clay-based nanobiocomposites of biopolyesters with synergistic barrier to UV light, gas, and vapour. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 118, n. 1, p. 188-199, 2010.

SARGENT JUNIOR, J. F. **The National nanotechnology initiative**: overview, reauthorization, and appropriations issues. Washington: Congressional Research Service, 2013. 60 p. DTIC Document.

SCAPIM, M. **Produção, caracterização, aplicação e biodegradabilidade de filmes de blendas de amido e poli (butileno adipato co-tereftalato) produzidos por extrusão**. 2009. 139 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

SCHOLTZOVA, E. et al. Theoretical and experimental study of montmorillonite intercalated with tetramethylammonium cation. **Vibrational Spectroscopy**, Amsterdam, v. 66, p. 123-131, May 2013.

SEBIO, L. **Desenvolvimento de plástico biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão**: avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. 2003. 179 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SEYDIM, A.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, Barking, v. 39, n. 5, p. 639-644, 2006.

SILVA, M. D. S. A. et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 236-240, 2008.

SILVA, S. et al. Morphology and miscibility of chitosan/soy protein blended membranes. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 70, n. 1, p. 25-31, 2007.

SISO, M. G. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 57, n. 1, p. 1-11, 1996.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins-from 'gutter-to-gold'. **International Dairy Journal**, Barking, v. 18, n. 7, p. 695-704, 2008.

SOEST, J. J. van et al. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, London, v. 5, n. 1, p. 11-22, 1996.

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, 2007.

SOTHORNVIT, R. et al. Formation conditions, water-vapor permeability, and solubility of compression-molded whey protein films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 6, p. 1985-1999, 2003.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 50, n. 3, p. 149-155, 2001.

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

SOUSA, G. M. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos e aplicação na conservação de massa alimentícia fresca**. 2012. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

SOUZA, A. S. et al. Influence of spray drying conditions on the physical properties of dried pulp tomato. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 291-294, 2009.

SOUZA, A. S. et al. Retention of short chain fatty acids under drying and storage conditions. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 31, n. 3, p. 801-805, 2011.

SRICHUWONG, S. et al. Starches from different botanical sources I: contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 60, n. 4, p. 529-538, 2005.

SWEEDMAN, M. C. et al. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 92, n. 1, p. 905-920, 2013.

TANG, H.; MITSUNAGA, T.; KAWAMURA, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 63, n. 4, p. 555-560, 2006.

TEIXEIRA, B. et al. Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: physical, antioxidant and antibacterial properties. **LWT-Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 59, n. 1, p. 533-539, 2014.

THARANATHAN, R. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 14, n. 3, p. 71-78, 2003.

THOMAS, D.; ATWELL, W. **Starches**: practical guides for the food industry. Saint Paul: Eagan, 1999. 94 p.

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

TUNÇ, S.; DUMAN, O.; UYSAL, R. Electrokinetic and rheological behaviors of sepiolite suspensions in the presence of poly (acrylic acid sodium salt) s, polyacrylamides, and poly (ethylene glycol) s of different molecular weights. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 109, n. 3, p. 1850-1860, 2008.

VARTIAINEN, J. et al. Biohybrid barrier films from fluidized pectin and nanoclay. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 3, p. 989-996, 2010.

VERBEEK, C. J.; BERG, L. E. van den. Extrusion processing and properties of protein-based thermoplastics. **Macromolecular Materials and Engineering**, New York, v. 295, n. 1, p. 10-21, 2010.

VILLADIEGO, A. M. D. et al. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 16, p. 9063-9070, 2010.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Dairy chemistry & physics**. New York: J. Wiley, 1984. 467 p.

WANG, N. et al. Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 76, n. 1, p. 68-73, 2009.

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

WANG, Y.; PADUA, G. W. Tensile properties of extruded zein sheets and extrusion blown films. **Macromolecular Materials and Engineering**, New York, v. 288, n. 11, p. 886-893, 2003.

WU, T. M.; WU, C. Y. Biodegradable poly (lactic acid)/chitosan-modified montmorillonite nanocomposites: preparation and characterization. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 91, n. 9, p. 2198-2204, 2006.

YANG, J.; XIAO, J. X.; DING, L. Z. An investigation into the application of konjac glucomannan as a flavor encapsulant. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 229, n. 3, p. 467-474, 2009.

ZADOW, J. **Modern dairy technology: advances in milk processing**. London: Elsevier, 1997. 486 p.

ZALESKA, H.; RING, S.; TOMASIK, P. Electrosynthesis of potato starch-whey protein isolate complexes. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 45, n. 1, p. 89-94, 2001.

ZIVANOVIC, S.; CHI, S.; DRAUGHON, A. F. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 1, p. M45-M51, 2005.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

**ARTIGO 1 - EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO AMIDO DE MILHO POR
ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE EM FILMES DE BLENDS
BIODEGRADÁVEIS OBTIDOS POR EXTRUSÃO**

(VERSÃO PRELIMINAR)

Artigo redigido conforme normas da revista Carbohydrate Polymers

RESUMO

Uma alternativa para reduzir o volume de resíduos plásticos sintéticos descartado frequentemente no ambiente é o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis. A utilização da mistura destes polímeros a fim de melhorar propriedades de desempenho dos materiais resultantes tem aumentado a demanda por fontes renováveis, como amido e soro de leite. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da substituição do amido de milho por isolado proteico de soro de leite (IPS) em blendas de polímeros biodegradáveis desenvolvidos por extrusão. Os difratogramas de raios X mostraram a presença de um arranjo cristalino do Tipo-Vh característico de amido termoplástico. Em geral, os filmes apresentaram-se homogêneos indicando forte adesão interfacial entre a proteína e a matriz de amido termoplástico (TPS) como observados nas micrografias de microscopia eletrônica de varredura. Observou-se que a adição de IPS à matriz de TPS promoveu um aumento da estabilidade térmica dos materiais. O filme com 30% de IPS apresentou redução de 58,5% na permeabilidade ao vapor de água e os melhores parâmetros em relação ao efeito da substituição do amido de milho por IPS nas propriedades mecânicas resultando em um filme mais resistente e menos flexível quando comparado ao filme TPS. A adição de IPS provocou grandes alterações das propriedades ópticas com filmes de tonalidade amarelo esverdeado e menor transparência em relação ao filme TPS. Assim, a substituição do amido de milho por até 30% de IPS possibilitou a obtenção de blendas poliméricas com melhoria das propriedades de desempenho e representam uma inovação para aplicação como materiais de embalagem.

Palavras-chave: Polímeros. Extrusão. Caracterização.

1 INTRODUÇÃO

Graves poluições ambientais causadas pelos plásticos sintéticos tem ocasionado o aumento de pesquisas voltadas aos plásticos biodegradáveis. O aproveitamento integral de recursos renováveis e redução de hidrocarbonetos despertou o interesse no desenvolvimento de alternativas para substituição, total ou parcial de polímeros sintéticos por polímeros biodegradáveis principalmente para gêneros alimentícios (MA et al., 2009; ORTEGA-TORO et al., 2014; YAN et al., 2012). Assim, filmes e revestimentos a partir de polímeros biodegradáveis tais como polissacarídeos, proteínas e lipídeos têm sido estudados devido aos seus benefícios ambientais e sustentabilidade (HONG e KROCHTA, 2003; RAMOS et al., 2012; REDL et al., 1999; SHARMA e LUZINOV, 2013).

O amido tem sido considerado um dos materiais mais promissores no desenvolvimento de plásticos biodegradáveis (MA et al., 2009) entre os biopolímeros naturais, devido ao seu baixo custo, não toxicidade, biodegradabilidade e fácil disponibilidade (AYDİN e ILBERG, 2016; FAJARDO et al., 2010; GROSS e KALRA, 2002; ŠIMKOVIC, 2013; WANG, CHANG e ZHANG, 2010). É composto por amilose e amilopectina em quantidades que variam conforme sua fonte vegetal, por exemplo, o amido de milho possui cerca de 28% de amilose enquanto que o amido de mandioca possui 17%. Em geral, uma quantidade crescente de amilose melhora as propriedades mecânicas, de barreira, formação de filme, bem como condições de processamento (FORSSELL et al., 2002; MENDES et al., 2016; RAQUEZ et al., 2008). Além disso, o amido possui a capacidade de formar uma matriz contínua e apresenta características termoplásticas, o que lhe permite ser facilmente processado (BERTUZZI et al., 2007; ORTEGA-TORO et al., 2014; SHAH, BANDOPADHYAY e BELLARE, 1995; YAN et al., 2012).

O amido termoplástico (TPS) é um dos principais materiais estudados no desenvolvimento de materiais biodegradáveis (CHEN et al., 2012; CURVELO, DE CARVALHO e AGNELLI, 2001; LÓPEZ et al., 2013; MA et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2007). O amido torna-se termoplástico quando processado com plastificantes, sob alta temperatura e forças mecânicas, com o rompimento dos grânulos e conseqüente fusão (DE GRAAF, KARMAN e JANSSEN, 2003; HERRERA BRANDELERO, VICTORIA EIRAS GROSSMANN e YAMASHITA, 2011), podendo ser facilmente utilizado em processos para polímeros sintéticos como extrusão, sopro, injeção e moldagem por compressão (AVEROUS e BOQUILLON, 2004; TEIXEIRA et al., 2007). Atualmente já existem diversos produtos disponíveis obtidos a partir de TPS (LÓPEZ et al., 2013; MA et al., 2009; SHAMEKH et al., 2002), porém, o desenvolvimento de filmes a partir de TPS ainda é limitado devido à fragilidade, baixa resistência à água e dependência das propriedades mecânicas devido a umidade do ambiente (AVEROUS e BOQUILLON, 2004; BASTOS et al., 2009; LÓPEZ et al., 2013; MA et al., 2009; ZULLO e IANNACE, 2009). Assim, a fim de compensar essas desvantagens, o amido pode ser misturado com outros polímeros (AYDİN e ILBERG, 2016; SHI et al., 2008).

Entre os biopolímeros, as proteínas do soro de leite tem sido estudadas para aplicações em embalagens devido a abundante disponibilidade (50 milhões de toneladas de soro de leite não processado anual) (SCHMID et al., 2012), por apresentarem-se transparentes, flexíveis e possuem boas propriedades de barreira a aroma, oxigênio e lipídeos. No entanto, estes filmes apresentam baixa barreira a umidade, estabilidade térmica e propriedades de tração (MCHUGH, 1994a; PROMMAKOOL et al., 2011).

Em geral, filmes obtidos a partir de um único polímero têm apresentado boas propriedades em alguns aspectos e ruins em outros. Portanto, a utilização da mistura entre biopolímeros tornou-se uma alternativa a fim de melhorar

propriedades de desempenho em filmes biodegradáveis (YAN et al., 2012). Assim, filmes obtidos pela combinação de polissacarídeos (amidos, alginatos, celulose e quitosana) com proteínas (proteínas do leite, proteína de soja, colágeno e gelatina) foram desenvolvidos (CHENG et al., 2003; FERREIRA et al., 2009; GARCÍA et al., 2012; HAIDER, PARK e LEE, 2008; LEUANGSUKRERK et al., 2014; MARIANI et al., 2009; PEREDA, ARANGUREN e MARCOVICH, 2008; SUN, SUN e XIONG, 2013) e apresentaram melhores propriedades quando comparados aqueles obtidos a partir dos polímeros puros.

Pesquisas têm sido conduzidas sobre blends de proteínas e polissacarídeos, mas nada tem sido reportado para a combinação entre amido de milho e isolado proteico de soro de leite. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da substituição de amido de milho por isolado proteico de soro de leite em filmes produzidos por extrusão quanto às propriedades estruturais, térmicas, morfológicas, mecânicas, ópticas e de barreira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Amido de milho (Amidex 3001), com 70% de amilose e 30% de amilopectina foi obtido pela Corn Products do Brasil (Balsa Nova-PR, Brasil). Isolado proteico de soro de leite (IPS 9410), com 90% de proteína, foi obtido pela Hilmar Ingredients (Hilmar, CA, USA). Glicerol, ácido esteárico e ácido cítrico anidro granulado pela Cargill (Uberlândia, MG, Brasil).

2.2 Desenvolvimento dos filmes

Filmes de blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS) foram obtidos a partir da mistura dos seguintes componentes: fase sólida: 60% pp (TPS/IPS) e fase líquida: 24% p/p glicerol e 16% p/p água. À mistura final ainda foram adicionados 1% p/p de ácido esteárico e 1% p/p de ácido cítrico, os quais agem como agente de fluxo e antioxidante, respectivamente. As blendas foram desenvolvidas pela substituição de amido de milho (TPS) por isolado proteico de soro de leite (IPS) na fase sólida (60%) conforme Tabela 1. A mistura foi processada em uma extrusora Coperion, modelo ZSK 18 (Coperion Ltda, São Paulo, Brasil), com L/D = 40, dupla-rosca co-rotante, roscas com diâmetros de 18 mm com elementos de condução e mistura, com 7 zonas de aquecimento e 2 zonas de degasagem. A velocidade da rosca foi de 300 rpm e o perfil de temperatura 80, 80, 90, 90, 100, 110 e 110°C. Obtido os peletes destes materiais, estes seguiram para o processamento em uma extrusora monorosca (AX Plásticos Ltda, São Paulo, Brasil) para obtenção de fitas. A velocidade da rosca foi de 35 rpm e o perfil de temperatura foi 85, 90 e 95°C nas três zonas de aquecimento. Em seguida, as fitas foram prensadas a 115°C ± 5°C, por 3 min em prensa hidráulica (capacidade 15 ton). As condições de prensagem foram: 3 ton/ 30s, 10s sem prensagem; 6 ton até completar 3 min. Após a prensagem, os filmes com dimensões de 12 x 12 cm foram resfriados a temperatura ambiente. A Tabela 1 apresenta a composição de cada filme e o respectivo teor de cada componente (amido e isolado proteico de soro de leite).

Tabela 1 Composições dos filmes desenvolvidos de TPS/IPS

Filmes	e sólida (60%)	
	TPS (%)	IPS (%)
TPS	100	0
TPS90/IPS10	90	10
TPS80/IPS20	80	20
TPS70/IPS30	70	30
TPS60/IPS40	60	40
TPS50/IPS50	50	50

2.3 Condicionamento dos filmes e espessura

Os filmes foram condicionados em temperatura controlada, 23 ± 2 °C e umidade relativa 50 ± 5 % UR por 48 h antes das análises, conforme ASTM D618-00 (ASTM, 2000a). A espessura média dos filmes foi medida por meio da leitura em dez pontos distintos, tomados aleatoriamente em cada corpo de prova, utilizando micrômetro digital *Mitutoyo* (precisão 0,01 mm; Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil).

2.4 Difração de Raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X do amido de milho, isolado protéico de soro de leite e dos filmes foram obtidos em equipamento *Shimadzu* XRD-6000 (*Shimadzu*, Tokyo, Japão) equipado com radiação de filtro de Cu- $k_{\alpha 1}$ ($\lambda = 1,5406$ Å). As amostras foram fixadas em suporte de alumínio e analisadas com um passo de $0,02^\circ \text{ s}^{-1}$, 2θ de 4° - 40° , velocidade 1° min^{-1} e 30 kV, 30 mA. O espaçamento basal (d) foi calculado pela equação de Bragg, (Equação 1):

$$\text{sen } \theta = n\lambda / 2d \quad (1)$$

Onde: λ corresponde ao comprimento de onda utilizado ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) e θ (Theta) é o ângulo onde se detecta o pico no difratograma.

2.5 Microscopia eletrônica de Vareadura (MEV)

A morfologia dos componentes em pó (amido de milho e IPS) e dos filmes foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JSM 6510 JEOL (Peabody, Massachusetts, USA) com voltagem de aceleração de 10 kV. Foram obtidas imagens de superfície dos componentes em pó e fratura criogênica do material extrusado. Os filmes fraturados foram colocados em porta amostras com fita de carbono, revestidos em ouro, sob vácuo por 90s (metalização) e fotomicrografados.

2.6 Termogravimetria (TG)

A estabilidade térmica dos componentes em pó e dos filmes foi avaliada por termogravimetria em equipamento Q500, (TA Instruments, New Castle, USA). As análises foram realizadas sob atmosfera de ar sintético a uma taxa de fluxo de $40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com aquecimento de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a $600 \text{ }^\circ\text{C}$ com razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.7 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada em calorímetro DSC modelo TA 60, (*Shimadzu Corporation*, Kyoto, Japão). A massa da amostra variou entre 2-5 mg e uma cápsula de alumínio foi utilizada como referência. As rampas de aquecimento e resfriamento para o IPS em pó foram fixadas em $10^\circ\text{C min}^{-1}$ e variaram entre -50°C e 250°C . Para o amido de milho em pó, as rampas foram fixadas em 2°C min^{-1} e variaram entre -80°C e 50°C .

Para avaliação dos filmes, as rampas de aquecimento e resfriamento foram fixadas em $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e a sequência utilizada foi: aquecimento de 25 a $190\text{ }^{\circ}\text{C}$ /10 min isotérmico para eliminar a história térmica; resfriamento de 190 a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$; e um segundo aquecimento até $190\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ASTM, 2003a). A partir das curvas de DSC, a temperatura de transição vítrea (T_g) foi avaliada no segundo aquecimento.

2.8 Propriedades Mecânicas

As propriedades de tração dos filmes, resistência à tração (σ_{\max}), alongamento na ruptura (ϵ) e o módulo de elasticidade (ME), foram medidos conforme ASTM D882-02 (ASTM, 2002), em Máquina Universal de Testes EMIC DL3000 (*EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio LTDA, Brasil*) com célula de carga de 500 N (50 Kgf). As amostras de filmes foram cortadas em tiras ($10\text{ mm} \times 100\text{ mm}$) e a separação inicial entre as garras foi de 70 mm com velocidade de 50 mm.min^{-1} . A punctura dos filmes foi realizada em 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 (sonda P/5S) foi deslocada perpendicularmente à superfície da película a uma velocidade constante de $0,8\text{ mm.s}^{-1}$ até a sonda passar através do filme (AZEVEDO et al., 2015a; CHEN e LAI, 2008). A resistência à 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 e a deformação (mm) dos filmes foi determinada no ponto de ruptura (AZEVEDO et al., 2015a; PARK e ZHAO, 2004). Para os testes de tração e punctura, foram utilizados cinco corpos de prova para cada filme em três repetições.

2.9 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada conforme método E96 (ASTM, 2000b). O filme foi fixado em capsula de polimetilmetacrilato (Plexiglas), contendo quatro parafusos, simetricamente localizados ao redor da circunferência da capsula com graxa de silicone, para garantir que a permeação ocorra somente através do filme. No interior da cápsula foi adicionado sílica. A cápsula de permeação foi então colocada em câmara com umidade e temperatura controlada, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e mantida a 75% de umidade relativa (UR). As amostras foram pesadas até peso constante ser atingido e os valores de ganho de peso foram representados como uma função do tempo. A PVA ($\text{g} / (\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$) do filme foi calculada conforme equação 2:

$$PVA = (TPVA \cdot x) / \Delta P \quad (2)$$

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 sílica (0%).

2.10 Propriedades Ópticas

A cor dos filmes foi medida em equipamento Konica Minolta CR-400 (Osaka, Japão) e sistema CIE (L^* , a^* , b^*) com uma fonte de luz D65, ângulo observador de 10° e modo reflectância. Os parâmetros analisados foram: (L^* , a^* , b^*), índice de saturação *chroma* e ângulo *hue*. Os resultados foram expressos como a média de dez leituras em três repetições. A transparência dos filmes foi determinada medindo a porcentagem de transmitância (%T) a 600 nm com

espectrofotômetro UV/VIS 1601PC (Shimadzu, Tokyo, Japão) conforme método D1746-03 (ASTM, 2003b). A transparência (T600) foi calculada pela equação 3:

$$T_{600} = (\text{Log}\%T)/\delta \quad (3)$$

Onde δ é a espessura do filme (mm). As medições de cor foram realizadas, mantendo a sonda em contato direto com os filmes contra um fundo branco.

2.11 Análise Estatística

Os resultados das propriedades mecânicas, ópticas e permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram avaliados utilizando-se análise de variância (ANOVA), com nível de 5% de significância com *software SPSS Estatísticas 17* (SPSS STATISTICS, 2007). Difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TG) e calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram submetidos à análise descritiva.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Difração de Raios X (DRX)

Os padrões de difração de raios X do amido e IPS em pó são apresentados na Figura 1. Observou-se na Figura 1a, picos ao redor de $2\theta=14,2^\circ$; $d=17,97 \text{ \AA}$; $2\theta=17,02^\circ$; $d=5,21 \text{ \AA}$; $2\theta=18,2^\circ$; $d=4,88 \text{ \AA}$; $2\theta=22,6^\circ$; $d=3,94 \text{ \AA}$, \AA para o amido de milho em pó característico de um arranjo cristalino do Tipo-A. Estudos anteriores reportaram que grânulos de amido de milho ceroso possuem um arranjo cristalino Tipo-A, no qual apresenta dois picos

fracos de difração em $10,1^\circ$ e $11,5^\circ$; um pico de intensidade forte em $15,3^\circ$; um pico duplo em $17,1^\circ$ e $18,2^\circ$ e um último pico de intensidade forte em $23,5^\circ$ (ANGELLIER et al., 2006; KIM et al., 2013). O difratograma do IPS em pó mostrou uma possível estrutura amorfa no qual indica ausência de cristais de lactose no IPS (Figura 1b). A lactose presente no soro de leite líquido, durante o processo de secagem transforma-se em um estado amorfo (AZEVEDO et al., 2015a; NIJDAM et al., 2007). Assim, a remoção da lactose e consequente secagem do soro de leite líquido durante o processo de concentração a IPS ou concentrado proteico de soro de leite (CPS) torna esses produtos amorfos.

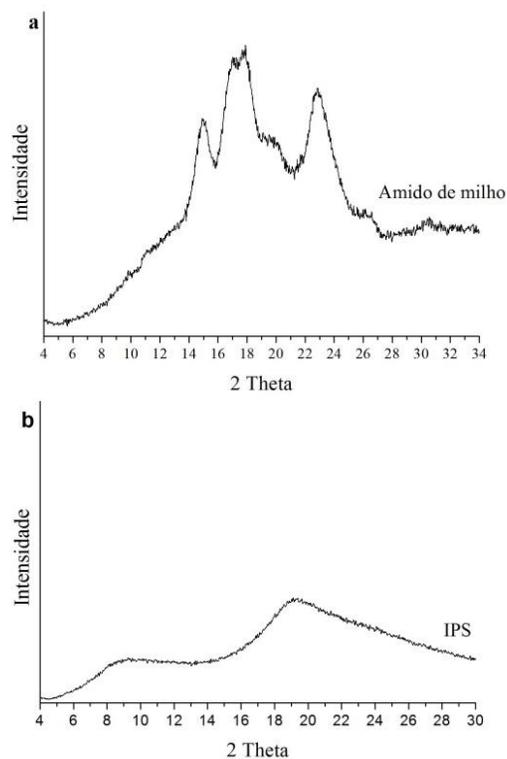


Figura 1 DRX. a) Amido de milho em pó; b) IPS em pó.

A Figura 2 representa os padrões de difração de raios X dos filmes de blendas de TPS/IPS na região de $2\theta = 4-34^\circ$. O difratograma de raios X do filme TPS exibiu picos ao redor de $2\theta = 12,6^\circ$; $d = 7,02 \text{ \AA}$; $2\theta = 19,56^\circ$; $d = 4,54 \text{ \AA}$; $2\theta = 22,08^\circ$; $d = 4,03 \text{ \AA}$ (Figura 2). O pico ao redor de $2\theta = 19,56^\circ$ está atribuído ao processo de indução da recristalização de uma molécula helicoidal simples de amilose durante o resfriamento após o processamento e corresponde ao arranjo cristalino do Tipo-Vh. A amilose e lipídios em amido são também responsáveis pela formação de complexos de cristalitos do Tipo-Vh em altas temperaturas de fusão sendo também resistentes ao ataque de enzimas (DE CAMPOS et al., 2013; MAGALHÃES e ANDRADE, 2009). O arranjo cristalino do Tipo-Vh consiste em uma recristalização da amilose induzida por lisofosfolípidos e complexos que formam agentes tais como isopropanol e glicerol (TEIXEIRA et al., 2011).

Picos ao redor de $2\theta = 16,08^\circ$ são característicos de recristalização da amilopectina (cristalização do Tipo-B) devido à presença de grânulos após a extrusão (TEIXEIRA et al., 2011). Assim, os filmes desenvolvidos neste trabalho não apresentaram picos ao redor de $2\theta = 16,08^\circ$ indicando ausência de cristalinidade residual da amilopectina (TEIXEIRA et al., 2011).

Os padrões de difração das blendas de TPS/IPS são similares a matriz de TPS. Todos os filmes apresentaram picos ao redor de $2\theta = 12,9^\circ$ e espaçamento $d = 6,87 \text{ \AA}$. Este pico pode estar relacionado com a presença do glicerol complexado com amilose. Além disso, apenas os filmes TPS; TPS90/IPS10 e TPS80/IPS20 apresentaram um pico de difração em aproximadamente $2\theta = 22,04^\circ$ e espaçamento $d = 4,04 \text{ \AA}$ que também poderiam estar relacionados com a presença de glicerol. No entanto, pode-se observar que com o aumento da concentração de IPS e diminuição de TPS nos filmes TPS70/30; TPS60/40 e TPS50/IPS50, os picos de cristalinidade Tipo-Vh ($2\theta = 19,56^\circ$) tornam-se mais largos. Este fato pode ser atribuído à diminuição da formação do complexo

amilose-glicerol devido à mobilidade reduzida de moléculas de amilose (MENDES et al., 2016). Picos a $13,7^\circ$, $19,6^\circ$ e $21,1^\circ$ são atribuídos aos cristais de amilose do Tipo-Vh complexados com lipídios e outras substâncias como o glicerol formados durante o resfriamento após o processo (CARMONA et al., 2014; MENDES et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2011), enquanto picos a $16,8^\circ$, $17,7^\circ$ e $29,9^\circ$ pertencem a cristais do Tipo B, que podem ter sido formados durante o armazenamento devido a recristalização da amilopectina (DANG e YOKSAN, 2015). Lavorgna et al. (2010) avaliaram o efeito da presença do plasticizante glicerol em filmes de quitosana, encontrando um pico de difração em torno de $2\theta = 20^\circ$.

Além disso, a Figura 2 mostra a ausência de cristais de Tipo-A, característico dos grânulos de amido de cereais, para todos os filmes. Isto indica que a estrutura de amido de milho nativo foi completamente desestruturada durante a extrusão (SHI et al., 2007), como também pode ser observado nas micrografias de varredura (MEV).

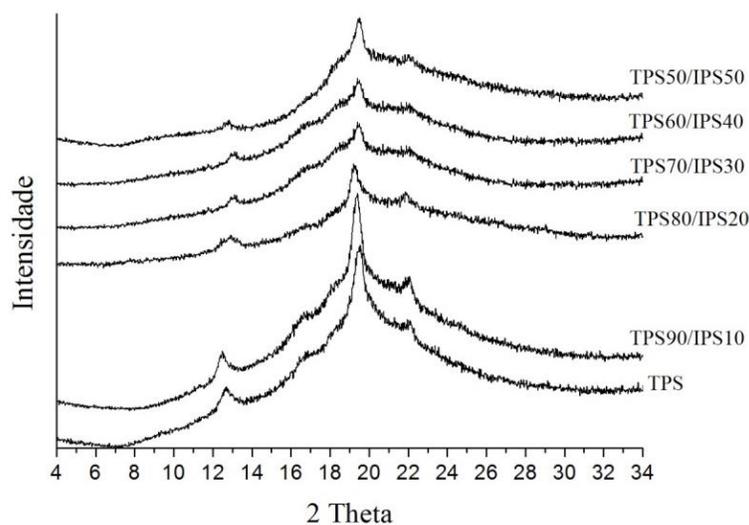


Figura 2 Padrões de difração de raios X de filmes de amido de milho e isolado proteico de soro de leite produzidos por extrusão.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Estudos de raios X são sempre complementados com técnicas de microscopia. A Figura 3 representa as micrografias obtidas por MEV dos grânulos de amido de milho em pó e IPS em pó. Os grânulos de amido (Figura 3a) apresentaram formatos que variaram de arredondados a poligonais e sua completa desestruturação pode ser observada pelas micrografias das blendas de filmes de TPS/IPS (Figura 4). As partículas de IPS apresentaram-se esféricas, com superfícies rugosas e lisas. A morfologia das partículas de proteína é atribuída à composição da proteína e suas estruturas químicas. Os principais componentes do IPS são α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, albumina sérica bovina (BSA), dentre outros. Estas proteínas, muitas vezes são aglomeradas devido às interações hidrofóbicas intermoleculares, ligações de dissulfeto, ligações de hidrogênio e / ou interações eletrostáticas, dependendo das condições aplicadas, tais como temperatura, pressão, concentração e pH. Geralmente, a morfologia do IPS é atribuída à presença do principal composto, a β -lactoglobulina (GHOSH et al., 2010; HAVEA, SINGH e CREAMER, 2001).

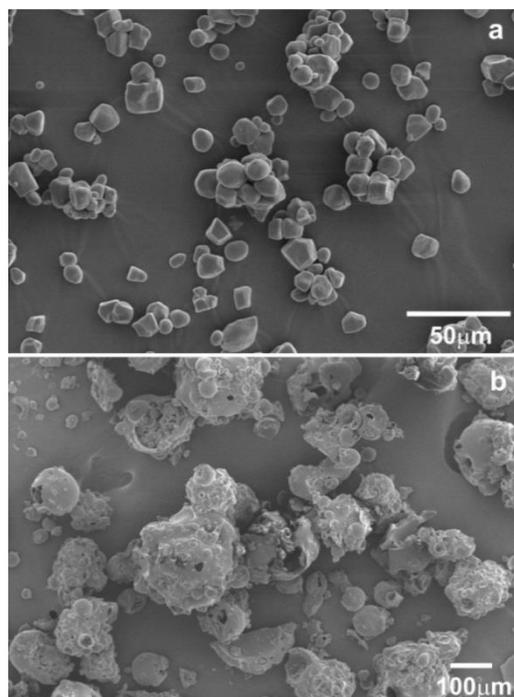


Figura 3. MEV - Micrografias de superfície. a) amido de milho em pó (x 500); b) IPS em pó (x 100).

As micrografias de MEV da superfície de fratura dos filmes extrusados são mostrados na Figura 4. O filme TPS apresentou superfície lisa e homogênea (Figura 4a). Isto indica a ausência e completa desestruturação dos grânulos de amido de milho nativo após o processo de extrusão. Este resultado explica a ausência de cristais do Tipo-A para o filme TPS no gráfico de DRX (Figura 2). O filme TPS90/IPS10 apresentou superfície rugosa com a presença de aglomerados (Figura 4b). O filme TPS80/IPS20 apresentou-se mais homogêneo e com poucos aglomerados (Figura 4c). O filme TPS70/IPS30 (Figura 4d) apresentou-se homogêneo porém com rachaduras mais evidentes que poderiam ter sido formados durante o processo de moldagem por compressão. Os filmes TPS60/IPS40 e TPS50/IPS50 (Figura 4e e 4f) apresentaram uma superfície homogênea sem rachaduras e com pequenas partículas aglomeradas. Isto pode

indicar uma forte adesão interfacial entre a proteína e a matriz de TPS. Durante o processo de extrusão podem ser formadas certas irregularidades superficiais na estrutura dos filmes (MENDES et al., 2016; TADMOR e GOGOS, 2013)

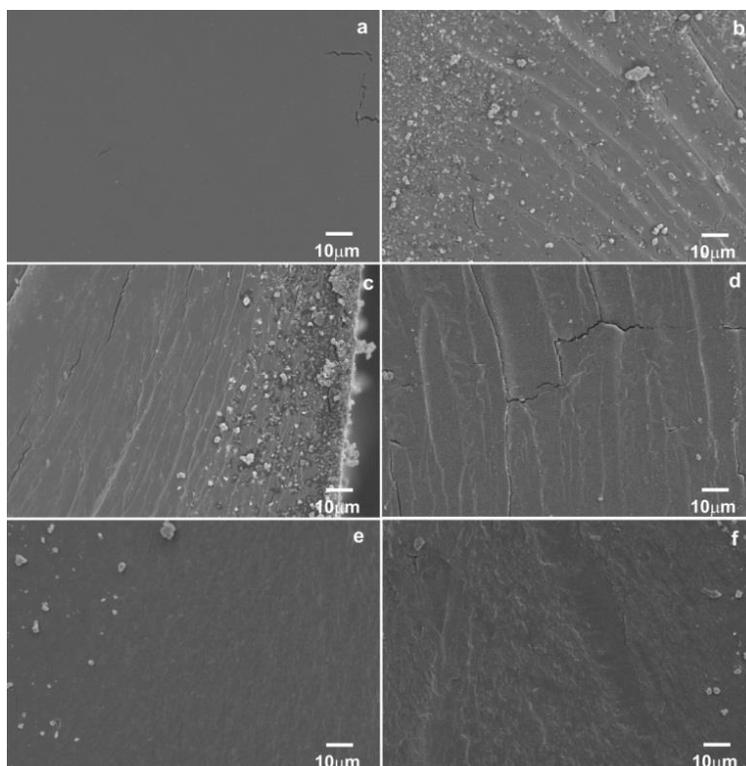


Figura 4. Micrografias (x1000) de fratura de TPS/IPS. a) TPS; b) TPS90/IPS10; c) TPS80/IPS20; d) TPS70/IPS30; e) TPS60/IPS40; f) TPS50/IPS50.

3.3 Termogravimetria (TG)

As curvas TG e sua primeira derivada (DTG) para amido de milho, IPS em pó e filmes de TPS/IPS são mostrados na Figura 5 e foram determinadas para avaliar a estabilidade térmica dos filmes. Observam-se três estágios de degradação (Figura 5). O primeiro estágio ocorre entre 25 a 200°C e não é influenciada pela mistura dos polímeros. A perda de massa abaixo de 200°C é

atribuída à presença de água residual e voláteis de baixa massa molar, pois o início da degradação de proteínas começa em torno de 225°C (AZEVEDO et al., 2015a; MA, YU e MA, 2005; MARTÍNEZ-CAMACHO et al., 2010; SHARMA e LUZINOV, 2013). O segundo estágio foi observado entre 200°C até aproximadamente 350 °C, correspondendo a decomposição térmica dos componentes presentes nos filmes. O terceiro estágio ocorre acima 350°C e corresponde à degradação de componentes do filme e degradação oxidativa de resíduos carbonáceos formados durante o segundo estágio no qual sob atmosfera de ar ocorre a completa oxidação dos materiais (AZEVEDO et al., 2015a; CANEVAROLO JR, 2004; PELISSARI et al., 2009).

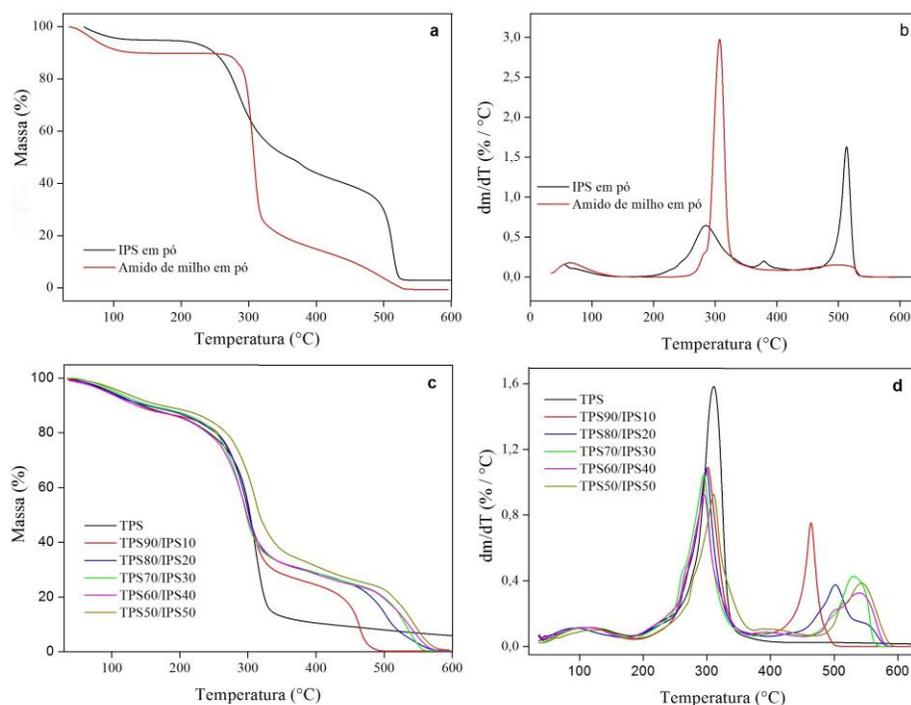


Figura 5 Curvas de TG (a, c) e DTG (b, d) de amido de milho em pó, IPS em pó e filmes de blendas de TPS/IPS em atmosfera de ar sintético.

Os parâmetros de estabilidade térmica dos componentes em pó (IPS e amido de milho) e dos filmes de TPS/IPS são apresentados na Tabela 2.

O início da degradação térmica (T_i) do TPS diminuiu em relação ao amido de milho em pó (Tabela 2). Este fato pode ser atribuído a plasticização do material extrusado que em presença de água e glicerol diminui a T_i do material. Mendes et al. (2016), em pesquisas com filmes de blendas de TPS e quitosana, relataram que a adição de quitosana não alterou de forma significativa a estabilidade térmica das misturas em comparação com TPS puro. Estes autores relataram uma temperatura inicial de degradação para o TPS puro ao redor de 277°C.

Quando ocorre a substituição do amido de milho por IPS, um aumento na T_i nos filmes é notável (Tabela 2) indicando uma melhoria da estabilidade térmica dos filmes. Isto pode ser esperado, pois a mistura entre polímeros é uma alternativa para a melhoria de propriedades de desempenho em filmes. Além disso, com a adição de IPS na matriz de TPS pode ser observado que o segundo estágio de degradação térmica ocorre em duas fases (dois picos de temperatura), ao contrário do filme TPS, provavelmente devido a presença de outros componentes presentes no IPS que interferem no mecanismo de degradação. No entanto, a substituição do amido de milho por IPS não alterou o perfil de degradação dos filmes em relação ao primeiro pico de T_f (365,1°C à 372,7°C) em comparação ao filme TPS. Porém, ocorre um aumento da T_f no segundo pico de temperatura (505,7°C à 587,7°C) indicando que a presença do IPS é responsável pelo aumento da estabilidade térmica das blendas. Teixeira et al. (2011) relataram em trabalhos desenvolvidos de TPS e nanofibras de celulose que a degradação térmica do TPS está entre 300°C e 350°C. Mariani et al. (2009) estudaram o efeito do aumento da concentração de isolado proteico de soja (SPI) em blendas de amido de milho e policaprolactona processadas por extrusão. Estes autores relataram que a adição de amido de milho e SPI foram

responsáveis pela redução das propriedades térmicas dos materiais, em comparação com PCL puro. No entanto, com o aumento da quantidade de SPI e a redução de amido incorporados nas amostras, as propriedades térmicas tenderam a aumentar.

Para as curvas de $DTG_{máx}$, (Figura 5d) temperatura onde ocorre a máxima velocidade de degradação, dois eventos térmicos também são apresentados. A Tabela 2 mostra um aumento da variação de temperatura para o segundo pico de $DTG_{máx}$, possivelmente devido ao aumento da concentração de IPS. O primeiro pico (entre 294,9 e 310,8°C) é atribuído a degradação do TPS enquanto que o segundo pico (entre 463,8°C e 543,21°C) está relacionado a degradação do IPS conforme temperaturas de $DTG_{máx}$, do IPS e amido de milho em pó (Tabela 2).

Com o aumento da concentração de IPS nas blendas, observou-se redução na porcentagem de perda de massa (% PM) em relação ao amido de milho e IPS em pó. Isto indica que as blendas de TPS/IPS tornaram-se mais estáveis à decomposição térmica. Autores relatam que a estabilidade do material a decomposição térmica está relacionada a uma diminuição do intervalo de variação da porcentagem de perda de massa (%PM) (AZEVEDO et al., 2015a; CANEVAROLO JR, 2004).

Em pesquisas com blendas de IPS e concentrado proteico de soro de leite em diferentes concentrações de glicerol, Ramos et al. (2012), obtiveram grande perda de massa em temperaturas entre 280°C e 500°C. Estes autores relataram que essa perda está associada com a degradação da proteína e com o plasticizante glicerol, incorporado na matriz do filme. A Tabela 2 mostra ausência de substâncias residuais ($Res_{600°C}$) após a queima dos filmes, pois sob atmosfera de ar ocorre completa oxidação do material. Assim, as blendas de TPS/IPS apresentaram um aumento da estabilidade térmica em relação ao filme TPS.

Tabela 2 Estabilidade térmica dos componentes em pó e dos filmes de blendas de TPS/IPS obtidos por termogravimetria

	T_i^* (° C)	DTG_{max} (°C)	T_f (° C)	(%) PM ($T_i - T_f$)	$Res_{600\text{ }^\circ\text{C}}$ (%)
Amido de milho pó	285,2	307,3	541,9	84,6	0,12
IPS em pó	250,6 401,2	285,1 512,8	360,7 540,6	89,7	1,8
TPS	230,1	309,2	369,7	84,2	3,2
TPS90/IPS10	229,2 395,6	301,8 463,7	365,1 505,7	81,7	0,3
TPS80/IPS20	232,7 431,9	298,9 502,1	366,5 587,7	82,7	0,6
TPS70/IPS30	234,53 459,72	294,9 530,4	371,3 573,1	83,2	0,4
TPS60/IPS40	248,8 462,8	295,7 539,8	365,1 586,9	81,5	0,5
TPS50/IPS50	252,5 475,8	310,8 543,2	372,7 585,3	83,7	0,8

* T_i (temperatura inicial de decomposição); DTG_{max} (temperatura máxima de decomposição); T_f (temperatura final de decomposição); PM (porcentagem de perda de massa na faixa de decomposição); $Res_{600\text{ }^\circ\text{C}}$ (porcentagem de resíduo a 600°).

3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise de DSC foi realizada para melhor entendimento sobre as interações entre TPS e IPS e temperaturas de transições. Todos os filmes apresentaram temperatura de fusão da fase cristalina (T_m) da matriz (Tabela 3). A ocorrência de uma única temperatura de fusão cristalina está relacionada com a homogeneidade e miscibilidade entre os componentes dos filmes (LOPEZ et al., 2014).

A T_m aumentou com a adição de IPS em relação ao filme TPS (Tabela 3). Este aumento pode ser atribuído à interação entre moléculas de amido e

proteínas devido a forças intermoleculares com ligações mais fortes. Lopez et al. (2014) relataram que em regiões cristalinas da matriz de TPS as interações entre cadeias poliméricas são fortes devido à sua compatibilidade química. Estes autores relataram $T_m=155^\circ\text{C}$ para filmes de TPS e T_m entre $147,2^\circ\text{C}$ a $154,8^\circ\text{C}$ em blendas de TPS/quitosana. Sharma et al. (2013) relataram a ausência de cristalinidade para IPS devido a desnaturação dos glóbulos de proteínas do soro de leite, indicando um efeito de plasticização da água. Estes autores sugerem que as moléculas de água foram ligadas a macromoléculas proteicas através de ligações de hidrogênio. Esta informação corroborou com a ausência de cristalinidade nos difratogramas de raios X deste trabalho para IPS.

Observou-se que a T_g do filme TPS foi de $56,9^\circ\text{C}$ (Tabela 3). A adição de IPS na matriz de TPS aumentou a T_g diminuindo assim a mobilidade das cadeias poliméricas. Isto indica um aumento na estabilidade térmica dos filmes. Sharma et al. (2013) encontrou valores de $T_g = 120^\circ\text{C}$ para blendas de filmes de IPS com albumina. Azevedo et al. (2015a) relataram valores de $T_g = 143,46$ para filmes de IPS puro. Hernandez-Izquierdo et al. (2008a) relataram a existência de um pico endotérmico em $148,3^\circ\text{C}$ para filmes de IPS puro obtidos por extrusão. Valores de T_g de isolado proteico de soro de leite em pó foram reportados por Zhou e Labuza (2007) que encontraram 153°C e Adhikari et al. (2009) que observaram valores em torno de 75 a 119°C contendo de 7 a 16% de água. O valor da T_g de blendas de filmes com polyvinyl e amido de milho (PVA/amido 1: 1) apresentaram-se mais altos ($T_g 76,1^\circ\text{C}$) quando comparado ao polímero puro de PVA ($T_g 70,5^\circ\text{C}$). Este aumento é atribuído à presença de interações de ligações de hidrogênio entre amido e PVA (AYDİN e ILBERG, 2016)

Tabela 3 Calorimetria exploratória diferencial de filmes de TPS/IPS

	T_m (°C) ^a	T_g (°C)
Amido milho em pó	109,7	-28,9
IPS em pó	ausência	186,1
TPS	144,5	56,9
TPS90/IPS10	189,2	102,6
TPS80/IPS20	189,1	104,1
TPS70/IPS30	189,4	106,7
TPS60/IPS40	188,7	101,5
TPS50/IPS50	189,1	102,1

^aAbreviações: T_m , temperatura de fusão cristalina; T_g , temperatura de transição vítrea

3.5 Propriedades Mecânicas

O efeito da substituição de amido de milho por IPS foi significativo ($p < 0,05$) para resistência à tração (σ_{max}), módulo de elasticidade (ME), alongamento (ϵ), resistência à punctura (RP), deformação na punctura (DP) e estão representados na Tabela 4 e Figura 6.

Para a σ_{max} , observou-se diferença significativa apenas para o filme TPS70/IPS30 com aumento de 48,8% em relação ao filme TPS (Tabela 4). Isto indica que uma maior força foi necessária para o seu rompimento. Para filmes com concentrações acima de 30% de IPS, o valor de σ_{max} foi reduzido. Observou-se um aumento do ME (60,3%) com até 40% de IPS para blendas de filmes de TPS/IPS. Isto indica menor movimento das cadeias poliméricas caracterizando-se como filmes com alta rigidez, ou seja, menos flexíveis. No entanto, os filmes TPS70/IPS30 e TPS60/IPS40 não apresentaram diferença significativa entre eles (Tabela 4). A alta rigidez pode estar atribuída a uma redução da plasticização dos filmes durante o processo de extrusão em altas temperaturas devido a uma possível evaporação da água e do glicerol. A água também possui efeito plasticizante em filmes hidrofílicos, porém, em presença

de baixa umidade, os filmes tornam-se quebradiços devido à diminuição de água residual no interior do filme (COUPLAND et al., 2000).

Com o aumento do ME ocorreu uma redução de 88,3% do alongamento (ϵ) para todos os filmes em relação ao filme TPS indicando diminuição do efeito plasticizante e menor estiramento dos filmes. Em geral, filmes à base de proteínas apresentam baixa resistência à tração, ou seja, alto módulo elástico e baixa extensibilidade (SHARMA e LUZINOV, 2013). Yan et al. (2012) investigaram os efeitos da extrusão para formação de filmes e a concentração de glicerol nas propriedades dos filmes de amido. Com o aumento do teor de glicerol, os filmes tornaram-se mais flexíveis, com maior alongamento na ruptura e menor resistência à tração. Plastificantes alteram a flexibilidade e extensibilidade dos filmes devido a redução de ligações de hidrogênio entre as cadeias dos polímeros com diminuição do módulo de elasticidade e resistência à tração (ALVES et al., 2007; MALI e GROSSMANN, 2003). A adição de plasticizantes torna-se necessário devido à fragilidade de filmes à base de IPS, fornecendo flexibilidade (SHAW et al., 2002). Pesquisas anteriores relataram que para a obtenção de plásticos a partir de proteínas com um desempenho aceitável, é necessário a utilização de plastificantes tais como água ou outros com moléculas de baixa massa molar para aumentar a processabilidade e termoplasticidade / polimerização de proteínas durante a moldagem (MATVEEV, GRINBERG e TOLSTOGUZOV, 2000; ROUILLY et al., 2001)

Além de interferir nas propriedades de filmes à base de IPS, a ausência de plastificantes também prejudica o desenvolvimento de filmes com amido. Conforme Liu e Han (2005), a ausência de plastificantes formaria um filme com estrutura bifásica composta de amilose e amilopectina. A presença de plastificantes em filmes de amido auxilia no rompimento da formação de dupla hélice da amilose com fragmentos de amilopectina, reduzindo assim a interação entre a amilose/amilopectina, formando um filme flexível.

Carmona et al. (2015) em pesquisas sobre blendas biodegradáveis de amido termoplástico (TPS), policaprolactona (PCL) e ácido polilático (PLA), desenvolvidas por extrusão relataram propriedades mecânicas de tração para o TPS inferiores à mistura TPS/PCL/PLA. O TPS apresenta alta sensibilidade à água e fracas propriedades mecânicas, o que limita as suas aplicações (TEIXEIRA et al., 2011).

Para o ensaio de punctura, a adição de IPS diminuiu a RP e DP dos filmes em 87,6% e 62,5% respectivamente (Tabela 4). Isso indica menor mobilidade das cadeias dos polímeros, menor deformação dos filmes e força para perfuração, conseqüentemente, filmes mais frágeis e fracos.

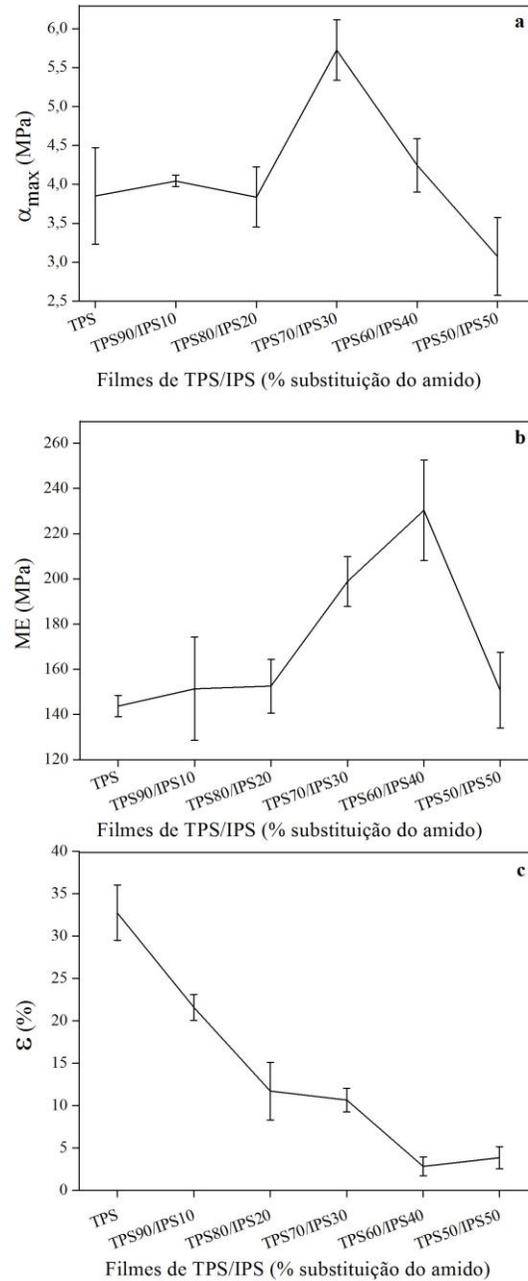


Figura 6 (a) Resistência a tração (σ_{\max}); (b) módulo de elasticidade (ME) e (c) alongamento (ϵ) de filmes de TPS/IPS em função da porcentagem de substituição de amido de milho por isolado proteico de soro de leite.

Tabela 4 Tração (σ_{\max} , ME, ϵ); Punctura (RP e DR) em filmes de TPS/IPS

Filme	Resistência à tração (σ_{\max}) (MPa)	Módulo de Elasticidade (ME) (MPa)	Alongamento (ϵ) (%)	Resistência à punctura / Espessura (RP) (N/mm)	Deformação na punctura (DP) (mm)
TPS	3,85 ± 0,62 a	143,71 ± 4,6 a	32,76 ± 3,2 a	92,40 ± 5,3 a	4,96 ± 0,36 a
TPS90/IPS10	4,04 ± 0,07 a	151,40 ± 22,8 a	21,60 ± 1,5 b	70,50 ± 9,7 b	3,67 ± 0,18 b
TPS80/IPS20	3,84 ± 0,38 a	152,53 ± 11,9 a	11,70 ± 3,4 c	56,74 ± 3,3 c	3,01 ± 0,27 c
TPS70/IPS30	5,73 ± 0,38 b	198,90 ± 11,0 b	10,65 ± 1,3 c	75,40 ± 5,8 b	3,38 ± 0,32 d
TPS60/IPS40	4,24 ± 0,34 a	230,35 ± 22,1 b	2,83 ± 1,1 d	19,57 ± 9,6 d	1,78 ± 0,18 e
TPS50/IPS50	3,07 ± 0,49 a	150,74 ± 16,7 a	3,84 ± 1,3 d	11,45 ± 3,1 d	1,86 ± 0,45 e

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

Tabela 5 Efeito da substituição do amido na PVA e parâmetros de cor (a^* , b^* , *hue* e *chroma*) em filmes de TPS/IPS.

Filme	PVA x 10^{-12} ($\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}$)	Transparência ($\log(\%T)/\text{mm}$)	a^*	b^*	<i>chroma</i>	<i>hue</i>
TPS	4,63 ± 0,32 a	5,39 ± 0,11 a	-0,76 ± 0,12 a	4,07 ± 0,32 a	3,48 ± 1,15 a	-77,76 ± 0,29 a
TPS90/IPS10	3,83 ± 0,07 b	4,41 ± 0,04 b	-0,91 ± 0,07 a	4,13 ± 0,45 a	4,17 ± 0,32 a	-77,56 ± 0,40 a
TPS80/IPS20	3,09 ± 0,15 c	4,43 ± 0,10 b	-0,88 ± 0,30 a	3,40 ± 1,10 a	4,23 ± 0,48 a	-77,64 ± 0,93 a
TPS70/IPS30	2,71 ± 0,26 c	4,99 ± 0,10 c	-0,50 ± 0,08 b	5,08 ± 0,52 b	5,10 ± 0,52 b	-84,41 ± 0,45 b
TPS60/IPS40	2,84 ± 0,28 c	4,62 ± 0,14 d	-1,25 ± 0,19 c	6,76 ± 0,93 c	6,89 ± 0,84 c	-79,50 ± 0,27 c
TPS50/IPS50	2,45 ± 0,34 c	3,91 ± 0,05 e	-1,47 ± 0,11 d	11,93 ± 1,36 d	12,02 ± 1,38 d	-82,93 ± 0,30 d

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

3.5 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A substituição do amido de milho por IPS foi significativa ($p < 0,05$) para PVA (Tabela 5). Em estudos de propriedades de barreira, o controle de espessura torna-se uma variável de grande importância, pois com o aumento da espessura ocorre uma diminuição da PVA (MCHUGH, 1994a) (MCHUGH; AVENA-BUSTILLOS; KROCHTA, 1994). Neste trabalho, a espessura dos filmes não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) e variaram entre 330 a 390 μm .

Conforme Tabela 5, o filme TPS apresentou o maior valor de PVA. Este aumento pode ser atribuído à elevada afinidade do glicerol pelo amido que promove a difusão destas moléculas. Por ser uma molécula hidrofílica, o glicerol pode facilmente se alojar entre as moléculas de amido formando ligações de hidrogênio com grupos hidroxila da amilose e amilopectina (LAOHAKUNJIT e NOOMHORM, 2004). Yan et al. (2012) relataram que o processo de extrusão também pode ocasionar um certo grau de despolimerização e quebra de ligações de hidrogênio no amido, com consequente facilidade para absorção de água.

A PVA em filmes de blendas de TPS/IPS diminuiu com o aumento da substituição do amido de milho por IPS (Tabela 5). Porém, os filmes não apresentaram diferença significativa acima de 20% de substituição de amido de milho por IPS. O IPS é um polímero hidrofílico que possui grupos hidroxílicos, assim, a água poderia facilmente permear o filme (WANG et al., 2009). Entretanto, possivelmente, devido a fase cristalina, formada na matriz polimérica conforme difratogramas de raios X, a passagem de vapor de água torna-se limitada. A permeação de vapor de água e gases ocorre nas regiões amorfas dos polímeros, em espaços vazios enquanto que nas áreas cristalinas ocorre uma redução da passagem de vapor de água (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Além disso, a PVA está relacionada a fatores como estrutura do filme,

quantidade de material hidrofílico/hidrofóbico, mobilidade da cadeia polimérica devido à presença de plastificantes e relação entre regiões amorfas e cristalinas (GARCIA, MARTINO e ZARITZKY, 2000). Outro fator responsável pela diminuição da PVA pode estar relacionado com a desnaturação de proteínas acima de 50°C. Como as proteínas do soro de leite desnaturam, elas tornam-se agregadas e insolúveis (ONWULATA et al., 2003). Alterações na estrutura globular das proteínas ocorrem acima de 50 e 80 °C para α -lactoalbumina e β -lactoglobulina, respectivamente (HONG e CREAMER, 2002).

Além da possível cristalinidade formada na matriz de TPS e formação de agregados insolúveis de IPS, conforme difratogramas de raios X, a resistência ao vapor de água das blendas de TPS/IPS aumentaram possivelmente devido à presença de ácido cítrico na formulação dos filmes. Azevedo et al. (2015b) estudaram a influência do ácido cítrico nas propriedades físicas de filmes de IPS e relataram uma diminuição da PVA com a adição de 5% de ácido cítrico. Estes autores relataram que na presença de ácido cítrico, a ligação de hidrogênio formada com um grupo hidroxila e um grupo carboxílico aumenta a interação inter/intramolecular entre aditivos presentes no filme. Este resultado corroborou com as micrografias de MEV as quais indicaram uma forte adesão interfacial entre a proteína e a matriz de TPS. Lopez et al. (2013) relataram uma redução da PVA de 62% em blendas de amido de milho termoplástico com amido acetilado e glicerol. Estes autores atribuíram este resultado ao caráter hidrofóbico do amido acetilado.

3.6 Propriedades Ópticas

Atributos de cor são importantes pois estão diretamente relacionados com a aceitação dos consumidores. As propriedades ópticas de transparência, a^* , b^* , *hue* e *chroma* apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os filmes

com a substituição do amido de milho pelo soro de leite (Tabela 5). O parâmetro luminosidade (L^*) que varia do zero (cor preta) a 100 (cor branca), não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos variando de 85,17 a 88,75 indicando filmes mais claros próximos da cor branca.

Os filmes apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) com redução da transparência em relação ao filme TPS (Tabela 5). A transparência está relacionada com a estrutura interna de filmes (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2010a). A cristalinidade dos filmes conforme apresentada pelos difratogramas de raios X possivelmente diminuiu a transmissão de luz através do filme reduzindo assim a transparência. Brindle e Krochta (2008), relataram que filmes de IPS com glicerol eram transparentes enquanto que blendas de IPS/Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e glicerol tornaram-se translúcidas, indicando algum grau de imiscibilidade entre IPS e HPMC.

O parâmetro ($-a^*$) que corresponde a uma tendência ao verde apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) e aumentou com a adição de IPS apenas para os filmes TPS60/IPS40 e TPS50/IPS50. Os parâmetros *hue*, *chroma* e b^* sofreram influência significativa ($p < 0,05$) com a substituição de amido por soro de leite. O parâmetro ($+b^*$) relacionado a cor amarela aumentou com a com a adição de IPS para os filmes TPS70/IPS30; TPS60/IPS40 e TPS50/IPS50. *Chroma* é a medida da saturação da cor (ZHONG, SONG e LI, 2011). Observou-se aumento dos valores de *chroma* caracterizando-se por filmes com alta intensidade de cor. O parâmetro *Hue* é o valor em graus e refere-se a tonalidade de cor no diagrama tridimensional de cores: $chroma +a^*$ 0° (vermelho), $+b^*$ 90° (amarelo), $-a^*$ 180° (verde) e $-b^*$ 270° (azul). Embora o amarelo e o vermelho sejam duas tonalidades totalmente diferentes, a mistura do amarelo com vermelho resulta na cor laranja (amarelo-vermelho), a mistura de amarelo e verde resulta em amarelo-verde, o azul misturado com verde resulta em azul-verde, e assim por diante (SENSING, 2007). Observou-se um aumento de *hue* apenas para os

filmes TPS70/IPS30; TPS60/IPS40 e TPS50/IPS50. Assim, pode-se estimar a posição das blendas de filmes de TPS/IPS em uma tonalidade amarelo-esverdeado dentro do sólido de cor (Cielab). Silva et al. (2007) relataram que a cor dos filmes pode ser influenciada pela fonte de amido. Filmes de amido de mandioca apresentaram maior diferença de cor quando comparado a filmes de amido de milho e batata. Durante o processo de gelatinização do amido ocorrem mudanças na coloração devido à perda de estrutura e cristalinidade dos grânulos de amido, tornando o gel uma estrutura com certa opacidade (GUERRERO et al., 2012). Filmes à base de amido de milho termoplástico (TPS) e quitosana/quitina foram obtidos por termo compressão e apresentaram coloração amarelada. Estes autores relataram que a temperatura de processamento promoveu reações químicas como reação de Maillard relacionado ao escurecimento não enzimático (LOPEZ et al., 2014).

4 CONCLUSÃO

Com base nos difratogramas de raios X e microscopia eletrônica de varredura, os grânulos de amido nativo foram completamente desestruturados durante a extrusão com filmes homogêneos e forte adesão entre a matriz de TPS e proteínas do soro de leite. Todos os filmes apresentaram redução da PVA não sendo significativo em concentrações acima de 20% de IPS em relação ao filme TPS. O filme TPS70/IPS30 apresentou-se mais resistente, menos flexível e com baixo alongamento quando comparado ao filme TPS. A adição de IPS na matriz de TPS tornou os filmes mais estáveis à decomposição térmica e provocou alterações das propriedades ópticas com filmes de tonalidade amarelo esverdeado e redução da transparência em relação ao filme TPS. Assim, a extrusão de blendas de polímeros biodegradáveis é um importante passo para o

desenvolvimento de filmes para a utilização em embalagens, sendo o filme TPS70/IPS30 o mais indicado para continuação de trabalhos futuros.

AGRADECIMENTOS

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. SISNANO (Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologia) e LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação), *Hilmar Ingredients*, pela doação do isolado proteico de soro de leite.

REFERÊNCIAS

ADHIKARI, B. et al. Effect of addition of proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 2, p. 144-153, 2009.

ALVES, V. D. et al. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p. 941-946, 2007.

ANGELLIER, H. et al. Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 2, p. 531-539, 2006.

ASTM. **Standard practice for conditioning plastics for testing, D618-00**. Philadelphia,PA: 4 p. 2000a.

_____. **Standard test method for water vapor transmission of materials, E96-00**. Philadelphia,PA: 9 p. 2000b.

_____. **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882-02**. Philadelphia, PA: 10 p. 2002.

_____. **Standard test method for transition temperatures of polymers by differential scanning calorimetry, D3418-03**. Philadelphia, PA: 7 p. 2003a.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 111-122, 2004.

AYDİN, A. A.; ILBERG, V. Effect of different polyol-based plasticizers on thermal properties of polyvinyl alcohol: starch blends. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 441-448, 2016.

AZEVEDO, V. M. et al. Development of whey protein isolate biocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 179-188, 2015a.

AZEVEDO, V. M. et al. Whey protein isolate biodegradable films: Influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 252-258, 2015b.

BASTOS, D. C. et al. Hydrophobic corn starch thermoplastic films produced by plasma treatment. **Ultramicroscopy**, v. 109, n. 8, p. 1089-1093, 2009.

BERTUZZI, M. et al. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of food engineering**, v. 80, n. 3, p. 972-978, 2007.

BRINDLE, L.; KROCHTA, J. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. E446-E454, 2008.

CANEVAROLO JR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. 2004. 448p

CARMONA, V. B. et al. Properties of a Biodegradable Ternary Blend of Thermoplastic Starch (TPS), Poly (ϵ -Caprolactone)(PCL) and Poly (Lactic Acid)(PLA). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 23, n. 1, p. 83-89, 2015.

CARMONA, V. B. et al. Kinetics of thermal degradation applied to biocomposites with TPS, PCL and sisal fibers by non-isothermal procedures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 1, p. 153-160, 2014.

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**, v. 22, n. 8, p. 1584-1595, 2008.

CHEN, X. et al. Thermoplastic starch modified with polyurethane microparticles: Effects of hydrophilicity of polyurethane prepolymer. **Starch-Stärke**, v. 64, n. 4, p. 255-262, 2012.

CHENG, M. et al. Study on physical properties and nerve cell affinity of composite films from chitosan and gelatin solutions. **Biomaterials**, v. 24, n. 17, p. 2871-2880, 2003.

COUPLAND, J. N. et al. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of food engineering**, v. 43, n. 1, p. 25-30, 2000.

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

DANG, K. M.; YOKSAN, R. Development of thermoplastic starch blown film by incorporating plasticized chitosan. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 575-581, 2015.

DE CAMPOS, A. et al. TPS/PCL composite reinforced with treated sisal fibers: property, biodegradation and water-absorption. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2013.

DE GRAAF, R. A.; KARMAN, A. P.; JANSSEN, L. P. Material properties and glass transition temperatures of different thermoplastic starches after extrusion processing. **Starch-Stärke**, v. 55, n. 2, p. 80-86, 2003.

FAJARDO, P. et al. Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 4, p. 349-356, 2010.

FERREIRA, C. O. et al. Characterization of chitosan-whey protein films at acid pH. **Food Research International**, v. 42, n. 7, p. 807-813, 2009.

FORSSELL, P. et al. Oxygen permeability of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate polymers**, v. 47, n. 2, p. 125-129, 2002.

GARCÍA, L. et al. Glass transition temperatures of cassava starch–whey protein concentrate systems at low and intermediate water content. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1375-1382, 2012.

GARCIA, M.; MARTINO, M.; ZARITZKY, N. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. **JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-**, v. 65, n. 6, p. 941-947, 2000.

GHOSH, A. et al. Structure–function characteristics of the biomaterials based on milk-derived proteins. **International journal of biological macromolecules**, v. 46, n. 4, p. 404-411, 2010.

GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable polymers for the environment. **Science**, v. 297, n. 5582, p. 803-807, 2002.

GUERRERO, P. et al. Extrusion of soy protein with gelatin and sugars at low moisture content. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 1, p. 53-59, 2012.

HAIDER, S.; PARK, S.-Y.; LEE, S.-H. Preparation, swelling and electro-mechano-chemical behaviors of a gelatin–chitosan blend membrane. **Soft Matter**, v. 4, n. 3, p. 485-492, 2008.

HAVEA, P.; SINGH, H.; CREAMER, L. K. Characterization of heat-induced aggregates of β -lactoglobulin, α -lactalbumin and bovine serum albumin in a whey protein concentrate environment. **Journal of Dairy Research**, v. 68, n. 03, p. 483-497, 2001.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. et al. Thermal Transitions and Extrusion of Glycerol-Plasticized Whey Protein Mixtures. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 4, p. E169-E175, 2008a.

HERRERA BRANDELERO, R. P.; VICTORIA EIRAS GROSSMANN, M.; YAMASHITA, F. Effect of the method of production of the blends on mechanical and structural properties of biodegradable starch films produced by blown extrusion. **Carbohydrate polymers**, v. 86, n. 3, p. 1344-1350, 2011.

HONG, S. I.; KROCHTA, J. Oxygen barrier properties of whey protein isolate coatings on polypropylene films. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 1, p. 224-228, 2003.

HONG, Y.-H.; CREAMER, L. K. Changed protein structures of bovine β -lactoglobulin B and α -lactalbumin as a consequence of heat treatment. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 4, p. 345-359, 2002.

KIM, H.-Y. et al. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 2, p. 582-588, 2013.

LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. **Starch-Stärke**, v. 56, n. 8, p. 348-356, 2004.

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

LEUANGSUKRERK, M. et al. Properties of konjac glucomannan–whey protein isolate blend films. **LWT-Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 94-100, 2014.

LIU, Z.; HAN, J. Film-forming Characteristics of Starches. **Journal of food science**, v. 70, n. 1, p. E31-E36, 2005.

LOPEZ, O. et al. Thermo-compression of biodegradable thermoplastic corn starch films containing chitin and chitosan. **LWT-Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 106-115, 2014.

LÓPEZ, O. V. et al. Acetylated and native corn starch blend films produced by blown extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 286-297, 2013.

MA, X. et al. Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 1, p. 1-8, 2009.

MA, X.; YU, J.; MA, Y. Urea and formamide as a mixed plasticizer for thermoplastic wheat flour. **Carbohydrate polymers**, v. 60, n. 1, p. 111-116, 2005.

MAGALHÃES, N.; ANDRADE, C. Thermoplastic corn starch/clay hybrids: Effect of clay type and content on physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 4, p. 712-718, 2009.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 24, p. 7005-7011, 2003.

MARIANI, P. et al. Effect of soy protein isolate on the thermal, mechanical and morphological properties of poly (ϵ -caprolactone) and corn starch blends. **Polymer testing**, v. 28, n. 8, p. 824-829, 2009.

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

MATVEEV, Y. I.; GRINBERG, V. Y.; TOLSTOGUZOV, V. The plasticizing effect of water on proteins, polysaccharides and their mixtures. Glassy state of biopolymers, food and seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 5, p. 425-437, 2000.

MCHUGH, T. H. K., JOHN M. Sorbital versus glycerol-plasticized edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 4, p. 841-5, 1994a.

MENDES, J. et al. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate polymers**, v. 137, p. 452-458, 2016.

NIJDAM, J. et al. An X-ray diffraction analysis of crystallised whey and whey-permeate powders. **Carbohydrate research**, v. 342, n. 16, p. 2354-2364, 2007.

ONWULATA, C. et al. Functionality of extrusion—texturized whey proteins. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 11, p. 3775-3782, 2003.

ORTEGA-TORO, R. et al. Effect of the incorporation of surfactants on the physical properties of corn starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 66-75, 2014.

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

PELISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch– chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009.

PEREDA, M.; ARANGUREN, M. I.; MARCOVICH, N. E. Characterization of chitosan/caseinate films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 107, n. 2, p. 1080-1090, 2008.

PROMMAKOOL, A. et al. Whey protein–okra polysaccharide fraction blend edible films: tensile properties, water vapor permeability and oxygen permeability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 2, p. 362-369, 2011.

RAMOS, Ó. L. et al. Edible films and coatings from whey proteins: a review on formulation, and on mechanical and bioactive properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 52, n. 6, p. 533-552, 2012.

RAQUEZ, J.-M. et al. Maleated thermoplastic starch by reactive extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 2, p. 159-169, 2008.

REDL, A. et al. Rheological properties of gluten plasticized with glycerol: dependence on temperature, glycerol content and mixing conditions. **Rheologica acta**, v. 38, n. 4, p. 311-320, 1999.

ROUILLY, A. et al. DSC study on the thermal properties of sunflower proteins according to their water content. **Polymer**, v. 42, n. 26, p. 10111-10117, 2001.

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

SARANTÓPOULOS, C. I. et al. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. CETEA/ITAL, 2002.

SCHMID, M. et al. Properties of whey-protein-coated films and laminates as novel recyclable food packaging materials with excellent barrier properties. **International Journal of Polymer Science**, v. 2012, 2012.

SENSING, K. M. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Konica Minolta Sensing, Incorporated, 2007.

SHAH, P. B.; BANDOPADHYAY, S.; BELLARE, J. R. Environmentally degradable starch filled low density polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 47, n. 2, p. 165-173, 1995.

SHAMEKH, S. et al. Film formation properties of potato starch hydrolysates. **Starch-Stärke**, v. 54, n. 1, p. 20-24, 2002.

SHARMA, S.; LUZINOV, I. Whey based binary bioplastics. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 3, p. 404-410, 2013.

SHAW, N. et al. Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 164-167, 2002.

SHI, R. et al. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 4, p. 763-770, 2008.

SILVA, W. A. D. et al. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. **Ciênc. agrotec.,(Impr.)**, v. 31, n. 1, p. 154-163, 2007.

ŠIMKOVIĆ, I. Unexplored possibilities of all-polysaccharide composites. **Carbohydrate polymers**, v. 95, n. 2, p. 697-715, 2013.
SPSS STATISTICS 17.0: user's guide. Chicago, 2007.

SUN, Q.; SUN, C.; XIONG, L. Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. **Carbohydrate polymers**, v. 98, n. 1, p. 630-637, 2013.

TADMOR, Z.; GOGOS, C. G. **Principles of polymer processing**. John Wiley & Sons, 2013.

TEIXEIRA, E. et al. The effect of glycerol/sugar/water and sugar/water mixtures on the plasticization of thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 4, p. 619-624, 2007.

TEIXEIRA, E. D. M. et al. Thermoplastic corn starch reinforced with cotton cellulose nanofibers. **Journal of applied polymer science**, v. 120, n. 4, p. 2428-2433, 2011.

WANG, N. et al. Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 68-73, 2009.

WANG, Y.; CHANG, C.; ZHANG, L. Effects of freezing/thawing cycles and cellulose nanowhiskers on structure and properties of biocompatible starch/PVA sponges. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 295, n. 2, p. 137-145, 2010.

YAN, Q. et al. Effects of extrusion and glycerol content on properties of oxidized and acetylated corn starch-based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 707-712, 2012.

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**, v. 84, n. 1, p. 335-342, 2011.

ZHOU, P.; LABUZA, T. P. Effect of water content on glass transition and protein aggregation of whey protein powders during short-term storage. **Food Biophysics**, v. 2, n. 2-3, p. 108-116, 2007.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: Correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 376-383, 2009.

**ARTIGO 2 - NANOCOMPÓSITOS ANTIOXIDANTES DE AMIDO
TERMOPLÁSTICO/ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE
INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM OBTIDOS
POR EXTRUSAO**

(VERSÃO PRELIMINAR)

Artigo redigido conforme normas da revista Food Chemistry

RESUMO

A atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim (OE) e o efeito da adição de nanopartículas de argila montmorilonita sódica (MMT) em blendas de amido de milho/isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS) foram estudados neste trabalho. A adição de óleo essencial de alecrim nos nanocompósitos apresentou efeito antioxidante conforme análise de DPPH. Os difratogramas de raios X mostraram dispersão/esfoliação da montmorilonita na matriz de amido de milho/isolado proteico de soro de leite. Os nanocompósitos apresentaram superfície rugosa com presença de porosidades devido a adição de óleo essencial de alecrim conforme microscopia eletrônica de varredura. A análise termogravimétrica revelou que a adição de montmorilonita e a combinação entre montmorilonita e óleo essencial de alecrim aumentaram a estabilidade térmica dos nanocompósitos. O módulo de elasticidade, resistência à tração e alongamento diminuíram com a adição de óleo essencial tornando os filmes menos rígidos (mais elástico), mais fracos e com menor capacidade de estiramento devido a um possível efeito de plasticização. A adição de óleo essencial provocou alterações das propriedades ópticas com nanocompósitos opacos e coloração amarelo esverdeado.

Palavras-chave: Polímeros Biodegradáveis. Montmorilonita Sódica. Blendas.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, existe um crescente aumento no interesse relacionado a polímeros biodegradáveis devido a problemas associados com resíduos não degradáveis derivados de polímeros sintéticos. Assim, pesquisas têm sido desenvolvidas com materiais biodegradáveis para obter compósitos com

propriedades melhoradas (CANCHÉ-ESCAMILLA et al., 2011; CYRAS et al., 2002). Diversos polímeros biodegradáveis já foram desenvolvidos e dentro desta grande variedade de materiais, o amido apresenta-se como uma alternativa de baixo custo para aplicações que exijam grande disponibilidade de matéria prima e produção em larga escala.

O amido é um biopolímero presente em diversas plantas, como milho, batata, trigo, arroz dentre outros. As propriedades químicas e físicas deste material têm sido amplamente estudadas devido a sua capacidade de transformação em materiais termoplásticos (TPS) por processos de extrusão, moldagem por injeção e termo prensagem para produzir materiais densos ou porosos (CARMONA et al., 2014; VELASQUEZ et al., 2015). No entanto, o amido termoplástico (TPS) apresenta reduzida propriedade mecânica e alta sensibilidade à umidade. Assim, para competir com plásticos não biodegradáveis é necessária a mistura do amido com outros materiais a fim de obter melhores propriedades (CANCHÉ-ESCAMILLA et al., 2011; MANO, KONIAROVA e REIS, 2003; RAHMAN et al., 2010; SHUJUN, JIUGAO e JINGLIN, 2006).

A extrusão termoplástica de proteínas do soro de leite estende sua capacidade para aplicações em diversos materiais e aumenta seu potencial comercial devido a eficiência, rapidez e continuidade do processo (JANJARASSKUL et al., 2014; RAUCH, 2008). O isolado proteico de soro de leite é um material biodegradável, com pelo menos 90% de proteínas sendo obtido através de troca iônica e subsequente ultrafiltração ou microfiltração para separação das proteínas do soro de leite (HORTON, 1998; KOKOSZKA et al., 2010a). Embora apresente boa resistência mecânica e excelente barreira ao oxigênio, aroma e óleos em condições de baixa umidade relativa, materiais obtidos a partir do isolado proteico de soro de leite apresentam propriedades de barreira à umidade inferior aos polímeros sintéticos. Assim, devido a sua natureza hidrofílica suas propriedades de barreira podem ser melhoradas pela

incorporação de substâncias hidrofóbicas, como lipídeos a fim de permitir aplicações comerciais (JANJARASSKUL et al., 2014; KIM e USTUNOL, 2001; KOKOSZKA et al., 2010b).

Óleos essenciais extraídos de plantas e especiarias exibem propriedades antimicrobianas e antioxidantes e não oferecem riscos a saúde humana (VIUDAMARTOS et al., 2010). Devido a sua natureza lipídica, espera-se que os óleos essenciais auxiliem na redução da permeabilidade ao vapor de água de polímeros hidrofílicos além de promoverem efeitos significativos na melhoria de outras propriedades como tração, ópticas e estruturais (ALVES-SILVA et al., 2013; ATARÉS e CHIRALT, 2016). O alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) é uma planta aromática e seu óleo essencial e/ou extrato apresentam forte capacidade antioxidante e antimicrobiana (BOUSBIA et al., 2009; TURASAN, SAHIN e SUMNU, 2015). O óleo essencial de alecrim inclui constituintes fenólicos em sua composição que envolve principalmente monoterpenos como 1,8-cineol (majoritário), α -pineno, cânfora, canfeno, responsáveis por efeitos terapêuticos como atividade antioxidante (BASER e BUCHBAUER, 2015; TURASAN, SAHIN e SUMNU, 2015). Porém, seu efeito antioxidante é atribuído a três tipos de fenólicos diterpenos: ácido carnósico (majoritário), carnosol e rosmanol (FRANKEL et al., 1996; THORSEN e HILDEBRANDT, 2003; YANG et al., 2016).

As propriedades de desempenho do amido e do soro de leite também podem ser melhoradas pela incorporação de nanopartículas como materiais de reforço para obtenção de nanocompósitos (AZEVEDO et al., 2015; MAJZADEH-ARDAKANI, NAVARCHIAN e SADEGHI, 2010; MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2009; 2012). Nanocompósitos são materiais poliméricos preenchidos com partículas dispersas com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica chamadas nanopartículas. As mais utilizadas incluem nanopartículas de argila, nanopartículas de sílica, nanotubos de carbono,

nanowhiskers de celulose e grafeno. Entre essas nanopartículas, a argila montmorilonita tem sido alvo de pesquisas devido à sua disponibilidade, baixo custo e significativo aumento das propriedades mecânicas e de barreira (CHAUDHARY et al., 2008; CHUNG et al., 2010; MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2012; PANDEY et al., 2005). Porém, alterações nas propriedades dos nanocompósitos estão associadas com a dispersão das nanopartículas na matriz polimérica. Uma boa dispersão aumenta a área interfacial entre nanopartículas e polímeros, resultando em melhoria das propriedades (AZEREDO, 2009; CHUNG et al., 2010; MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2012). A interação entre silicatos em camadas da argila, e cadeias de polímeros podem produzir dois tipos de nanocompósitos. O primeiro está relacionado com uma estrutura intercalada que resulta da penetração das cadeias do polímero na região interlamelar (entre lamelas) da argila, resultando em uma estrutura ordenada de multicamadas com a alternância de camadas inorgânicas e poliméricas a uma repetida distância de poucos nanômetros entre eles. O segundo tipo é uma estrutura esfoliada no qual o polímero penetra totalmente entre as lamelas de argila, com a dispersão e delaminação das camadas de argila aleatoriamente na matriz do polímero (AZEREDO, 2009; WEISS, TAKHISTOV e MCCLEMENTS, 2006). Nanocompósitos esfoliados têm sido relatados como a melhor estrutura para promover propriedades modificadas, devido à interação entre argila e polímero, porém nada tem sido reportado sobre a incorporação de óleos essenciais.

Baseado neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de óleo essencial de alecrim e o efeito da adição de nanopartículas de argila montmorilonita sódica como reforço em blendas de amido de milho/isolado proteico de soro de leite quanto às propriedades estruturais, morfológicas, térmicas, ópticas e mecânicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Isolado proteico de soro de leite (IPS 9400), com 90% de proteína, foi obtido pela *Hilmar Ingredients* (Hilmar, CA, USA). Amido de milho (Amidex 3001) com 70% de amilose e 30% de amilopectina pela *Corn Products do Brasil* (Ingredion, Brasil). Glicerol pela *Sigma Aldrich* (Brasil), ácido esteárico e ácido cítrico anidro granulado pela *Cargill* (Uberlândia, MG, Brasil). Argila montmorilonita (Cloisite Na⁺) foi fornecida pela *Southern Clay Products, Inc* (Gonzales, TX, USA). Óleo essencial de alecrim (*R. officinalis*) foi obtido pela Ferquima (Vargem Grande Paulista, Brasil).

2.2 Desenvolvimento dos filmes

Blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS) foram obtidos a partir da mistura manual dos seguintes componentes: fase sólida: 60% pp (sendo 42% pp amido de milho e 18%pp isolado proteico de soro de leite) e fase líquida: 24% pp glicerol e 16% pp água. À mistura final ainda foram adicionados 1% pp de ácido esteárico e 1% pp de ácido cítrico, os quais agem como agente de fluxo e antioxidante, respectivamente. Esta mistura foi processada em uma extrusora Coperion, modelo ZSK 18 (Coperion Ltda., São Paulo, Brasil), com L/D = 40, dupla-rosca co-rotante, roscas com diâmetros de 18 mm com elementos de condução e mistura, com 7 zonas de aquecimento e 2 zonas de degasagem. A velocidade do parafuso foi de 300 rpm e o perfil de temperatura foi 80, 80, 90, 90, 100, 110 e 110°C. Obtido os peletes destes materiais, estes seguiram para o processamento em uma extrusora mono-rosca

(AX Plásticos, Ltda., São Paulo, Brasil) para obtenção de fitas. A velocidade do parafuso foi de 15 rpm e o perfil de temperatura foi 80, 80 e 85°C nas três zonas de aquecimento.

Nanopartículas de argila montmorilonita sódica (MMT) (1%pp) e óleo essencial de alecrim (OE) (4 e 8%pp) foram adicionados às blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS). Inicialmente, MMT e óleo essencial foram adicionados à fase líquida (glicerol e água) e submetidos a homogeneizador Ultraturrax por 5 min/1200 rpm para homogeneização do óleo. Em seguida, essa mistura foi submetida a homogeneizador ultrassônico (*Sonifier Cell Disruptor Branson - Model 450D*, Manchester, UK) durante 15 min. com potência de 80 W/25 °C. A fase líquida foi misturada com a fase sólida (TPS, IPS, ácido cítrico e ácido esteárico) e então extrusadas conforme descrito anteriormente para obtenção de fitas. A Tabela 1 apresenta a composição de cada fita e o respectivo teor de cada componente (nanopartículas e óleo essencial).

2.3 Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido em um planejamento fatorial completo, com os seguintes fatores e níveis: montmorilonita sódica (MMT) e óleo essencial de alecrim (OE), sendo 0 e 1% e 0; 4 e 8%, respectivamente. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os filmes desenvolvidos a partir da blenda de TPS/IPS foram codificados conforme Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental dos nanocompósitos desenvolvidos

Blendas	MMT (g·100g ⁻¹ TPS/IPS)	OE (g·100g ⁻¹ TPS/IPS)
TPS/IPS	0	0
MMT0OE4	0	4
MMT0OE8	0	8
MMT1OE0	1	0
MMT1OE4	1	4
MMT1OE8	1	8

2.4 Condicionamento dos filmes e espessura

Todas as fitas foram condicionadas em temperatura controlada, $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa $50 \pm 5\%$ UR por 48 h antes das análises, conforme método D618-00 (ASTM, 2000). A espessura média das blendas foi medida por meio da leitura em dez pontos distintos, tomados aleatoriamente em cada corpo de prova, utilizando micrômetro digital *Mitutoyo* (precisão 0,01 mm; Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil).

2.5 Difração de Raios X (DRX)

As análises de difração de raios X das nanopartículas de argila montmorilonita sódica (MMT) e das blendas foram obtidas em equipamento *Shimadzu XRD-6000* (*Shimadzu*, Tokyo, Japão) equipado com radiação de filtro de $\text{Cu-}k_{\alpha 1}$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$). As amostras foram colocadas em suporte de alumínio e analisadas com um passo de $0,02^\circ \text{ s}^{-1}$, 2θ de 4° - 40° , velocidade 1° min^{-1} e 30 kV, 30 mA. O espaçamento basal (d) foi calculado pela equação de Bragg, (Equação 1):

$$\text{sen } \theta = n\lambda / 2d \quad (1)$$

Onde: λ corresponde ao comprimento de onda utilizado ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) e θ (Theta) é o ângulo onde se detecta o pico no difratograma.

2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das blendas foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JSM 6510 JEOL (Peabody, Massachusetts, USA) com voltagem de aceleração de 10 kV. Foram obtidas imagens de superfície do amido de milho, IPS e MMT em pó e fratura criogênica do material extrusado. As blendas fraturadas foram colocadas em “stubs” com fita de carbono, revestidos em ouro, sob vácuo por 90 segundos (metalização) e fotomicrografados.

2.7 Termogravimetria (TG)

A estabilidade térmica dos componentes em pó, do óleo e das blendas foi avaliada por termogravimetria em equipamento TGA Q500, (TA Instruments, New Castle, USA). As análises foram realizadas sob atmosfera de ar sintético a uma taxa de fluxo de $40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com aquecimento da temperatura ambiente a $700 \text{ }^\circ\text{C}$ com uma razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

2.8 Propriedades Mecânicas

As propriedades de tração dos filmes, resistência à tração (σ_{max}), alongamento na ruptura (ϵ) e o módulo de elasticidade (ME), foram medidos conforme método D638-08 (ASTM, 2008), em EMIC DL3000 Máquina de Testes Universais (*EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio LTDA, Brasil*) com célula de carga de 500N (50 Kgf). Os corpos de prova foram cortados com dimensões $25 \text{ mm} \times 115 \text{ mm}$ e a separação inicial entre as garras foi de 80 mm

com velocidade de 50 mm.min⁻¹. Foram testados cinco corpos de prova para cada corpo de prova em três repetições.

2.9 Propriedades Ópticas

A cor das blendas foi medida em equipamento Konica Minolta CR-400 (Osaka, Japão) e sistema CIE (L*, a*, b*) com uma fonte de luz D65, ângulo observador de 10° e modo reflectância. Os parâmetros analisados foram: (L*, a*, b*), índice de saturação *chroma* e ângulo *hue*. Os resultados foram expressos como a média de dez leituras em três repetições. A transparência das blendas foi determinada medindo a porcentagem de transmitância (%T) a 600 nm com espectrofotômetro UV/VIS 1601PC (Shimadzu, Tokyo, Japão) conforme método D1746-03 (ASTM, 2003). A transparência (T600) foi calculada pela equação 2:

$$T_{600} = (\text{Log}\%T)/\delta \quad (2)$$

Onde δ é a espessura da blenda (mm). As medições de cor foram realizadas, mantendo a sonda em contato direto com as blendas contra um fundo branco.

2.10 Atividade Antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH)

Para avaliar a atividade antioxidante das blendas foi utilizada a técnica DPPH (2,2-difenil-1-picril -hidrazil) conforme (BYUN, KIM e WHITESIDE, 2010) com algumas modificações. Blendas (5 g) foram cortadas em pequenos pedaços e misturado com 5 mL de metanol 80%. A mistura foi agitada em vortex durante 3 min. e mantida em repouso durante três horas à temperatura ambiente. Em seguida, o material foi armazenado por 5 dias sob refrigeração. Em seguida, foi novamente agitada em agitador de tubos por 3 min e

centrifugada a 10000 x g durante 10 min. O sobrenadante obtido foi analisado quanto à atividade antioxidante pela captura do radical DPPH. Uma alíquota do extrato de metanol (0,5 mL) foi misturado com 3,5 mL de 0,1 m.mol L⁻¹ DPPH em metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em agitador de tubos durante 1 minuto e deixada em repouso à temperatura ambiente no escuro durante 30 min. A absorvância foi medida a 517 nm utilizando um espectrofotômetro UV/VIS 1601PC (Shimadzu, Tokyo, Japão). O equipamento foi zerado com metanol 80% e o controle foi preparado com adição de 3,5 mL de DPPH com 0,5 mL de metanol 80 %. Atividade antioxidante total (AAT) foi calculada a partir da seguinte equação 3:

$$\text{ATT}(\%) = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right) * 100 \quad (3)$$

2.11 Análise Estatística

Os resultados das propriedades mecânicas, ópticas e atividade antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH) foram avaliados utilizando-se análise de variância (ANOVA), com nível de 5% de significância utilizando-se o *software SPSS Estatistics 17* (SPSS STATISTICS, 2007). Difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TG) e calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram submetidos à análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Difração de Raios X (DRX)

O ângulo de difração de raios X é um método para determinar a altura das plaquetas de argila (espaçamento basal, d-spacing). Durante a intercalação, a inserção do polímero entre as galerias organofílicas da argila força as plaquetas a aumentar o espaçamento d , resultando em um desvio do pico de difração para ângulos inferiores (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012).

O padrão de raios X da argila MMT hidrofílica (Cloisite Na⁺) é apresentado na Figura 1a. A argila mostrou um pico principal em $2\theta=7,4^\circ$ que corresponde a um espaçamento entre as lamelas de $d_{001}= 11,96 \text{ \AA}$ e outros dois picos em $2\theta=19,8^\circ$ ($d=4,49 \text{ \AA}$) e $2\theta=28,4^\circ$ ($d=3,15 \text{ \AA}$). Resultados semelhantes foram reportados na literatura com valores $d_{001}=12,4 \text{ \AA}$; $d_{001}=12,97 \text{ \AA}$; $d_{001}=11,93 \text{ \AA}$; $d_{001}=12,7 \text{ \AA}$ (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012; AZEVEDO et al., 2015; DIAS et al., 2014; MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2012).

Os nanocompósitos MMT1OE0; MMT1O4 e MMT1OE8 apresentaram ausência do pico em $2\theta =7,4^\circ$ (Figura 1c). Isto indica que as cadeias do polímero de amido de milho e IPS entraram nas camadas de silicato formando nanocompósitos possivelmente com completa esfoliação devido a metodologia empregada neste trabalho. Em caso de desaparecimento do pico da MMTNa⁺, o máximo de intercalação foi obtido, ou seja, obtém-se esfoliação do nanocompósito (HEYDARI, ALEMZADEH e VOSSOUGH, 2013). Lavorgna et al. (2010) reportaram que com a adição de 1 e 3% em peso de MMT (Cloisite Na⁺), o pico de difração desapareceu, indicando a formação de uma estrutura esfoliada, que foi desordenada e não detectável pelo DRX.

O aumento da concentração de OE alterou a estrutura dos nanocompósitos MMT0OE4; MMT0O8; MMT1OE4 e MMT1OE8 com um

alargamento dos picos de difração e conseqüente redução da altura (Figura 1b;1c). Este resultado pode ser atribuído a uma possível formação de estrutura amorfa principalmente para os nanocompósitos MMT0OE8 e MMT1OE8 causado pela adição do óleo.

As principais estruturas cristalinas observadas para amido termoplástico são do Tipo V e B (CANEVAROLO JR, 2004). A cristalização da amilose com lipídios e/ou polióis é característico de estrutura cristalina do Tipo V com picos em torno de $12,6^\circ$; $13,2^\circ$; $19,4^\circ$ e $20,6^\circ$. A estrutura cristalina do Tipo B, com pico em $2\theta=16,8^\circ$ está associada à recristalização da amilopectina na presença de glicerol e em temperaturas acima de sua transição vítrea (CANEVAROLO JR, 2004; TEIXEIRA et al., 2011).

A estrutura cristalina da blenda de TPS/IPS está fortemente associada ao amido de milho termoplástico pois o isolado proteico de soro de leite é um material amorfo (Figura 1b), conforme difratogramas de raios X.

Dois estruturas cristalinas podem ser observadas para a blenda de TPS/IPS com picos aos redor de $2\theta=13,4^\circ$ ($d=6,61 \text{ \AA}$) e $2\theta=20,2^\circ$ ($d=4,39 \text{ \AA}$) correspondente ao arranjo cristalino do Tipo Vh, devido a cristalização da amilose (Figura 1b) e cristalinidade do Tipo B com um pico ao redor de $2\theta=17,4^\circ$ ($d=5,10 \text{ \AA}$) associada à recristalização da amilopectina. Como observado nas Figuras 1b e 1c, todos os nanocompósitos, exceto MMT1OE8 e MMT0OE8 também apresentaram duas estruturas cristalinas correspondendo ao Tipo B e Tipo Vh com picos ao redor de $2\theta=13,4^\circ$ ($d=6,61 \text{ \AA}$); $2\theta=18,5^\circ$ ($d=4,80 \text{ \AA}$) e $2\theta=20,4^\circ$ ($d=4,36 \text{ \AA}$). Picos ao redor de $2\theta=13,7^\circ$, $19,6^\circ$ e $21,1^\circ$ são atribuídos aos cristais do Tipo-Vh devido ao processo de indução da cristalinidade de uma simples molécula de amilose complexados com lipídios e outras substâncias como o glicerol (CARMONA et al., 2014; MENDES et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2011), enquanto picos a $16,8^\circ$, $17,7^\circ$ e $29,9^\circ$ pertencem a cristais do Tipo B, que podem ter sido formados durante o armazenamento

devido a recristalização da amilopectina (DANG e YOKSAN, 2015; TEIXEIRA et al., 2011).

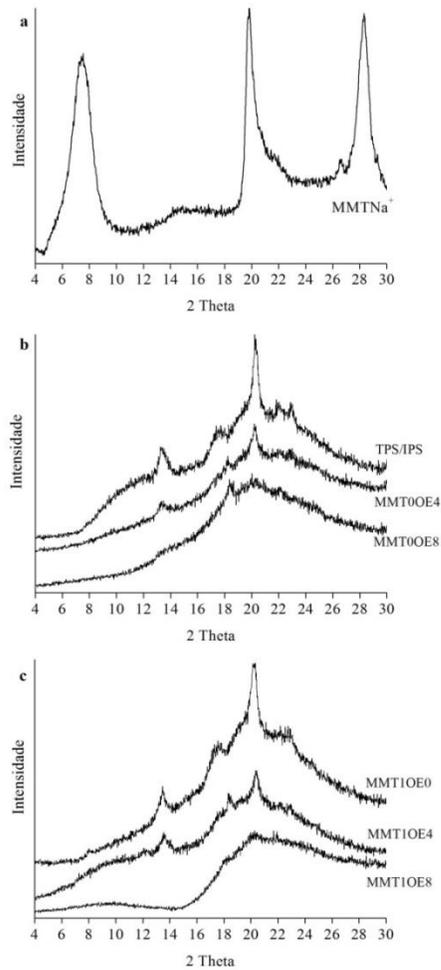


Figura 1. DRX de blendas de TPS/IPS/MMTNa⁺/OE . a) MMTNa⁺ em pó; b) TPS/IPS; MMT0OE4; MMT0OE8 c) MMT1OE0; MMT1OE4; MMT1OE8.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 2 representa as micrografias de superfície obtidas por MEV dos grânulos de amido de milho, IPS e MMT-Na⁺. O tamanho médio dos grânulos de amido de milho foi 10 µm (Figura 2a) com a presença de diversos formatos e sua completa desestruturação e transformação para amido termoplástico pode ser observada pelas micrografias das blendas de filmes de TPS/IPS (Figura 3). Grânulos de amido possuem diferentes tamanhos e formas derivadas de sua fonte biológica. Os grânulos de amido podem ser circular, elíptico, oval ou poligonal (ACOSTA et al., 2006; CANCHÉ-ESCAMILLA et al., 2011). As partículas de IPS (Figura 2b) apresentaram-se esféricas, com superfícies lisas e tamanho médio entre 10 a 50 µm. Geralmente as características morfológicas do IPS são atribuídas ao componente principal, β-lactoglobulina, caracterizadas por largas partículas esféricas (GHOSH et al., 2010; HAVEA, SINGH e CREAMER, 2001). Nanopartículas de argila montmorilonita sódica apresentaram partículas irregulares com tamanho médio de 5 e 50 µm (Figura 2c). Tunç e Duman (2010) em pesquisas sobre filmes de metilcelulose e montmorilonita encontraram a mesma morfologia de partículas com tamanho médio 15 µm. Abdollahi, Rezaei e Farzi (2014) encontraram tamanho médio de partículas de MMT de 10 µm.

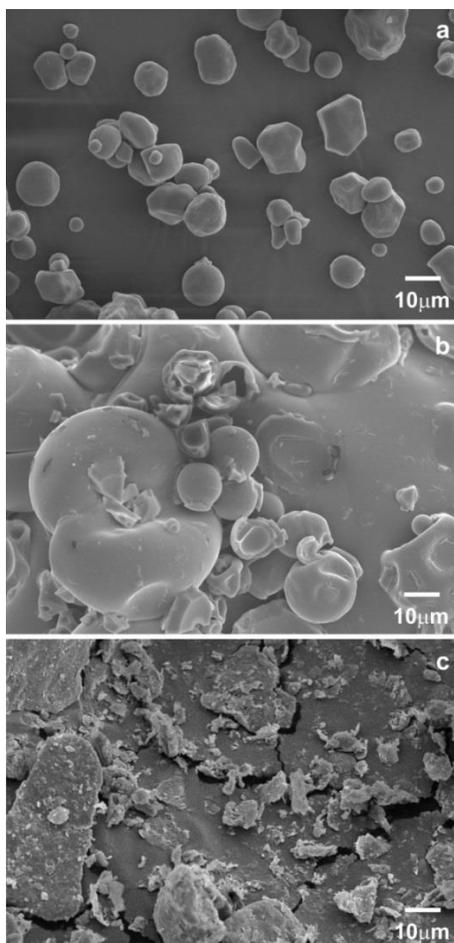


Figura 2. Micrografias de varredura de superfície (2000x). a) amido de milho; b) IPS; c) MMT-Na⁺

As micrografias de fratura das blendas de TPS/IPS/MMT/OE são apresentados na Figura 3. As estruturas granulares do amido de milho e do IPS, foram completamente rompidas durante o processo de extrusão gerando uma morfologia contínua e homogênea na blenda de TPS/IPS caracterizando um material termoplástico (Figura 3a). Estes resultados são condizentes com os difratogramas de raios X, no qual indicaram ausência de picos localizados em torno de $2\theta = 15^\circ$, 18° e 23° , que indicariam cristais do Tipo-A de grânulos de

amido nativo (KIM et al., 2013). As características do amido termoplástico são diferentes do amido granular ou nativo. Quando o amido nativo é submetido à pressão, cisalhamento, presença de plastificantes (água e/ou glicerol) e temperaturas entre 90-180°C, o amido se transforma em um material fundido denominado amido termoplástico (TPS) ou amido desestruturado ou amido plastificado. Neste estado, as cadeias de amilose e amilopectina estão intercaladas e a estrutura semicristalina original do grânulo é destruída (AVÉROUS, 2004). Os grânulos de amido perdem sua estrutura granular na presença de plastificantes, quando processadas sob calor e alta condições de tensão de cisalhamento (CANCHÉ-ESCAMILLA et al., 2011).

A blenda MMT0OE4 (Figura 3b) apresentou superfície rugosa possivelmente devido a uma separação de fases entre o óleo e a matriz de TPS/IPS. Já a blenda MMT0OE8 (Figura 3c) apresentou superfície mais lisa porém com a presença de muitos orifícios vazios e desuniformes. Isto pode ser atribuído a presença do óleo essencial que pode resultar na volatilização de seus componentes (GHASEMLOU et al., 2013) durante o processo de extrusão. Embora todas as blendas com adição de óleo essencial tenham apresentado superfícies semelhantes, a incorporação de OE em concentrações mais elevadas induziu a mudanças notáveis na microestrutura das blendas tornando-as mais rugosas, com presença de orifícios e rachaduras (Figura 3b; 3c; 3e; 3f).

O nanocompósito MMT1OE0 apresentou superfície menos rugosa e partículas dispersas (Figura 3d). Isto sugere esfoliação da MMT na matriz de TPS/IPS. Partículas brancas nas imagens de MEV correspondem a plaquetas de MMT (KUMAR et al., 2010). Muller, Laurindo e Yamashita (2012) relataram superfície homogênea, partículas dispersas e ausência de poros em nanocompósitos de amido de mandioca e nanopartículas de argila MMT (*Cloisite Na⁺*). Wang et al. (2009) relataram que a presença de fragmentos cinza

claro dispersos na matriz polimérica é atribuído a uma desestruturação das plaquetas de argila.

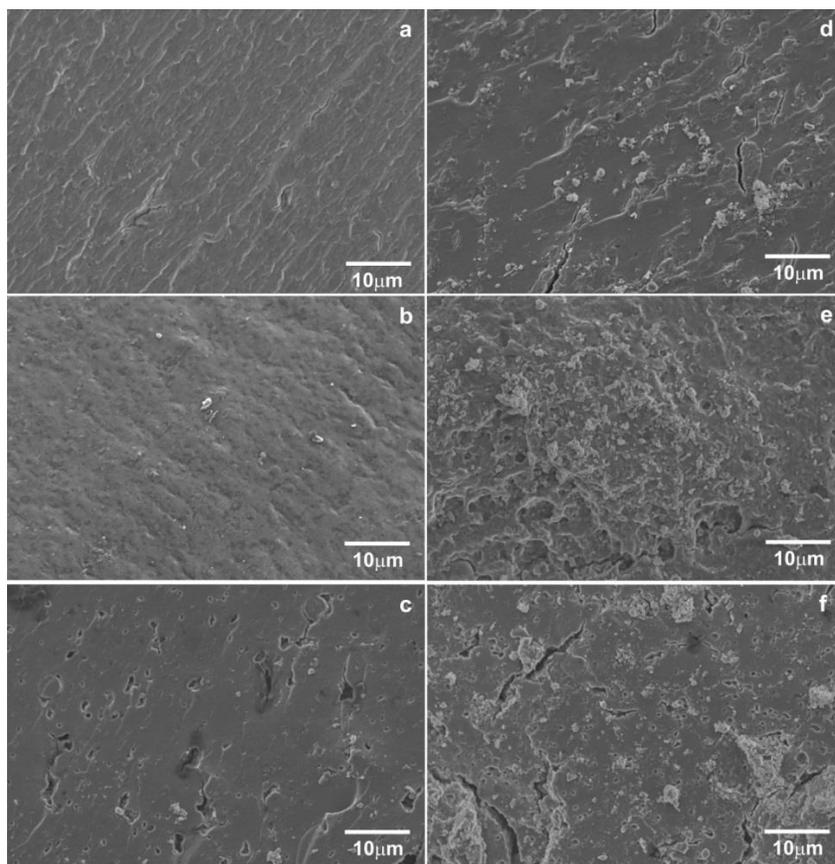


Figura 3. a) TPS/IPS; b) MMT0OE4; c) MMT0OE8; d) MMT1OE0; e) MMT1OE4; f) MMT1OE8

3.3 Termogravimetria – TG

O estudo sobre a degradação térmica de nanocompósitos biodegradáveis é importante para entender sua estabilidade térmica para aplicações, processamento e reciclagem térmica. As curvas de termogravimetria (TG) e derivada termogravimétrica (DTG) dos componentes, amido de milho, IPS,

MMT, OE e nanocompósitos são apresentados nas Figuras 4 e 5, respectivamente. A Figura 4d mostra que o óleo essencial de alecrim possui baixa estabilidade térmica em relação aos demais componentes (amido de milho, IPS, MMT) com início de degradação em 52,1°C e perda de massa correspondente a 100% (Tabela 2). Isto pode ser atribuído a grande concentração de compostos voláteis presente no óleo.

As curvas de TG e DTG (Figura 5) apresentaram três estágios de degradação para os nanocompósitos, de 25-180°C, 180-370°C e 370-700°C, respectivamente, devido à evaporação de água e compostos voláteis (AZEVEDO et al., 2015; PELISSARI et al., 2009), degradação dos componentes presentes no nanocompósito e finalmente, degradação oxidativa de resíduos formados no estágio anterior (MENDES et al., 2016). Os nanocompósitos exibiram uma perda semelhante no primeiro estágio de degradação até 180°C (Figura 5).

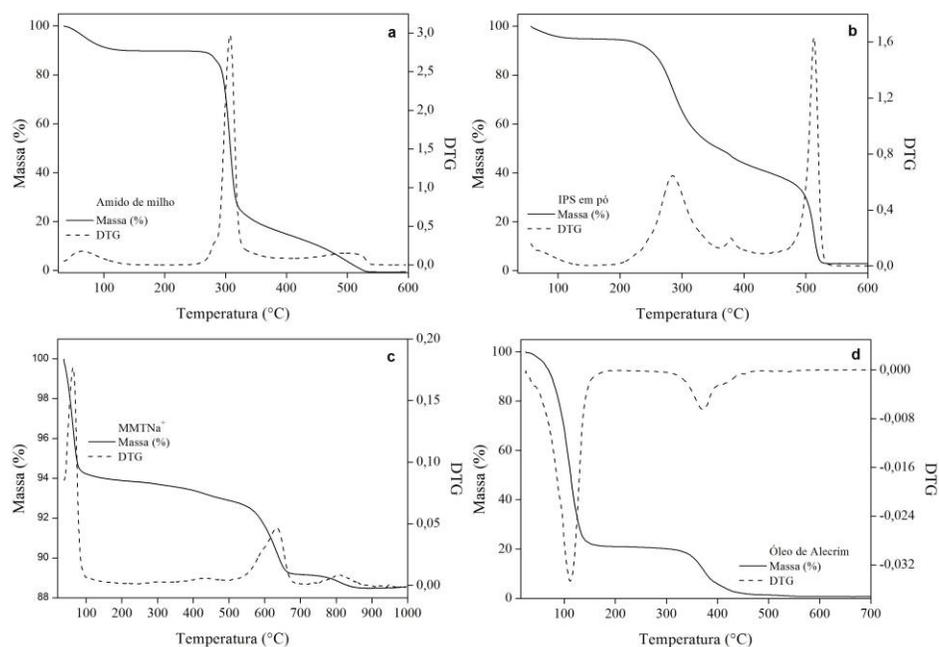


Figura 4. Curvas de TG e DTG. a) Amido de milho em pó; b) IPS em pó; c) MMTNa⁺ em pó; d) Óleo essencial de alecrim.

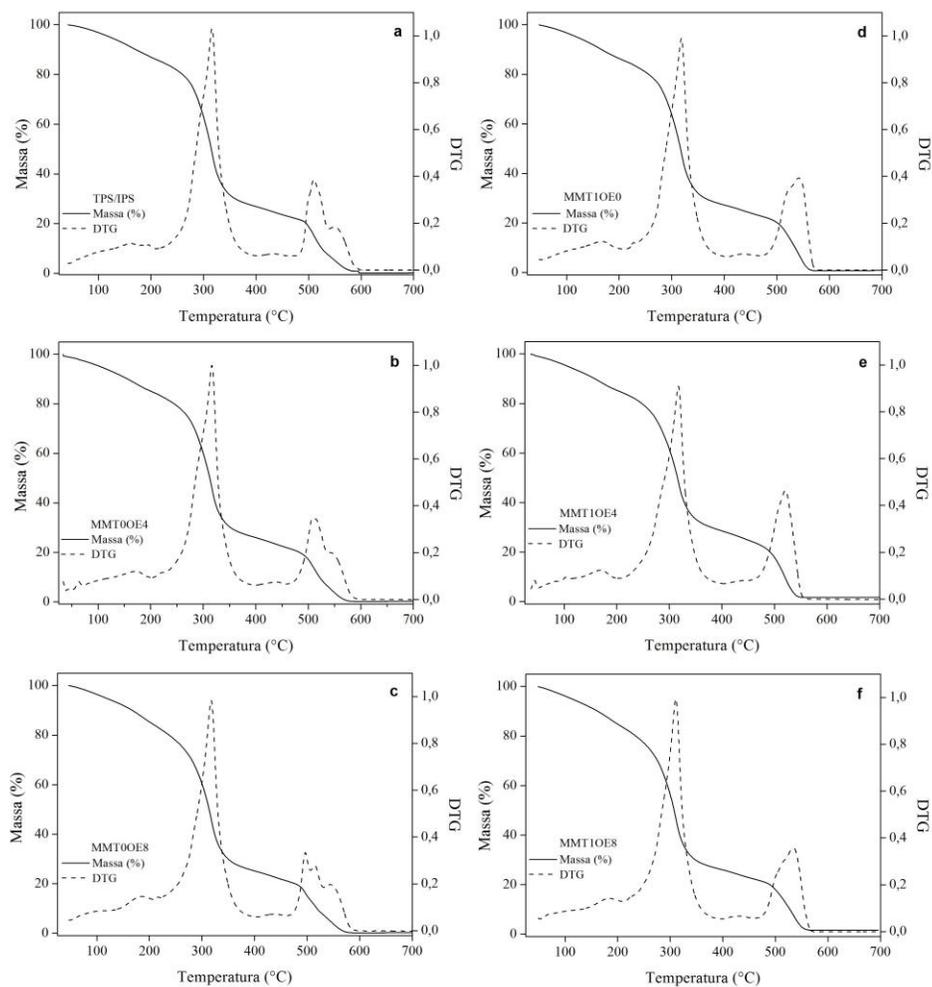


Figura 5. Curvas de TG e DTG de nanocompósitos de TPS/IPS/MMT/OE. a) TPS/IPS; b) MMT0OE4; c) MMT0OE8; d) MMT1OE0; e) MMT1OE4; f) MMT1OE8.

Na Tabela 2 estão representados os parâmetros de estabilidade térmica dos componentes (amido de milho, IPS, MMTNa^+ , OE) e dos nanocompósitos: T_i (temperatura inicial de degradação); DTG_{max} (temperatura máxima de degradação); T_f (temperatura final de degradação); %PM (porcentagem de perda de massa na faixa de degradação); $\text{Res}_{700\text{ }^\circ\text{C}}$ (porcentagem de resíduo a 700 °C).

Todos os nanocompósitos apresentaram dois valores de temperatura durante o estágio de degradação (Tabela 2). Observou-se que a adição de óleo essencial reduziu a T_i e T_f de degradação em relação à presença ou ausência de MMT (Tabela 2). Este resultado indica menor estabilidade térmica e pode ser atribuído a um possível efeito de plasticização com consequente aumento da mobilidade das cadeias provocado pelo OE. Abdollahi, Rezaei e Farzi (2012) relataram efeito de plasticização em nanocompósitos de quitosana/MMT com a incorporação de até 44% de óleo essencial de alecrim.

Para os nanocompósitos TPS/IPS, MMT0OE4 e MMT0OE8 a curva de DTG apresentou uma reação secundária entre 500-600°C (Figura 5a, 5b, 5c) sugerindo possivelmente a degradação de IPS, conforme Tabela 2. Para o primeiro pico de $DTG_{máx}$, houve pequena variação de temperatura, sendo que a combinação entre MMT e OE aumentou o segundo pico de $DTG_{máx}$, indicando aumento da estabilidade térmica para degradação de IPS (Tabela 2).

Na Tabela 2, observou-se que a adição de 1% de MMT para MMT1OE0 aumentou a T_i e T_f em relação a blenda TPS/IPS, indicando um aumento da estabilidade térmica dos nanocompósitos possivelmente devido a dispersão da MMT na matriz de TPS/IPS. A literatura reporta que as lamelas de MMT dispersas em nanoescala melhoram as propriedades térmicas do compósito (LEE et al., 2006; NGUYEN et al., 2016). Além disso, observou-se redução na porcentagem de perda de massa (% PM) para MMT1OE4; MMT1OE8 e aumento do resíduo. O intervalo de variação da porcentagem de perda de massa (% PM) é um indicativo de estabilidade térmica do material, quanto menor esse valor, mais estável é o material a decomposição térmica (CANEVAROLO JR, 2004). O aumento da estabilidade térmica de nanocompósitos de amido termoplástico extrusados com a adição de $MMTNa^+$ é devido à intercalação e esfoliação que promove um “caminho tortuoso” na matriz, dificultando a passagem de gases e líquidos (WANG et al., 2009). Aouda, Mattoso e Longo (2011) estudaram o efeito do teor de MMT em

amido de milho termoplástico e relataram a presença de uma estrutura esfoliada com 1 e 2% de MMT e conseqüente aumento da estabilidade térmica.

Observou-se que o nanocompósito MMT1OE4 obteve a melhor combinação entre MMT e OE, com aumento da temperatura de degradação e baixa variação de perda de massa apresentando-se mais estável a decomposição térmica (Tabela 2). Assim, a adição de baixas concentrações de MMT e óleo essencial melhoram a estabilidade térmica de materiais.

Tabela 2 Propriedades térmicas obtidas por TG e DSC dos componentes em pó e dos nanocompósitos de TPS/IPS/MMT/OE

	T_i^* (° C)	DTG_{max} (°C)	T_f (° C)	(%) PM ($T_i - T_f$)	$Res_{700^\circ C}$ (%)
Amido de milho	285,2	307,3	541,9	84,6	0,7
IPS	250,6 / 401,2	285,1 / 512,8	360,7 / 540,6	89,7	1,8
OE	52,1 / 317,3	110,7 / 371,6	128,1 / 485,3	100	0
MMTNa+	556,9	634,5	674,1	5,8	89,5
Nanocompósitos (g·100g ⁻¹ TPS/IPS)	T_i^* (° C)	DTG_{max} (°C)	T_f (° C)	(%) PM ($T_i - T_f$)	$Res_{700^\circ C}$ (%)
TPS / IPS	230,05 / 477,46	316,02 / 510,2	390,1 / 595,5	84,1	0,40
MMT0OE4	228,21 / 462,02	316,6 / 508,7	384,6 / 594,7	82,2	0,16
MMT0OE8	215,56 / 465,63	317,7 / 496,7	379,5 / 594,3	83,1	0,10
MMT1OE0	233,61 / 473,89	318,4 / 541,5	395,9 / 586,8	81,6	0,76
MMT1OE4	231,20 / 456,03	317,2 / 520,7	389,1 / 558,9	80,9	1,61
MMT1OE8	217,47 / 466,12	310,6 / 534,7	384,5 / 569,8	80,6	1,69

* T_i (temperatura inicial de decomposição); DTG_{max} (temperatura de máxima velocidade de decomposição); T_f (temperatura final de decomposição); PM (porcentagem de perda de massa na faixa de decomposição); $Res_{700^\circ C}$ (porcentagem de resíduo a 700°).

3.4 Propriedades Mecânicas

Os parâmetros de tração mais estudados são módulo de elasticidade, diretamente relacionado com a rigidez do material, a resistência à tração como uma medida da resistência do material, e a percentagem de alongação na ruptura ligada a capacidade de estiramento do material sobre a ruptura (ATARÉS e CHIRALT, 2016; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997). A espessura dos nanocompósitos não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) e variaram entre 2,3 - 2,47 mm.

Apenas em relação ao módulo de elasticidade (ME), ocorreu influência significativa em relação a adição de MMT e OE isoladamente (Tabela 3 e 4). Os parâmetros de tração sofreram influência significativa apenas quanto ao teor de óleo essencial de alecrim para resistência à tração (σ_{\max}) e alongamento ($\% \epsilon$) (Tabela 4).

Com a adição de MMT nas blendas de TPS/IPS observou-se aumento de 14,9% para o ME e conseqüente redução da flexibilidade do material (Tabela 3). Este aumento pode ser atribuído a dispersão das nanopartículas de MMT conforme difratogramas de raios X e fortes interações na matriz de TPS/IPS com menor movimento das cadeias poliméricas. Esse aumento do ME pode ser atribuído ao reforço devido à elevada razão de aspecto e área de superfície das camadas de silicato, a uma boa dispersão das camadas de argila na matriz de IPS, e fortes interações entre eles (AZEVEDO et al., 2015). Aouada, Mattoso e Longo (2011) relataram que o aumento das propriedades mecânicas (resistência a tração e módulo de elasticidade) pode estar relacionado com a esfoliação da MMT que aumenta a compatibilidade entre MMT e TPS.

Tabela 3 Módulo de elasticidade de nanocompósitos de TPS/IPS/MMT/OE.

Filmes	Módulo de Elasticidade (ME) (MPa)
Com MMT	37,05 ± 1,92 a
Sem MMT	31,54 ± 2,19 b

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

Com o aumento da adição de OE, observou-se uma redução da σ_{\max} , ME e ϵ (Tabela 4). Isto indica que a presença do óleo essencial na matriz de TPS/IPS reduziu a força, rigidez e elasticidade dos nanocompósitos. Resultados semelhantes foram obtidos por Janjarasskul et al. (2014) com a incorporação de cera em filmes extrusados de IPS. Estes autores atribuíram essa redução ao fato de que a fase de proteína possui maior σ_{\max} , $\% \epsilon$ e ME do que a fase de cera e que orientação da matriz de proteína causada pela força de cisalhamento no processo de extrusão pode ter afetado as propriedades de tração. Abdollahi, Rezaei e Farzi (2012) relataram que a resistência a tração de nanocompósitos de quitosana/MMT e óleo essencial de alecrim aumentou, em baixas concentrações de óleo. Estes autores relataram aumento da resistência a tração em nanocompósitos com 5% de MMT e 0,5% de óleo essencial de alecrim e aumento do alongamento atribuído a um possível efeito de plasticização do óleo essencial.

A adição de materiais hidrofóbicos como lipídios em matrizes de proteínas ou amido têm sido desenvolvidos com intuito de aumentar a barreira à umidade. No entanto, a adição de materiais hidrofóbicos torna-se limitada devido a formação de uma estrutura em bi-camada que possui tendência a rachar e /ou delaminar afetando propriedades mecânicas (JANJARASSKUL et al., 2014; KOKOSZKA et al., 2010a; MIN, JANJARASSKUL e KROCHTA, 2009; MORILLON et al., 2002). O efeito da adição de lipídios nas propriedades de tração para materiais obtidos a partir de proteínas depende das características

dos lipídios e sua capacidade para interagir com a matriz proteica (PIRES et al., 2011).

Muitos trabalhos têm relatado uma redução da resistência a tração em filmes de proteínas causado pela adição de lipídios ou óleos essenciais (AHMAD et al., 2012; ALTIOK, ALTIOK e TIHMINLIOGLU, 2010; JANJARASSKUL et al., 2014; PIRES et al., 2011; SHELLHAMMER e KROCHTA, 1997; ZINOVIADOU, KOUTSOUMANIS e BILIADERIS, 2009). Também foi observada uma redução da resistência a tração para filmes de polissacarídeos pela adição de óleos essenciais (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012; GHASEMLOU et al., 2013; PRANOTO, SALOKHE e RAKSHIT, 2005; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011; SHOJAEE-ALIABADI et al., 2013; ZIVANOVIC, CHI e DRAUGHON, 2005). A incorporação de lipídios induz a uma estrutura heterogênea que caracterizam descontinuidades na matriz (ZINOVIADOU, KOUTSOUMANIS e BILIADERIS, 2009). Isto afeta as propriedades de tração dependendo das características do lipídio adicionado. A redução da força poderia ser principalmente explicada pela substituição parcial de fortes interações entre polímero-polímero por fracas interações entre polímero-óleo na matriz polimérica (SHOJAEE-ALIABADI et al., 2013). A diminuição da resistência a tração pode ser acompanhada por um aumento ou diminuição do alongamento, sendo que a proporção de óleo essencial utilizada determina seu efeito sobre o alongamento na ruptura (ATARÉS e CHIRALT, 2016; PRANOTO, SALOKHE e RAKSHIT, 2005). Abdollahi, Rezaei e Farzi (2012) relataram que baixas concentrações de óleo essencial de alecrim alteram ligações de hidrogênio no interior do material e permite uma melhor interação entre nanopartícula e matriz.

Os resultados de tração dos nanocompósitos podem ser correlacionados com a morfologia de partícula (MEV) no qual mostra uma estrutura com

rachaduras e poros com a adição de óleo resultando em menor resistência a tração em comparação com a blenda TPS/IPS.

3.5 Propriedades ópticas

As propriedades ópticas de transparência, luminosidade (L^*), a^* , b^* , hue e chroma sofreram interação significativa ($p < 0,05$) dos fatores MMT e OE (Tabela 5). A adição de MMT não apresentou diferença significativa em relação a blenda TPS/IPS para o parâmetro L^* . Já a adição de OE aumentou os valores de L^* com consequente redução da luminosidade indicando nanocompósitos mais próximos da cor preta (Tabela 5). Esta redução é provavelmente devido ao aumento na reflectância difusa provocada pela dispersão da luz nas gotículas de lipídios que reduz tanto a intensidade da dispersão de luz quanto o índice de brancura (GHASEMLOU et al., 2013).

O parâmetro ($-a^*$) aumentou com a adição de OE e MMT e apresentou uma tendência para valores negativos em relação a blenda TPS/IPS (Tabela 5). Isto indica uma tendência a coloração verde. Os parâmetros *hue*, *chroma*, a^* e b^* se correlacionam no espectro de cores. A combinação entre MMT e OE aumentou os parâmetros ($+b^*$) e chroma para os nanocompósitos MMT1OE0, MMT1OE4 e MMT1OE8, resultando em alta intensidade de cor amarela. O parâmetro *Hue* é o valor em graus e refere-se a tonalidade de cor no diagrama tridimensional de cores: $+a^*$ 0° (vermelho), $+b^*$ 90° (amarelo), $-a^*$ 180° (verde) e $-b^*$ 270° (azul). Assim, pode-se estimar uma forte intensidade de coloração amarelo-esverdeado para os nanocompósitos (Tabela 5). A cor de materiais incorporados com o óleo essencial é diretamente influenciada pelo tipo e concentração do óleo adicionado (DU et al., 2009). O tipo de óleo essencial determinou as alterações de cor em pesquisas realizadas por Ahmad et al. (2012) e Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2012) em polímeros de gelatina.

Observou-se redução da transparência dos nanocompósitos com o aumento da concentração de OE com ou sem MMT em relação a blenda TPS/IPS (Tabela 5). A adição de MMT também reduziu a transparência dos filmes resultando em nanocompósitos mais opacos. A adição de óleos resulta em uma diminuição da transmissão de luz, possivelmente devido ao espalhamento da luz na interface das gotas de óleo na matriz com consequente aumento da opacidade (ATARÉS e CHIRALT, 2016). Mesma tendência foi observada por outros autores em pesquisas com extrato de chá verde (SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010), óleo citronela, coentro e tomilho (PIRES et al., 2013), extratos de ginseng (NORAJIT, KIM e RYU, 2010), óleos de tomilho, cravo e canela (HOSSEINI, RAZAVI e MOUSAVI, 2009). Heydari, Alemzadeh e Vossoughi (2013) também encontrou redução da transparência devido a adição de nanopartículas de MMT em nanocompósitos de amido de milho.

Tabela 4 Tração (σ_{\max} , ME, ϵ) e Atividade antioxidante total (AAT %) de nanocompósitos de TPS/IPS/MMT/OE

OE (g·100g ⁻¹)	Resistência à tração (σ_{\max}) (MPa)	Módulo de Elasticidade (ME) (MPa)	Alongamento (ϵ) (%)	AAT (%)
0	1,68 ± 0,11 a	38,86 ± 1,33 a	9,99 ± 0,73 a	33,14 ± 0,92 a
4	1,06 ± 0,05 b	34,13 ± 3,57 b	6,24 ± 0,67 b	76,18 ± 0,66 b
8	0,69 ± 0,03 c	29,89 ± 1,28 c	4,51 ± 0,36 c	87,90 ± 0,70 c

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente (p<0,05)

Tabela 5 Parâmetros de cor (transparência, L*, a*, b*, *hue* e *chroma*) em nanocompósitos de TPS/IPS/MMT/OE

MMT (g·100g ⁻¹)	OE (g·100g ⁻¹)	Transparência (log(%T)/mm)	L* (%)	a*	b*	hue	chroma
0	0	0,90 ± 0,04 a	54,58 ± 1,25 a	-1,71 ± 0,14 a	15,88 ± 0,51 a	-83,85 ±0,50 a	15,96 ± 0,52 a
	4	0,67 ± 0,02 b	52,02 ± 1,16 b	-1,96 ± 0,23 b	14,39 ± 0,42 b	-82,22 ± 0,87 b	14,53 ± 0,43 b
	8	0,56 ± 0,09 c	60,35 ± 0,91 c	-2,41 ± 0,19 c	15,54 ± 0,71 a	-81,19 ±0,52 c	15,72 ± 0,72 a
1	0	0,78 ± 0,02 a	53,62 ± 1,17 a	-2,09 ± 0,07 a	14,60 ± 0,64 a	-80,68 ± 0,51 a	14,79 ± 0,63 a
	4	0,62 ± 0,01 b	55,46 ± 1,41 b	-2,75 ± 0,13 b	15,09 ± 0,73 b	-81,01 ± 0,43 b	15,21 ± 0,73 b
	8	0,58 ± 0,01 c	58,24 ± 0,81 c	-2,39 ± 0,05 c	17,44 ± 0,55 c	-82,08 ± 0,36 b	17,65 ± 0,55 a

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente (p<0,05)

3.6 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH (AAT)

Os benefícios da adição de antioxidantes naturais, à base de plantas para evitar a oxidação lipídica têm sido destaque nos últimos anos a fim de retardar a oxidação lipídica. O parâmetro atividade antioxidante total (AAT %) sofreu influência significativa apenas quanto à adição de óleo essencial de alecrim (OE) (Tabela 4).

Blendas incorporadas com OE apresentaram diferença significativa com o aumento da concentração de OE (4% ou 8% pp) e alta capacidade antioxidante (Tabela 3). Bozin et al. (2007) estudaram a atividade antioxidante de diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim em comparação com antioxidante BHT pela captura do radical livre DPPH. Estes autores relataram que o óleo essencial de alecrim exibiu alta atividade antioxidante (56,29 a 75,79%) em comparação com BHT (37,04%). Upadhyay e Mishra (2014) encontraram 67,17% de atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH em pesquisas com diferentes métodos de detecção da atividade antioxidante em óleos essenciais de alecrim. Dias (2012) encontrou valores de 47,53% a 84,65% para atividade antioxidante de nanocompósitos de quitosana com concentrações de 5 a 20% de α -tocoferol. Estudos anteriores relataram que a alta atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim é atribuída à presença de fenólicos diterpenos como ácido carnósico (majoritário), carnosol e rosmanol (FRANKEL et al., 1996; TURASAN, SAHIN e SUMNU, 2015; YANG et al., 2016). A capacidade antioxidante do alecrim foi atribuída à presença de fenólicos diterpenos que eliminam o oxigênio singlete, radicais hidroxilas, e radicais peróxidos de lipídios, impedindo a oxidação lipídica (GALLEGO et al., 2013; ZHANG et al., 2010). A estrutura química do ácido carnósico é composta por dois grupos O-hidroxila fenólicos localizado no anel de benzeno. A capacidade

antioxidante de um composto pode ser normalmente determinada pela posição e número de grupos O-hidroxila fenólicos encontrado em sua molécula além da presença de outros grupos funcionais. O ácido carnósico contém dois grupos O-hidroxila fenólicos adjacentes com um grupo carboxílico ($-\text{CO}_2\text{H}$), que dá origem a sua forte capacidade antioxidante (ERKAN, AYRANCI e AYRANCI, 2008; YANG et al., 2016).

4. CONCLUSÃO

A extrusão das blendas de TPS/IPS/MMT/OE resultou em nanocompósitos opacos e cor amarelo esverdeado com possíveis estruturas esfoliadas com um teor de 1% de MMT. A adição de óleo essencial de alecrim reduziu as propriedades de tração dos nanocompósitos por favorecer interações entre cadeias de polímero-óleo e fornecer domínios flexíveis dentro da matriz deixando os nanocompósitos mais frágeis. O óleo essencial de alecrim apresentou atividade antioxidante nas concentrações estudadas, sendo que o nanocompósito MMT1OE4 obteve a melhor combinação entre MMT e OE, apresentando-se mais estável a decomposição térmica, ou seja, baixas concentrações de MMT e óleo essencial favorecem a obtenção de materiais com melhores propriedades de desempenho. Assim, estes nanocompósitos podem atuar como carreadores para uma variedade de substâncias funcionais ampliando assim sua capacidade de utilização retardando oxidações lipídicas.

AGRADECIMENTOS

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. SISNANO (Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologia) e LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação), *Hilmar Ingredients*, *Southern Clay Products*, pela doação do isolado proteico de soro de leite, argila montmorilonita PB Cloisite Na⁺, respectivamente.

REFERÊNCIAS

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 2, p. 343-350, 2012.

_____. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 3, p. 811-818, 2014.

ACOSTA, H. A. et al. Morfología superficial de almidones termoplásticos agrio de yuca y nativo de papa por microscopía óptica y de fuerza atómica. **Información tecnológica**, v. 17, n. 3, p. 63-70, 2006.

AHMAD, M. et al. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 189-199, 2012.

ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU, F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, n. 7, p. 2227-2236, 2010.

ALVES-SILVA, J. M. et al. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 371-378, 2013.

AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H.; LONGO, E. New strategies in the preparation of exfoliated thermoplastic starch–montmorillonite nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 3, p. 1502-1508, 2011.

ASTM. **Standard practice for conditioning plastics for testing, D618-00**. Philadelphia, PA: 4 p. 2000.

_____. **Standard test method for transparency of plastic sheeting, D1746-03**. Philadelphia, PA 2003.

_____. **Standard test method for tensile properties of plastics, D638-08**. Philadelphia, PA: 14 p. 2008.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016.

AVÉROUS, L. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. **Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews**, v. 44, n. 3, p. 231-274, 2004.

AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, n. 9, p. 1240-1253, 2009.

AZEVEDO, V. M. et al. Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 179-188, 2015.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC Press, 2015.

BOUSBIA, N. et al. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. **Food chemistry**, v. 114, n. 1, p. 355-362, 2009.

BOZIN, B. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7879-7885, 2007.

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

CANCHÉ-ESCAMILLA, G. et al. Mechanical properties and biodegradation of thermoplastic starches obtained from grafted starches with acrylics. **Carbohydrate polymers**, v. 86, n. 4, p. 1501-1508, 2011.

CANEVAROLO JR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. 2004. 448p

CARMONA, V. B. et al. Kinetics of thermal degradation applied to biocomposites with TPS, PCL and sisal fibers by non-isothermal procedures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 1, p. 153-160, 2014.

CHAUDHARY, A. et al. Amylose content and chemical modification effects on the extrusion of thermoplastic starch from maize. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 4, p. 907-913, 2008.

CHUNG, Y.-L. et al. Preparation and properties of biodegradable starch–clay nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 391-396, 2010.

CYRAS, V. et al. Influence of the fiber content and the processing conditions on the flexural creep behavior of sisal-PCL-starch composites. **Journal of Thermoplastic Composite Materials**, v. 15, n. 3, p. 253-265, 2002.

DANG, K. M.; YOKSAN, R. Development of thermoplastic starch blown film by incorporating plasticized chitosan. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 575-581, 2015.

DIAS, M. V. **Filmes a base de quitosana incorporados com α -tocoferol e montmorilonita para aplicação em embalagens funcional e antioxidante**. 2012. 172p. Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, Brasil.

DIAS, M. V. et al. Development of chitosan/montmorillonite nanocomposites with encapsulated α -tocopherol. **Food Chemistry**, v. 165, p. 323-329, 2014.

DU, W. X. et al. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, p. M372-M378, 2009.

ERKAN, N.; AYRANCI, G.; AYRANCI, E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 76-82, 2008.

FRANKEL, E. N. et al. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 1, p. 131-135, 1996.

GALLEGO, M. G. et al. Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) in oil-in-water emulsions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, n. 10, p. 1559-1568, 2013.

GHASEMLOU, M. et al. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate polymers**, v. 98, n. 1, p. 1117-1126, 2013.

GHOSH, A. et al. Structure–function characteristics of the biomaterials based on milk-derived proteins. **International journal of biological macromolecules**, v. 46, n. 4, p. 404-411, 2010.

HAVEA, P.; SINGH, H.; CREAMER, L. K. Characterization of heat-induced aggregates of β -lactoglobulin, α -lactalbumin and bovine serum albumin in a whey protein concentrate environment. **Journal of Dairy Research**, v. 68, n. 03, p. 483-497, 2001.

HEYDARI, A.; ALEMZADEH, I.; VOSSOUGH, M. Functional properties of biodegradable corn starch nanocomposites for food packaging applications. **Materials & Design**, v. 50, p. 954-961, 2013.

HORTON, B. The whey processing industry-into the 21st century. International Whey Conference, Chicago (USA), 27-29 Oct 1997, 1998, International Dairy Federation.

HOSSEINI, M.; RAZAVI, S.; MOUSAVI, M. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, n. 6, p. 727-743, 2009.

JANJARASSKUL, T. et al. Barrier and tensile properties of whey protein–candelilla wax film/sheet. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 377-382, 2014.

KIM, H.-Y. et al. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 2, p. 582-588, 2013.

KIM, S. J.; USTUNOL, Z. Sensory attributes of whey protein isolate and candelilla wax emulsion edible films. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 6, p. 909-911, 2001.

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

_____. Liquid and vapour water transfer through whey protein/lipid emulsion films. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1673-1680, 2010b.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, D. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food technology (USA)**, 1997.

KUMAR, P. et al. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 480-489, 2010.

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

LEE, M. H. et al. Effect of clay on the morphology and properties of PMMA/poly (styrene-co-acrylonitrile)/clay nanocomposites prepared by melt mixing. **Polymer**, v. 47, n. 12, p. 4359-4369, 2006.

MAJZADEH-ARDAKANI, K.; NAVARCHIAN, A. H.; SADEGHI, F. Optimization of mechanical properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 3, p. 547-554, 2010.

MANO, J.; KONIAROVA, D.; REIS, R. Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 14, n. 2, p. 127-135, 2003.

MENDES, J. et al. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate polymers**, v. 137, p. 452-458, 2016.

MIN, S. C.; JANJARASSKUL, T.; KROCHTA, J. M. Tensile and moisture barrier properties of whey protein-beeswax layered composite films. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 2, p. 251-257, 2009.

MORILLON, V. et al. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 42, n. 1, p. 67-89, 2002.

MÜLLER, C. M.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 5, p. 1328-1333, 2009.

_____. Composites of thermoplastic starch and nanoclays produced by extrusion and thermopressing. **Carbohydrate polymers**, v. 89, n. 2, p. 504-510, 2012.

NGUYEN, D. et al. Effect of organoclay on morphology and properties of linear low density polyethylene and Vietnamese cassava starch biobased blend. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 163-170, 2016.

NORAJIT, K.; KIM, K. M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 3, p. 377-384, 2010.

PANDEY, J. K. et al. Recent advances in biodegradable nanocomposites. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 5, n. 4, p. 497-526, 2005.

PELLISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch– chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009.

PIRES, C. et al. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 224-231, 2013.

PIRES, C. et al. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 3, p. 422-428, 2011.

PRANOTO, Y.; SALOKHE, V. M.; RAKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food research international**, v. 38, n. 3, p. 267-272, 2005.

RAHMAN, W. et al. Thermal behaviour and interactions of cassava starch filled with glycerol plasticized polyvinyl alcohol blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 4, p. 805-810, 2010.

RAUCH, D. J. **Screw speed, feed rate, and composition effects on extruder operating conditions and extruded whey protein sheet properties.** 2008.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 246-253, 2011.

SHELLHAMMER, T.; KROCHTA, J. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 2, p. 390-394, 1997.

SHOJAEI-ALIABADI, S. et al. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 52, p. 116-124, 2013.

SHUJUN, W.; JIUGAO, Y.; JINGLIN, Y. Preparation and characterization of compatible and degradable thermoplastic starch/polyethylene film. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 14, n. 1, p. 65-70, 2006.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 8, p. 770-775, 2010.

TEIXEIRA, E. D. M. et al. Thermoplastic corn starch reinforced with cotton cellulose nanofibers. **Journal of applied polymer science**, v. 120, n. 4, p. 2428-2433, 2011.

THORSEN, M. A.; HILDEBRANDT, K. S. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts: aspects of accurate quantification. **Journal of Chromatography A**, v. 995, n. 1, p. 119-125, 2003.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1571-1579, 2012.

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

TURASAN, H.; SAHIN, S.; SUMNU, G. Encapsulation of rosemary essential oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 112-119, 2015.

UPADHYAY, R.; MISHRA, H. N. Antioxidant activity measurement of oleoresin from rosemary and sage. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 453-459, 2014.

VELASQUEZ, D. et al. Effect of crystallinity and plasticizer on mechanical properties and tissue integration of starch-based materials from two botanical origins. **Carbohydrate polymers**, v. 124, p. 180-187, 2015.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 16, p. 9063-9070, 2010.

WANG, N. et al. Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 68-73, 2009.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, D. J. Functional materials in food nanotechnology. **Journal of food science**, v. 71, n. 9, p. R107-R116, 2006.

YANG, Y. et al. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 141-147, 2016.

ZHANG, Y. et al. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 656-662, 2010.

ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. **Meat Science**, v. 82, n. 3, p. 338-345, 2009.

ZIVANOVIC, S.; CHI, S.; DRAUGHON, A. F. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of food science**, v. 70, n. 1, p. M45-M51, 2005.

**ARTIGO 3 - FILMES ATIVOS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE
MILHO / ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE/
MONTMORILONITA INCORPORADOS COM OLEO ESSENCIAL DE
ALECRIM ENCAPSULADO**

(VERSÃO PRELIMINAR)

Artigo redigido conforme normas da revista Food Hydrocolloids

RESUMO

Filmes de blendas de amido de milho termoplástico (TPS) / isolado proteico de soro de leite (IPS) / montimorilonita sódica (MMT) incorporados com microcápsulas de óleo essencial de alecrim (MA) foram desenvolvidos por extrusão e termoprensagem para obtenção de nanocompósitos com atividade antioxidante. Os filmes apresentaram superfície homogênea com esfoliação e possível presença de plaquetas de MMT dispersas na matriz de TPS/IPS conforme difratogramas de raios X e microscopia eletrônica de varredura. A adição de 1% de MMT reduziu em 35,3% a permeabilidade ao vapor de água dos filmes. A análise térmica revelou que a adição de MMT isoladamente, aumentou a estabilidade térmica dos filmes. A incorporação de MMT na blenda de TPS/IPS apresentou um efeito de plasticização com diminuição na resistência a tração e módulo elástico com aumento da extensibilidade tornando os filmes menos rígidos (mais flexíveis), mais fracos e com maior capacidade para alongar. A combinação entre MMT e MA aumentou a resistência a tração, elasticidade e diminuiu alongamento em relação ao filme com apenas MMT. O aumento na concentração de microcápsulas tornou os filmes mais rígidos e resistentes à tração, porém com menor capacidade para alongar. Em relação à punctura, observou-se redução significativa para todos os filmes com ou sem adição MMT e MA. A interação entre MMT e MA resultou em filmes com propriedades térmicas, estruturais, morfológicas, mecânicas e de barreira superiores a blenda TPS/IPS. Os filmes desenvolvidos apresentaram atividade antioxidante com a adição de microcápsulas de óleo essencial de alecrim. Estes resultados demonstraram que filmes de TPS/IPS adicionados com microcápsulas, possibilitou a obtenção de nanocompósitos obtidos por extrusão com potencial antioxidante para aplicação em embalagens para alimentos.

Palavras-chave: Extrusão. Blendas biodegradáveis. Microencapsulação.

1 INTRODUÇÃO

Embalagens de alimentos são tradicionalmente utilizadas para permitir a comercialização do produto e fornecer proteção contra agentes ambientais que afetam a vida útil, assegurando a qualidade do produto. No entanto, novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas para atender às novas exigências dos consumidores por produtos mais próximos ao natural, contendo menos conservantes e que sejam seguros (DAINELLI et al., 2008; DE ABREU et al., 2007). Dentre essas tecnologias surgem as embalagens ativas que visam interagir com o alimento, modificando, de maneira desejável, características sensoriais, nutricionais e de segurança microbiológica. Estas embalagens consistem na incorporação e/ou imobilização de certos aditivos nos filmes ou dentro da embalagem, por meio da liberação controlada, com objetivo de fornecer uma barreira inerte às condições externas e aumentar a vida útil do produto mantendo sua qualidade (GÜÇBILMEZ, YEMENICIOĞLU e ARSLANOĞLU, 2007; KERRY, O'GRADY e HOGAN, 2006; ROONEY, 1995). Assim, como alternativa para redução da oxidação lipídica em alimentos, existe uma crescente tendência para o desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes devido a forte capacidade em carrear aditivos alimentares na matriz polimérica.

Pesquisas tem sido realizadas sobre a atividade antimicrobiana e antioxidante de óleos essenciais (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012; DU PLOOY, REGNIER e COMBRINCK, 2009; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2010a). A principal vantagem da aplicação de óleos essenciais é devido a sua maior atividade quando comparado com os efeitos dos compostos ativos individuais, provavelmente devido ao efeito sinérgico (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012; BAKKALI et al., 2008; BURT, 2004; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010b). Entre os óleos essenciais o maior número de pesquisas sobre

propriedades antioxidantes referem-se a extratos de plantas pertencentes à família Labiatae, particularmente alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012; WASZKOWIAK, 2008). O óleo essencial de alecrim é amplamente aceito como uma das especiarias com aroma mais forte e maior atividade antioxidante (GACHKAR et al., 2007; GENENA et al., 2008). Porém, os principais compostos dos óleos essenciais, responsáveis pelo sabor e propriedades funcionais, são voláteis e quimicamente instáveis na presença de oxigênio, umidade e calor. Assim, a estabilidade dos óleos essenciais pode ser melhorada pela microencapsulação por spray drying (FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2014a; REINECCIUS, 2004). Esta técnica consiste na transformação de um líquido em sólido (micropartículas) com formação de uma barreira entre o composto ativo e o ambiente externo (COSTA et al., 2013; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Com potencial para o desenvolvimento de embalagens com melhores propriedades de desempenho, a mistura de polímeros biodegradáveis atrai grande atenção para filmes e outros materiais de embalagens. Blendas poliméricas que contêm polissacarídeos lineares com fortes ligações de hidrogênio e estruturas de proteínas globulares com interações hidrofóbicas e dissulfeto, como proteínas do soro de leite podem produzir aumento das propriedades funcionais pela combinação das vantagens obtidas com os polímeros puros (COUGHLAN et al., 2004; SCHMITT et al., 1998; TANG et al., 2003). Proteínas do soro de leite formam filmes transparentes, flexíveis, sem cheiro e moderada barreira a vapor de água, baixa permeabilidade ao oxigênio, boa flexibilidade e alongamento, porém baixa resistência à tração (BRINDLE e KROCHTA, 2008; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997; MCHUGH e KROCHTA, 1994b; MCHUGH, 1994a). Filmes obtidos a partir do amido de milho apresentam impermeabilidade ao oxigênio, ausência de sabor, são incolores e sem cheiro, porém, possuem forte caráter hidrofílico (alta

sensibilidade a água) e baixa propriedades mecânicas em relação à polímeros sintéticos (AVEROUS e BOQUILLON, 2004).

Por outro lado, com os avanços da nanotecnologia, a obtenção de nanocompósitos entre argila e polímeros surge como alternativa para obtenção de materiais com propriedades melhoradas. A argila montmorilonita é amplamente estudada e apresenta-se como estruturas em camadas de aluminosilicatos hidratados com cerca de 1nm de espessura, constituídas por duas folhas tetraédricas de sílica com uma folha central octaédrica de alumina, que são unidas entre si por átomos de oxigênio, comuns a ambas as folhas e estrutura cristalina (SOTHORNVIT, RHIM e HONG, 2009; VARTIAINEN et al., 2010). Devido a sua capacidade para dispersão em nanoescala, a água e outras moléculas polares podem entrar entre as camadas levando à expansão da estrutura da rede, com melhorias significativas nas propriedades mecânicas e físicas em comparação com compósitos de polímeros em microescala (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012). Várias pesquisas relataram melhorias das propriedades mecânicas e de barreira, estabilidade térmica e solubilidade em água de filmes biodegradáveis através da incorporação de nanoargila em concentrações de 1-5% em peso (AOUADA, MATTOSO e LONGO, 2011; AZEVEDO et al., 2015a; DIAS et al., 2014; LAVORGNA et al., 2010; MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2011; TUNC e DUMAN, 2010).

Vários estudos têm sido realizados sobre a produção de filmes ativos antioxidantes com a incorporação de óleos essenciais, mas nada tem sido reportado sobre a adição de microcápsulas de óleos essenciais como forma de proteção do agente ativo. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o potencial antioxidante de microcápsulas de óleo essencial de alecrim (MA) em filmes de blendas de amido de milho termoplástico/isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS) reforçados com nanopartículas de montmorilonita sódica (MMT)

quanto às propriedades estruturais, térmicas, morfológicas, mecânicas e de barreira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Isolado proteico de soro de leite (IPS 9400), com 90% de proteína, foi obtido pela *Hilmar Ingredients* (Hilmar, CA, USA). Amido de milho (Amidex 3001) com 70% de amilose e 30% de amilopectina pela *Corn Products do Brasil* (Ingredion, Brasil). Glicerol pela *Sigma Aldrich* (Brasil), ácido esteárico e ácido cítrico anidro granulado pela *Cargill* (Uberlândia, MG, Brasil). Argila montmorilonita (Cloisite Na⁺) foi fornecida pela *Southern Clay Products, Inc* (Gonzales, TX, USA). Microcápsulas de óleo essencial de alecrim foram produzidas no Departamento de Ciência dos Alimentos na Universidade Federal de Lavras (Lavras, Brasil).

2.2 Desenvolvimento dos filmes

Blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS) foram obtidos a partir da mistura manual dos seguintes componentes: fase sólida: 60% pp (sendo 42% pp amido de milho e 18%pp isolado proteico de soro de leite) e fase líquida: 24% pp glicerol e 16% pp água. À mistura final ainda foram adicionados 1% pp de ácido esteárico e 1% pp de ácido cítrico, os quais agem como agente de fluxo e antioxidante, respectivamente. Esta mistura foi processada em uma extrusora Coperion, modelo ZSK 18 (Coperion Ltda., São Paulo, Brasil), com L/D = 40, dupla-roscas co-rotante, roscas com diâmetros de 18 mm com elementos de condução e mistura, com 7 zonas de aquecimento e 2

zonas de degasagem. A velocidade do parafuso foi de 150 rpm e o perfil de temperatura 80, 80, 90, 90, 100, 110 e 110°C. Obtido os peletes destes materiais, estes seguiram para o processamento em uma extrusora monorosca (AX Plásticos Ltda., São Paulo, Brasil) para obtenção de fitas. A velocidade do parafuso foi de 20 rpm e o perfil de temperatura foi 80, 85 e 85°C nas três zonas de aquecimento. Em seguida, as fitas foram prensadas a 115°C ± 5°C, por 3 min em prensa hidráulica (capacidade 15ton). As condições de prensagem foram: 3 ton por 30s, 10s sem prensagem; 6 ton até completar 3 min.

Nanopartículas de argila montmorilonita sódica (MMT) (1%pp) e microcápsulas de óleo essencial de alecrim (MA) (1; 4; 8%pp) foram adicionados às blendas de amido de milho e isolado proteico de soro de leite (TPS/IPS) (60%pp). Inicialmente, MMT foi adicionada a fase líquida (glicerol e água) e submetida a homogeneizador ultrassônico (*Sonifier Cell Disruptor Branson - Model 450D*, Manchester, UK) durante 15 min com potência de 80 W/25 °C. As microcápsulas foram adicionadas na fase sólida. Em seguida, a fase líquida foi misturada com TPS, IPS, MA, ácido cítrico e ácido esteárico e então extrusadas conforme descrito anteriormente. Após a prensagem, foram obtidos filmes com dimensões de 12 x 12 cm. A Tabela 1 apresenta a composição de cada filme e o respectivo teor de cada componente (nanopartículas e microcápsulas).

2.3 Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido em um planejamento fatorial completo, com os seguintes fatores e níveis: montmorilonita sódica (MMT) e microcápsulas de óleo essencial de alecrim (MA), sendo 0 e 1% e 0; 1, 4 e 8%, respectivamente. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com três

repetições. Os filmes desenvolvidos a partir da blenda de TPS/IPS foram codificados conforme Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental dos filmes desenvolvidos

Filmes	MMT ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ TPS/IPS)	MA ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ TPS/IPS)
TPS/IPS	0	0
MMT0MA1	0	1
MMT0MA4	0	4
MMT0MA8	0	8
MMT1MA0	1	0
MMT1MA1	1	1
MMT1MA4	1	4
MMT1MA8	1	8

2.4 Desenvolvimento das Microcápsulas de Óleo essencial de alecrim

As microcápsulas foram obtidas conforme Fernandes, Borges e Botrel (2014) baseado na eficiência de retenção de óleo de alecrim microencapsulado. As microcápsulas com maior retenção de óleo obtida pelo referido trabalho corresponde a 60,22% (mistura de maltodextrina DE20 e amido modificado como materiais de parede).

2.5 Condicionamento dos filmes e espessura

Todos os filmes foram condicionados em temperatura controlada, 23 ± 2 °C e umidade relativa $50 \pm 5\%$ UR por 48 h antes das análises, conforme método D618-00 (ASTM, 2000a). A espessura média dos filmes foi medida por meio da

leitura em dez pontos distintos, tomados aleatoriamente em cada corpo de prova, utilizando micrômetro digital *Mitutoyo* (precisão 0,01 mm; Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil).

2.6 Difração de Raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X do amido de milho, isolado protéico de soro de leite (IPS), argila montmorilonita sódica (MMT), microcápsulas de óleo essencial de alecrim (MA) e dos filmes foram obtidos em equipamento *Shimadzu* XRD-6000 (*Shimadzu*, Tokyo, Japão) equipado com radiação de filtro de Cu- $k_{\alpha 1}$ ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). As amostras foram fixadas em suporte de alumínio e analisadas com um passo de $0.02^\circ \text{ s}^{-1}$, 2θ de 4° - 40° , velocidade 1° min^{-1} e 30 kV, 30 mA. O espaçamento basal (d) foi calculado pela equação de Bragg, (Equação 1):

$$\text{sen } \theta = n\lambda / 2d \quad (1)$$

Onde: λ corresponde ao comprimento de onda utilizado ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) e θ (Theta) é o ângulo onde se detecta o pico no difratograma.

2.7 Microscopia Eletrônica de Varedura (MEV)

A morfologia dos componentes em pó e dos filmes foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JSM 6510 JEOL (Peabody, Massachusetts, USA) com voltagem de aceleração de 10 kV. Foram obtidas imagens de superfície dos componentes em pó e fratura criogênica do material extrusado. Os filmes fraturados foram colocadas em “stubs” com fita de carbono, revestidos em ouro, sob vácuo por 90 segundos (metalização) e fotomicrografados.

2.8 Termogravimetria (TG)

A estabilidade térmica dos componentes em pó e dos filmes foi avaliada por termogravimetria em equipamento Q500, (TA Instruments, New Castle, USA). As análises foram realizadas sob atmosfera de ar sintético a uma taxa de fluxo de 40 mL/min., com aquecimento de 25 °C a 700 °C com uma razão de aquecimento de 10 °C/min.

2.9 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada em calorímetro DSC modelo Q100 (TA Instruments, New Castle, USA). A massa da amostra variou entre 2-5 mg e uma cápsula vazia foi utilizada como referência. As rampas de aquecimento e resfriamento para o amido em pó foram fixadas em 2°C/min e variaram entre -80°C e 50°C. Para o IPS, argila montmorilonita sódica e microcápsulas de óleo essencial de alecrim, as rampas foram fixadas em 10°C/min e variaram entre -50°C e 250°C (IPS em pó), -50° e 300°C (MMT) e -50°C e 150°C (MA), respectivamente. Para os filmes, as rampas de aquecimento e resfriamento foram fixadas em 10 °C min⁻¹ e variaram entre -70 °C e 190 °C. A sequência utilizada foi: aquecimento de 25°C a 190 °C/10min isotérmico para eliminar a história térmica; resfriamento de 190°C a -70 °C; e um segundo aquecimento até 190 °C (ASTM, 2003). A partir das curvas de DSC, a temperatura de transição vítrea (T_g) foi avaliada no segundo aquecimento.

2.10 Propriedades Mecânicas

As propriedades de tração dos filmes, resistência à tração (σ_{max}), alongamento na ruptura (ϵ) e o módulo de elasticidade (ME), foram medidos

conforme ASTM D882-02 (ASTM, 2002) em EMIC DL3000 Universal Test Machine (*EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio LTDA, Brasil*) com célula de carga de 500N (50 Kgf). As amostras de filmes foram cortadas em tiras (10 mm × 100 mm) e a separação inicial entre as garras foi de 70 mm com velocidade de 50 mm/min. A punctura dos filmes foi realizada em um analisador de textura (*Stable Microsystems*, modelo TATX2i, Inglaterra). Os filmes foram cortados em quadrados de 9 cm² de área e fixados em um suporte com orifício central (2,1 cm de diâmetro). Uma sonda esférica de 5,0 mm de diâmetro (sonda P/5S) foi deslocada perpendicularmente à superfície do filme a uma velocidade constante de 0,8 mm/s até a sonda passar através do filme (AZEVEDO et al., 2015a; CHEN e LAI, 2008). A resistência à 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 e a deformação (mm) dos filmes foi determinada no ponto de ruptura (AZEVEDO et al., 2015a; PARK e ZHAO, 2004). Para os testes de tração e punctura, foram utilizados cinco corpos de prova para cada filme em três repetições.

2.11 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada por método gravimétrico conforme ASTM E96 (ASTM, 2000b). O filme foi fixado em capsula de polimetilmetacrilato (Plexiglas), contendo quatro parafusos, simetricamente localizados ao redor da circunferência da capsula com graxa de silicone, para garantir que a permeação ocorra somente através do filme. No interior da cápsula foi adicionado sílica. A cápsula de permeação foi então colocada em câmara com umidade e temperatura controlada, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e mantida a 75% de umidade relativa (UR). As amostras foram pesadas até peso constante ser atingido e os valores de ganho de peso foram representados como

uma função do tempo. A PVA ($\text{g} / (\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$) do filme foi calculada conforme equação 2:

$$PVA = (TPVA \cdot x) / \Delta P \quad (2)$$

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 sílica (0%).

2.12 Atividade Antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH)

Para avaliar a atividade antioxidante dos filmes foi utilizada a técnica DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) conforme Byun, Kim e Whiteside (2010) com algumas modificações. Filmes (5 g) foram cortados em pequenos pedaços e misturado com 5 mL de metanol 80%. A mistura foi agitada em vortex durante 3 minutos e mantida em repouso durante três horas a temperatura ambiente. Em seguida, o material foi armazenado por 5 dias sob refrigeração. Em seguida, foi novamente agitada em agitador de tubos por 3 min e centrifugada a 10000 x g durante 10 minutos. O sobrenadante obtido foi analisado quanto a atividade antioxidante pela captura do radical DPPH. Uma alíquota do extrato de metanol (0,5 mL) foi misturado com 3,5 mL de 0,1 mM DPPH em metanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em agitador de tubos durante 1 minuto e deixada em repouso à temperatura ambiente no escuro durante 30 min. A absorvância foi medida a 517 nm utilizando um espectrofotômetro UV/VIS 1601PC (Shimadzu, Tokyo, Japão). O equipamento foi zerado com metanol 80% e o controle foi preparado com adição de 3,5 mL de DPPH com 0,5 mL de

metanol 80 %. Atividade antioxidante total (AAT) foi calculada a partir da equação 3:

$$ATT(\%) = \left(1 - \left(\frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \right) \right) * 100 \quad (3)$$

2.13 Análise Estatística

Os resultados das propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e atividade antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH) foram avaliados utilizando-se análise de variância (ANOVA), com nível de 5% de significância utilizando-se o *software SPSS Estatistics 17* (SPSS STATISTICS, 2007). Difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TG) e calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram submetidos à análise descritiva.

3 . RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Difração de Raios X (DRX)

Difração de raios X (DRX) foi usada para identificar o espaçamento basal (distância d_{001}) e possível intercalação/esfoliação das lamelas de argila com a adição da MMT nos filmes de TPS/IPS. Em geral, materiais cristalinos apresentam uma série de picos agudos, enquanto produtos amorfos produzem um padrão de picos com maior amplitude (CAPARINO et al., 2012; FERNANDES et al., 2014b).

A Figura 1 mostra os padrões de DRX dos componentes em pó dos filmes de TPS/IPS. A argila MMTNa⁺ apresenta um pico acentuado em $2\theta=7,4^\circ$

e espaçamento entre lamelas $d_{001} = 11,96 \text{ \AA}$. Müller, Laurindo e Yamashita (2012) e Azevedo et al. (2015a) relataram resultados semelhantes com valores de $2\theta = 7,12^\circ$ e $2\theta = 6,82^\circ$, respectivamente. Argilas montmorilonitas apresentam arranjo cristalino ordenado no qual as distâncias das lamelas (d_{100}) é da ordem de 10 \AA a 40 \AA ($2^\circ < 2\theta < 10^\circ$) (FROUNCHI et al., 2006).

Para o amido de milho, foi evidenciado um arranjo cristalino do Tipo-A com picos de maior intensidade em $2\theta = 14,2^\circ$; $d = 17,97 \text{ \AA}$; $2\theta = 17,02^\circ$; $d = 5,21 \text{ \AA}$; $2\theta = 18,2^\circ$; $d = 4,88 \text{ \AA}$; $2\theta = 22,6^\circ$, $d = 3,94 \text{ \AA}$. Picos mais intensos, localizados em torno de $2\theta = 15^\circ$, 17° , 18° e 23° , representam o padrão de cristalização do amido, Tipo A, enquanto picos em torno de $2\theta = 5,6^\circ$; 15° ; 17° ; 22° e 23° representam o padrão Tipo B. Arranjos cristalinos do Tipo-A são termodinamicamente mais estáveis, com maior coesividade entre moléculas (CEREDA et al., 2001; KIM et al., 2013). O difratograma do IPS em pó apresentou ausência de cristais de lactose correspondendo a uma estrutura amorfa. A lactose presente no soro de leite líquido, durante o processo de secagem transforma-se em um estado amorfo (AZEVEDO et al., 2015b; NIJDAM et al., 2007). As microcápsulas de óleo de alecrim (MA) também apresentaram ausência de picos de cristalinidade, por se tratarem de uma estrutura amorfa (Figura 1). Este fato pode ser atribuído à rápida secagem das microcápsulas. Como consequência, a técnica de secagem por aspersão gera produtos com estrutura amorfa (BARCLAY et al., 2010). Além disso, a secagem de misturas complexas, como extratos de ervas, é responsável pelo desenvolvimento de produtos amorfos (FERNANDES et al., 2014b; LANGRISH e WANG, 2009).

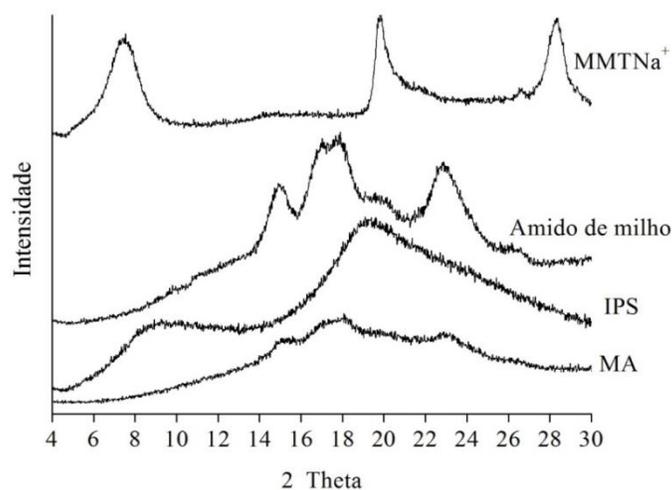


Figura 1 DRX dos componentes do filme. MA: Microcapsulas de óleo essencial de alecrim; IPS: isolado proteico de soro de leite em pó; TPS: Amido de milho; MMT- Na^+ : argila montmorilonita sódica.

A Figura 2 representa os padrões de difração de raios X dos filmes de blendas de TPS/IPS/MMT/MA na região de $2\theta = 4-30^\circ$. Amidos nativos apresentam geralmente três tipos de cristalinidade, o Tipo-A para amidos de cereais, o Tipo B para tubérculos e amido ricos em amilose e Tipo C que possuem estrutura entre os Tipos A e B (HULLEMAN et al., 1999; MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2011; RINDLAVA, HULLEMAN e GATENHOLMA, 1997; VAN SOEST et al., 1996). Durante a transformação do amido nativo para o amido termoplástico (TPS), a estrutura granular é completamente ou parcialmente destruída, resultando em uma matriz amorfa. O amido termoplástico apresenta dois tipos de cristalinidade: cristalinidade residual e cristalinidade induzida pelo processo. A cristalinidade residual é causada pela fusão incompleta do amido durante o processamento e pode ser do Tipo A, B ou C, como ocorre em amidos nativos. A cristalinidade induzida está associado com a cristalização da amilose aparecendo como cristais do Tipo V_H ,

V_A ou E_H (MÜLLER, LAURINDO e YAMASHITA, 2011; VAN SOEST e VLIEGENTHART, 1997).

Com exceção do filme MMT1MA4 que apresentou possível estrutura amorfa, todos os filmes apresentaram picos cristalinos de forte intensidade em torno de $2\theta = 19,28^\circ$ e $2\theta = 19,73^\circ$ (Figura 2). Outro pico em torno de $2\theta = 12,32^\circ$ e $2\theta = 13,06^\circ$ aparece com a ausência de MMT (Figura 2a). Esses picos correspondem ao arranjo cristalino Tipo-Vh de amido termoplástico (VAN SOEST e VLIEGENTHART, 1997). Este tipo de cristalinidade é também associado com a recristalização da amilose induzida pelo processo (DE CAMPOS et al., 2013; MAGALHÃES e ANDRADE, 2009). Outros autores relataram este tipo de cristalinidade em materiais de amido extrudado com um baixo teor de umidade (HULLEMAN et al., 1999; RINDLAVA, HULLEMAN e GATENHOLMA, 1997).

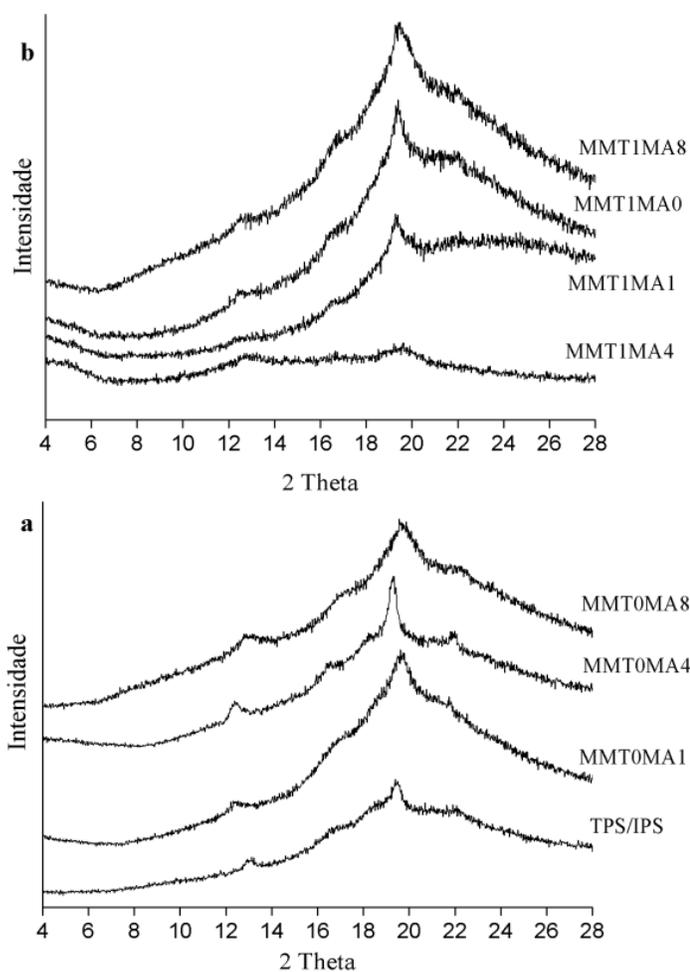


Figura 2. DRX de filmes de TPS/IPS/MMTNa⁺/MA.

A Figura 2b mostra ausência de pico em $2\theta = 7,2^\circ$ para todos os filmes com MMT. Este resultado sugere que as cadeias do polímero TPS/IPS entraram nas camadas de silicato formando compósitos termoplásticos de TPS/IPS/MMT com completa esfoliação. A inserção do polímero nas galerias organofílicas da argila força uma expansão das plaquetas com aumento do espaçamento d , resultando em um desvio do pico de difração para ângulos inferiores (LEE, CHEN e HANNA, 2008). Este deslocamento dos picos de MMT para ângulos

inferiores indica a formação de uma nanoestrutura intercalada, enquanto que a ampliação do pico indica uma estrutura desordenada intercalada ou esfoliada (WANG et al., 2005). A adição de pequenas concentrações de MMT na matriz do filme possibilita este tipo de estrutura (esfoliada). A presença de glicerol também auxilia em uma possível intercalação/esfoliação devido a ligações entre o glicerol e grupos de hidroxilas (-OH) da MMT que auxiliam na expansão das lamelas de argila (LAVORGNA et al., 2010).

3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 3 representa as micrografias de superfície obtidas por MEV dos grânulos de amido de milho, IPS, MMT- Na^+ e MA em pó. Os grânulos de amido (Figura 3a) apresentaram formatos que variaram de arredondados a poligonais e sua completa desestruturação pode ser observada pelas micrografias dos filmes de TPS/IPS (Figura 4). As partículas de IPS (Figura 3b) apresentaram-se esféricas, com superfícies rugosas e lisas. A morfologia das partículas de proteínas é atribuída à composição da proteína e suas estruturas químicas (GHOSH et al., 2010).

Nanopartículas de argila montmorilonita sódica (Figura 3c) apresentaram tamanho médio de partículas entre 5 e 20 μm pelas micrografias de MEV. Tunç e Duman (2010) em pesquisas sobre filmes de metilcelulose e montmorilonita encontraram a mesma morfologia de partículas com tamanho médio 15 μm . Abdollahi, Rezaei e Farzi (2014) encontraram tamanho médio de partículas de MMT de 10 μm .

As microcápsulas de óleo essencial de alecrim (Figura 3d) apresentaram partículas esféricas e ocas, com ausência de craqueamento. Isto é importante para garantir baixa permeabilidade a gás e melhor proteção do óleo essencial de alecrim. Materiais desidratados por *spray drying* são geralmente esferas ocas

devido à formação de vacúolo que ocorre após o endurecimento da superfície exterior seguido pela expansão das bolhas de ar aprisionadas no interior da gotícula (FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2014a; RÉ, 1998). Microcápsulas preparadas com amido puro ou com amido e maltodextrina possuem uma elevada proporção de partículas esféricas, provavelmente porque estas matrizes fornecem elasticidade durante o processo de secagem (FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2014a).

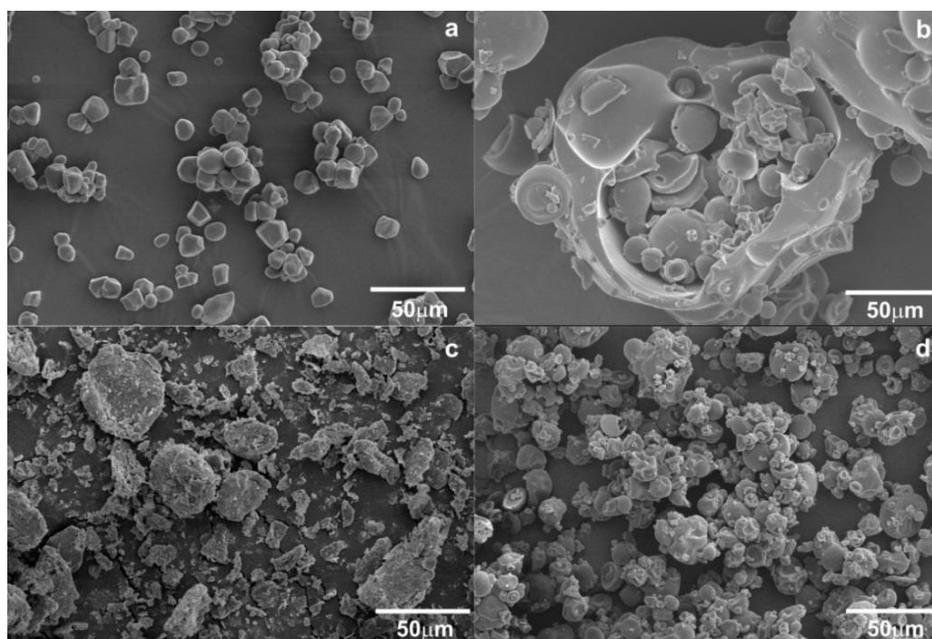


Figura 3. MEV. a) amido de milho; b) IPS; c) MMT- Na^+ ; d) Microcápsulas.

As Figuras 4 e 5 representam as micrografias de fratura obtidas por MEV dos filmes de blenda de TPS/MMT. O filme TPS/IPS (Figura 4a) apresentou superfície lisa, homogênea, com ausência de granulos de amido ou IPS porém com algumas rachaduras. O filme MMT0MA1 apresentou uma superfície rugosa com a presença de partículas aglomerados de $10\mu\text{m}$ (Figura 4b). O aumento na concentração de microcápsulas, filmes MMT0MA4 e

MMT0MA8, proporcionou uma estrutura mais lisa e homogênea (Figura 4c e 4d). Este fato pode ser atribuído a composição do material de parede das microcápsulas (amido e maltodextrina), dois tipos de polissacarídeos que podem auxiliar no desenvolvimento de uma estrutura mais uniforme dos filmes após o processo de extrusão devido a desestruturação de grânulos. Os grânulos de amido são fundidos durante o processo de extrusão devido a alta temperatura, alto cisalhamento e efeito de plasticização pela incorporação de glicerol. Os plastificantes rompem ligações intermoleculares e intramoleculares de hidrogênio e tornam os grânulos de amido nativo em amido termoplástico (MA, YU e WAN, 2006).

Na Figura 5, são apresentadas as imagens de fratura dos filmes com adição de MMT combinado com MA. Com a adição de MMT na matriz de TPS/IPS, o filme MMT1MA0 apresentou partículas dispersas e presença de algumas rachaduras (Figura 5a). Estas partículas podem estar relacionadas a presença da MMT no filme. A argila montmorilonita caracteriza-se como partículas brancas nas imagens de MEV (KUMAR et al., 2010). Pontos brancos bem dispersos podem ser atribuídos a plaquetas de argila nas imagens de MEV (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2014). As Figuras 5b; 5c e 5d representam os filmes com adição de MA. Com exceção do filme MMT1MA1 que apresentou grandes rachaduras e possível aglomeração das partículas de MMT, em geral, os filmes MMT1MA4 e MMT1MA8 apresentaram superfície mais homogênea com presença de partículas mais dispersas na matriz. Este fato pode ser atribuído a uma possível dispersão das partículas de MMT na matriz de TPS/IPS conforme discutido nos difratogramas de raios X.

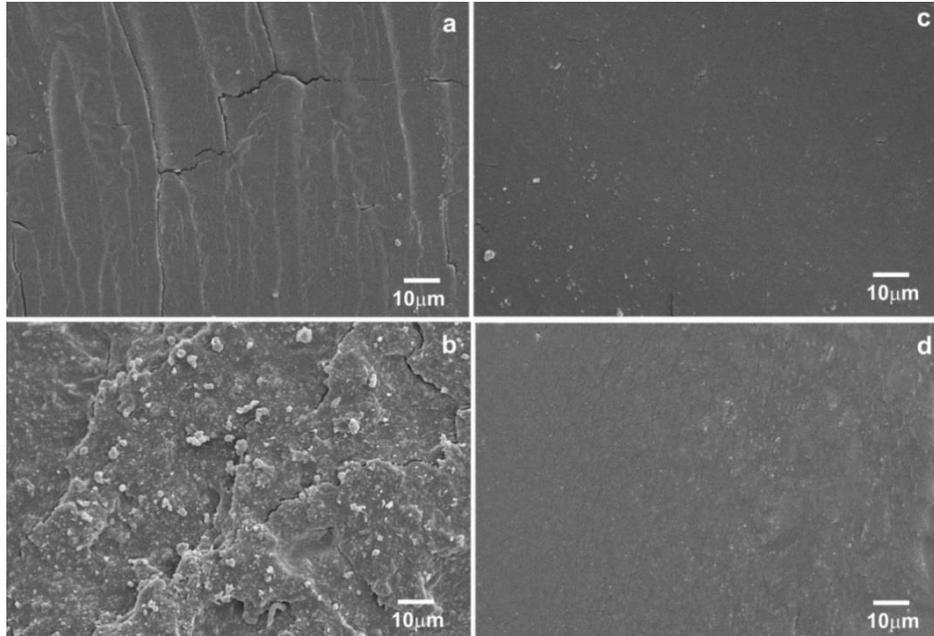


Figura 4. a) TPS/IPS; b) MMT0MA1; c) MMT0MA4; d) MMT0MA8

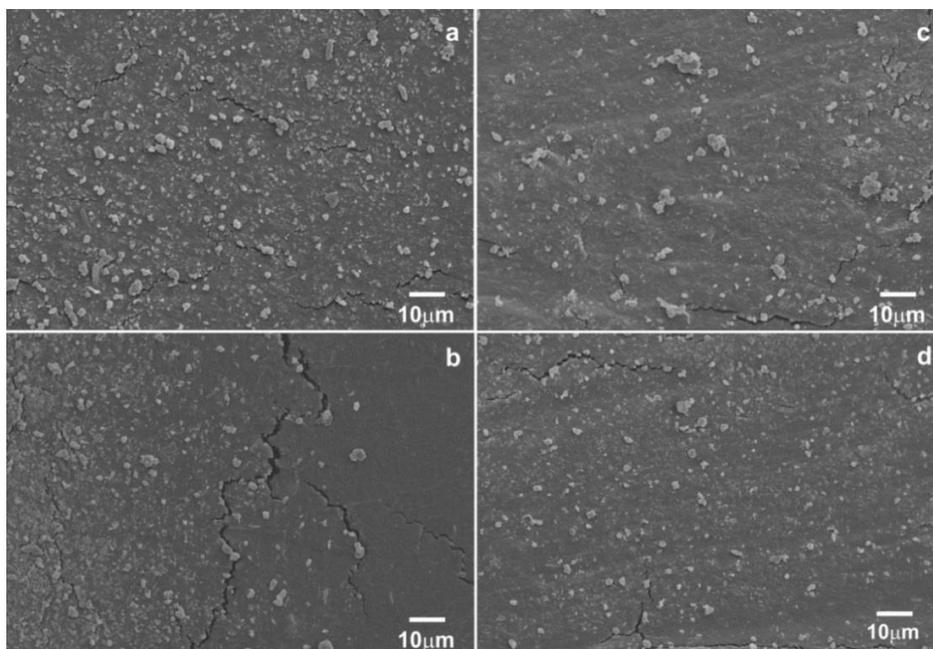


Figura 5. a) MMT1MA0; b) MMT1MA1; c) MMT1MA4; d) MMT1MA8

3.3 Termogravimetria (TG)

A Figura 6 apresenta as curvas de TG e DTG para os filmes com e sem MMT. A primeira perda de massa foi observada aproximadamente entre 30°C e 200°C para todos os filmes correspondendo à perda de água e materiais voláteis (AZEVEDO et al., 2015a; PELISSARI et al., 2009). Em temperaturas mais altas, a perda de massa pode estar relacionada com a decomposição do polímero (MALCOLM, 1999). Para filmes plastificados, a perda de massa é pequena até 150°C, moderada entre 150 e 180°C e significativa acima de 180°C (HERNANDEZ-IZQUIERDO e KROCHTA, 2008). A segunda etapa de degradação ocorre aproximadamente entre 200°C e 350°C e corresponde a decomposição dos componentes presentes no filme. Em atmosfera de ar, ocorre uma terceira etapa de degradação térmica entre 350°C e 600°C correspondendo

a decomposição, queima e oxidação da matéria orgânica (AYDİN e ILBERG, 2016; GALDEANO et al., 2009; LUO, LI e LIN, 2012).

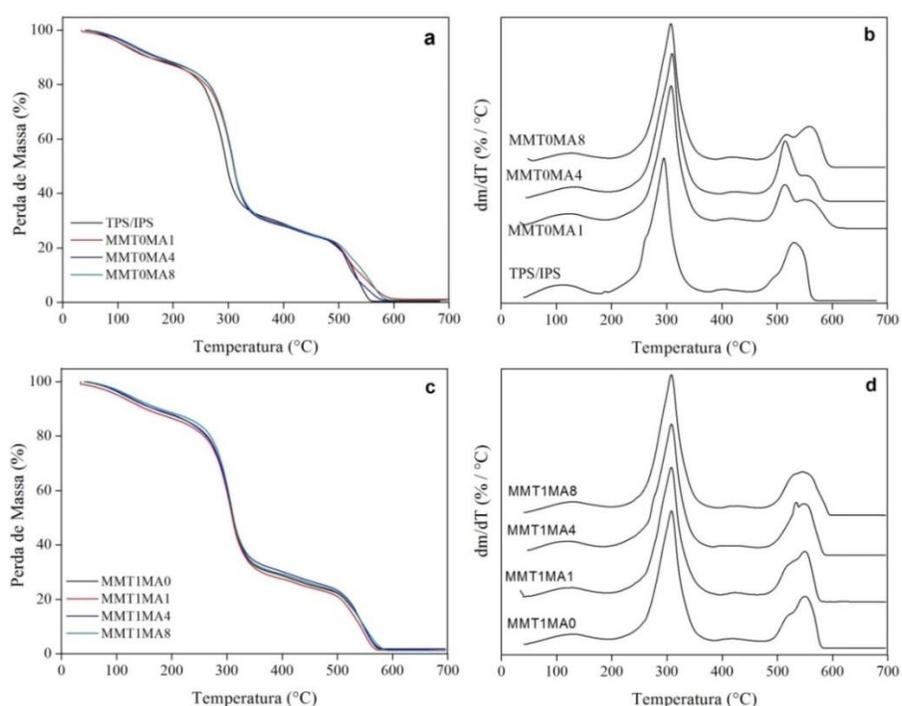


Figura 6. Curvas de TG (a, c) e DTG (b, d) de filmes de blendas de TPS/IPS/MMT/MA em atmosfera de ar sintético.

Na Tabela 2 estão representados os parâmetros de estabilidade térmica dos componentes em pó (amido de milho, IPS, MMTNa^+ e MA) e dos filmes. Pela variação da porcentagem de massa (%PM) e resíduo a 700°C ($\text{Res}_{700^\circ\text{C}}$), observa-se que a MMTNa^+ é termicamente mais estável que os demais componentes em pó dos filmes com o aumento da temperatura (Tabela 2). Quanto menor for o intervalo de variação da porcentagem de perda de massa, mais estável é o material a decomposição térmica (CANEVAROLO JR, 2004). Kim e White (2005) relataram que a montmorilonita sódica (MMT-Cloisite Na^+) apresentou resíduo sólido superior a 85% em temperaturas em torno de 800°C .

Amido de milho e IPS em pó são menos estáveis termicamente quando comparado a mistura destes polímeros para obter a blenda TPS/IPS (Tabela 2). Quando o amido de milho ($T_i=265,6^\circ\text{C}$) e IPS ($T_i=250,5^\circ\text{C}$) são misturados, a T_i é reduzida para $234,53^\circ\text{C}$. Este resultado pode ser atribuído ao efeito de plasticização da blenda polimérica devido a adição de glicerol e água para formação do filme. Todos os filmes apresentaram no segundo estágio de degradação térmica duas fases (dois picos de temperatura). Observou-se aumento de T_i e T_f para todos os filmes em relação ao filme TPS/IPS com a adição de MMT e MA (Tabela 2). Isto indica uma melhoria da estabilidade térmica das blends. Wang et al. (2009) atribuíram o aumento na estabilidade térmica de nanocompósitos de amido termoplásticos extrusados com a adição de MMT a estrutura intercalada ou esfoliada dos nanocompósitos, responsável pela formação de um "labirinto" ou "caminho tortuoso" na matriz polimérica que poderia bloquear a passagem normal de gases e líquidos. Conforme Wang et al. (2009) a estrutura esfoliada da MMT poderia evitar o efeito de plasticização da água e consequente migração e evaporação. Estes autores relataram que a presença da MMT também protege a exposição de grupos hidroxilas do amido durante a despolimerização térmica. A melhoria da estabilidade térmica também tem sido atribuída ao comportamento da MMT como isolante térmico e possíveis mudanças na dinâmica do movimento molecular em bionanocompósitos (KUMAR et al., 2010; LESZCZYNSKA e PIELICHOWSKI, 2008).

Uma significativa redução na porcentagem de perda de massa (%PM) e aumento do resíduo ($\text{Res}_{700^\circ\text{C}}$) pode ser observada com a adição de 1% de argila para o filme MMT1MA0 em relação ao filme TPS/IPS. Isto indica que este filme é termicamente mais estável a decomposição térmica em relação aos demais, devido a presença de argila. Além disso, todos os filmes que continham MMT apresentaram aumento do resíduo. O aumento do resíduo carbonizado

pode ser atribuído à adição de MMT, que é termicamente estável até uma temperatura de 900°C (KUMAR et al., 2010). A Tabela 2 mostra um aumento da temperatura no qual ocorre a velocidade máxima de degradação ($DTG_{máx}$), com a adição de MMT ou MA em relação ao filme TPS/IPS. Porém o perfil de degradação não se altera entre os filmes com ou sem MMT e MA. O primeiro pico de $DTG_{máx}$ (entre 294,9°C e 309,7°C) é atribuído a máxima velocidade de degradação do TPS, IPS e possivelmente carboidratos (amido modificado e maltodextrina) presente nas microcápsulas enquanto que o segundo pico (entre 513,9°C e 558,6°C) está relacionado a degradação do IPS, MA e componentes voláteis da MMT, conforme temperaturas de $DTG_{máx}$ da Tabela 2.

Tabela 2 Propriedades térmicas obtidas por TG e DSC dos componentes em pó e dos nanocompósitos de TPS/IPS/MMTNa⁺/MA

	T _i [*] (° C)	DTG _{max} (°C)	T _f (° C)	(%) PM (T _i -T _f)	Res _{700 °C} (%)	T _g (°C)
Amido de milho	285,2	307,3	541,9	84,6	0,7	-28,9
IPS	250,6 / 401,2	285,1 / 512,8	360,7 / 540,6	89,7	1,8	186,1
MA	252,6 / 417,2	303,9 / 468,2	354,1 / 481,6	90,6	0,2	92,9
MMTNa+	556,9	634,5	674,1	5,8	89,5	—
Filmes (g·100g ⁻¹ TPS/IPS)	T _i [*] (° C)	DTG _{max} (°C)	T _f (° C)	(%) PM (T _i -T _f)	Res _{700 °C} (%)	T _g (°C)
TPS / IPS	234,53 / 459,72	294,9 / 530,4	371,3 / 573,1	83,2	0,40	5,6 / 106,7
MMT0MA1	239,37 / 470,56	308,03 / 513,9 / 551,5	377,5 / 607,2	82,2	0,60	105,3
MMT0MA4	240,08 / 472,06	309,7 / 514,8 / 550,9	382,3 / 592,7	84,6	0,84	3,62 / 102,8
MMT0MA8	241,76 / 476,87	307,6 / 518,1 / 558,6	404,86 / 593,3	84,3	0,79	7,5 / 108,6
MMT1MA0	243,31 / 483,67	308,14 / 549,9	488,29 / 586,2	75,8	1,90	13,2 / 110,4
MMT1MA1	240,28 / 479,97	307,8 / 549,5	414,9 / 581,6	82,9	1,46	11,4 / 109,3
MMT1MA4	238,02 / 477,04	308,3 / 533,9 / 547,8	419,4 / 587,73	84,3	1,79	10,2 / 110,9
MMT1MA8	244,86 / 478,06	307,9 / 545,9	409,5 / 595,5	84,9	1,29	7,3 / 103,4

*T_i (temperatura inicial de decomposição); DTG_{max} (temperatura de máxima velocidade de decomposição); T_f (temperatura final de decomposição); PM (porcentagem de perda de massa na faixa de decomposição); Res_{700°C} (porcentagem de resíduo a 700°); T_g (temperatura de transição vítrea)

3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A temperatura de transição vítrea é afetada por vários parâmetros, como massa molar, estrutura química e conteúdo de umidade do material. Materiais com alta T_g produzem materiais mais estáveis durante o processamento e armazenamento (BERISTAIN, AZUARA e VERNON-CARTER, 2002; BHANDARI e HARTEL, 2005; FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2014a). A T_g é uma transição na qual ocorre o início do movimento da cadeia polimérica com a passagem do estado vítreo (moléculas mais ordenadas) para o estado de “borracha” (maior flexibilidade e menor ordenação molecular) (AZEVEDO et al., 2015b; CANEVAROLO, 2002).

A T_g do amido de milho em pó e das microcápsulas são inferiores ao IPS em pó (Tabela 2). Com a mistura destes componentes para formação dos filmes ocorre o aparecimento de duas T_g intermediárias. Observou-se que a adição de MMT e MA ocasionou pequenas alterações na temperatura de transição vítrea (T_g) dos filmes. Conforme Tabela 2, todos os filmes apresentaram dois valores de T_g , exceto o filme MMT0MA1 possivelmente devido a sensibilidade do equipamento. A adição de MMT aumentou a T_g do filme MMT1MA0 em relação ao filme TPS/IPS. Isto indica que a adição de MMT favoreceu a redução da mobilidade das cadeias do polímero e aumentou a estabilidade térmica do filme conforme visto pela análise de TG.

O filme MMT1MA8 apresentou uma redução da estabilidade térmica quando comparado aos filmes apenas com MMT. Este resultado pode ser atribuído ao aumento da concentração de microcápsulas no qual diminui a T_g do filme devido a presença do encapsulante maltodextrina. Devido a menor massa molar ($1,800 \text{ g mol}^{-1}$), a adição de maltodextrina como material de parede diminui a T_g de microcápsulas (FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2014a). Yousefi, Emam-Djomeh e Mousavi (2011) também encontraram redução da T_g

com a utilização de maltodextrina (DE 20) para microcápsulas de suco de romã. Assim, os filmes MMT1MA1 e MMT1MA4 apresentaram melhor interação entre MMT e MA sem redução da estabilidade térmica quando comparado com os demais filmes. Isto pode ser atribuído a fortes interações intermoleculares com as cadeias do polímero o que resulta em menor mobilidade das moléculas aumentando a estabilidade térmica.

Aydın e Ilberg (2016), em pesquisas sobre blendas de polyvinil álcool (PVA) e amido de milho apresentaram T_g em 76,1°C. Estes autores relataram que a mistura de blendas proporcionou um aumento da T_g quando comparado ao polímero puro PVA sendo resultado das interações de ligações de hidrogênio entre amido e PVA. Nanocompósitos de amido de milho termoplástico (TPS) com concentrações de 1, 2, 3 e 5% de $MMTNa^+$ foram estudados por Aouda, Mattoso e Longo (2011). Esses autores observaram uma pequena redução da T_g (-58,7°) para filmes com 1% de MMT em relação ao polímero TPS (-56,8°C).

3.5 Propriedades Mecânicas

A interação dos fatores MMT e MA foi significativa ($p < 0,05$) para resistência à tração (σ_{max}), módulo de elasticidade (ME), alongamento (ϵ), resistência à punctura (RP) e deformação na punctura (DP). A Tabela 3 apresenta o desdobramento da interação dos parâmetros de tração e punctura, respectivamente.

Os filmes com adição de MA e ausência de MMT apresentaram redução na σ_{max} , ME e ϵ em relação ao filme TPS/IPS. A redução do alongamento pode ser atribuído a uma diminuição do movimento das moléculas da blenda polimérica. No entanto, a redução na σ_{max} e ME pode estar relacionada com um possível efeito de plasticização. Plastificantes e água são substâncias de baixa massa molar que aumentam a flexibilidade e processabilidade de polímeros (AYDİN e ILBERG, 2016; SREEDHAR et al., 2006). No entanto, para o filme

MMT0MA8 observou-se aumento do ME e σ_{\max} em relação aos filmes MMT0MA1 e MMT0MA4 com conseqüente redução significativa do ϵ apenas para MMT0MA8. Assim, com o aumento na concentração de MA, os filmes apresentaram-se mais rígidos (menor elasticidade), aumento da força na tração e menor estiramento (Tabela 3). Este resultado também pode ser atribuído ao aumento da concentração da fase sólida devido a adição das microcápsulas em pó durante o desenvolvimento do filme. Com isso, a fase líquida é prejudicada com menor presença de água e glicerol para auxiliar no processo de plasticização tornando os filmes mais quebradiços com o aumento de MA. A presença de água em filmes hidrofílicos também possui efeito plasticizante, em condições de baixa umidade, os filmes tornam-se mais quebradiços devido à diminuição de água residual no interior do filme (COUPLAND et al., 2000).

O filme MMT1MA0 apresentou um efeito de plasticização com diminuição na σ_{\max} e ME em relação ao filme TPS/IPS tornando os filmes menos rígidos (mais flexíveis) e mais fracos (Tabela 3). Também se observou efeito de plasticização com o aumento da extensibilidade do ϵ causado pela presença da argila e conseqüente aumento da capacidade do filme MMT1MA0 para esticar (Tabela 3). Os plasticizantes enfraquecem as forças intermoleculares entre as cadeias adjacentes do polímero, assim, ocorre um aumento da extensibilidade e flexibilidade do filme, com uma diminuição no módulo de elasticidade e resistência à tração (ALVES et al., 2007; AZEVEDO et al., 2015a). Conforme difratogramas de raios X, uma possível esfoliação da MMT foi obtida, porém, possivelmente, a concentração de MMT adicionada aos filmes não foi suficiente para aumentar as propriedades de tração.

A melhoria das propriedades mecânicas está fortemente relacionada com as formulações dos filmes. A combinação entre MMT e MA aumentou a σ_{\max} , ME e diminuiu ϵ em relação ao filme MMT1MA0 (Tabela 3). O aumento na concentração de microcápsulas tornou os filmes mais rígidos e resistentes à

tração, porém com menor capacidade para esticar. Isto pode ser atribuído a presença de polissacarídeos (amido modificado e maltodextrina) contido nas microcápsulas que modificam propriedades mecânicas em combinação com filmes de proteínas tornando os filmes mais rígidos sem a adição de plastificantes. Assim, com os resultados apresentados neste trabalho, permite-se concluir que a combinação de 1% de MMT com uma concentração de 4% de MA tornou o filme MMT1MA4 mais resistente e mais elástico quando comparado aos filmes MMT1MA1 e MMT1MA8. Brindle e Krochta (2008) estudaram filmes de blendas de isolado proteico de soro de leite combinado com hidroxipropilmetilcelulose e glicerol. Estes autores relataram que o aumento na concentração de HPMC aumentou a resistência à tração, módulo elástico e reduziu o alongamento quando comparado a filmes puros de isolado proteico de soro de leite com glicerol, com a presença de filmes mais duros, fortes e menos extensíveis.

Em relação à punctura, observou-se redução significativa para todos os filmes com ou sem adição MMT e MA para RP e DP em relação ao filme TPS/IPS. Isso indica menor deformação dos filmes e uma menor força seria necessária para perfuração tornando os filmes mais quebradiços (Tabela 3). Este fato pode ser atribuído a diminuição de plastificantes nos filmes provocado pelo aumento de microcápsulas. Porém, a interação entre MMT e MA para o filme MMT1MA8 promoveu um aumento da RP e DP com maior força na punctura e maior deformação em relação ao filme MMT1MA0.

Jagannath et al. (2003) estudaram filmes de blendas de amido de milho/gelatina; amido de milho/albumina e amido de milho/caseína e relataram resistência à tração de 3,45MPa a 4,08 MPa e alongamento de 29 a 68%. Coughlan et al. (2004) apresentaram resistência à tração de 0,81 a 1,19 MPa e 19 a 20% de alongamento em filmes de concentrado proteico de soro de leite com carragena. Pesquisas sobre filmes de amido de mandioca termoplástico (TPS)

com nanoargilas hidrofílicas e hidrofóbicas foram desenvolvidas por Müller, Laurindo e Yamashita (2012). Estes autores relataram que a adição de nanoargilas não alterou significativamente o alongamento porém, os filmes com nanoargilas hidrofílicas (Cloisite Na⁺) aumentaram a rigidez dos filmes devido a estruturas intercaladas. Kumar et al. (2010) estudaram filmes de proteína isolada de soja (SPI) e montmorilonita sódica obtidos por extrusão. A resistência à tração aumentou com o aumento da concentração de 0 a 15% de MMT. Filmes contendo 5% de MMT apresentaram aumento do alongamento quando comparado com o filme SPI. No entanto, com o aumento de MMT de 5% até 15% a porcentagem de alongamento diminuiu. Estes autores relataram que este fato é atribuído ao menor movimento das moléculas de proteína de soja devido à incorporação da MMT e interação entre SPI e MMT.

Tabela 3 Tração (σ_{\max} , ME, ϵ); Punctura (RP e DR) em filmes de TPS/IPS/MMTNa⁺/MA

MMTNa ⁺ (g·100g ⁻¹)	MA (g·100g ⁻¹)	Resistência à tração (σ_{\max}) (MPa)	Módulo de Elasticidade (ME) (MPa)	Alongamento (ϵ) (%)	Resistência à punctura / Espessura (RP) (N/mm)	Deformação na punctura (DP) (mm)
0	0	5,73 ± 0,39 a	198,90 ± 11,0 a	10,65 ± 1,30 a	75,40 ± 5,8 a	3,38 ± 0,32 a
	1	2,25 ± 0,23 b	120,28 ± 11,3 b	11,96 ± 0,40 a	48,66 ± 4,9 b	2,80 ± 0,41 b
	4	2,77 ± 0,28 c	174,65 ± 19,6 a	11,33 ± 0,77 a	54,72 ± 5,3 b	3,15 ± 0,27 b
	8	3,48 ± 0,20 d	192,89 ± 14,9 a	7,60 ± 0,12 b	50,90 ± 7,4 b	2,75 ± 0,27 b
1	0	2,24 ± 0,10 a	114,80 ± 6,81 a	12,14 ± 0,98 a	54,73 ± 6,4 a	2,86 ± 0,18 a
	1	2,25 ± 0,17 a	134,52 ± 9,92 a	11,86 ± 0,48 a	49,64 ± 5,5 b	2,79 ± 0,22 a
	4	2,80 ± 0,10 b	124,77 ± 8,37 a	10,06 ± 0,65 b	49,12 ± 4,1 b	2,90 ± 0,25 b
	8	3,22 ± 0,05 b	192,96 ± 9,65 b	9,86 ± 0,71 b	59,03 ± 5,2 a	2,96 ± 0,14 b

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente (p<0,05)

3.6 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

Uma das principais limitações para utilização de filmes baseados em polímeros hidrofílicos para materiais de embalagem de alimentos é a tendência a alta permeabilidade ao vapor de água. Assim, a utilização de nanopartículas torna-se uma alternativa para melhorar propriedades de barreira, criando um caminho tortuoso para a difusão de moléculas com consequente redução da PVA. Neste trabalho, a espessura dos filmes não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) e variaram entre 370 μm a 450 μm . A adição de MMT influenciou significativamente a PVA ($p < 0,05$) dos filmes (Tabela 4).

Observou-se redução de 35,3% da PVA dos nanocompósitos com a adição de 1% de MMT. Isto indica que as moléculas do polímero (TPS/IPS) entraram no espaço interlamelar da argila resultando em uma expansão das lamelas com consequente efeito de tortuosidade do caminho para difusão de moléculas. Conforme visto nos difratogramas de raios X, uma possível esfoliação das lamelas pode ter ocorrido resultando, assim, em uma redução da difusividade do permeante ao longo da matriz polimérica. Quando as lamelas de argila estão bem distribuídas na matriz polimérica, ocorre a formação de caminhos tortuosos o que dificulta a passagem de vapores de água através dos filmes (DIAS et al., 2014).

Os principais fatores que afetam a permeação incluem o grau de cristalinidade, o nível de dispersão e orientação das plaquetas de silicato no interior da matriz. Nanocompósitos contendo glicerol apresentaram redução da permeabilidade à água, pois a presença do plastificante glicerol dificulta a intercalação e mantém as plaquetas de MMT orientadas aleatoriamente no espaço devido a ligações com grupos hidroxilas (-OH) da MMT (LAVORGNA et al., 2010). Assim, a redução da PVA observada pode ser atribuída ao nível de dispersão e orientação de plaquetas. O uso de nanopartículas em filmes

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 (DIAS et al., 2014).

Esta redução da PVA é comparável aos resultados obtidos em outras pesquisas com a incorporação de até 10% de MMT. Lavorgna et al. (2010) encontrou redução de até 50% em filmes de quitosana com 3 e 10% de MMT. Filmes de amido com 6% MMT apresentaram redução de 34,2% (TANG, ALAVI e HERALD, 2008). Filmes de quitosana com 5% MMT, redução de 25,4% (RHIM et al., 2006). Filmes de isolado proteico de soja com 5% MMT obtiveram redução de 22,1% (KUMAR et al., 2010). Azevedo et al. (2015b) reportaram redução de 50,8% em filmes de isolado proteico de soro de leite com 3% de MMT. Faria, Vercelheze e Mali (2012) reportaram redução de 47,9% em blendas à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e 5% de MMT.

Tabela 4 Média e desvio padrão de permeabilidade ao vapor de água (PVA, $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$) de filmes de TPS/IPS/MMT/MA

Filmes	PVA $\times 10^{-11}$ ($\text{g}/\text{m}^*\text{s}*\text{Pa}$)
Com MMT	1,61 \pm 0,38 a
Sem MMT	2,49 \pm 1,56 b

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

3.7 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH (AAT)

Para avaliar antioxidantes como possíveis sequestradores de radicais livres, o método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é um dos mais utilizados atualmente. O DPPH é um radical livre que produz um decréscimo da absorvância apresentando-se como uma solução violeta em solução alcoólica

sendo reduzido na presença de uma molécula antioxidante, dando origem à soluções etanólicas descoloridas (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995; MENSOR et al., 2001).

O parâmetro atividade antioxidante total (AAT) sofreu influência significativa apenas quanto ao teor de microcápsulas (MA) (Tabela 5). Observou-se aumento da AAT dos filmes em função do aumento da concentração de MA, porém, não houve diferença significativa entre os filmes. Isto indica que a menor concentração de MA adicionada aos filmes é suficiente para que exista efeito antioxidante. A atividade antioxidante apresentada pelos filmes indica que os materiais de parede utilizados no processo de microencapsulação deste trabalho (maltodextrina DE:10 e amido modificado) foram eficientes para proteger os compostos voláteis 1,8 cineol (monoterpeno majoritário) e ácido carnósico (diterpeno majoritário) presentes no óleo. Turasan, Sahin e Sumnu (2015) estudaram o armazenamento de microcápsulas de óleo essencial de alecrim durante 40 dias. Estes autores relataram que a alta barreira a permeabilidade dos materiais de parede (maltodextrina com dextrose equivalente, DE 4,0-7,0 e DE: 13,0 - 17,0) utilizados no processo de encapsulação diminuíram a volatilização do 1,8 cineol. Estudos relataram que a atividade biológica de óleos essenciais é frequentemente atribuída aos seus compostos majoritários (BURT, 2004; OJEDA-SANA et al., 2013). O óleo essencial de alecrim possui componentes fenólicos em sua composição que envolvem principalmente monoterpenos como 1,8-cineol, α -pineno, cânfora, canfeno, que apresentam efeitos antioxidantes (BASER e BUCHBAUER, 2015; KATERINOPOULOS et al., 2005; TURASAN, SAHIN e SUMNU, 2015).

Por apresentarem compostos ativos biologicamente tais como ácidos fenólicos e terpenos, os óleos essenciais tem sido reconhecidos pelas suas propriedades antioxidantes (ALVES-SILVA et al., 2013; RUIZ-NAVAJAS et al., 2013). As propriedades antioxidantes dos extratos da folha de alecrim e/ou

óleo são atribuídas ao seu grande conteúdo de fenólicos diterpênicos (SÁENZ-LÓPEZ, FERNÁNDEZ-ZURBANO e TENA, 2002; THORSEN e HILDEBRANDT, 2003). A atividade antioxidante do alecrim é relatada para dois fenólicos diterpênicos: ácido carnósico e carnosol, sendo o antioxidante mais efetivo e majoritário o ácido carnósico. Outros diterpenos, menos efetivos, são produtos de degradação do ácido carnósico, que é convertido na maior parte a carnosol, metil éster do ácido carnósico, rosmadiol, epirosmanol, rosmanol, 7-metilrosmanol e ácido rosmarínico (ABDOLLAHI, REZAEI e FARZI, 2012; BACKLEH, LEUPOLD e PARLAR, 2003; BOZIN et al., 2007; DEL BAÑO et al., 2003; IBANEZ et al., 2000; THORSEN e HILDEBRANDT, 2003).

Tabela 5 Atividade antioxidante total (AAT, %) de filmes de TPS/IPS/MMT/MA

MA (g·100g ⁻¹)	AAT (%)
0	31,19 ± 0,89 a
1	49,61 ± 1,31 b
4	52,53 ± 3,72 b
8	53,02 ± 0,83 b

* Médias observadas na coluna com mesma letra não diferem estatisticamente (p<0,05)

4. CONCLUSÃO

Os resultados mostraram a obtenção de nanocompósitos homogêneos com possíveis estruturas esfoliadas na matriz de TPS/IPS conforme difratogramas de raios X e microscopia eletrônica de varredura. A adição de MMT reduziu a PVA dos filmes e a interação entre MMT e MA promoveu aumento da estabilidade térmica, melhoria das propriedades mecânicas e atividade antioxidante para os nanocompósitos desenvolvidos. A atividade

antioxidante das microcápsulas de óleo essencial de alecrim foi mantida após o processo de extrusão sendo o filme MMT1MA1 o mais indicado para futuras aplicações como embalagens ativas. Assim, a utilização destes filmes como carreador de substâncias ativas seria uma alternativa promissora para o desenvolvimento de embalagens ativas para a indústria de alimentos. Estudos futuros visam a aplicação destes filmes em sistemas reais (alimentos) para avaliar a migração do agente ativo contido nas microcápsulas do filme para o alimento e seu potencial antioxidante.

AGRADECIMENTOS

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. SISNANO (Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologia) e LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação), *Hilmar Ingredients*, *Southern Clay Products*, pela doação do isolado proteico de soro de leite, argila montmorilonita PB Cloisite Na⁺, respectivamente.

REFERÊNCIAS

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 2, p. 343-350, 2012.

_____. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 3, p. 811-818, 2014.

ALVES-SILVA, J. M. et al. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 371-378, 2013.

ALVES, V. D. et al. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p. 941-946, 2007.

AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H.; LONGO, E. New strategies in the preparation of exfoliated thermoplastic starch–montmorillonite nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 3, p. 1502-1508, 2011.

ASTM. **Standard practice for conditioning plastics for testing, D618-00**. Philadelphia,PA: 4 p. 2000a.

_____. **Standard test method for water vapor transmission of materials, E96-00**. Philadelphia,PA: 9 p. 2000b.

_____. **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882-02**. Philadelphia,PA: 10 p. 2002.

_____. **Standard test method for transition temperatures of polymers by differential scanning calorimetry, D3418-03**. Philadelphia,PA: 7 p. 2003.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 111-122, 2004.

AYDİN, A. A.; ILBERG, V. Effect of different polyol-based plasticizers on thermal properties of polyvinyl alcohol: starch blends. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 441-448, 2016.

AZEVEDO, V. M. et al. Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 179-188, 2015a.

AZEVEDO, V. M. et al. Whey protein isolate biodegradable films: Influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 252-258, 2015b.

BACKLEH, M.; LEUPOLD, G.; PARLAR, H. Rapid quantitative enrichment of carnosic acid from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by isoelectric focused adsorptive bubble chromatography. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1297-1301, 2003.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARCLAY, T. et al. **Inulin-a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses**. 2010. International Pharmaceutical Excipients Council

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC Press, 2015.

BERISTAIN, C.; AZUARA, E.; VERNON-CARTER, E. Effect of Water Activity on the Stability to Oxidation of Spray-Dried Encapsulated Orange Peel Oil Using Mesquite Gum (*Prosopis Juliflora*) as Wall Material. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 206-211, 2002.

BHANDARI, B.; HARTEL, R. Phase transitions during food powder production and powder stability. 2005.

BOZIN, B. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7879-7885, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRINDLE, L.; KROCHTA, J. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. E446-E454, 2008.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BYUN, Y.; KIM, Y. T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with alpha-tocopherol, BHT and

polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 2, p. 239-244, 2010.

CANEVAROLO, J. SV Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. **São Paulo: Artiliber**, p. 282, 2002.

CANEVAROLO JR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. 2004. 448p

CAPARINO, O. et al. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 135-148, 2012.

CEREDA, M. et al. Propriedades gerais do amido. **Campinas: Fundação Cargill**, v. 1, p. 224, 2001.

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

COSTA, J. M. G. D. et al. Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer. **Journal of Microencapsulation**, v. 30, n. 8, p. 717-727, 2013.

COUGHLAN, K. et al. Combined Effects of Proteins and Polysaccharides on Physical Properties of Whey Protein Concentrate-based Edible Films. **Journal of food science**, v. 69, n. 6, p. E271-E275, 2004.

COUPLAND, J. N. et al. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of food engineering**, v. 43, n. 1, p. 25-30, 2000.

DAINELLI, D. et al. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. S103-S112, 2008.

DE ABREU, D. P. et al. Development of new polyolefin films with nanoclays for application in food packaging. **European Polymer Journal**, v. 43, n. 6, p. 2229-2243, 2007.

DE CAMPOS, A. et al. TPS/PCL composite reinforced with treated sisal fibers: property, biodegradation and water-absorption. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2013.

DEL BAÑO, M. J. et al. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4247-4253, 2003.

DIAS, M. V. et al. Development of chitosan/montmorillonite nanocomposites with encapsulated α -tocopherol. **Food Chemistry**, v. 165, p. 323-329, 2014.

DU PLOOY, W.; REGNIER, T.; COMBRINCK, S. Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. **Postharvest Biology and Technology**, v. 53, n. 3, p. 117-122, 2009.

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

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate polymers**, v. 101, p. 524-532, 2014.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate polymers**, v. 101, p. 524-532, 2014a.

FERNANDES, R. V. D. B. et al. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 6, p. 1522-1529, 2014b.

FROUNCHI, M. et al. Gas barrier properties of PP/EPDM blend nanocomposites. **Journal of membrane science**, v. 282, n. 1, p. 142-148, 2006.

GACHKAR, L. et al. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 898-904, 2007.

GALDEANO, M. et al. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 2, p. 492-498, 2009.

GENENA, A. K. et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28, n. 2, p. 463-469, 2008.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GHOSH, A. et al. Structure–function characteristics of the biomaterials based on milk-derived proteins. **International journal of biological macromolecules**, v. 46, n. 4, p. 404-411, 2010.

GÜÇBILMEZ, Ç. M.; YEMENICIOĞLU, A.; ARSLANOĞLU, A. Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. **Food Research International**, v. 40, n. 1, p. 80-91, 2007.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V.; KROCHTA, J. Thermoplastic processing of proteins for film formation—a review. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 2, p. R30-R39, 2008.

HULLEMAN, S. et al. Origins of B-type crystallinity in glycerol-plasticised, compression-moulded potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, n. 4, p. 351-360, 1999.

IBANEZ, E. et al. Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electrokinetic chromatography, and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 9, p. 4060-4065, 2000.

JAGANNATH, J. et al. Mechanical and barrier properties of edible starch–protein-based films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 88, n. 1, p. 64-71, 2003.

KATERINOPOULOS, H. E. et al. Composition and insect attracting activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis*. **Journal of chemical ecology**, v. 31, n. 1, p. 111-122, 2005.

KERRY, J.; O'GRADY, M.; HOGAN, S. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. **Meat science**, v. 74, n. 1, p. 113-130, 2006.

KIM, H.-Y. et al. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 2, p. 582-588, 2013.

KIM, Y.; WHITE, J. L. Formation of polymer nanocomposites with various organoclays. **Journal of applied polymer science**, v. 96, n. 5, p. 1888-1896, 2005.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, D. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food technology (USA)**, 1997.

KUMAR, P. et al. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 480-489, 2010.

LANGRISH, T.; WANG, S. Crystallization rates for amorphous sucrose and lactose powders from spray drying: A comparison. **Drying Technology**, v. 27, n. 4, p. 606-614, 2009.

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

LEE, S. Y.; CHEN, H.; HANNA, M. A. Preparation and characterization of tapioca starch-poly (lactic acid) nanocomposite foams by melt intercalation based on clay type. **Industrial crops and products**, v. 28, n. 1, p. 95-106, 2008.

LESZCZYNSKA, A.; PIELICHOWSKI, K. Application of thermal analysis methods for characterization of polymer/montmorillonite nanocomposites. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 93, n. 3, p. 677-687, 2008.

LUO, X.; LI, J.; LIN, X. Effect of gelatinization and additives on morphology and thermal behavior of corn starch/PVA blend films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1595-1600, 2012.

MA, X.-F.; YU, J.; WAN, J. Urea and ethanolamine as a mixed plasticizer for thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 2, p. 267-273, 2006.

MAGALHÃES, N.; ANDRADE, C. Thermoplastic corn starch/clay hybrids: Effect of clay type and content on physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 4, p. 712-718, 2009.

MALCOLM, P. S. Polymer chemistry: An introduction. **Oxford University Press, New York**, p. 87-91, 1999.

MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, n. 3, p. 307-312, 1994b.

MCHUGH, T. H. K., JOHN M. Sorbital versus glycerol-plasticized edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 4, p. 841-5, 1994a.

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research**, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

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

_____. Composites of thermoplastic starch and nanoclays produced by extrusion and thermopressing. **Carbohydrate polymers**, v. 89, n. 2, p. 504-510, 2012.

NIJDAM, J. et al. An X-ray diffraction analysis of crystallised whey and whey-permeate powders. **Carbohydrate research**, v. 342, n. 16, p. 2354-2364, 2007.

OJEDA-SANA, A. M. et al. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 189-195, 2013.

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

PELISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch– chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009.

REÍ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying technology**, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

REINECCIUS, G. A. The spray drying of food flavors. **Drying Technology**, v. 22, n. 6, p. 1289-1324, 2004.

RHIM, J.-W. et al. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 16, p. 5814-5822, 2006.

RINDLAVA, Å.; HULLEMAN, S. H.; GATENHOLMA, P. Formation of starch films with varying crystallinity. **Carbohydrate Polymers**, v. 34, n. 1, p. 25-30, 1997.

ROONEY, M. L. Active food packaging. 1995.

RUIZ-NAVAJAS, Y. et al. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 386-392, 2013.

SÁENZ-LÓPEZ, R.; FERNÁNDEZ-ZURBANO, P.; TENA, M. A. T. Capillary electrophoretic separation of phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of Chromatography A**, v. 953, n. 1, p. 251-256, 2002.

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

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 4, p. 443-452, 2010b.

SCHMITT, C. et al. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 8, p. 689-753, 1998.

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

SREEDHAR, B. et al. Thermal and surface characterization of plasticized starch polyvinyl alcohol blends crosslinked with epichlorohydrin. **Journal of applied polymer science**, v. 101, n. 1, p. 25-34, 2006.

TANG, R. et al. Preparation and characterization of soy protein isolate-carboxymethylated konjac glucomannan blend films. **Journal of applied polymer science**, v. 88, n. 5, p. 1095-1099, 2003.

TANG, X.; ALAVI, S.; HERALD, T. J. Barrier and mechanical properties of starch-clay nanocomposite films. **Cereal chemistry**, v. 85, n. 3, p. 433-439, 2008.

THORSEN, M. A.; HILDEBRANDT, K. S. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts: aspects of accurate quantification. **Journal of Chromatography A**, v. 995, n. 1, p. 119-125, 2003.

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

TURASAN, H.; SAHIN, S.; SUMNU, G. Encapsulation of rosemary essential oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 112-119, 2015.

VAN SOEST, J. J. et al. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, v. 5, n. 1, p. 11-22, 1996.

VAN SOEST, J. J.; VLIEGENTHART, J. F. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in biotechnology**, v. 15, n. 6, p. 208-213, 1997.

VARTIAINEN, J. et al. Biohybrid barrier films from fluidized pectin and nanoclay. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 989-996, 2010.

WANG, N. et al. Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 68-73, 2009.

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

WASZKOWIAK, K. Antioxidative activity of rosemary extract using connective tissue proteins as carriers. **International journal of food science & technology**, v. 43, n. 8, p. 1437-1442, 2008.

YOUSEFI, S.; EMAM-DJOMEH, Z.; MOUSAVI, S. Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum L.*). **Journal of food science and technology**, v. 48, n. 6, p. 677-684, 2011.