



**BRUNA RAGE BALDONE LARA**

**DEVELOPMENT OF WPI AND PVA BLENDS  
AIMING THEIR USE AS FLEXIBLE PLASTIC  
PACKAGING FOR FOOD**

**LAVRAS – MG  
2018**

**BRUNA RAGE BALDONE LARA**

**DEVELOPMENT OF WPI AND PVA BLENDS AIMING THEIR USE AS  
FLEXIBLE PLASTIC PACKAGING FOR FOOD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Marali Vilela Dias  
Orientadora

Prof. Dr. Mario Guimarães Junior  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2018**

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

Lara, Bruna Rage Baldone.

Development of WPI and PVA blends aiming their use as flexible plastic packaging for food / Bruna Rage Baldone Lara. - 2018.

138 p. : il.

Orientador(a): Marali Vilela Dias.

Coorientador(a): Mario Guimarães Junior.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Biopolímeros. 2. Blendas poliméricas. 3. Isolado proteico de soro de leite; Poli (álcool vinílico). I. Dias, Marali Vilela. II. Junior, Mario Guimarães. III. Título.

**BRUNA RAGE BALDONE LARA**

**DEVELOPMENT OF WPI AND PVA BLENDS AIMING THEIR USE AS  
FLEXIBLE PLASTIC PACKAGING FOR FOOD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2018.

Dr. Mario Guimarães Junior CEFET-MG

Dr. Fabiana Queiroz UFLA

Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli UFLA

Profa. Dra. Marali Vilela Dias  
Orientadora

**LAVRAS – MG  
2018**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, Nossa Senhora Aparecida e São Geraldo, por me concederem e intercederem por minha saúde e capacidade para a realização desta pesquisa.

À minha orientadora, professora Marali Vilela Dias, pela confiança, paciência, incentivo e amizade, sempre disposta a me ouvir e aconselhar e, principalmente, por me ensinar que todo esforço e dedicação obrigatoriamente retornam como resultados positivos.

Ao professor Mario Guimarães Junior, por me orientar sempre com muita competência e dedicação, com interesse constante em contribuir para que esta pesquisa se concretizasse. Muito obrigada!

Aos meus pais, Sandra e Weber, pelo amor e confiança, e principalmente, pelo incentivo para que cada etapa fosse vencida com responsabilidade e sucesso. “Quando eu dei um passo no escuro, lá estavam vocês para me receber com a luz e o amor que eu tanto precisei”.

A minha irmã, Laura, por ser minha grande amiga, pelo incentivo, encorajamento e amor. “Você sempre sabe as palavras certas para me ajudar a tomar decisões e me tornar mais forte diante das trepidações”.

Ao Marcos, pelo exemplo de otimismo e serenidade, por incansavelmente me dizer que tudo sempre dará certo, mas, principalmente, pelo amor, carinho e apoio em todas as minhas decisões.

A minha avó Marília, meus tios, tias, primos e primas, por me incluírem diariamente nas suas orações pedindo por minha saúde e felicidade.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Embalagens e de Secagem da UFLA, principalmente Taline, Fernanda, Ana Cristina, Laura, Lívio e Raíssa, pelos momentos de descontração e pelos *happy hours* que com certeza fizeram desta uma caminhada mais prazerosa, e pelos auxílios no laboratório.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Microestrutural (LME) da UFLA, em especial à Elisa e Aline pela ajuda nas análises de Microscopia.

À professora Bruna de Souza Nascimento, pelo auxílio nas análises das isotermas de sorção de água, sempre disposta a ajudar com muita competência.

À professora Maria Irene Yoshida da UFMG, pelo auxílio nas análises térmicas.

À Universidade Federal de Lavras, ao Programa de Pós-graduação de Engenharia de Biomateriais, ao Departamento de Ciência dos Alimentos, e aos professores e funcionários pelos auxílios técnicos, ensinamentos e pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Aos meus amigos e todos aqueles que torcem por mim e desejam a minha felicidade. Com certeza vocês contribuíram para a conclusão desta etapa.

Muito obrigada!

## RESUMO GERAL

Dado o crescimento anual no consumo de embalagens plásticas para alimentos, faz-se desejável a existência de matérias-primas alternativas ao petróleo, principalmente que sejam renováveis ou obtidas de resíduos industriais, como o isolado proteico de soro de leite (IPS). O presente trabalho propõe a avaliação da aplicabilidade de novas blendas de IPS e poli (álcool vinílico) (PVA) como embalagem flexível para alimentos. Para tal, foram desenvolvidas blendas de IPS acrescidas de 10%, 20% e 30% de PVA, com objetivo de melhorar a flexibilidade dos filmes de IPS. As blendas, bem como o filmes de IPS e PVA isolados, foram caracterizadas quanto às propriedades: mecânicas (testes de tração e punctura), morfológicas (Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV), de interação (Espectroscopia na Região do Infravermelho – FTIR), óticas (% transmitância), térmicas (Análise Termogravimétrica – TGA e Calorimetria Diferencial Exploratória – DSC), de permeabilidade ao vapor de água, de solubilidade em água e de interação com umidade sob atividades de água e temperaturas variadas (isotermas de sorção de água). A adição de 30% de PVA à matriz de IPS produziu uma blenda com menor resistência à tração, porém com um comportamento mais dúctil, exibindo uma capacidade de deformação dez vezes maior que a do filme de IPS. As propriedades de tração obtidas para esta blenda foram próximas àquelas referentes ao polietileno de baixa densidade (PEBD). A resistência à punctura e a permeabilidade ao vapor de água não foram afetadas pela adição de PVA à matriz de IPS, porém a solubilidade em água e a transmitância ótica foram reduzidas quando comparadas ao filme de IPS. As blendas mostraram temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) semelhantes à do filme de IPS puro e boa compatibilidade entre os polímeros foi indicada pelos resultados de  $T_g$ . Os dados experimentais de isotermas de sorção foram bem ajustados através do modelo GAB, e as curvas mostraram um expressivo aumento na sorção de água em atividades de água ( $a_w$ ) acima de 0.6. A adição de PVA à matriz de IPS tornou o processo de sorção de água mais espontâneo. Através das análises realizadas concluiu-se que é indicada a adição de 30% de PVA aos filmes de IPS para obtenção de um material mais flexível, sem prejudicar a barreira à umidade e, além disso, que essa blenda é aplicável a embalagens flexíveis para alimentos e atmosferas externas com  $a_w$  abaixo de 0.90.

**Palavras-chave:** Isolado proteico de soro de leite. Poli (álcool vinílico). Blendas poliméricas. Embalagens para alimentos.

## GENERAL ABSTRACT

Given the annual growth in food plastic packaging consumption, it is desirable the existence of raw materials, which are alternative to petroleum, especially those renewable or obtained from industrial byproducts, such as the whey protein isolate (WPI). The present work proposes to evaluate the applicability of WPI and polyvinyl alcohol (PVA) new blends as flexible packaging for food. In order to this, blends of WPI with 10%, 20% and 30% of PVA were developed, aiming to increase the WPI films flexibility. Blends, as well as isolated WPI and PVA films, were characterized regarding the following properties: mechanical (tensile and puncture tests), morphological (Scanning Electron Microscopy – SEM), of interaction (Fourier Transform Infrared – FT-IR), optical (% transmittance), thermal (Thermogravimetric Analysis – TGA and Differential Scanning Calorimetry – DSC), of water vapor permeability, of solubility in water and of interaction with moisture under different water activities and temperatures (water sorption isotherms). The addition of 30% of PVA to WPI matrix produced a blend with lower strength, but with a more ductile behavior, exhibiting a ten times higher elongation when compared to WPI film. The tensile properties obtained for this blend were close to those from low density polyethylene (LDPE). The puncture resistance and the water vapor permeability were not affected by the addition of PVA to the WPI matrix, while solubility in water and optical transmittance were reduced when compared to WPI film. Blends showed glass transition temperature values similar to that from WPI film and a good compatibility between the polymers was indicated by Tg results. The experimental data from water sorption isotherms tests were well adjusted through GAB model and curves showed a more expressive increase of water sorption above water activity ( $a_w$ ) of 0.6. The addition of 30% PVA to WPI made the water sorption process more spontaneous. Through the performed analysis it was possible to conclude that is indicated the addition of 30% of PVA to the WPI matrix in order to obtain a more flexible material without prejudice its water barrier property, as well as, that the application of this blend as flexible packaging is suitable for foods and external environments with  $a_w$  below 0.90.

**Keywords:** Whey protein isolate (WPI). Polyvinyl alcohol (PVA). Polymeric blends. Food packaging.



## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL .....12</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....14</b>
2.1	Embalagens plásticas alimentícias..... 14
2.2	Biopolímeros..... 16
2.3	Soro de leite e isolado proteico de soro de leite (IPS) ..... 17
2.3.1	Filmes de IPS ..... 21
2.3.2	Poli (álcool vinílico) (PVA)..... 22
2.3.3	Filmes de PVA..... 26
2.3.4	Blendas ..... 27
2.3.5	Blendas de IPS/PVA..... 29
2.3.6	Propriedades mecânicas ..... 30
2.4	Espectroscopia na região do infravermelho ..... 32
2.4.1	Propriedades físicas ..... 35
2.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV ..... 38
2.4.3	Propriedades térmicas ..... 39
2.4.4	Isotermas de sorção de água ..... 41
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....51</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL.....52</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....53</b>
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....62</b>
	<b>ARTIGO 1- Morphological, mechanical and physical properties of new whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging.....63</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUCTION .....63</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL AND METHODS .....65</b>

2.1	Material.....	65
2.2.1	Preparation of films .....	66
2.2.2	Preparation of blends .....	67
2.3	Characterization of films and blends .....	67
2.3.1	Fourier transform infrared (FT-IR) analysis .....	68
2.3.2	Morphology .....	68
2.3.3	Mechanical properties and thickness .....	68
2.3.4	Water vapor permeability (WVP).....	69
2.3.5	Solubility in water.....	71
2.3.6	Optical Transmittance.....	71
2.4	Statistical analysis.....	71
<b>3</b>	<b>RESULTS .....</b>	<b>72</b>
3.1	FT-IR .....	72
3.2	Morphology .....	77
3.3	Mechanical properties and thickness .....	80
3.4	Water vapor permeability (WVP).....	86
3.5	Solubility.....	90
3.6	Optical transmittance .....	91
<b>4</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>93</b>
	<b>REFERENCES.....</b>	<b>95</b>
	<b>ARTIGO 2 - Thermal properties and water sorption thermodynamic behaviour of whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging.....</b>	<b>99</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>99</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL AND METHODS .....</b>	<b>101</b>
2.1	Material.....	101
2.2	Preparation of films and blends .....	102
2.2.1	Preparation of films .....	102

2.2.2	Preparation of blends .....	103
2.3	Characterization of films and blends .....	104
2.3.1	Thermogravimetric analysis (TGA).....	104
2.3.2	Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	104
2.3.3	Water sorption isotherms .....	105
2.3.3.1	Moisture content .....	105
2.3.3.2	Isotherms assembly.....	105
2.3.3.3	Mathematical modeling .....	106
2.3.3.4	Thermodynamic properties .....	107
2.3.3.4.1	Differential enthalpy ( $\Delta H_{\text{dif}}$ ) and differential entropy ( $\Delta S_{\text{dif}}$ ) ...	108
2.3.3.4.2	Theory of Enthalpy-Entropy Compensation and $\Delta G_{\beta}$ .....	109
2.4	Statistical analysis.....	110
<b>3</b>	<b>RESULTS .....</b>	<b>111</b>
3.1	Thermogravimetric Analysis (TGA).....	111
3.2	Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	114
3.3	Water sorption isotherms .....	115
3.3.1	Differential enthalpy ( $\Delta H_{\text{dif}}$ ) .....	125
3.3.2	Differential entropy ( $\Delta S_{\text{dif}}$ ) .....	127
3.3.3	Enthalpy-entropy compensation .....	128
<b>4</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>131</b>
	<b>REFERENCES.....</b>	<b>133</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Materiais plásticos desempenham funções essenciais às atividades humanas, especialmente àquelas relacionadas ao setor alimentício. Tal classe de material é responsável por acondicionar e proteger a maioria dos alimentos, os quais são distribuídos e consumidos em todo o mundo. A necessidade diária de se consumir alimentos, e conseqüentemente, de se consumir embalagens plásticas, trouxe à tona uma demanda por novas fontes de materiais poliméricos, principalmente por aquelas que sejam renováveis. Além disso, dados alguns cenários nos quais a degradação rápida do material é desejável, como em ambientes onde a coleta de resíduos é dificultada ou quando a embalagem está na forma de revestimento comestível, faz-se presente um atual crescimento nas pesquisas relacionadas a plásticos biodegradáveis.

Polímeros biodegradáveis destinados à produção de embalagens devem ser renováveis e abundantes, além da necessidade de possuírem um baixo custo, para que haja viabilidade na sua aplicação (CAZÓN et al., 2017). Neste contexto, pode-se assumir que biopolímeros oriundos de resíduos industriais em geral se adequam a essas requisições. O isolado proteico de soro de leite (IPS) é um biopolímero comestível e biodegradável, o qual é obtido como subproduto da indústria de queijos, e pode ser utilizado como matriz na produção de filmes para embalagens (AZEVEDO et al., 2017; CINELLI et al., 2016; SCHMID, 2013a). Apesar de suas desejáveis propriedades de transparência e boa barreira ao oxigênio, filmes de IPS são comumente frágeis e quebradiços devido às interações entre diferentes grupos funcionais das cadeias proteicas (SCHMID, 2013b). Por esse motivo, na busca pela obtenção de propriedades mecânicas e de barreira aplicáveis à embalagem, diversas pesquisas relacionadas à produção de blendas de IPS com outros polímeros são desenvolvidas, principalmente, com

amido e quitosana. Entretanto, nenhum trabalho sobre blendas de IPS com poli (álcool vinílico) (PVA) foi publicado até o momento.

O PVA é um polímero sintético, biodegradável, solúvel em água, o qual é obtido através da hidrólise ácida do poli (acetato de vinila) (HALIMA, 2016). Filmes de PVA, usualmente, apresentam boa capacidade de estiramento e, portanto, sua adição pode atuar aumentando a flexibilidade e reduzindo a fragilidade dos filmes de IPS, tornando-os mais adequados à aplicação na área de embalagens para alimentos, mantendo a propriedade de biodegradabilidade.

Além das características físicas e mecânicas, a propriedade térmica de transição vítrea e a interação com a umidade são fatores fundamentais na determinação e adequação de embalagens a alimentos, já que a grande maioria dos alimentos requer proteção à umidade. Portanto, buscando avaliar a possibilidade da aplicação de blendas de IPS/PVA no setor de embalagens plásticas flexíveis para alimentos, o presente trabalho propõe o desenvolvimento e caracterização de filmes de IPS acrescidos com 10%, 20% e 30% de PVA, quanto às propriedades: mecânicas, morfológicas, óticas, térmicas, de permeabilidade ao vapor de água, de solubilidade em água e de interação com umidade sob atividades de água e temperaturas variadas.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Embalagens plásticas alimentícias**

No setor alimentício, a embalagem desempenha um papel fundamental na manutenção das características proporcionadas pelo processamento dos alimentos. Desta forma, embalagens permitem que alimentos possam ser transportados com segurança por curtas ou longas distâncias de forma que estes se mantenham em condições adequadas até chegarem ao consumidor. Entretanto, embalagens precisam equilibrar suas funções com outras questões, como custos energéticos e de matérias-primas, envolvimento social e ambiental e adequação a regulamentações sobre descarte de resíduos sólidos, entre outras, para que possam efetivamente serem aplicadas no mercado alimentício (MARSH; BUGUSU, 2007).

Atualmente, a maioria dos alimentos produzidos, distribuídos e transportados são embalados em plásticos (NERIN, 2016). Segundo a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE), em 2016 o valor estimado do faturamento da indústria de embalagens no Brasil foi de R\$ 64,3 bilhões, dos quais os materiais plásticos representam a maior parcela frente aos demais (39,42%). No cenário da pesquisa, a ABRE citou a indústria de plástico como a que mais emprega no setor de embalagens, representando 52,88% do total de postos de trabalho (ABRE, 2017).

Em 2016, a produção mundial de plásticos excedeu 335 milhões de toneladas, comprovando assim, o uso extremamente difundido desse material (EPRO, 2017). Vale ressaltar que, antes da expansão do uso de materiais poliméricos, o vidro era o material mais utilizado no acondicionamento de produtos alimentícios líquidos e sólidos. A introdução dos polímeros no mercado propiciou uma redução no consumo global de energia, principalmente

pelo fato de que a produção e reciclagem do vidro consomem montantes de energia usualmente superiores aos necessários para a produção de embalagens plásticas (RABELLO, DE PAOLI, 2013).

Com todas as vantagens oferecidas pelos polímeros, a necessidade diária pelo consumo de alimentos e a exigência crescente dos consumidores por produtos práticos, prontos para o consumo, de alta qualidade e segurança, propicia um crescimento na utilização de embalagens plásticas a cada ano. Tal alto consumo, associado ao descarte inadequado de grande parte desses materiais e a resistência da maioria dos plásticos à degradação, têm ocasionado um grande acúmulo de resíduos desse material no meio ambiente. Vale ressaltar que tal impacto ambiental ocorre somente porque, ainda, falta por parte da população, a consciência de que o descarte inadequado dos materiais poliméricos, ou mesmo a destinação a aterros, provocam a perda da energia gasta no processo de produção dos mesmos (MAGRINI et al., 2012). A resistência à degradação desses materiais é fator fundamental para a sua capacidade de serem reciclados, possibilitando um ciclo de vida com eficiência energética maior do que todos os seus concorrentes.

Segundo Magrini et al. (2012), as principais motivações para o desenvolvimento de plásticos oriundos de biopolímeros têm sido a substituição de matérias-primas de origem fóssil e o referido problema do acúmulo desses materiais no ambiente dado seu descarte inadequado. Apesar de cerca de apenas 4% do petróleo extraído ser destinado para a produção de plásticos, e de que o acúmulo desses resíduos é passível de ser resolvido com destinação correta dos mesmos à reciclagem, de fato, em qualquer setor, é desejável a existência de fontes alternativas de matéria-prima. No setor de embalagens para alimentos, principalmente, o qual consome montantes de materiais poliméricos diariamente, anseia-se por novas fontes de matéria-prima as quais sejam renováveis ou obtidas através de resíduos com reduzido ou sem valor agregado.



## 2.2 Biopolímeros

Biopolímeros são definidos como macromoléculas formadas por organismos vivos, incluindo proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos (IUPAC, 1996). Esses materiais também podem ser enquadrados como polímeros extraídos de materiais renováveis e, além de possibilitar a redução do volume de resíduos acumulados no meio ambiente, também podem, ao invés de descartados, ser utilizados na compostagem de plantas (BERTOLINI, 2007). A biodegradabilidade apresentada por grande parte desses materiais, bem como sua abundância, já que são oriundos de fonte renovável ou de resíduos industriais, são os mais fortes fatores de competição desses materiais na tentativa de substituir os polímeros baratos com origem no petróleo.

Apesar de a busca por materiais biodegradáveis ter sido um dos combustíveis para o desenvolvimento das pesquisas relacionadas a biopolímeros, Yates e Barlow (2013) afirmam que a maioria dos biopolímeros realmente são biodegradáveis e que, entretanto, nem todos esses materiais irão apresentar essa propriedade. Além disso, vale ressaltar que nem sempre a biodegradabilidade é fator desejável, já que muitos materiais precisam ser armazenados ou transportados por longas distâncias e por maiores períodos de tempo, sendo essencial a manutenção das funções das embalagens durante esse processo. Tal propriedade é desejável, por sua vez, em ambientes naturais nos quais a coleta de lixo é dificultada, como praias, por exemplo, ou mesmo em situações em que o produto armazenado tem vida útil curta ou é embalado na forma de revestimento comestível.

A biodegradabilidade vai depender de fatores morfológicos, como a forma e o tamanho da cadeia, fatores químicos, incluindo a estrutura química e composição, fatores físicos, como as condições de processamento, além da presença do microorganismo adequado no ambiente de degradação. De acordo

com a fonte e com o tipo de síntese, polímeros caracterizados como biodegradáveis são usualmente divididos em quatro classes:

- a) Polímeros originados de biomassa, de fontes agrícolas vegetais ou animais, como polissacarídeos (amidos de milho, batata, etc.), produtos lignocelulósicos, e outros como quitosana, quitina, pectinas e proteínas do leite;
- b) Polímeros obtidos por microorganismos (polihidroxialcanoato – PHA, polihidroxibutirato-PHB, entre outros);
- c) Polímeros sintetizados quimicamente através de monômeros de fontes agrícolas, como por exemplo o poli (ácido lático) ou o poli (álcool vinílico) (PVA) obtido pela desidratação do álcool etílico da cana-de-açúcar;
- d) E polímeros em que seus monômeros e a própria molécula polimérica final são obtidos pela síntese química de fontes fósseis, como as policaprolactonas (PCL), os poliésteramidos (PEA), o PVA, entre outros (VIEIRA et al., 2011).

Biopolímeros podem ser amplamente aplicados na indústria alimentícia como materiais para embalagens (BERTOLINI, 2007). Alguns atributos são responsáveis pela determinação da aplicação desses materiais a alimentos, como a possibilidade deles serem comestíveis, as propriedades mecânicas de tração e punctura, a capacidade de barreira a gases e à água, a estabilidade sob diferentes condições de temperatura e umidade, entre outras.

### **2.3 Soro de leite e isolado proteico de soro de leite (IPS)**

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Soro de Leite o define como sendo “o líquido obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijo, caseína e produtos lácteos similares”, o qual possui 5g de

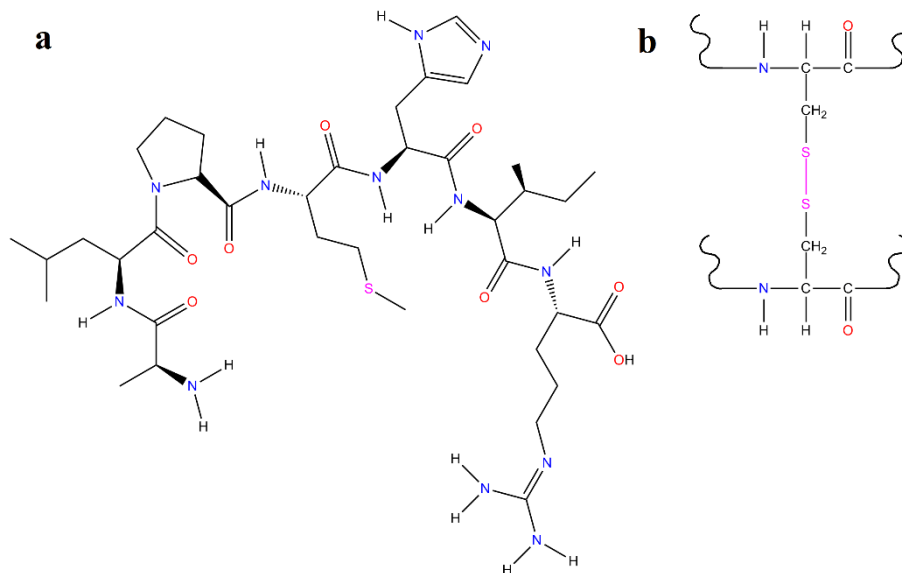
proteína láctea a cada litro (BRASIL, 2013). Os soros são classificados em doce ou ácido, sendo esse primeiro, de acordo Fernandes (2010), proveniente da coagulação enzimática do leite em pH de aproximadamente 6,7, ou coagulação da caseína por enzimas proteolíticas em pH de, no mínimo, 5,6. O soro doce é obtido a partir do processamento de queijos de coagulação rápida ou outros como Prato, Mussarela, Cheddar, etc. O soro ácido, por sua vez, é obtido pela coagulação da caseína em pH abaixo de 5,1, e produzidos no processamento de queijos de coagulação lenta ou queijos como o Quark e o Requeijão.

Os teores de proteína do soro de leite são inferiores quando comparados aos leites integral e desnatado. Entretanto, o grande volume de soro oriundo da indústria de queijos, permite que seja vantajosa a extração da proteína deste subproduto. O mercado atual mostra uma tendência de crescimento na produção mundial de queijos, a qual gera, em média, até 9kg de soro de leite para cada quilo de queijo produzido (GONZÁLEZ-SISO et al., 2015). Esse subproduto, portanto, já foi considerado como poluente, considerando-se o fato de que era comum o seu descarte em cursos d'água, aumentando a demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Entretanto, com o passar dos anos, a consciência ambiental e a necessidade das indústrias em gerar lucros até mesmo sobre os subprodutos, uma vasta gama de produtos lácteos passaram a ser produzidos a partir do soro de leite, como leite em pó, bebidas lácteas e o isolado proteico de soro de leite (CHAVAN et al., 2015).

Fernandes (2010) cita que o soro líquido contém cerca de 20% das proteínas do leite original, sendo essas, em sua maioria,  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoglobulina, albumina sérica e proteose-peptona. Segundo Rutten et al. (2002), a  $\beta$ -lactoglobulina, principal componente, tem estrutura globular em sua forma nativa e é composta por 162 resíduos de aminoácidos ou unidades peptídicas de 20 tipos diferentes. Um trecho da estrutura primária com sete resíduos de aminoácidos (H-Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg-OH) é mostrado na

Figura 1-a. Já a estrutura secundária apresenta-se 15% em conformação  $\alpha$ -hélice, 50% em  $\beta$ -sheet e o restante de conformações desordenadas. Tal estrutura é estabilizada pela presença de ligações de hidrogênio internas e duas ligações covalentes enxofre-enxofre (S-S) propiciados por resíduos de cisteína da cadeia (FIGURA 1-b), e é carregada sob valores de pH acima e abaixo do seu ponto isoelétrico (pH = 5,5).

Figura 1 - a)  $\beta$ -lactoglobulina: segmento da cadeia (estrutura primária) com sete aminoácidos (H-Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg-OH) e b)  $\beta$ -lactoglobulina: segmento de cadeia (estrutura primária) com resíduos de cisteína formando ponte dissulfídica.



Fonte: Adaptado de NCBI (2017).

A utilização das proteínas contidas no soro, além de estar ligada às propriedades nutritivas e funcionais das mesmas, também é justificada por outras características apresentadas por esses compostos, como solubilidade, emulsificação, estabilidade térmica, capacidade de formação de géis, entre outras. Em relação à separação dessas proteínas, podem ser produzidos dois

tipos de produto: o concentrado proteico de soro de leite (CPS) e o isolado proteico de soro de leite (IPS) (CHAVAN et al., 2015). Ao remover os componentes não-proteicos do soro de leite pasteurizado, geralmente pelo método de membranas por ultrafiltração, obtém-se o CPS, com composição de 30 a 90% de proteínas e o restante de lactose, lipídeos e cinzas. As etapas de preparação do CPS por esse método envolvem a clarificação do soro (50°C), a ultrafiltração e, por último a secagem por *spray drying*. Os concentrados com menor porcentagem de proteínas são utilizados em produtos de panificação, doces, laticínios, entre outros, enquanto os CPS mais concentrados em proteínas são utilizados também em confeitaria, carnes, suplementos proteicos e para o desenvolvimento de filmes biopoliméricos (FERNANDES, 2010).

O IPS, por sua vez, é obtido de maneira semelhante ao CPS, porém com a adição de mais uma etapa ao processo, que é a cromatografia de troca iônica. Essa etapa tem a função de remover os minerais da mistura, obtendo-se, assim, isolados com teores de proteína que podem ser maiores que 90%, contendo, portanto, uma porcentagem de proteínas mais elevada e menor quantidade de lactose e lipídeos que o CPS. Essa adição de mais uma etapa ao processo acaba por proporcionar um custo mais elevado ao IPS. Segundo o *U.S. Dairy Export Council*, a composição usual do isolado é de 90-92% de proteína, 0,5-1% de lactose, 0,5-1% de lipídeos e 2-3% de cinzas (FERNANDES, 2010). O IPS é utilizado em laticínios, panificações, carnes, doces, como fonte proteica em suplementos e, mais recentemente, como matéria-prima na produção de filmes flexíveis.

O próprio fato de poder ser produzido utilizando-se um subproduto gerado em grande volume pela indústria de queijos, já faz com que o isolado proteico de soro de leite desperte interesse de pesquisas, não somente no âmbito alimentício ou nutricional. O IPS também vem sendo alvo de estudos para sua utilização como matriz polimérica na produção de filmes biodegradáveis.

### 2.3.1 Filmes de IPS

Nos últimos anos, o IPS vem sendo bastante explorado em pesquisas visando sua aplicação como matriz polimérica para produção de filmes biodegradáveis para embalagem de alimentos (AZEVEDO et al., 2017; HASSANNIA-KOLAEI et al., 2016; OYMACI; ALTINKAYA, 2016). Em geral, tais filmes apresentam propriedades como boa barreira a oxigênio e versatilidade de propriedades mecânicas, quando combinados com compostos e nanocompostos específicos, além de apresentarem boa transparência e possibilidade de serem incorporados a agentes ativos diversos.

Apesar das desejáveis características citadas, filmes de IPS usualmente se apresentam frágeis e quebradiços, dadas as várias interações que se formam entre os diferentes grupos funcionais das proteínas (SCHMID, 2013b). Além da fragilidade, a capacidade de interação com a umidade faz com que a aplicação de filmes de IPS em embalagens para alimentos seja, ainda, limitada. Na tentativa de reverter esse fato, utilizam-se modificações como adição de outros polímeros para formação de blendas, a inserção de outros materiais para formação de compósitos, ou mesmo mudanças nas variáveis de produção dos filmes, como temperatura e pH. Silva et al. (2016) produziram uma blenda de IPS com goma de alfarroba (*locust bean gum*) e conseguiram maiores flexibilidade, resistência à tração e barreira ao vapor de água quando comparado ao filme de IPS. Olabarrieta et al. (2001) obtiveram um aumento na barreira ao vapor de água de filmes de IPS ao adicionar  $\epsilon$ -policaprolactona, formando uma blenda desses dois polímeros. Oymaci e Altinkaya (2016), por sua vez, obtiveram uma redução da hidrofobicidade dos filmes de IPS através da adição de nanopartículas de zeína.

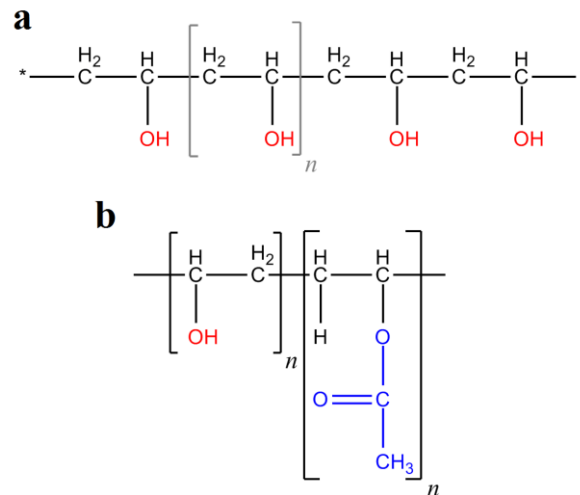
Diante do fato de que o IPS corresponde a uma matéria-prima biocompatível, abundante e com a possibilidade de ser obtida através de resíduos

industriais, é desejável a exploração de compostos aditivos e novas metodologias, as quais sejam capazes de tornar as propriedades dos filmes à base deste conjunto de proteínas mais aplicáveis à indústria de embalagens para alimentos. A adição de poli (álcool vinílico) (PVA) à matriz de IPS, por sua vez, ainda não foi reportada em trabalhos publicados até o presente momento. Acredita-se que esta adição, já em pequenas quantidades de PVA, apresenta potencial capacidade de tornar os filmes de IPS mais flexíveis e, portanto, mais aplicáveis ao setor de embalagens.

### **2.3.2 Poli (álcool vinílico) (PVA)**

O PVA foi sintetizado pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, através da hidrólise do poli (acetato de vinila), metodologia essa utilizada até hoje para sua obtenção. Halima (2016) define o PVA como sendo um polímero sintético, solúvel em água, composto por uma cadeia principal de carbono e biodegradável sob condições aeróbicas e anaeróbicas. O PVA é produzido em grande escala mundialmente, e apresenta propriedades subordinadas ao grau de polimerização e de hidrólise. Desta forma, diversos tipos de PVA são produzidos industrialmente variando-se esses dois parâmetros. Os PVAs 100% hidrolisado e com grau de hidrólise menor que 100% encontram-se, respectivamente, representados nas Figuras 2-a,b. O acetato de vinila, que é a matéria prima para sua produção, é recentemente produzido pela oxidação de etileno na presença de paládio (MESQUITA, 2002). O etileno, por sua vez, pode ser obtido através dos processos de transformação do petróleo, ou através da desidratação do álcool etílico.

Figura 2 – Estrutura do (a) PVA 100% hidrolisado, sem grupos acetato; e (b) PVA com grau de hidrólise menor que 100%, com a presença de grupos acetato na cadeia.

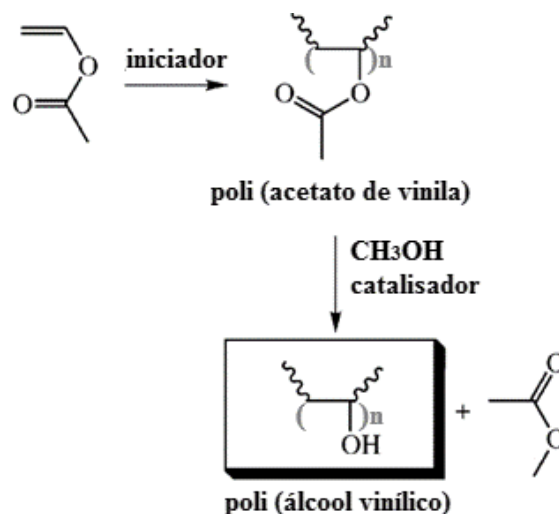


Fonte: Adaptado de Halima (2016).

As etapas de produção do PVA são a polimerização do acetato de vinila, gerando o poli (acetato de vinila) (PVAc), seguida pela reação de hidrólise alcalina do PVAc, finalmente, formando o PVA. A síntese ocorre nessas duas etapas uma vez que o álcool vinílico é um composto instável que se converte em acetaldeído espontaneamente e, portanto, não pode ser obtido de forma direta. Fernandes (2005) cita como formas correntemente utilizadas para a produção do PVA a reação do PVAc com uma quantidade estequiométrica de base em meio aquoso (hidrólise alcalina), e a reação do PVAc com álcool (metílico ou etílico) na presença de catalisador ácido ou básico (hidrólise ácida ou alcalina). Chiellini (2003) representou a produção do PVA através do esquema presente na Figura 3.



Figura 3 – Representação esquemática da sequência de reação utilizada na produção industrial de PVA.



Fonte: Adaptado de Chiellini (2003).

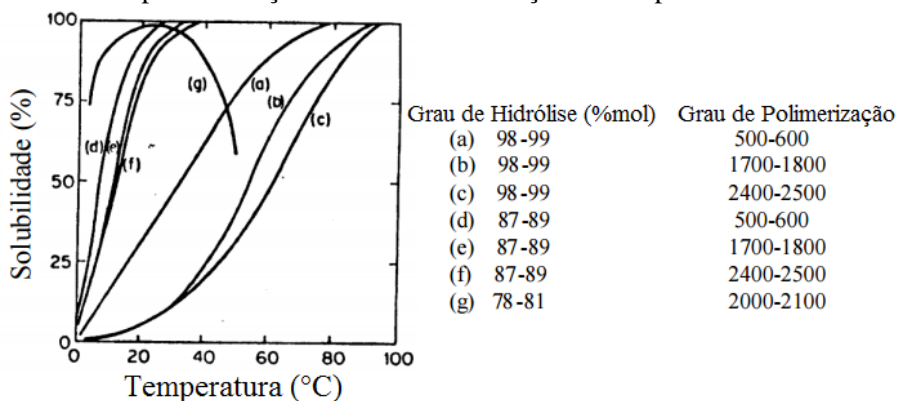
Após a polimerização e hidrólise ácida ou básica, obtém-se o polímero final, o qual vai ter grau de hidrólise dependente da extensão da reação de hidrólise, sempre existindo uma porção de PVAc ao final do processo. Comercialmente existem PVAs com alto grau de hidrólise, geralmente de 98,5-99%, e menor quantidade de grupos acetato no polímero, influenciando diretamente em propriedades como a solubilidade e grau de cristalinidade do PVA (HASSAN, PEPAS, 2000).

Por ser um polímero biodegradável em condições aeróbia e anaeróbia, o PVA é alvo recorrente de pesquisas na área dos biomateriais. Silvério (2013) destaca a capacidade do PVA em formar ligações de hidrogênio intra e intermolecular, sua alta capacidade de estiramento, além de suas propriedades térmicas, de barreira e de resistência a solventes orgânicos, as quais variam com o grau de cristalinidade do polímero. A cristalinidade, por sua vez, vai estar

diretamente conectada ao grau de hidrólise e massa molecular média do polímero, demonstrando, portanto, a possibilidade de se obter uma grande variedade nas propriedades do PVA e adequá-lo a diferentes aplicações.

Quanto à solubilidade, três parâmetros principais podem influenciar a solubilização do PVA em água: grau de polimerização, grau de hidrólise e temperatura de solubilização. Por exemplo, um PVA com grau de hidrólise de 100%, por apresentar maior cristalinidade, requer altas temperaturas (entre 80 e 100°C) para se solubilizar totalmente. Além disso, quanto maior o grau de polimerização, maior a temperatura necessária para a solubilização completa. A relação entre temperatura e solubilização é bastante complexa, uma vez que o aumento da temperatura pode agir tanto quebrando as ligações intra e intermoleculares do PVA, favorecendo a solubilização, quanto quebrando as ligações de hidrogênio do polímero com a água, diminuindo a solubilidade. Toyoshima (1973) experimentou PVAs com diferentes graus de hidrólise e polimerização e avaliou a solubilidade em água dos mesmos em função da temperatura, obtendo o gráfico da Figura 4.

Figura 4 – Solubilidade em água de PVAs com diferentes graus de polimerização e hidrólise em função da temperatura.



Fonte: Adaptado de Toyoshima (1973).

Observa-se que, quanto maior o grau de hidrólise, maiores são as temperaturas requeridas para a solubilização do PVA. O grau de polimerização, por sua vez, tem maior influência na temperatura de solubilidade de PVAs com grau de hidrólise de 98-99%, do que nos com 87-89%. Mas em geral, o grau de polimerização também é diretamente proporcional à temperatura de solubilização. Nota-se que o PVA com grau de hidrólise de 78-81 constitui-se em um exemplo no qual, a partir de 25°C, o aumento da temperatura age reduzindo a solubilidade, possivelmente pela quebra das ligações de hidrogênio do polímero com a água.

Ramos (2008) cita algumas propriedades térmicas gerais do PVA como temperatura de transição vítrea de 58°C e temperatura de fusão de 150-190°C para PVA parcialmente hidrolisado; temperatura de transição vítrea e de fusão, respectivamente, de 85°C e 210-230°C para PVA completamente hidrolisado; e decomposição térmica acima de 180°C, o que pode dificultar o processamento por extrusão, muitas vezes sendo desejável a incorporação de um aditivo ou outros polímeros que possam aumentar a estabilidade térmica do PVA.

Segundo Ozaki (2004), existe uma gradativa redução nos custos de produção do PVA, o que tem contribuído para a expansão de sua aplicação. Além disso, por suas propriedades ajustáveis e adequadas à aplicação em embalagens e sua biodegradabilidade, o PVA é, portanto, um material com grande potencial na modificação de propriedades de outros polímeros biodegradáveis, como o IPS, para torná-los mais adequados ao acondicionamento de alimentos.

### **2.3.3 Filmes de PVA**

No âmbito dos materiais para embalagens, o PVA apresenta excelente capacidade de formação de filmes por *casting*, além de propriedades

emulsificantes e adesivas. Ozaki (2004) afirma que a principal dificuldade de processamento do PVA é devido à sua baixa resistência térmica, não sendo adequado para processos de extrusão ou injeção em molde, como ocorre com boa parte dos polímeros em geral. Apesar disto, outros autores, como Jang e Lee (2003), já reportaram como viável a produção de blendas de PVA e polipropileno extrudados.

Quanto às propriedades, filmes de PVA apresentam resistência à óleos e solventes, alta resistência à tração, ótima barreira a oxigênio e aroma, além de ser inodoro e atóxico, características que possibilitam, portanto, sua aplicação em embalagens para alimentos. Entretanto, as propriedades desse material podem variar de acordo com a umidade. Com teores mais elevados de água, e consequente maior adsorção de umidade por parte da matriz, maior o efeito plastificante provocado pela água e, assim, menor a resistência à tração e maior o potencial de alongação do filme (TANG; ALAVI, 2011).

Na grande maioria das pesquisas de aplicação do PVA em embalagens, faz-se a junção desse material com outros polímeros de origem renovável e mais baratos através de blendas poliméricas, para assim, obter materiais mais resistentes, com boa biodegradabilidade e custos mais baixos.

#### **2.3.4 Blendas**

A produção de blendas constitui-se em uma estratégia em crescimento na tentativa de tornar polímeros biodegradáveis com propriedades adequadas a determinadas aplicações, como por exemplo, no setor de embalagens. Segundo Bona (2007), blendas são misturas físicas de dois ou mais polímeros, frequentemente, com um plastificante e um solvente resultando em uma mistura miscível ou imiscível. Ao produzir uma blenda entre dois polímeros é possível produzir um material com propriedades inéditas, o que, usualmente, é mais

economicamente viável do que o desenvolvimento de um novo produto. Por outro lado, nem sempre a miscibilidade é alcançada ao se misturar dois polímeros diferentes.

A miscibilidade de uma blenda obedece a segunda lei da termodinâmica, a qual leva em consideração a entalpia ( $\Delta H^M$ ), a entropia ( $\Delta S^M$ ) e a temperatura (T) do sistema. De acordo com esta lei, dada pela Equação 1, os componentes da blenda só irão se misturar perfeitamente sem separação de fase, se a energia livre de Gibbs de mistura ( $\Delta G^M$ ) for negativa. A maioria das blends de polímeros com monômeros de alto peso molecular são imiscíveis devido à fraca interação entre as fronteiras de fases dos materiais, o que produz blends imiscíveis e com pobres propriedades termomecânicas. Como estratégia para o melhoramento da compatibilidade dos materiais na blenda, comumente, se faz o uso de compatibilizantes diversos, os quais são capazes de interagir com ambas as fases, formando uma rede de ligações covalentes (THOMAS; MISHRA; KALARIKKAL, 2017).

$$\Delta G^M = \Delta H^M - T\Delta S^M \quad (1)$$

A verificação da miscibilidade de dois polímeros em uma blenda pode ser feita também através da análise da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) da blenda produzida. A temperatura de transição vítrea é a temperatura a partir da qual ocorre o início do movimento das cadeias poliméricas, passando de um estado vítreo, com moléculas mais ordenadas, para um estado borrachoso, onde as mesmas adquirem maior flexibilidade e menor ordenação (CANEVAROLO JUNIOR, 2006). Usualmente, ao se misturar dois polímeros com diferentes valores de  $T_g$ , a observação de uma única  $T_g$  para a blenda remete à miscibilidade dos materiais. Enquanto isso, para polímeros imiscíveis, a blenda demonstra claramente dois valores de  $T_g$  para os respectivos

componentes puros, independentemente da composição da mesma. As blendas parcialmente miscíveis, portanto, apresentam valores de Tg relativos aos seus componentes intermediários às Tg's dos polímeros isolados (KALOGERAS; BROSTOW, 2008).

### 2.3.5 Blendas de IPS/PVA

No que diz respeito às blendas utilizando-se PVA como componente, o material mais utilizado como matriz polimérica é o amido, enquanto o método dominante de produção é o de secagem do solvente (*casting*). Tian et al. (2017) produziram blendas de amido/PVA com 50% de amido e 50% de PVA com alta flexibilidade, deformação na ruptura maior que 1000% e resistência à tração de 9 MPa, propriedades superiores às do polietileno de baixa densidade (PEBD). Zhai et al. (2017) inovaram no desenvolvimento de uma blenda colorimétrica de amido/PVA, incorporada com antocianinas de flor de hibisco, a qual foi capaz de detectar, em tempo real, a frescura de peixes. Aydin e Ilberg (2016) avaliaram o efeito de diferentes plastificantes à base de poliol nas propriedades térmicas de blendas de PVA/amido e observou mudanças consideráveis na Tg das blendas ao variar a concentração dos plastificantes. Guimarães et al., (2015a), por sua vez, avaliaram o efeito da mistura de PVA e amido, sendo possível observar que quanto maior a concentração de PVA, mais dúcteis e flexíveis eram as blendas; quanto maior a quantidade de amido, maior a barreira ao vapor de água do material produzido; além de uma boa compatibilidade entre os polímeros na blenda. Foi relatada também, a utilização de tocoferol como agente melhorador da interação entre amido e PVA por Sin et al. (2013). Além desses trabalhos, muitos outros autores já relataram a produção de blendas de amido/PVA, até mesmo com outros compostos para a formação de nanocompósitos (FRONE et al., 2015; GUIMARÃES Jr. et al., 2015b; SIN et al., 2010; TEE et al., 2013).

Já foram avaliadas também as propriedades mecânicas, térmicas e estudos de sorção em blendas de quitosana e PVA (AGILABRAHAM; SOLOMAN; REJINI, 2016; SRINIVASA et al., 2016). Entretanto, a associação de IPS e PVA para formação de blendas biodegradáveis ainda não foi relatada na literatura até o presente momento. Com solubilidade desses materiais em água e a possibilidade de interação por ligação de hidrogênio entre diversos grupos com átomos de nitrogênio (N) e oxigênio (O) das proteínas do leite (FIGURA 1-a) e os grupos hidroxila do PVA (FIGURA 2-a), pressupõe-se uma boa interação entre eles para obtenção de filmes poliméricos. Além disso, o PVA poder agir reduzindo a rigidez e fragilidade dos filmes de IPS, dada a sua alta capacidade de estiramento.

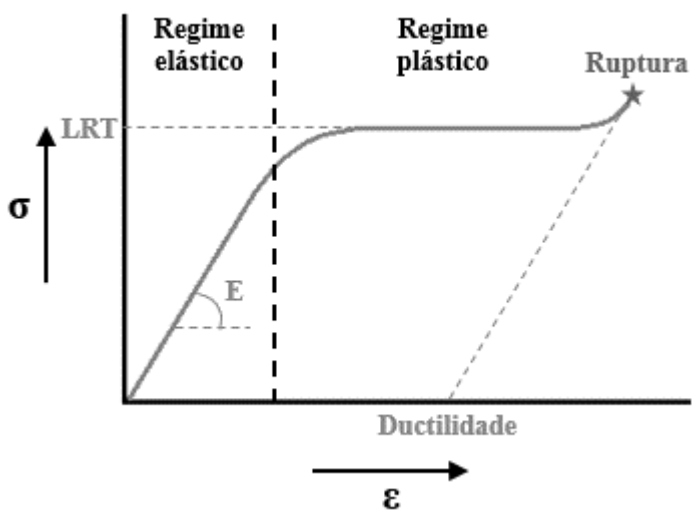
### **2.3.6 Propriedades mecânicas**

Para Ward e Hardley (1998), muitas aplicações industriais dependem das propriedades mecânicas apresentadas por materiais poliméricos, e, portanto, conhecê-las é de fundamental importância. Tais propriedades vão determinar a resposta de materiais à aplicação de forças mecânicas externas, como tração, compressão, punctura, cisalhamento, etc. No caso de embalagens poliméricas, determinadas aplicações requerem resistências específicas à tração, punctura e rasgo, principalmente. Ward e Hardley (1998) afirmam ainda que, em polímeros, as propriedades mecânicas são uma consequência da composição da matriz e sua estrutura em níveis moleculares e supramoleculares.

Materiais plásticos, como os utilizados para embalagens, apresentam um comportamento de deformação simultaneamente, elástico e plástico. Quando submetidos ao teste de tração, no qual forças paralelas em direções opostas exercem o estiramento do material, a curva característica do gráfico de tensão ( $\sigma$ ) *versus* deformação ( $\epsilon$ ) expõe esses dois comportamentos característicos,

conforme apresentado na Figura 5. De acordo com Guimarães Jr. et al. (2015a), as propriedades mecânicas de maior interesse em se tratando de filmes flexíveis são aquelas relacionadas à resistência à tração, incluindo o limite de resistência à tração (LRT), o módulo de elasticidade (E) e a porcentagem de deformação ou alongamento suportada pelo filme (D). O LRT corresponde à máxima tensão suportada pelo filme antes da ruptura, enquanto o E corresponde ao coeficiente angular da porção elástica da curva  $\sigma$  versus  $\epsilon$ , e representa a medida de rigidez do filme. Por outro lado, a D corresponde ao alongamento percentual, ou seja, à relação entre o comprimento final e o comprimento inicial do filme. A deformação (D) ou alongamento pode ser associada à ductilidade ou grau de deformação plástica suportada pelo filme.

Figura 5 – Gráfico tensão versus deformação característico de materiais plásticos.



Fonte: Adaptado de Ward e Hardley (1998).

Vale ressaltar que, para testes de tração de filmes flexíveis, usualmente segue-se a norma ASTM D882-02 de 2002 (Standard Test Method for Tensile



Properties of Thin Plastic Sheeting) específica para materiais com espessura menor que 1.0 mm.

Além das propriedades relacionadas à tração, em se tratando de embalagens, muitas vezes é desejável a resistência à perfuração, ou resistência à punctura, já que a resistência do material pode variar de acordo com o tipo de força aplicada. No teste de punctura, o filme é colocado sobre um suporte com um orifício central e uma sonda é deslocada perpendicularmente à superfície do filme (a uma velocidade constante) até a perfuração do mesmo, de forma que se possa medir a resistência à essa perfuração e a deformação do filme quando a máxima força foi aplicada (AZEVEDO, 2013). A norma comumente utilizada para a realização deste teste é a ASTM F1306-16 de 2016 (*Standard Test Method for Slow Rate Penetration Resistance of Flexible Barrier Films and Laminates*).

No ramo alimentício, cada aplicação requer propriedades diferentes de resistência à tração, capacidade de deformação, flexibilidade e resistência à perfuração por parte das embalagens. Portanto, ao se produzir um filme flexível com a intenção de aplicá-lo no setor de embalagens, é de suma importância a sua caracterização para conhecimento e verificação da conformidade dessas propriedades às aplicações pretendidas.

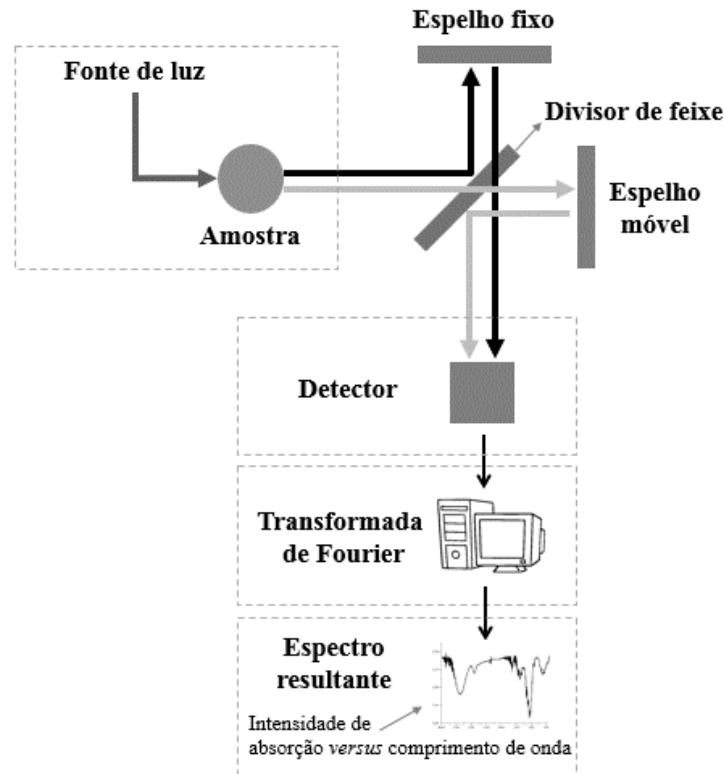
#### **2.4 Espectroscopia na região do infravermelho**

Segundo Barth (2007), a espectroscopia na região do infravermelho (IV) é um método clássico para determinação da estrutura de pequenas moléculas, dada a sua sensibilidade à composição química e sua arquitetura. O autor explica que a absorção da radiação do infravermelho excita as transições vibracionais de moléculas, de forma que, a frequência vibracional e a probabilidade de absorção dependem da força e da polaridade das ligações intra e intermoleculares, e

assim, o espectro gerado contém um alto conteúdo de informações sobre o material analisado. A análise permite a identificação de mudanças na estrutura química do material e é geralmente realizada utilizando-se espectrômetros de *Fourier transform infrared* (FT-IR), associados à uma operação de transformada de Fourier ao espectro medido.

O esquema de um espectrômetro *Fourier transform infrared* é exposto na Figura 6. Sucintamente, um interferômetro contendo um espelho fixo e um móvel gera uma diferença de caminho ótico entre dois feixes, proporcionando um sinal de detecção contendo a informação do espectro. A luz emitida é dividida por um divisor de feixe, de forma que, metade dela é refletida para o espelho fixo, reflete-se de volta para o divisor de feixes e metade dela chega ao detector (setas pretas na Figura 6). Enquanto isso, a outra metade da intensidade de luz inicial passa o divisor de feixe, é refletida pelo espelho móvel, passa novamente ao divisor de feixes, e metade dela é refletida para o detector (setas cinza na Figura 6). Em seguida, os dois feixes que chegaram ao detector se recombinam gerando uma interferência construtiva ou destrutiva, a depender da diferença de caminho ótico. Um interferograma mede a intensidade da luz em relação à posição do espelho móvel e, por fim, o computador realiza a transformada de Fourier, convertendo os dados medidos a um espectro, o qual é o resultado final da análise (BARTH, 2007).

Figure 6 – Esquema de uma análise de espectroscopia por FT-IR.



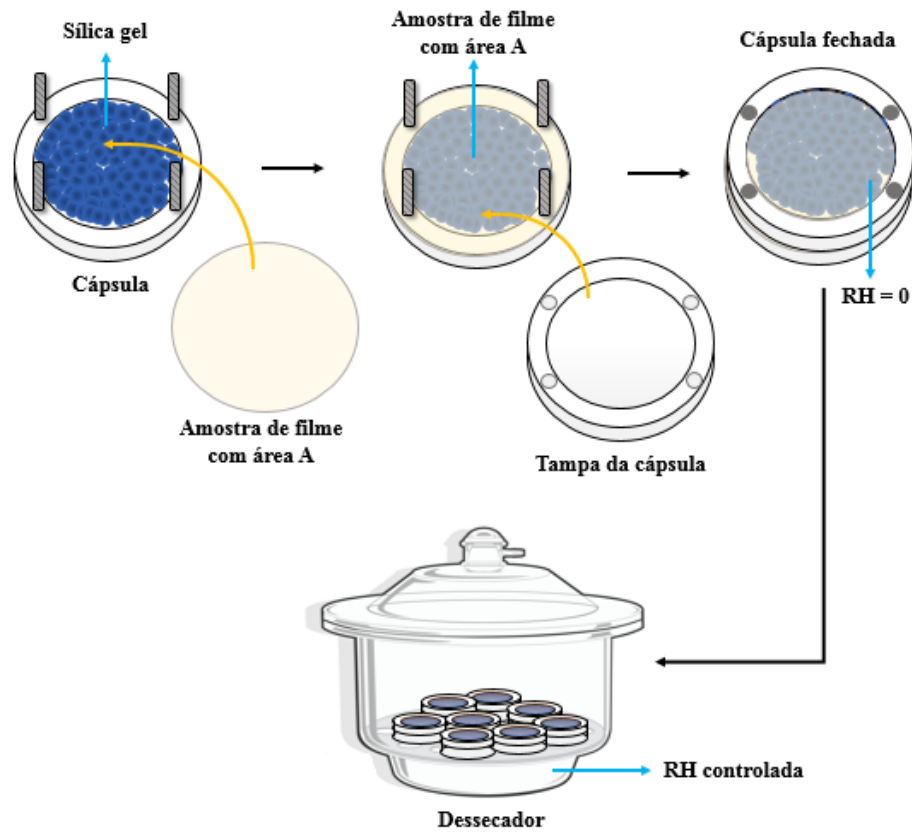
Fonte: Adaptado de Barth (2007)

No estudo de filmes para embalagens, especialmente de blendas, a análise FT-IR pode auxiliar no monitoramento das mudanças químicas ocorridas no material em função, por exemplo, das diferentes composições da blenda, bem como prover informações que indicam a compatibilidade entre os polímeros utilizados (GUIMARÃES Jr. et al., 2015a). Portanto, a análise do perfil espectroscópico das blendas constitui-se em uma boa estratégia no entendimento da estrutura do material produzido, bem como da interação entre os polímeros, auxiliando também no entendimento de outros resultados, como análises mecânicas, térmicas e de barreira ao vapor de água, por exemplo.

### 2.4.1 Propriedades físicas

Algumas das propriedades físicas de interesse no âmbito dos filmes flexíveis para embalagens são a permeabilidade ao vapor d'água, a solubilidade em água e a transparência. A análise da propriedade de barreira à umidade é de suma importância na área de embalagens, já que a aplicação final do material e a qualidade do alimento embalado vão depender desta característica (OTHMAN et al., 2017). A medida da permeabilidade ao vapor de água de filmes é usualmente medida seguindo a norma ASTM E96 / E96M-16 de 2016 (*Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*). Desta forma, o teste poder ser realizado conforme mostrado na Figura 7, utilizando-se amostras circulares de filme com uma área conhecida (*area* –  $A$ ), fixadas em cápsulas contendo, por exemplo, sílica gel, adotando-se como zero a umidade da atmosfera em contato com a face inferior da amostra (*relative humidity 1* –  $RH_1$ ). Essas cápsulas são então inseridas em dessecadores herméticos com um valor de umidade relativa conhecido e controlado (*relative humidity 2* –  $RH_2$ ). A quantidade de umidade que atravessa a amostra de filme é medida através do método gravimétrico: ganho de massa da cápsula ao longo do tempo. A norma ASTM E96 / E96M (2016) pede que, no mínimo, seis pontos sejam utilizados para plotar o gráfico de massa adquirida (*weight gain* –  $W_g$ ) versus tempo (*time* –  $t$ ) e, portanto, sete pesagens devem ser feitas incluindo a pesagem inicial.

Figura 7 – Esquema da análise de permeabilidade ao vapor d'água pelo método gravimétrico utilizando cápsulas com sílica e dessecador.



Fonte: Do Autor (2018)

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (*water vapor permeability rate* – *WVPR*) pode então ser calculada através da Equação 2, enquanto a permeabilidade ao vapor de água (*water vapor permeability* – *WVP*) é obtida a partir da Equação 3, a qual leva em consideração a espessura da amostra (*thickness* – *t*) e a pressão de saturação da água na temperatura do teste ( $p_s$ ).

$$WVPR = \frac{Wg}{tA} \quad (2)$$

$$WVP = \frac{WVPR.ti}{\rho_s (RH_1 - RH_2)} \quad (3)$$

Enquanto isso, o teste de solubilidade em filmes flexíveis para embalagens mede a porcentagem de massa do filme que é solubilizada quando agitado por um tempo determinado em um recipiente contendo água (CINELLI et al., 2016). Uma vez que grande parte dos alimentos contêm água em sua composição, a análise desta propriedade é importante para que se possa conhecer o comportamento do filme em termos de solubilização perante um ambiente com elevada umidade. A perda de massa por parte do filme ocasiona mudanças em suas propriedades, podendo até mesmo anular a função de proteção pretendida para a embalagem.

Por fim, a propriedade de transparência pode ser desejável ou não na área de embalagens para alimentos, a depender da aplicação. De acordo com o Relatório de Tendências em Embalagens para Alimentos feito pela Mintel (2014), uma agência que faz pesquisas de mercado, nos Estados Unidos, constatou-se que os consumidores enxergam a embalagem transparente como sendo mais útil em termos de avaliação da frescura e qualidade dos produtos, além de ajuda-los a encontrar exatamente o produto que procuram. Portanto, a propriedade de transparência, além de estar relacionada atributos funcionais, como por exemplo a proteção de produtos que se degradam sob ação da luz, também envolve todo um contexto mercadológico relacionado ao *marketing*. Daí a importância de se caracterizar filmes poliméricos desenvolvidos objetivando a aplicação na área de embalagens.

A transparência pode ser medida em termos da transmitância de um filme, em que, 100% de transmitância significa transparência total. Essa propriedade usualmente é medida utilizando-se espectrofotômetros e seguindo a norma ASTM D1746-03 (2003) (*Standard Test Method for Transparency of*

*Plastic Sheeting*). As amostras de filmes são colocadas na parede interna de cubetas de quartzo e a porcentagem de transmitância é medida no comprimento de onda desejado. A medida da transparência (T) pode ser calculada, levando em consideração a espessura do filme ( $e$ ), utilizando-se o valor de transmitância pedido (%T), conforme descrito pela Equação 4.

$$T = \log(\%T) / e \quad (4)$$

#### **2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV**

De acordo com Canevarolo Jr. (2003), a microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica de caracterização a qual permite obter imagens com alta profundidade de foco possibilitando a identificação de diferentes relevos na superfície do material que está sendo analisado. Segundo o autor, nesta técnica um feixe de elétrons focalizado por lentes eletromagnéticas e diafragmas varre a amostra com o auxílio de bobinas de varredura e um sinal é capturado em função da posição desse feixe incidente na amostra.

Na caracterização de materiais poliméricos, a preparação para análise de MEV inclui a secagem e deposição de material condutor sobre a superfície da amostra para permitir a formação da imagem. Ao avaliar blendas, usualmente é realizada a criogenia do material para obtenção de uma fratura vítrea, destacando, assim, a morfologia interna da amostra e permitindo observar as fases formadas (GONÇALVES, 2000).

Além disso, a microscopia eletrônica pode ser utilizada para observação de informações estruturais de materiais poliméricos, tais como homogeneidade, presença de delaminação, bolhas, rachaduras, entre outras (GUIMARÃES Jr. et al., 2015a). Em blendas, a presença dessas falhas na estrutura e, principalmente a separação de fases, podem afetar drasticamente as propriedades mecânicas e de

barreira do material. Portanto, é desejável a análise microscópica para avaliar a estrutura da blenda produzida e extrair informações que possam embasar o entendimento dos seus comportamentos mecânico e de barreira.

### 2.4.3 Propriedades térmicas

A análise termogravimétrica (TG – *Thermogravimetric analysis*) mede a variação de massa de uma amostra em relação à temperatura, enquanto a calorimetria exploratória diferencial (DSC – *Differential Scanning Calorimetry*) avalia a quantidade de energia absorvida ou liberada por uma amostra de acordo com a variação de temperatura. Tais análises são utilizadas para a obtenção de propriedades térmicas de materiais, como temperatura de degradação, temperatura de transição vítrea, temperatura de fusão, entre outras.

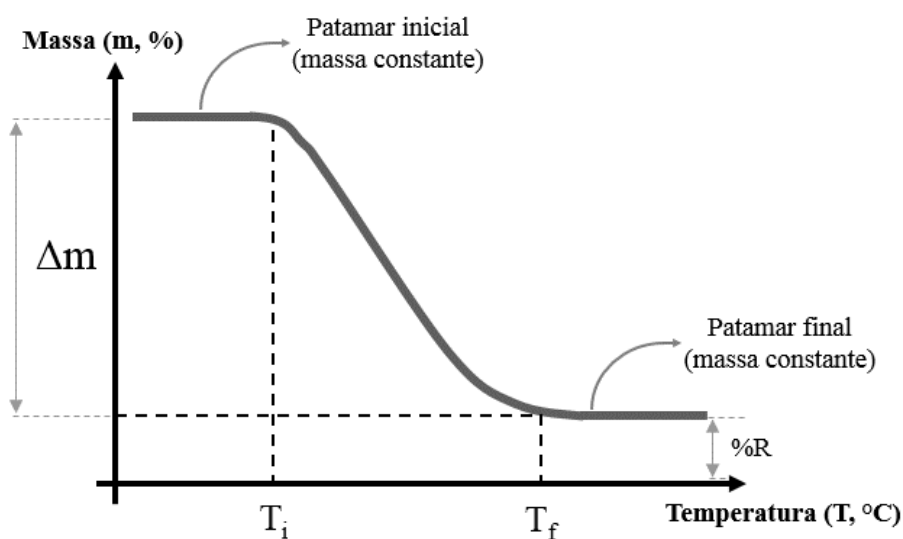
As análises térmicas de materiais poliméricos são métodos efetivos para fornecer informações sobre caracterização desses materiais, as quais podem ser usadas para selecionar a aplicação final mais adequada para o polímero, prever o desempenho do mesmo, além de melhorar a qualidade deste produto (SILVA et al., 2015). O conhecimento de propriedades térmicas de polímeros destinados às embalagens para alimentos, especialmente a temperatura de degradação e a de transição vítrea, faz-se desejável.

A temperatura de degradação (Td) do polímero está ligada à energia necessária para romper suas ligações intramoleculares e, portanto, é uma característica que varia de material para material. O conhecimento de tal propriedade é importante para determinação da temperatura de processamento adequada, de forma a garantir a não-degradação do polímero. Além disso, a Td pode ser utilizada para avaliar o efeito da adição de materiais ao polímero, como um outro polímero ou nanopartículas, na degradação da blenda ou composto produzido (MOHANTY et al., 2015). A temperatura de início de degradação



( $T_i$ ), a temperatura final de degradação ( $T_f$ ), a perda de massa ( $\Delta m$ ) e a % de resíduo final (%R) podem ser identificadas na curva obtida através da análise termogravimétrica, conforme mostrado na Figura 8.

Figura 8 – Curva característica de análise termogravimétrica para decomposição térmica em etapa única.



Fonte: Adaptado de Canevarolo Jr. (2003)

A transição vítrea, por sua vez, constitui-se em um importante fenômeno de caracterização de homopolímeros, blendas, copolímeros e redes poliméricas (KALOGERAS; BROSTOW, 2008). A temperatura em que ocorre a transição vítrea ( $T_g$ ) pode ser identificada como o ponto de inflexão na segunda curva de aquecimento de uma análise de DSC, já que o primeiro aquecimento é realizado com o objetivo de eliminar a história térmica do material (MUTLUR, 2004). É importante a realização da análise termogravimétrica antes da análise de DSC para identificar a temperatura de degradação do material e, assim, determinar as temperaturas máximas de aquecimento no DSC.

Conforme citado anteriormente, a verificação da miscibilidade de dois polímeros em uma blenda pode ser feita através na análise da Tg da blenda. Além disso, Cox Little e Hodgson (2005) afirmam que, acima da Tg, o volume livre entre as cadeias poliméricas é maior e, portanto, a difusão de moléculas menores através do material é mais alta que quando abaixo da Tg. Portanto, o conhecimento desta propriedade é de suma importância, tanto para a verificação da miscibilidade dos polímeros em uma blenda, quanto para o entendimento do comportamento de barreira da mesma às moléculas de água.

#### **2.4.4 Isotermas de sorção de água**

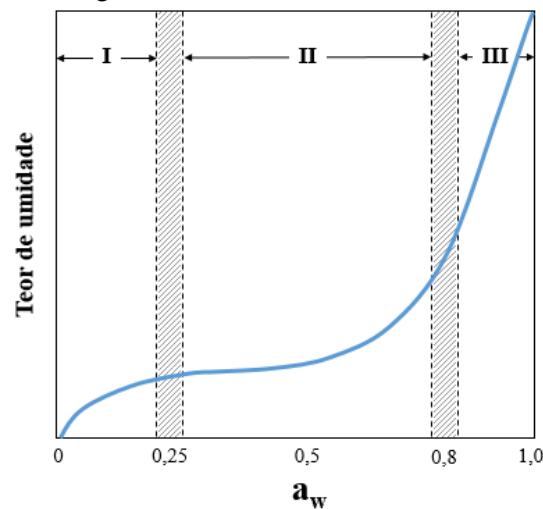
No que diz respeito a embalagens, as isotermas de sorção de água são úteis na análise das propriedades de adsorção de água por filmes hidrofílicos, provendo informações sobre a interação da água com os componentes destes filmes (ISOTTON, 2013). Essas avaliam o conteúdo de umidade adsorvido pelo filme em determinadas atividades de água e temperatura. A submissão de filmes hidrofílicos para embalagens aos experimentos de isotermas é desejável, uma vez que, suas propriedades mecânicas, térmicas e físicas são sensíveis à umidade, influenciando, portanto, sua funcionalidade (YANG; PAULSON, 2000). O gráfico de isoterma de sorção é obtido através de dados experimentais de teor de umidade do filme no equilíbrio em atividades de água pré-determinadas e a uma dada temperatura.

Buscando prever o comportamento das isotermas, vários autores desenvolveram e propuseram modelos de ajuste de isotermas de sorção, em sua maioria, empíricos (PARK et al., 2008). Para compreendê-los, faz-se importante o entendimento dos conceitos de umidade de equilíbrio e atividade de água. A umidade de equilíbrio ( $Y_e$ ) constitui-se no conteúdo de umidade que um determinado material apresenta no momento em que a pressão de vapor de água

em sua superfície se iguala à pressão de vapor de água da atmosfera que o envolve (PARK et al., 2014). Enquanto isso, a atividade de água ( $a_w$ ) pode ser entendida como a razão, em uma mesma temperatura, entre a pressão de vapor de equilíbrio no produto e a pressão de vapor de saturação (MUJUMDAR, 1995). Em alimentos, Isotton (2013) afirma que  $a_w$  é uma variável determinante no que se refere a crescimento microbiano e ocorrências de reações enzimáticas ou não. Analogamente, esta pode influenciar também a decomposição de biofilmes por seus microorganismos degradadores.

Fennema (2000), em seus estudos com alimentos, afirma que em uma isoterma típica de material biológico podem ser distinguidas três zonas, mostradas na Figura 9, as quais indicam a forma como a água encontra-se ligada ao material. Em estudos relacionados a filmes biopoliméricos, acredita-se que tal separação da curva da isoterma em zonas possa, analogamente, ser aplicada.

Figura 9 – Zonas (I, II e III) características de isotermas de sorção de água de material biológico.



Fonte: Adaptado de Fennema (2000)

Fennema (2000) explica que a zona I representa a adsorção da água que estará mais fortemente ligada e com menor mobilidade por estar fixa aos grupos polares de certos compostos do material. Tal zona corresponde a uma atividade de água que é menor que 0,2 e pode alcançar até 0,3, e o limite entre essa e a zona II pode ser entendida como o teor de umidade necessário para que se forme uma monocamada sobre os grupos polares e acessíveis do material. Enquanto isso, a zona II segundo o autor, se refere à água das camadas de hidratação de constituintes solúveis do material, como proteínas, açúcares, amidos, sais, etc., qual pode estar ligada tanto por interações intermoleculares (ligações de hidrogênio ou dipolo-dipolo) quanto fisicamente retida em microcapilares. A  $a_w$  da zona II vai variar de 0,2-0,3 até aproximadamente 0,8 e a transição entre essa zona e a zona III dá início a processos de dissolução, de forma que a água adsorvida a partir daí passa a atuar como solvente, promovendo o inchamento da matriz do material. Por fim, a zona III é explicada pelo autor como sendo a água menos ligada e com maior mobilidade, disponível para o desenvolvimento dos microorganismos e das reações químicas. A retenção da água nesta zona é determinada pelo pH e pelas forças iônicas e a  $a_w$  fica entre 0,8 e 0,99.

Dentre os diversos modelos empíricos e semiempíricos desenvolvidos para predição do comportamento das isotermas, pode-se citar os modelos de GAB (VAN DER BERG, 1984), Halsey (HALSEY, 1948), Smith (SMITH, 1974) e Oswin (OSWIN, 1946), cujas equações encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Modelos para ajuste de isotermas de sorção de água.

Model	Equation
<b>GAB</b> (VAN DER BERG, 1984)	$Y_e = \frac{Y_m C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)}$
<b>HALSEY</b> (HALSEY, 1948)	$a_w = \exp\left(\frac{-A}{Y_e^B}\right)$
<b>SMITH</b> (SMITH, 1974)	$Y_e = A - B \ln(1 - a_w)$
<b>OSWIN</b> (OSWIN, 1946)	$Y_e = A \left(\frac{a_w}{1 - a_w}\right)^B$

Legenda:  $Y_e$  é o conteúdo de umidade no equilíbrio (base seca, g/g);  $Y_m$  é o conteúdo de água na monocamada molecular (base seca, g/g);  $a_w$  é a atividade de água;  $T$  é a temperatura; A, B, C, K e n são constantes.

De posse dos valores experimentais de teor de umidade em função de  $a_w$  a uma dada temperatura, é possível ajustá-los a esses modelos e verificar qual deles melhor descreve esses dados empíricos.

No que diz respeito à análise dos dados obtidos de isotermas de sorção para alimentos, os muitos estudos já realizados, permitiram a percepção de que determinados modelos descrevem melhor o comportamento de certas classes alimentícias. Lima (2013), em sua pesquisa sobre os estudos referidos, relata que existe uma tendência a qual indica que o modelo de Halsey é o que melhor descreve o comportamento de sorção de água em plantas tropicais, medicinais e com alto teor de voláteis. Enquanto isso, segundo a autora, algumas espécies específicas de plantas do mesmo gênero têm seu comportamento melhor descrito por outro modelo, como o GAB para a *P. niruri*, popularmente conhecida como quebra-pedra, utilizada para fazer chás caseiros. Portanto, em grande parte dos estudos, os autores realizam o ajuste dos dados a mais de um modelo empírico

ou semi-empírico para que se possa identificar o que melhor descreve os dados experimentais.

Apesar da comum análise de sorção de água em produtos biológicos, poucos são os trabalhos publicados que realizaram testes de isotermas de sorção em filmes biopoliméricos. Azevedo et al. (2015), ao realizar testes de isotermas em filmes de IPS com ácido cítrico e nanopartículas de argila, observou que o modelo GAB descreveu adequadamente os dados experimentais. Srinivasa et al. (2003), por sua vez, concluiu que o modelo GAB foi o que melhor representou os dados de sorção de blendas de quitosana e PVA. Dada a não existência de um estudo mostrando qual o modelo para melhor descrição do comportamento de sorção de biofilmes, além do fato que esse comportamento sempre varia com a composição dos mesmos, é desejável o ajuste dos dados experimentais a diferentes modelos, principalmente no que diz respeito a novas misturas de materiais, como as blendas IPS/PVA.

Andrade, Lemus e Péres (2011) em sua revisão sobre os modelos de isotermas mais utilizados, relatam os principais usos e limitações de cada um. Segundo os autores, o modelo GAB, pode ser considerado como um refinamento de outros modelos, sendo capaz de descrever bem uma grande faixa de atividade de água, de 0 a 0,9, entretanto, ele subestima os valores de umidade de equilíbrio em  $a_w$  maiores que 0,93. Os autores também relatam que o modelo de Smith foi desenvolvido na tentativa de descrever a porção final da isoterma de sorção de água de biopolímeros de alto peso molecular, enquanto o modelo Halsey, descreve a condensação de multicamadas de água a uma distância relativamente grande da superfície. Park et al. (2008) afirma que o modelo de Oswin é baseado na expansão matemática para curvas de isotermas que apresentam formato de sigmoide, apresentando, assim como o Smith e o Halsey, a vantagem de possuir apenas duas constantes de fácil linearização.

A verificação do modelo que melhor descreve os dados experimentais pode ser feita analisando os valores de Coeficiente de determinação ( $R^2$ ), o qual deve ser o mais próximo possível de 1, bem como o Desvio relativo médio (*Relative mean deviation* – RMD) calculado através da Equação 5, na qual  $N$  é o número de observações (ou seja, o número de  $a_w$  avaliadas)  $Y_{ei}$  é a  $i$ -ésima observação de umidade de equilíbrio e  $Y_{ep,i}$  is é o valor predito pelo modelo para a  $i$ -ésima umidade de equilíbrio. É desejável que o RMD seja menor que 10% (RAMOS; MANCINI; MENDES, 2015).

$$RMD = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|Y_{ei} - Y_{ep,i}|}{Y_{ei}} \quad (5)$$

Além disso, outra forma de avaliar a aceitabilidade de um modelo é a através da função entre os resíduos e os níveis de umidade de equilíbrio. O resíduo é a diferença entre o valor experimental observado de  $Y_e$  e o valor de  $Y_e$  estimado pelo modelo, para uma mesma atividade de água. Em casos onde os resíduos tendem a zero e não apresentam resultados tendenciosos, o modelo pode ser considerado como aceitável.

Através do estudo de isotermas é possível extrair parâmetros termodinâmicos que nos informam sobre a estabilidade do material testado, bem como sobre a espontaneidade ou não do processo de adsorção de água. De acordo com Liébanes et al. (2006), parâmetros termodinâmicos diferenciais revelam informações qualitativas sobre os diferentes níveis de energia da adsorção de água, enquanto os parâmetros termodinâmicos integrais fornecem informações quantitativas sobre o sistema. É desejável conhecer parâmetros integrais em projetos de processos térmicos, por exemplo, para processos de secagem de alimentos. No caso da análise de sorção de água em embalagens, os parâmetros termodinâmicos diferenciais são os de maior interesse, uma vez que

a compreensão das interações entre a água e o material é mais importante do que a quantificação de energia envolvida.

O cálculo de propriedades termodinâmicas do processo de sorção de água assume as hipóteses de que o processo de adsorção de água ocorre em um sólido inerte, já que o equilíbrio de umidade entre as moléculas de água adsorvidas na superfície do material e o vapor de água circundante é alcançado; e de que o vapor de água tem um comportamento de gás ideal, uma vez que apenas a água (adsorvida fisicamente) ocupa a superfície do filme (LIÉBANES et al., 2006).

A entalpia diferencial de sorção ( $\Delta H_{dif}$ ) pode ser utilizada como um indicador das forças de atração intermoleculares entre o vapor de água e os sítios de sorção do filme.  $\Delta H_{dif}$  (J/mol) é definida como diferença entre um calor total de sorção ( $Q_{st}$ ) e o calor latente de vaporização de água pura ( $\lambda$ ) (TAO et al., 2018). Portanto, quando  $\Delta H_{dif}$  se aproxima de zero, significa que a energia que mantém as moléculas de água unidas ao filme é igual à energia requerida para evaporar a água pura. A partir da Equação 6 de Clausius-Clapeyron, os valores de  $\Delta H_{dif}$  podem ser determinados:

$$\left[ \frac{\partial \ln(a_w)}{\partial \frac{1}{T}} \right]_{Y_e} = -\frac{Q_{st} - \lambda}{R} = -\frac{\Delta H_{dif}}{R} \quad (6)$$

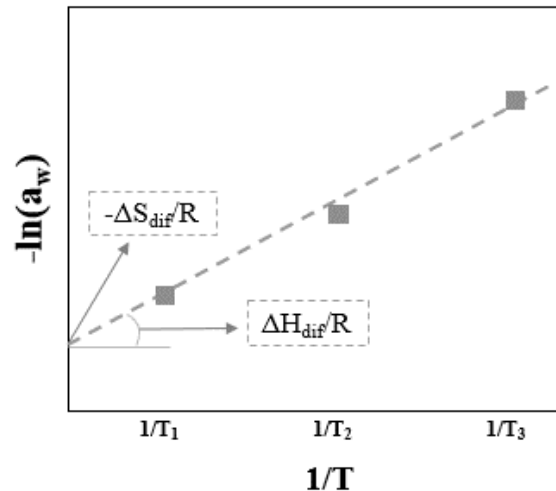
Uma vez que, mudanças na energia livre de um processo de sorção são geralmente acompanhadas por mudanças nos valores de entalpia e entropia, a Equação 7 de Gibbs-Helmholtz pode ser usada para determinar a entropia diferencial de sorção ( $\Delta S_{dif}$ ,  $\text{Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ):



$$[-\ln(a_w)]_{Y_e} = \frac{\Delta H_{dif}}{RT} - \frac{\Delta S_{dif}}{R} \quad (7)$$

Um gráfico de  $-\ln(a_w)$  versus  $1/T$  para determinado conteúdo de umidade de equilíbrio ( $Y_e$ ) pode ser utilizado para calcular  $\Delta H_{dif}$  e  $\Delta S_{dif}$ . Os valores de  $\Delta H_{dif}$  e  $\Delta S_{dif}$  são obtidos, respectivamente, pelo coeficiente angular ( $\Delta H_{dif}/R$ ) e linear ( $-\Delta S_{dif}/R$ ) da regressão linear deste gráfico, conforme mostrado na Figura 10. Repetindo-se a plotagem para diferentes valores de  $Y_e$  é possível estabelecer a dependência entre a entropia e entalpia diferenciais e o conteúdo de umidade (TAO et al., 2018).

Figura 10 – Pontos experimentais de  $\ln(a_w)$  versus  $1/T$ , para três temperaturas ( $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ ) ajustados para obtenção dos coeficientes angular ( $\Delta H_{dif}/R$ ) e linear ( $\Delta S_{dif}/R$ ).



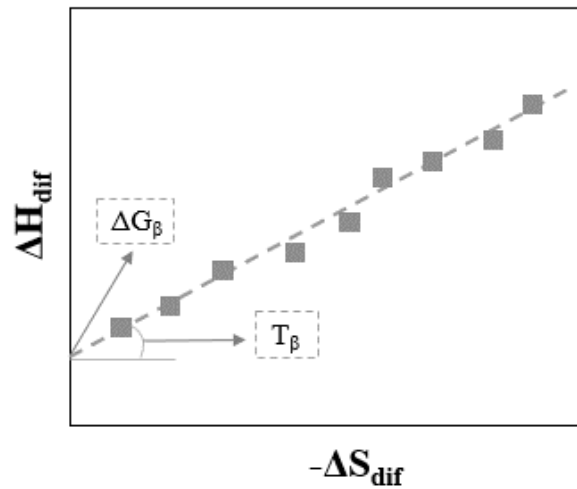
Fonte: Do Autor (2018)

Uma relação linear entre entalpia diferencial e entropia diferencial é proposta pela Teoria da Compensação Entalpia-Entropia, a qual é dada pela Equação 8 (VELÁZQUEZ-GUTIÉRREZ et al., 2015).  $T_\beta$  é a temperatura

isocinética e pode ser expressa como a inclinação do gráfico  $\Delta S_{dif}$  versus  $\Delta H_{dif}$  mostrado na Figura 11.

$$\Delta H_{dif} = T_{\beta} \cdot \Delta S_{dif} + \Delta G_{\beta} \quad (8)$$

Figura 11 – Dados de  $\Delta S_{dif}$  versus  $\Delta H_{dif}$ , ajustados para obtenção dos coeficientes angular ( $T_{\beta}$ ) e linear ( $\Delta G$ ).



Fonte: Do Autor (2018)

À  $T_{\beta}$ , todas as reações ocorrem na mesma taxa para diferentes valores de  $\ln(a_w)$  (L'VOV, 2007). Nos casos em que  $T_{\beta} \neq T_{hm}$ , sendo  $T_{hm}$  a temperatura harmônica média, pode ser assegurada a ocorrência de compensação entalpia-entropia, indicando mudanças na interação molecular entre água e material.  $T_{hm}$  é calculada através da Equação 5, na qual  $n$  é o número de isotermas de sorção e  $T_i$  (K) é a temperatura da  $i$ ésima isoterma.

$$T_{hm} = \frac{n}{\sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{T_i}\right)} \quad (9)$$

A comparação entre  $T_{\beta}$  e  $T_{hm}$ , também permite a determinação do mecanismo que rege a sorção. Em casos onde  $T_{\beta} > T_{hm}$ , a sorção é guiada pela entalpia, e as interações entre a água e o material são mais influentes que o número de sítios de sorção disponíveis no mesmo (TELIS et al., 2000). Por outro lado, se  $T_{\beta} < T_{hm}$ , a sorção é regida por fenômenos entrópicos, e o número de sítios de sorção exerce mais influência no processo do que as forças de ligação entre a água e o material.

A existência da compensação entre entalpia e entropia permite a obtenção da energia livre de Gibbs associada à temperatura isocinética ( $\Delta G_{\beta}$ ) através do cálculo do coeficiente linear do gráfico de  $\Delta S_{dif}$  versus  $\Delta H_{dif}$ , conforme mostrado na Figura 11.  $\Delta G_{\beta}$  pode fornecer informações sobre a espontaneidade do processo de sorção de acordo com a composição do filme ou blenda analisada.

Portanto, o ajuste de dados experimentais de isotermas de sorção de água de filmes, através de modelos pré-estabelecidos, permite o estudo dos parâmetros termodinâmicos do processo de adsorção da umidade no filme, levando ao entendimento deste processo e conhecimento da espontaneidade ou não-espontaneidade do mesmo.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No setor de embalagens para alimentos, é desejável a existência de fontes alternativas de matéria-prima, considerando-se o consumo de montantes de materiais poliméricos diariamente. Anseia-se por novas fontes de matéria-prima as quais sejam renováveis ou obtidas através de resíduos com reduzido ou sem valor agregado, como é o caso de IPS obtido de resíduos da indústria de queijos. Portanto, esse material pode ser considerado como promissor no desenvolvimento de filmes biodegradáveis. Embora os filmes de IPS apresentem um comportamento frágil e com alta interação com água, tais propriedades podem se tornar mais adequadas à aplicação em embalagens para alimentos através da adição de outros polímeros junto ao IPS, formando blendas. A associação de IPS e PVA para formação de blendas biodegradáveis ainda não foi relatada na literatura até o presente momento. Além de uma boa interação entre esses materiais para obtenção de filmes poliméricos, pressupõe-se que o PVA, já em pequenas quantidades, possa agir reduzindo a rigidez e fragilidade dos filmes de IPS dada a sua alta capacidade de estiramento.

Ao desenvolver novas blendas para o setor de embalagens alimentícias, é importante o conhecimento de suas propriedades gerais de desempenho para identificação do tipo mais adequado de alimento e ambiente a elas destinado. Portanto, o presente trabalho propõe o desenvolvimento e caracterização de filmes de IPS acrescidos com 10%, 20% e 30% de PVA, quanto às propriedades: mecânicas, morfológicas, óticas, térmicas, de permeabilidade ao vapor de água, de solubilidade em água e de interação com umidade sob atividades de água e temperaturas variadas.

#### **4 CONCLUSÃO GERAL**

Com base no estudo do efeito da adição de poli (álcool vinílico) (PVA) em filmes de isolado proteico de soro de leite (IPS) para o desenvolvimento de blendas biodegradáveis, concluiu-se que esses são materiais compatíveis e apresentam potencial no desenvolvimento de blendas biodegradáveis para embalagens alimentícias. Além disso, as propriedades de tração obtidas para a blenda com 30% de PVA foram próximas àquelas referentes ao polietileno de baixa densidade (PEBD), o qual é um material com uso difundido na área de embalagens flexíveis alimentícias.

Ao adicionar PVA ao IPS, as blendas apresentaram permeabilidade ao vapor de água semelhantes à do filme de IPS, porém com solubilidades em água reduzidas. Entretanto, a adição de PVA à matriz de IPS tornou o processo de sorção de água mais espontâneo, mostrando que o PVA age aumentando a interação dos filmes de IPS com a umidade.

Com base em todos os resultados, indica-se a adição de 30% de PVA aos filmes de IPS para obtenção de um material mais flexível, a ser aplicado como embalagens flexíveis para alimentos e atmosferas externas com atividades de água abaixo de 0,90, nas quais a blenda encontra-se mais estável.

## REFERÊNCIAS

- ABRE. Associação Brasileira de Embalagens. **Estudo macroeconômico da embalagem ABRE/ FGV**. 2017. Disponível em:  
<<http://www.abre.org.br/setor/dados-de-mercado/dados-de-mercado-2016/>>. Acesso em: 17 dez. 2017.
- AGILABRAHA, M.; SOLOMAN, P. A.; REJINI, V. O. Preparation of Chitosan-Polyvinyl Alcohol Blends and Studies on Thermal and Mechanical Properties. **Procedia Technology**, v. 24, n. 24, p. 741–748, 2016.
- ANDRADE, R. D. P.; LEMUS, R. M.; PÉREZ, C. E. C. Models of sorption isotherms for food: uses and limitations. **Vitae**, v. 18, n. 3, p. 325–334, 2011.
- ASTM. **Standard Test Method for Slow Rate Penetration Resistance of Flexible Barrier Films and Laminates, F1306-16**. West Conshohocken, PA: 2016. 5 p.
- \_\_\_\_\_. **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882-02**. West Conshohocken, PA: 2002. 10 p.
- \_\_\_\_\_. **Standard Test Method for Transparency of Plastic Sheeting, ASTM D1746 - 03**. West Conshohocken, PA: 2003. 4 p.
- \_\_\_\_\_. **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, ASTM E96 / E96M - 16**. West Conshohocken, PA: 2016. 14 p.
- AYDIN, 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. **Desenvolvimento de Nanocompósitos de Isolado Proteico de Soro de Leite incorporados com a gente antiescurecimento**. 2013. 133 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013.
- AZEVEDO, V. M. et al. Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 971-980, 2017.

\_\_\_\_\_. 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, 2015.

BARTH, A. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1767, n. 9, p. 1073-1101, set. 2007.

BERISTAIN, C. I.; GARCIA, H. S.; AZUARA, E. Enthalpy-entropy compensation in food vapor adsorption. **Journal of Food Engineering**, v. 30, 405-415, 1996.

BERTOLINI, A. C. (Ed). **Biopolymers Technology**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2007.

BONA, J. C. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno**. 2007. 115 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 53 de 10 abril de 2013**. Cria o Regulamento técnico de identidade e qualidade de soro de leite. Brasília, 2013. Disponível em: <<http://www.terraViva.com.br/clique/minuta.html>>. Acesso em: 15 dez. 2017.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**. v. 60, n. 2, p. 309- 319, 1938.

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

\_\_\_\_\_. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2003.

CAZÓN, P. et al. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136–148, 1 jul. 2017.

CHAVAN, R. S. et al. Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. **J Food Process Technol**, v. 6, n. 10, 2015.

CHIELLINI E.; CORTI A.; D'ANTONE S.; SOLARO R. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. **Progress in Polymer Science**, v. 28, p. 963-1014, 2003.

CINELLI, P. et al. Recyclability of PET/WPI/PE Multilayer Films by Removal of Whey Protein Isolate-Based Coatings with Enzymatic Detergents. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 6, 14 jun. 2016.

COX, S.; LITTLE, J.; HODGSON, A. **Effect of glass transition temperature on volatile emissions from polymer materials**. Indoor Air. **Anais...**2005  
Disponível em: <<https://www.isiaq.org/docs/PDFs/1845.pdf>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

EPRO, PlasticsEurope, 2017. EuPC. Plastics – the Facts 2017. **Plastics Europe**, Europe, 2017.

FENNEMA, O. **Química de los Alimentos**. 2 ed. Espanha: Editorial Acribia, 2000. 1258 p.

FERNANDES, D. M. **Estudo da estabilidade térmica de blendas de poli(álcool vinílico)/lignina modificada**. 2005. 152 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 2005.

FERNANDES, A. F. **Utilização de concentrado e de isolado proteico de soro de lácteo na extrusão de milho**. 278p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG 2010.

FRONE, A. N. et al. Thermal properties of water-resistant starch e polyvinyl alcohol films modified with cellulose nanofibers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 121, p. 385-397, 2015.

GONÇALVES, M. C. **Diagrama de fases, propriedades térmicas e morfológicas de blendas de poli(ácido láctico) e poli(metacrilato de metila)**. 2000. 127 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, SP, 2000.

GONZÁLEZ-SISO, M. I. et al. Improved bioethanol production in an engineered *Kluyveromyces lactis* strain shifted from respiratory to fermentative metabolism by deletion of *NDI1*. **Microbial biotechnology**, v. 8, n. 2, p. 319-30, mar. 2015.

GUIMARÃES, M. et al. High moisture strength of cassava starch/polyvinyl alcohol-compatible blends for the packaging and agricultural sectors. **Journal of Polymer Research**, v. 22, n. 10, 2015a.



\_\_\_\_\_. Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 72-83, 2015b.

HALIMA, N.; BEN. Poly(vinyl alcohol): review of its promising applications and insights into biodegradation. **The Royal Society of Chemistry**, v. 6, p. 39823-39832, 2016.

HALSEY, G. Physical adsorption on uniform surfaces. In: **The Journal of Chemical Physics**, v. 16, n. 10, p. 931-937, 1948.

HASSANNIA-KOLAE, M. et al. Development of ecofriendly bionanocomposite: Whey protein isolate/pullulan films with nano-SiO<sub>2</sub>. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 139-144, 2016.

HASSAN, C.; PEPAS, N. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogen Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. **Advances in Polymer Science**, v. 153, p. 37-65, 2000.

IGLESIAS, H. A.; CHIRIFE, J.; VIOLLAZ, P. Thermodynamics of water vapor sorption by sugar beet root. **J. Food Technology**, v. 11, p. 91-101, 1976.

ISOTTON, F. S. **Desenvolvimento e caracterização de filmes de amido de milho eterificado com plastificante glicerol, sorbitos e poli (álcool vinílico)**. 2013. 100p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos e Tecnologias) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, 2013.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. **Blackwell Scientific Publications**, Oxford, 1996.

JANG, J.; LEE, D. K. Oxygen barrier properties of biaxially oriented polypropylene/polyvinyl alcohol blend films. **Polymer**, v. 45, p. 1599-1607, 2003.

KALOGERAS, I. M.; BROSTOW, W. Glass Transition Temperatures In Binary Polymer Blends. **Polym Sci Part B: Polym Phys**, v. 47, p. 80-95, 2008.

LIÉBANES, M. D.; ARAGÓN, J. M.; PALANCA, M. C.; ARÉVALO, G. JIMÉNEZ, D. Equilibrium moisture isotherms of two-phase solid olive oil by-products: Adsorption process **thermodynamics**. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 282-283, p. 298-306, 2006.

LOVOV, B. V. **Thermal decomposition of solids and melts: new thermochemical approach to the mechanism, kinetics, and methodology.** [s.l.] Springer, 2007.

MUTLUR, S. Thermal Analysis of Composites Using DSC. In: KESSLER, M. R. (Ed). **Advanced Topics in Characterization of Composites.** Victoria, BC, Canada: Trafford, 2004. 202 p.

MARSH, K.; BUGUSU, B. Food Packaging - Roles, Materials, and Environmental Issues. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 3, p. R39–R55, abr. 2007.

MESQUITA, A. C. **Estudo da polimerização de acetato de vinila utilizando a radiação ionizante.** 2002. 75 p. Dissertação (Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, SP, 2002.

MINTEL. **Global packaging trends – US – July 2014.** Disponível em: <<http://store.mintel.com/food-packaging-trends-us-july-2014>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

MOHANTY, S. et al. **Polymer Nanocomposites based on Inorganic and Organic Nanomaterials.** 1 ed. [s.l.]: Scrivener Publishing, 2015. 600 p.

MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying.** 2 ed. [s.l.]: Marcel Dekker Inc., 1995. 742 p.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Database; CID=9988076,** Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9988076>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

NERIN, C. **Plastics and Polymers for Food Packaging Manufacturing.** In: SMITHERS, G. W. et al. **Reference Module in Food Science.** [s.l.]: Elsevier Inc., 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/referenceworks/9780081005965>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

OLABARRIETA, I. et al. Transport properties of chitosan and whey blended with poly(1-caprolactone) assessed by standard permeability measurements and microcalorimetry. **Polymer**, v. 42, p. 4401-4408, 2001.

OSWIN, C.R. The kinetics of package life. III. The isotherm. **Journal of Chemical Industry**. v. 65, p. 419–42, 1946.

OTHMAN, S. H. et al. Water sorption and water permeability properties of edible film made from potato peel waste. **Food Science and Technology**, n. 37, p. 63-70, 2017.

OYMACI, P.; ALTINKAYA, S. A. Improvement of barrier and mechanical properties of whey protein isolate based food packaging films by incorporation of zein nanoparticles as a novel bionanocomposite. **Food Hydrocolloids**, v. 54, p. 1-9, 2016.

OZAKI, S. K. **Compósitos biodegradáveis de resíduos de madeira-PVA modificado por anidrido ftálico**. 2004. 187 p. Tese (Ciências e Engenharia de Materiais). Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2004.

PARK, K. J. B. et al. Secagem: fundamentos e equações. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.16, n.1, p. 93-127, 2014.

\_\_\_\_\_. Considerações termodinâmicas das isotermas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 10, n. n.1, p. 83–94, 2008.

RABELLO, M.; DE PAOLI, M. A. **Aditivação de termoplásticos**. São Paulo: Artliber, 2013. 357 p.

RAMOS, B. A.; MANCINI, M. C.; MENDES, M. F. Isotermas de sorção e propriedades termodinâmicas do pinhão- manso (*Jatropha curcas*) **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 4, p. 371–380, 2015.

RAMOS, G. M. **Fibras Ocas Compostas para Osmose Inversa e Nanofiltração baseadas em Poli(álcool vinílico) com Resistência a Agentes Oxidantes e Incrustações Orgânicas**. 2008. 208 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2008.

LIMA, R. de A. B. **Análise da secagem convectiva de folhas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2013. 145 p. Tese (Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2004.

RUTTEN, A. A. C.; BOUWMAN, W.; VAN DER LEEDEN, M.  $\beta$ -Lactoglobulin as an ideal random polymer coil. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 210, n. 2–3, p. 243–252, 2002.

SCHMID, M. Whey Protein Edible Coatings: Recent Developments and Applications. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 8, p. 3254–3269, 2013a.

SCHMID, M. Properties of Cast Films Made from Different Ratios of Whey Protein Isolate, Hydrolysed Whey Protein Isolate and Glycerol. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 8, p. 3254–3269, 2 ago. 2013b.

SILVA, K. S. et al. Synergistic interactions of locust bean gum with whey proteins: Effect on physicochemical and microstructural properties of whey protein-based films. **Food hydrocolloids**, v. 54, p. 179–188, 2016.

SILVA, M. F. et al. Study of Thermal Degradation of PLGA, PLGA Nanospheres. **Materials Research**, v. 18, n. 6, p. 1400–1406, 2015.

SILVÉRIO, H. A. **Extração e caracterização de nanocristais de celulose a partir de sabugo de milho e sua aplicação como agente de reforço em nanocompósitos poliméricos utilizando poli (álcool vinílico) como matriz.** 2013. 103 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2013.

SMITH, S.E. The sorption of water vapour by high polymers. **Journal of the American Chemical Society**, v.69, p.646, 1947.

SIN, L. T. et al. Determination of thermal stability and activation energy of polyvinyl alcohol/cassava starch blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 303–305, 2010.

\_\_\_\_\_. Characterization of -tocopherol as interacting agent in polyvinyl alcohol–starch blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1281–1287, 2013.

SRINIVASA, P. C. et al. Properties and sorption studies of chitosan – polyvinyl alcohol blend films. **Procedia Technology**, v. 24, p. 741–748, 2016.

TAO, Y. et al. Thermodynamic sorption properties, water plasticizing effect and particle characteristics of blueberry powders produced from juices, fruits and pomaces. **Powder Technology**, v. 323, p. 208–218, 2018.

TANG, X.; ALAVI, S. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 7–16, 2011.

TEE, T.T. et al. Investigation of nano-size montmorillonite on enhancing polyvinyl alcohol/starch blends prepared via solution cast approach. **Composites Part B**, v. 47, p. 238–247, 2013.

TELIS, V. R. N.; GABAS, A. L.; MENEGALLI, F. C.; TELIS-ROMERO, J. Water sorption thermodynamic properties applied to persimmon skin and pulp. **Thermochimica Acta**, v. 343, 49–56, 2000.

THOMAS, S.; MISHRA, R.; KALARIKKAL, N. **Micro and Nano Fibrillar Composites (MFCs and NFCs) from Polymer Blends**. 1. ed. [s.l.]: Woodhead Publishing, 2017. 372 p.

TIAN, H. et al. Fabrication and properties of polyvinyl alcohol/starch blend films: Effect of composition and humidity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 518–523, 2017.

TOYOSHIMA, K. **General Properties of Polyvinyl Alcohol in Relation to its Applications**, IN: FINCH, C. A., **Polyninyl Alcohol – Properties and Applications**, Chapter 2. Londres: John Wiley & Sons, 1973.

VAN DER BERG, C. Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the GAB model of sorption. In: **Engineering and Food**. London: B. M. Mckenna Elsevier Applied Science, v. 1, p.311-321, 1984.

VAN DEN BERG, C.; BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems. In: **Rockland, Stewart, Water Activity: Influence on Food Quality**. Academic Press, New York, p. 147–177, 1981.

VELÁZQUEZ-GUTIÉRREZ, S. K.; FIGUEIRA, A. C.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; ROMÁN-GUERRERO, A.; CARRILLO-NAVAS, H.; PÉREZ-ALONSO, C. Sorption isotherms, thermodynamic properties and glass transition temperature of mucilage extracted from chia seeds (*Salvia hispanica* L.), **Carbohydrate Polymers**, v. 121, p. 411–419, 2015.

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

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

YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan @lms. **Food Research International**, v. 33, p. 563–570, 2000.

YATES, M. R.; BARLOW, C. Y. Life cycle assessments of biodegradable, commercial biopolymers - A critical review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 78, p. 54–66, 2013.

ZHAI, X. et al. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 308-317, 2017.

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.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1 - Morphological, mechanical and physical properties of new whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging**

**ABSTRACT**

In order to improve whey protein isolate (WPI) film flexibility for application in food packaging sector, polyvinyl alcohol (PVA) was added to its matrix in 10%, 20% and 30%. FT-IR produced different spectra for blend with 30% of PVA, indicating the formation of new interactions and structures, while morphology analysis indicates a possible compatibility between the polymers. The addition of 30% of PVA provided a material with lower strength, but more ductile behavior, increasing ten times the WPI elongation capability, leading to tensile properties close to that from commercial LPDE. WPI film puncture resistance was not affected by the PVA. PVA addition did not act reducing the water barrier of WPI matrix, but decreased solubility and optical transmittance of WPI film. Therefore, it is indicated the addition of 30% of PVA in WPI matrix for food packaging in order to improve its flexibility, without prejudice its water barrier property.

**Keywords:** Whey protein isolate; Polyvinyl alcohol; blends; food packaging.

**1 INTRODUCTION**

Plastics play important roles on general areas related to human activities, especially to the food sector, since this class of material is responsible for contain and protect the most food, which are consumed and distributed all over the world. The Plastics Europe (EPRO, 2017) reported that 335 million tonnes of plastic materials were produced in 2016, and 39.9% of this production was designated to the packaging sector. The daily need of food consumption, and therefore, of plastic materials, brought up a demand of researches related to



biodegradable packaging in order to replace materials that accumulate for a long time in the environment. However, according to Cazón et al. (2017), is desirable that biodegradable polymers used to produce packaging be abundant and low-cost, and thus, biopolymers with residue origin, such as whey protein isolate, are suitable to this requests.

Whey protein isolate (WPI) is an edible and biodegradable biopolymer, which is obtained from a by-product of cheese industries, and can be used as polymeric matrix for packaging film forming (AZEVEDO et al., 2017; CINELLI et al., 2016; SCHMID, 2013a). Despite the desirable properties of transparency and good oxygen barrier, WPI-based films are commonly brittle, due to the interactions among the different functional groups in protein chains, such as sulfhydryl, amino and carboxylic acid groups, producing a more rigid structure (SCHMID, 2013b). Furthermore, the high affinity by water provided by polar groups makes solubility in water and water vapor permeability more likely in WPI films. In order to obtain barrier and mechanical properties which are applicable for food packaging, or even to produce active food packaging, blends and composites with WPI has been evaluated for different authors (ALIZADEH SANI; EHSANI; HASHEMI, 2017; AZEVEDO et al., 2015a; GOUNGA; XU; WANG, 2007; HASSANNIA-KOLAEI et al., 2016; LEUANGSUKRERK et al., 2014; LI et al., 2011; OYMACI; ALTINKAYA, 2016; OZER et al., 2016; QAZANFARZADEH; KADIVAR, 2016b; SOTHORNVIT et al., 2010; WANG; AUTY; KERRY, 2010; ZHANG et al., 2016; ZINOVIADOU; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2010; ZOLFI et al., 2014). However, no previous work on biodegradable films based on blends of WPI with polyvinyl alcohol (PVA) has been reported.

PVA is a biodegradable synthetic polymer, soluble in water, obtained through the hydrolysis of polyvinyl acetate (HALIMA, 2016). This material has properties subordinated to its degree of hydrolysis and polymerization, and,

therefore, can exhibit different molecular weights and mechanical properties, such as tensile strength and flexibility. As PVA films use to show good stretchability, is expected that low addition percentages of this material to WPI matrix can possible improve the flexibility of WPI films. The brittleness reduction could certainly become WPI based films more suitable for food packaging systems, maintaining the biodegradability property.

Considering new blend materials for food packaging, is important to evaluate the performance properties, as well as to analyze the interactions between the materials used and their morphology in the blend. Therefore, in order to evaluate the possibility of application of new WPI/PVA blends in food packaging sector, this work aims to evaluate WPI films added with 10, 20 and 30% of PVA regarding to: interaction phenomena (FT-IR), morphology (SEM), mechanical properties (tensile and puncture tests), water vapor permeability, solubility in water and optical transmittance.

## **2 MATERIAL AND METHODS**

### **2.1 Material**

The materials used for this research were: Whey Protein Isolate (WPI 9400) with 90% of proteins produced by Hilmar Ingredients; Polyvinyl alcohol with high molecular weight ( $M_w = 130.000$  g/mol) and highly hydrolyzed (99%), from Sigma-Aldrich; Glycerol ( $\geq 99,5\%$ , density 1.26 g/mL), as plasticizer agent, produced by Sigma-Aldrich.

## 2.2 Preparation of films and blends

### 2.2.1 Preparation of films

WPI film was produced using a concentration of 6% m/v of solution. WPI (12 g) was dissolved in 200 mL of distilled water, added with glycerol (30% m/m of WPI), and kept under agitation for 30 min (250 rpm). Then, the solution was submitted to water bath at 90 °C for 30 min. After cooled at room temperature, it was homogenized in Ultra Turrax (Kika Labortchnik) for 20 min (450 rpm). The homogenized solution of 200 mL was sonified (Sonifier Cell Disruptor Branson – Model 450D, Manchester, UK) at 60% of amplitude (270 W), for 10 min (600 s) in a continuous assay, using ice bath to avoid heating. The ultrasonic energy applied to the solution was calculated through Equation 1, resulting in 810 JmL<sup>-1</sup>.

$$AE = (P \cdot t) / v, \quad (1)$$

where  $AE$  corresponds to the ultrasonic energy applied (JmL<sup>-1</sup>),  $P$  is the power emitted by the sonifier (270 W),  $t$  refers to the time of ultrasonic agitation (600 s) and  $v$  to the volume of solution (200 mL) (CHRISTENSEN, 1985).

Solution was shed on a rectangular teflon plate (750 cm<sup>2</sup>) and conditioned at room temperature for drying. Three replicates of WPI film were performed. Thickness was controlled through the volume of the shed sample (200 mL). The dried films was conditioned under controlled temperature and relative humidity (RH) (25±1 °C and 50% RH).

PVA film was also produced using a concentration of 6% m/v of solution. PVA (12g) was dissolved on 200 mL of distilled water and kept under agitation for 24h (100rpm) in order to hydrate the PVA. Glycerol (30% m/m of PVA) was added and the solution was kept under agitation for more 30 min (250 rpm). Then, the solution was submitted to water bath at 90 °C for 60 min. After

cooled at room temperature, it was homogenized in Ultra Turrax and sonified in same conditions as those used for WPI film production. Finally, solution was shed on a similar teflon plate and conditioned at room temperature for drying. Three replicates of PVA film were performed. Thickness was controlled through the volume of the shed sample (200 mL). The dried films was conditioned under controlled temperature and relative humidity (RH) ( $25\pm 1$  °C and 50% RH).

### **2.2.2 Preparation of blends**

The WPI and PVA blends were produced varying the concentrations of WPI/PVA (90/10, 80/20 and 70/30), maintaining the same total amount of polymer (6% m/v of solution) and plasticizer (30% m/m of polymers). Initially a PVA solution was prepared by dissolving the polymer in 100mL of distilled water, and it was kept under agitation for 24h (100rpm) in order to hydrate the PVA. A WPI solution was separately prepared by dissolving it in 100mL of distilled water, it was added the glycerol (3.6 g), and the solution was kept under agitation for 30 min (250 rpm). The both prepared solution (PVA and WPI/glycerol) were separately submitted to water bath at 90°C for, respectively, 60 and 30 min. Then the solutions were cooled to room temperature, merged, homogenized in Ultra Turrax and sonified in same conditions as those used for WPI film production.

Finally, solution was shed on a similar teflon plate and conditioned at room temperature for drying. Three replicates of each blend were performed. Thickness was controlled through the volume of the shed sample (200 mL). The dried films was conditioned under controlled temperature and relative humidity (RH) ( $25\pm 1$  °C and 50% RH).

### **2.3 Characterization of films and blends**

### **2.3.1 Fourier transform infrared (FT-IR) analysis**

In order to identify possible interactions among the matrix constituents and to evaluate the structural changes resulted from the different films, samples were characterized by absorption spectroscopy on the region of infrared through a FTS 3000 Excalibur Digilab (United States), in Total Attenuated Reflection (ATR) mode, equipped with a KBr detector. All films were previously dried ( $100 \pm 5$  °C, 24h) according to (DÍAZ; CANDIA; COBOS, 2016), and the analysis range was from 4.400 to  $400 \text{ cm}^{-1}$  with 64 scans. Finally, seeking to classify the films by the different spectra obtained for each one, a Principal Component Analysis (PCA) was conducted using the Chemoface software, in which wavelengths data was used as variables and the transmittance values as answers.

### **2.3.2 Morphology**

Scanning Electron Microscopy (SEM) was used in order to evaluate film morphology and to investigate the presence of flaws, clusters, delamination, phase separation and other effects, which could be related to the mechanical and physical results. Films were analyzed through a LEO 1430 VP (England) using an accelerate voltage of 20 kV. Specimens were previously frozen in liquid nitrogen and fractured, in order to observe the morphology at the cross section, and then gold (Au)-coated using vapor deposition.

### **2.3.3 Mechanical properties and thickness**

Using a texturometer (Stable Microsystems, model TATX2i, England) with a load cell of 1 kN, it were measured the maximum tensile strength (TS), the tensile modulus (TM) and the maximum elongation (E) of films, according to D882-02 (ASTM, 2002). The specimens of 5 mm of width and 100 mm of length was submitted to the tensile test using a speed of 10 mm/s. TM was calculated from the tangent of the initial linear function of the stress-strain curve, considered as an elastic behavior. TS was found by dividing the maximum tensile by the film transversal section area, and E was calculated trough the percentage relation between the final and initial length of the specimen. Five repetitions were used for each combination of WPI and PVA, and considering the three film repetitions for each treatment, a total of 75 specimens were tested.

Using the same texturometer and the load cell of 1 kN, it was analyzed the film performance concerning the puncture resistance (PR). The puncture test was conducted in specimens of 900 mm<sup>2</sup> by fixing them on a support with hole of 21 mm of diameter. A spherical probe with 5 mm of diameter (A/TG probe) was perpendicularly dislocated to the specimen surface in a speed of 0.8 mm/s until the film rupture. The PR, puncture resistance/thickness (N/mm), was calculated by dividing the tensile at the rupture by the film thickness, and the puncture deformation (PD) was determined at the rupture. Four repetitions were used for each combination of WPI and PVA, and considering the three film repetitions for each treatment, a total of 60 specimens were tested.

A digital micrometer (Digimess) was used to take 5 random measurements of the thickness per specimen, with a resolution of 0.001 mm.

#### **2.3.4 Water vapor permeability (WVP)**

Water vapor permeability rate (WVPR) were determined by gravimetry (ASTM E96-10, 2010) using circular specimens with 80 mm of diameter. They were fixed in capsules containing silica gel, setting the humidity to 0 (zero) in the atmosphere in contact with the specimen's lower face. The capsules were placed in hermetic desiccators at  $25 \pm 1$  °C in which a volume of sodium chlorate saturated solution sets the humidity to 75%. Weight gain measurements were taken by weighing the capsules (Analytical balance, resolution 0.001g) each 24h for 7 days. A plot of weight gained (Wg) versus time (t) was used to determine the WVPR, which was calculated by the Equation 2:

$$WVPR = \frac{Wg}{t A} \quad (2)$$

where: WVPR, given in ( $\text{g} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ), is obtained through the slope of the linear portion of the plot and represents the steady-state amount of water vapor diffusing through the specimen, and A ( $\text{m}^2$ ) is the permeation area of the specimen.

Water vapor transmission (WVP) was calculated through Equation 3:

$$WVP = \frac{WVPR \cdot t_i}{\rho_s (RH_1 - RH_2)} \quad (3)$$

where: WVP is given in  $\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{kPa}^{-1}$ ;  $t_i$  is the medium specimen thickness (mm);  $\rho_s$  is the water vapor saturation pressure at the test temperature (3.169 kPa);  $RH_1$  is the relative humidity of the desiccator chamber (0.75) and  $RH_2$  (0.00) is the relative humidity inside the capsule (GUIMARÃES JR. et al., 2015). Three repetitions were performed for each film and blend.

### **2.3.5 Solubility in water**

Solubility in water was determined using square test specimens of 900 mm<sup>2</sup>. The initial dry mass was obtained using an analytical balance after drying at 100±5 °C for 24 h. The test specimens were immersed in a vessel containing 50 mL of distilled water and shaken at 100 rpm for 24 h at room temperature (at around 25±1 °C). Then the specimens were dried again at 100±5 °C for 24 h and weight in order to obtain the non-solubilized mass. Solubility of the films was expressed in percentage of specimen mass solubilized in relation to the initial mass. Three repetitions were performed for each film and blend.

### **2.3.6 Optical Transmittance**

The percentage light transmitted throughout films was measured using a Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Italy) spectrophotometer, according to ASTM D1746-03 (ASTM D1746-03, 2003). The scan adopted was from 400 to 800 nm, in order to cover all wavelengths from visible light. The specimen thicknesses were standardized in order to guarantee similar thickness for all films. Samples were cut into rectangles (10×30 mm), placed in the internal wall of the spectrophotometer stand, and the percentage of transmittance (%T) was measured using the empty cuvette as blank. Three repetitions were made for each film, resulting in a total of 15 readings.

## **2.4 Statistical analysis**



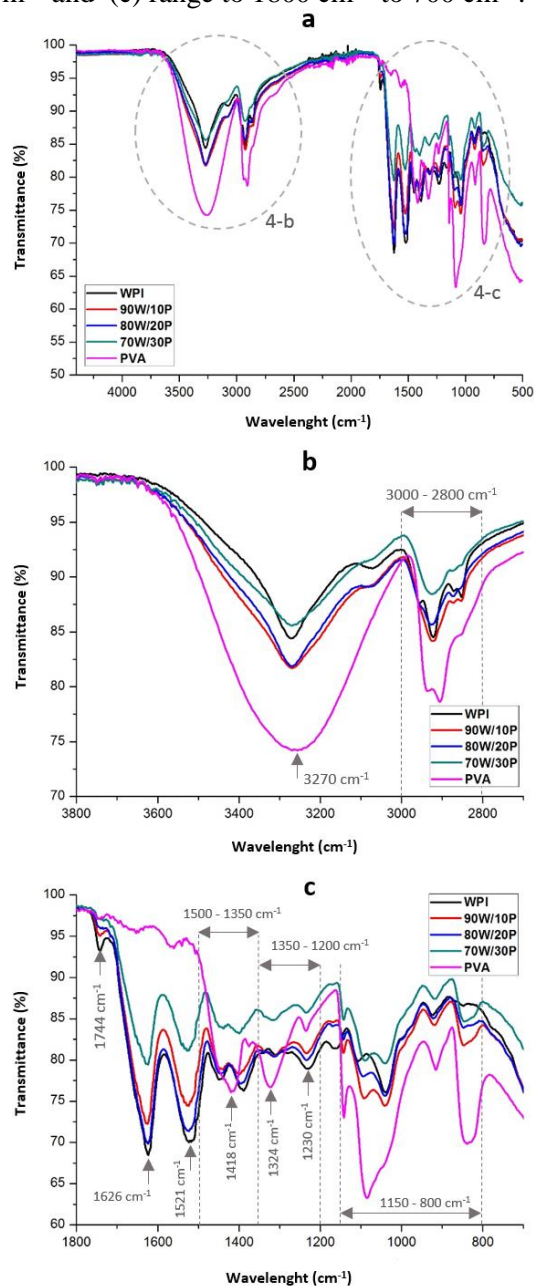
In order to carry out statistical analysis of the results by comparing the means, Sisvar 5.0 was used to apply Scott-Knott test, with 95 % of confidence level. The test was used for mechanical, WVP and solubility results.

### **3 RESULTS**

#### **3.1 FT-IR**

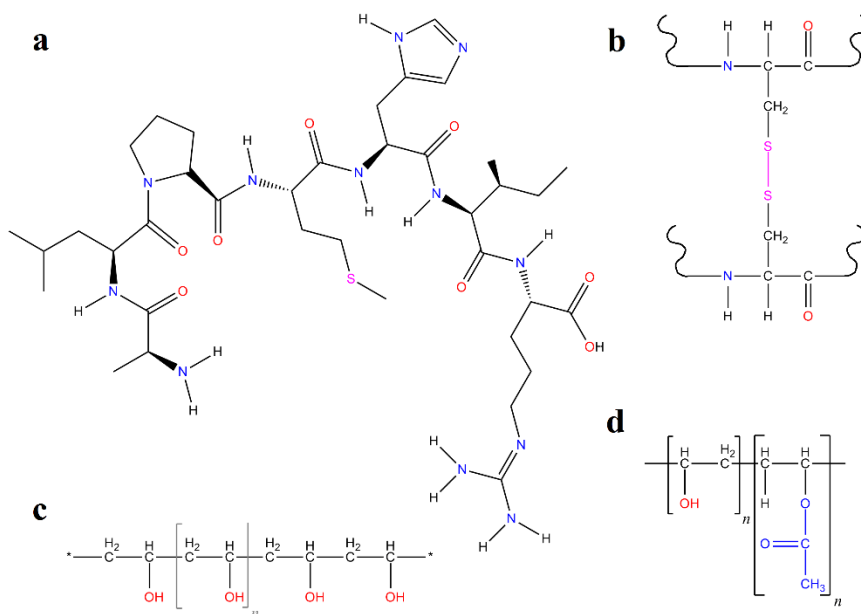
Figure 1 presents spectra on the infrared region for WPI and PVA films and blends. The main absorptions occurred on bands: 3270  $\text{cm}^{-1}$ , from 3000 to 2800  $\text{cm}^{-1}$  and from 1770 to 790  $\text{cm}^{-1}$ . These specific regions of the general spectra (Fig. 1-a), can be better observed on Fig. 1-b and Fig. 1-c.

Figure 1 - FT-IR spectra of WPI and PVA films and blends and CMS/PVA blends: (a) range from  $4400\text{ cm}^{-1}$  to  $500\text{ cm}^{-1}$ ; (b) range from  $3700\text{ cm}^{-1}$  to  $2700\text{ cm}^{-1}$  and (c) range to  $1800\text{ cm}^{-1}$  to  $700\text{ cm}^{-1}$ .



All films presented the band localized on  $3270\text{ cm}^{-1}$ , which is related to the existence of N-H in case of films with WPI, and/or to the stretch of O-H groups and the water existence for all films (GUIMARÃES JR. et al., 2015; RAMOS et al., 2013). The N-H bond is a characteristic of the amino group of proteins, therefore is a typical band of WPI films. However, this band can be occurred for WPI film and for the blends due to the intra and intermolecular hydrogen bonds in the material's matrix. Although PVA does not contain N-H groups in its chains, PVA film presented the higher band intensity and width, probably due to a larger number of interactions by hydrogen bond among its chains and also to a larger amount of water molecules entrapped to its structure. Analyzing the blends, 70W/30P presented the lower intensity on  $3270\text{ cm}^{-1}$  band. This fact can be associated to the lower amount of WPI and therefore of N-H groups in its structure. On the other hand, the referred blend provided a spectra with an enlargement of the  $3270\text{ cm}^{-1}$  band, indicating the formation of a larger amount of hydrogen bonds between WPI and PVA. The PVA hydroxyl groups (FIGURE 2-c) can easily interact with water and with many nitrogen (N) and oxygen (O) atoms of  $\beta$ -lactoglobulin (FIGURE 2-a), the major whey protein of ruminants (KONTOPIDIS; HOLT; SAWYER, 2004). For 70W/30P blend, it is assumed that the PVA OH groups were interacting with the protein chains in WPI, decreasing the amount of water entrapped in the film structure, and therefore decreasing the intensity of the  $3270\text{ cm}^{-1}$  band.

Figure 2 - Structure of: a) chain segment (primary structure) with seven amino acid residues (H-Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg-OH, 142-148) from  $\beta$ -lactoglobulin, the major protein of ruminants milk whey; b) chain segment (primary structure) with cysteine aminoacid residues from  $\beta$ -lactoglobulin forming a disulfide bond; c) PVA 100% hydrolyzed, without an acetate group and d) PVA with hydrolysis lower than 100 %, showing the presence of acetate group on the chain.



Source: Adapted from NCBI (2017) and Halima (2016).

Bands from  $3000$  to  $2800\text{ cm}^{-1}$  are associated to C-H bond stretch (GUIMARÃES JR. et al., 2015). The PVA spectra presented the higher absorption on this region, although the more PVA was added to the blends, the more decreased the absorption. As previously supposed, the larger amount of PVA possibilted stronger linkages among PVA and WPI proteins chains, and it probably reduced the stretching of C-H bonds in the structure.

On  $1744\text{ cm}^{-1}$  films with WPI presented a band with low intensity probably related to vibrations of C=O and C-N bonds characteristics from

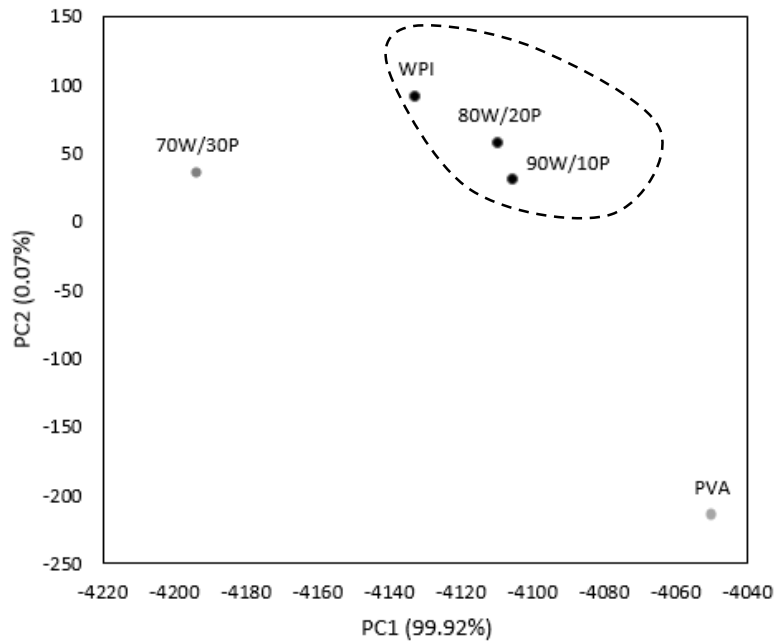
proteins. On  $1626\text{ cm}^{-1}$ , bands are attributed to amide groups involved in the extended  $\beta$ -sheet structure, typical of WPI films (RAMOS et al., 2013). This bands ( $1744$  and  $1626\text{ cm}^{-1}$ ) intensity decreased with the addition of PVA, probably due to the lower amount of proteins in the structure which were replaced by PVA chains, and maybe because interactions among PVA and protein chains can cause interruptions on the extended  $\beta$ -sheet secondary structure of the proteins.

Bands on  $1521\text{ cm}^{-1}$  are related to the N-H stretch from amine I group, and therefore, was present only for WPI film and blends. Similarly, bands from  $1500$  to  $1350\text{ cm}^{-1}$  for WPI films and blends are possibly associated to bonds type N-H from amide II groups (RAMOS et al., 2013). The band on  $1418\text{ cm}^{-1}$  was only observed for PVA film, and is probably associated to the angular deformation of  $\text{CH}_2$  groups. The same exclusive phenomenon occurred on  $1324\text{ cm}^{-1}$  for PVA film, and this band can be related to an angular deformation of C-H groups. Bands from  $1350$  to  $1200\text{ cm}^{-1}$  can be associated to the vibrations of N-H and C-N (amide III) bonds for films with WPI. However, all films showed a band on  $1230\text{ cm}^{-1}$ , which can be attributed to angular deformation of  $\text{CH}_2$  for WPI and PVA films and for the blends. At the region from  $1150$  to  $800\text{ cm}^{-1}$ , bands are related to the presence of glycerol for all films, corresponding to the vibration of C-C and C-O groups (RAMOS et al., 2013).

The graphic obtained for Principal Component Analysis (PCA) can be observed on Figure 3. Principal component 1 (PC1) contains 99.92% of variance, and then it was used to classify the groups formed. Spectra of WPI film, 90W/10P and 80W/20P blends were grouped, while PVA film and 70W/30P blend were isolated. The addition of up to 20% of PVA produced more similar structures to the WPI film than to the PVA film, as expected, due to the higher amount of WPI constituent. On the other hand, the 70W/30P blend

showed different spectra when compared to both, WPI and PVA films, and it indicates the formation of new interactions and structures.

Figure 3 - PCA analysis of FT-IR spectra from WPI film, 90W/10P, 80W/20P and 70W/30P blends, and PVA film.



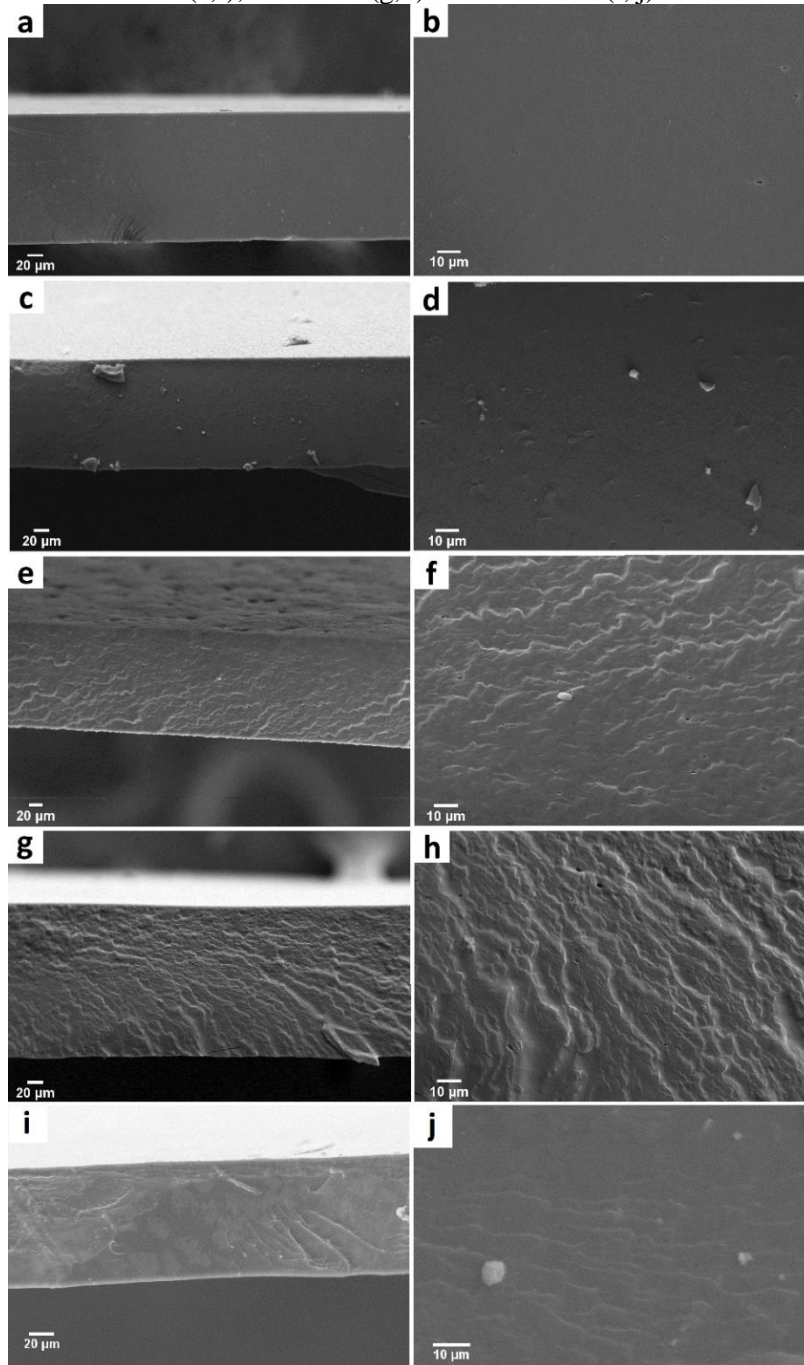
### 3.2 Morphology

Figure 4 a-j shows micrographs of WPI, blends and PVA films. WPI film (FIGURE 4-a and 4-b) exhibited at cross section a smooth and compact structure, with few pores or bubbles and without flaws or cracks. PVA film also presented a compact structure, absent of flaws or cracks, but with a tendency of layer orientation (FIGURE 4-i and 4-j). 90W/10P micrograph (FIGURE 4-c and 4-d) showed that 10% of PVA added provided a single phase blend, without

layer delamination, possibly aided by the plasticizer. On the other hand, 80W/20P and 70W/30P exhibited single phase structures, but with roughness and orientation of layers, more evident on the blend 70W/30P with larger amount of PVA. Li et al. (2014) observed a similar morphology of PVA layers when analyzing PVA films added with graphite oxide, and suggested a possible covering of graphite oxide layers by the PVA layers. In the WPI/PVA blends, supposedly the existence of many hydrogen interactions among polymeric chains from the both materials provided this layered and oriented structure.

The structures obtained for all blends, without phase separation or clusters of materials, possibly indicate the existence of compatibility between the polymers.

Figure 4 - SEM cross section microscopies: WPI film (a,b), 90W/10P (c,d), 80W/20P (e,f), 70W/30P (g,h) and PVA film (i, j).

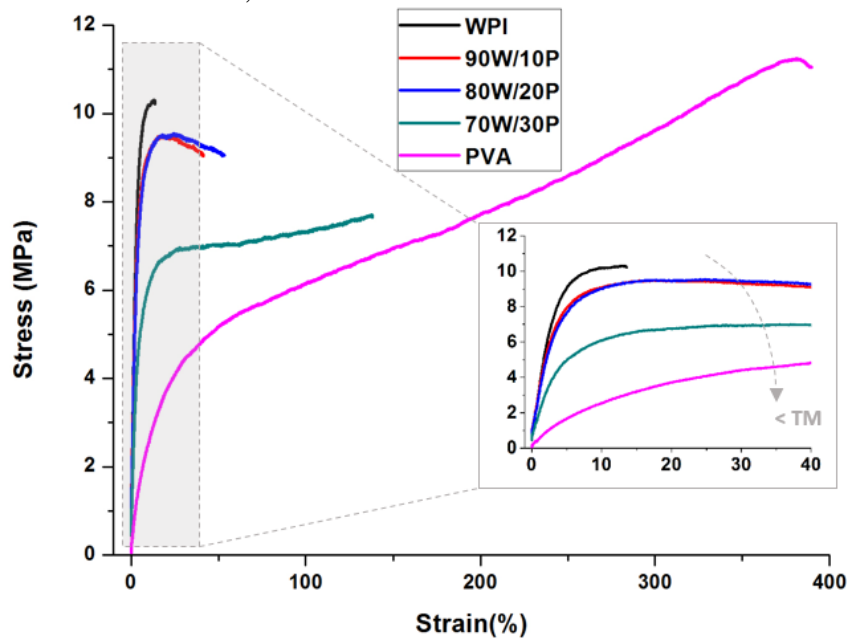




### 3.3 Mechanical properties and thickness

According to Guimarães Jr. et al. (2015), flexible film mechanical properties of highest interest are those related to TS, including TM and E. However, in case of food packaging, is also important to know the resistance of the material to the puncture for many applications, for example to know the resistance of the film to ink prints or pointed parts of food such as stems in fruit and bones in meats. Figure 5 shows the average of stress-strain curves for the films, while Figure 6 presents the results referring to the tensile test (TS, TM and E), conducted until the film rupture, and Figure 7 shows the PR and PD obtained through the puncture test.

Figure 5 - Average of stress-strain curves of films WPI, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA.



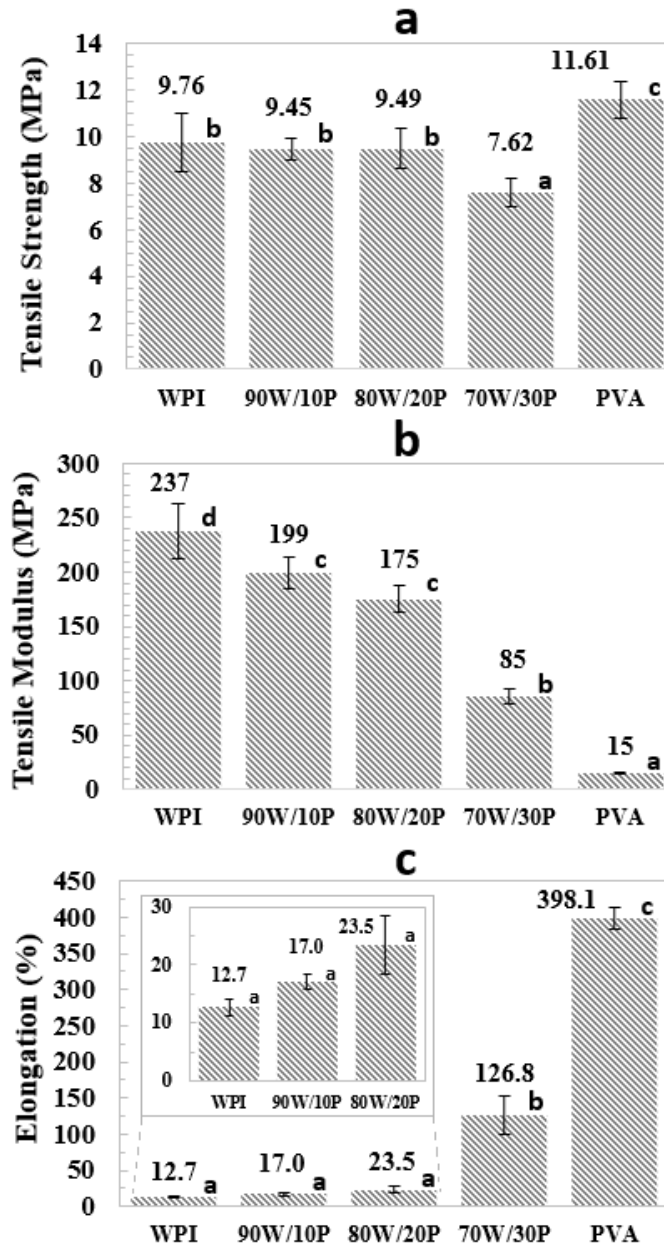
As observed on Figure 6-a, the mean TS of the WPI films was 9.76 MPa, while films of PVA presented the highest TS mean, 11.61 MPa. Blends presented TS values lower than PVA film TS. The 90W/10P and 80W/20P blends were not significantly ( $p \geq 0.05$ ) different from the WPI film regarding the TS. On the other hand, 70W/30P was the one with the lowest TS, 7.62 MPa, which is almost 20% lower than the mean TS from the other two blends. Despite the observed TS reduction for 70W/30P, its TS (7.62 MPa) and those TS obtained for the other blends can be considered a close resistance to that found for low density polyethylene (LDPE) films, of 6.9 - 16 MPa, which is a material with widespread application in food packaging sector (DOAK, 1986).

WPI films presented a mean TM of 237 MPa, while PVA films showed a mean TM almost 90% lower, 15 MPa (Figure 6-b). According to Tian et al. (2017), PVA is a material with great mechanical properties due to its flexible bonds of C-C and to the plenty of OH groups in its chains. Probably, these chain characteristics provided this large film flexibility and the noticed low TM value. It was observed that, with PVA addition, blends presented a decreasing in the TM value, as expected. 70W/30P blend showed a mean TM of 85MPa, while 90W/10P and 80WPI/10PVA TM was not significantly ( $p \geq 0.05$ ) different. This decreasing profile can be clearly observed on Figure 5, with the slope decreasing of the stress-strain blend curves. The addition of 30% of PVA provided a considerable higher flexible behavior when compared to the WPI film, being less rigid than commercial LDPE, which has a known TM of 102 – 240 MPa (DOAK, 1986).

Regarding to the elongation, PVA film showed an E of 398.1%, while WPI film presented only 12.7% of E, confirming the fact that PVA is a much more flexible material when compared to WPI (FIGURE 6-c). The stress strains curves (FIGURE 5) shows this behavior: WPI as a fragile material and PVA as a ductile film. WPI film fragility is clearly observed through the absence of the

yield point on its curve, so that this film did not presented plastic deformation. The addition of PVA caused an increase in E for all blends, and the more PVA was added, the more E value increased. 70W/30P (E of 126.8%) showed a significant gain in flexibility, ten times higher, when compared to the WPI film (E of 12.7%). Qazanfarzadeh e Kadivar (2016) found 24% of E for WPI films with 50% of glycerol. This value is higher when compared to the observed on the present work for WPI film (12.7%), but can be justified by the larger amount of plasticizer used by the author. Guimarães Jr. et al. (2015) observed an E of 2.7% for starch films, while for starch/PVA films in a proportion of 60/40, E increased ten times, to 26%. This result is similar to that observed in the present work, where the addition of 30% of PVA into WPI matrix also provided an E ten times higher. In case of WPI matrix, it was necessary a lower amount of PVA to produce the same effect of flexibility increase when compared to the starch matrix. The 70WPI/30PVA blend presented an elongation which fits to the LDPE elongation range of 100 – 800% (DOAK, 1986). It is inferred that the low tensile modulus and high elongation observed for this blend is closely related to the hydrogen bonds existence and to the observed preferential orientation of layers observed on FT-IR and MEV results. Possibly, a more ductile film was provided with the oriented layers anchored by the referred secondary bonds.

Figure 6 - Average and standard deviation (SD) values of tensile properties: (a) maximum TS; (b) TM (c) E obtained by tensile test of films WPI, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA. Different letters represent significantly different values at ( $p \geq 0.05$ ) using Scott-Knott test.



Despite the known chain flexibility characteristic from PVA, decreases in film tensile strength and increases in flexibility can be related with the number of crosslinks in the film material, and for blends, it can be also associated with the miscibility of the blended materials. When whey proteins are heated, their denaturation is induced, and then occurs the exposure of internal sulfhydryl groups from cysteine (Cys), which promotes disulfide bond formation among the chains, as showed on Figure 2-b (SHIMADA; CLAUDE CHEFTEL, 1989). Methionine (Met) is the other aminoacid which presents a sulfur atom (FIGURE 2-a), but it is unable to form disulfide bond. The WPI film formation, which involves the proteins heating, possibly provides these intermolecular disulfide bonds between cysteine aminoacids, producing a brittle and stiff film (high TM and low E). The PVA in the matrix probably decreases the number of this kind of interaction among the WPI protein chains, and link with them and with another PVA chains through hydrogen bonds, as observed on FT-IR results, leading to a higher flexibility (low TM and high E).

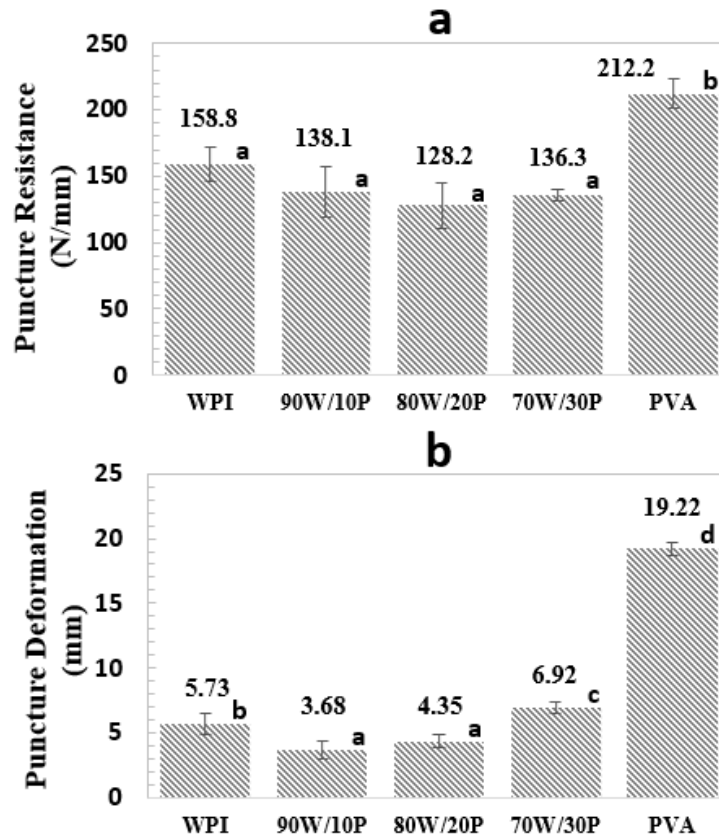
The possible compatibility observed on MEV results for all blends explains the mechanical results, where blends were more ductile then isolated WPI. Furthermore, analyzing the tensile properties obtained, TS, TM and E results suggest that blends were miscible, but with partial compatibility, which was responsible for increasing ductility (E), but not sufficient to keep the strength. Besides that, the tensile properties analyzed for the blends were intermediate to those from WPI and PVA, indicating the existence of compatibility between these materials on the blends.

The puncture test (FIGURE 7) showed that the addition of 10, 20 or 30% of PVA into the WPI matrix does not caused a significant ( $p \geq 0.05$ ) effect in PR of the WPI films. PVA films presented a higher mean PR (212.2 N/mm) when compared to the WPI film (PR of 158.8 N/mm) and the blends. According to Board (2002), films made with PVA and plasticizer are tough tear-resistant

and present resistance to perforation. The PVA structure allowed its films to present higher flexibility in both, tensile and puncture tests. PVA film presented the highest PD for the puncture test, 19.22 mm. The addition of 30% of PVA into WPI matrix can be used to increase the PD of WPI films.

Azevedo et al. (2015) found a PR for WPI films of 113.65 N/mm and a PD of 4.65 mm, values lower than those found in this work, probably because the author use an amount of 24% of glycerol, while in this work it was used 30%. Another hypothesis to explain this difference is the pH used for the film solutions. Azevedo et al. (2015) used a pH of 8, while the present work used neutral pH (around 7.2), which produce different protein charges affecting the final film properties. In fact, in pH values more distant from their isoelectric point (around 5.5), the whey protein molecules are more charged, and therefore, they interact more with water molecules (SOARES; SILVA; OLIVEIRA, 2016). The higher pH used from Azevedo et al. (2015) possibly led to a higher amount of water molecules in the WPI matrix, which acted as plasticizer, increasing the free volume among the protein chains and decreasing the PR as well as the PD capability. Muppalla et al. (2014) developed PVA films, but with a much lower amount of glycerol (0.1% v/v of film forming solution), and found a PR of 1.5 N of PVA films with main thickness of 0.150 mm, which means a PR of 10 N/mm. This value is considerable lower than that found in the present work for PVA film (212.2 N/mm) and, besides the different amount of glycerol, it can be justified by the probe diameter of 2 mm used by Muppalla et al. (2014), which is less than half of that used in this work (5 mm).

Figure 7 - Average and standard deviation (SD) values of puncture properties: (a) PR and (b) PD obtained by puncture test of films WPI, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA. Different letters represent significantly different values at ( $p \geq 0.05$ ) using Scott-Knott test.



### 3.4 Water vapor permeability (WVP)

The vapor permeability tests showed no significant differences ( $p \geq 0.05$ ) on the water vapor barrier from WPI film and blends. In WPI films, the presence of N and O atoms from amino and carboxylic acid groups guarantee

the interaction of proteins with water molecules (FIGURE 8-a) and also the formation of hydrogen bonds among the protein chains. Regarding the blends, the WVP results indicate that PVA did not influenced the interaction of WPI films with water. In films with partially hydrolyzed PVA (FIGURE 2-d), residual acetate groups could act decreasing the interaction between WPI matrix and water. However, the absence of these groups on highly hydrolyzed PVA (as that used in the present work, FIGURE 2-c), and the existence of hydroxyl groups in its chains (one OH by monomer), made this PVA a material with high affinity for water. Because of this property, PVA film showed the highest WVPR and WVP, differing from the other films with WPI. Despite this fact, PVA did not act increasing the water barrier of WPI matrix, which is a positive result, since most food packaging require good water vapor barrier.

When analyzed blends of starch with PVA, Guimarães Jr. et al. (2015) observed an increase of WVP with the addition of PVA to the blend, and the authors justified that, in this case, PVA acted as a facilitator of water transport through the blend due to the nature of its chemical structure with several hydroxyl groups. In the present work, the unchanged WVP with the addition of PVA in WPI films, possibly occurred due to the formation of a large amount of hydrogen bonds between WPI/PVA molecules, leading to a cohesive structure with few free groups available to link with water and allow its permeation, as can be observed on Figure 8-b. On the other hand, the highly hydrolyzed PVA structure, allows a higher permeation of water by associating its OH groups with the water molecules, as showed in Figure 8-c, with a higher diffusion of water molecules.

The water vapor permeability rate of LDPE films is around  $1.35 \times 10^{-4}$  g.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> (MANGARAJ; GOSWAMI; PANDA, 2015). WPI/PVA blends allow that approximately five times more water get through them when compared to this commercial LPDE films.

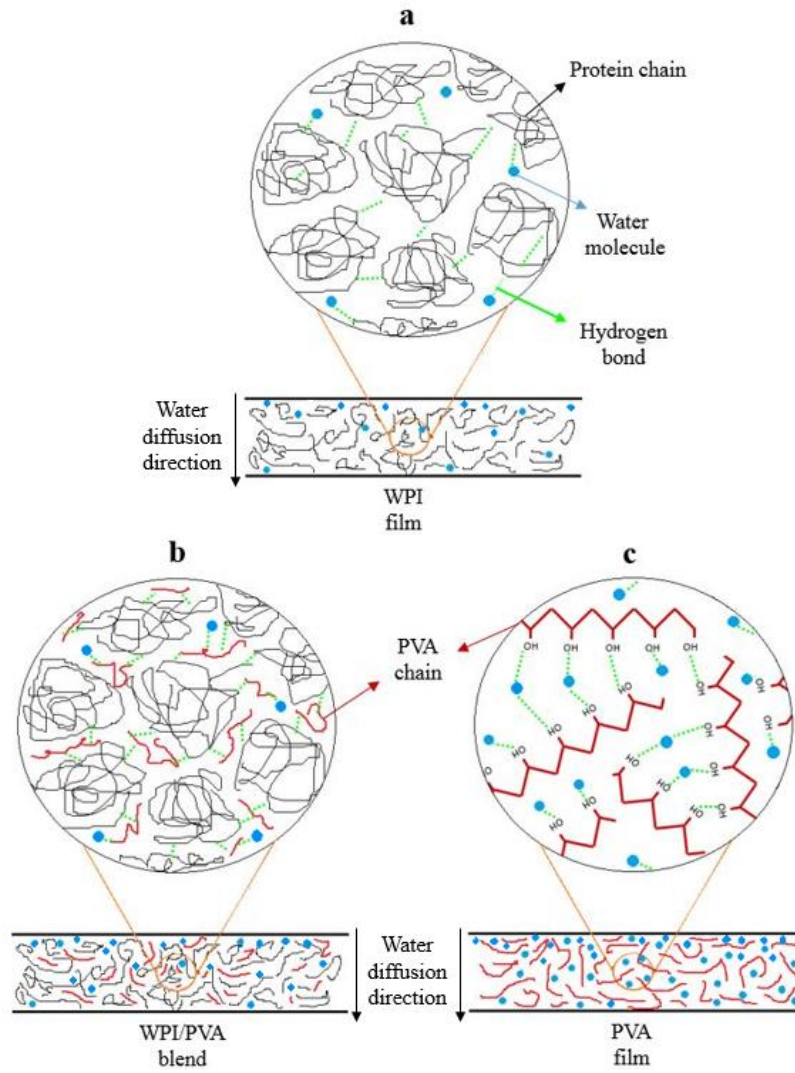


Table 1 - Mean values and standard deviations of water vapor permeability rate (WVPR) and water vapor permeability (WVP) of films

Film	%WPI/ %PVA	Thickness (mm)	WVPR	WVP
			(g.m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) *10 <sup>-4</sup>	(g.mm.m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> kPa <sup>-1</sup> ) *10 <sup>-5</sup>
<b>WPI</b>	100/0	0.176 ± 0.06a	7.89 ± 0.79a	5.70 ± 1.47a
<b>90W/10P</b>	90/10	0.161 ± 0.01a	7.03 ± 0.70a	4.75 ± 0.31a
<b>80W/20P</b>	80/20	0.143 ± 0.01a	7.67 ± 0.93a	4.64 ± 0.81a
<b>70W/30P</b>	70/30	0.188 ± 0.05a	7.05 ± 0.43a	6.62 ± 1.71a
<b>PVA</b>	0/100	0.202 ± 0.05a	13.83 ± 1.39b	11.81 ± 3.26b

Different letters represent significantly different values at ( $p \geq 0.05$ ) using Scott-Knott test.

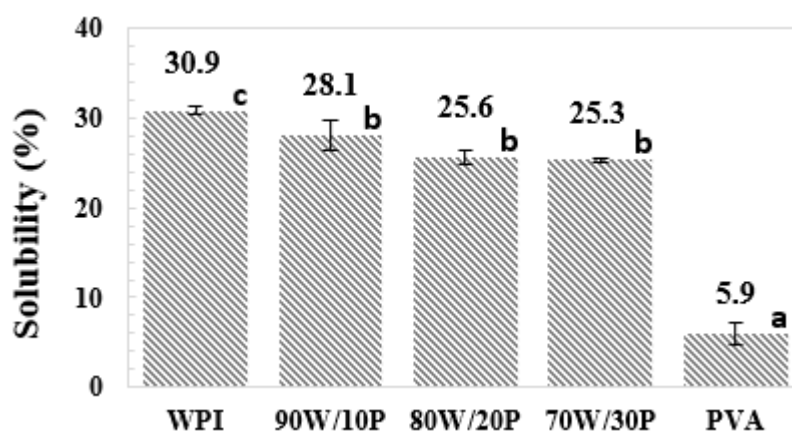
Figure 8 - Representative scheme of molecules interaction in (a) WPI film (b) WPI/PVA blends and (c) PVA film.



### 3.5 Solubility

The solubility results are presented on Figure 9. Solubility can be subordinated to the presence or absence of affinity for water of materials in general. For WPI/PVA blends, the strong interaction of PVA by water did not act increasing the blends solubility in water. Despite the large amount of hydroxyl groups in PVA, it is supposed that these groups were preferentially kept associated to the WPI chains. This result is analog to that found for WVP of the blends, corroborating the hypothesis of formation of a large amount of hydrogen bonds among the WPI and PVA chains (FIGURE 8-b) confirmed through FT-IR analysis. This way, with the addition of PVA from 10 to 30%, the blends solubility were not significantly ( $p \geq 0.05$ ) different, but presented a reduction when compared to WPI film solubility.

Figure 9 - Mean values and standard deviations of solubility of films. Different letters represent significantly different values at ( $p \geq 0.05$ ) using Scott-Knott test.



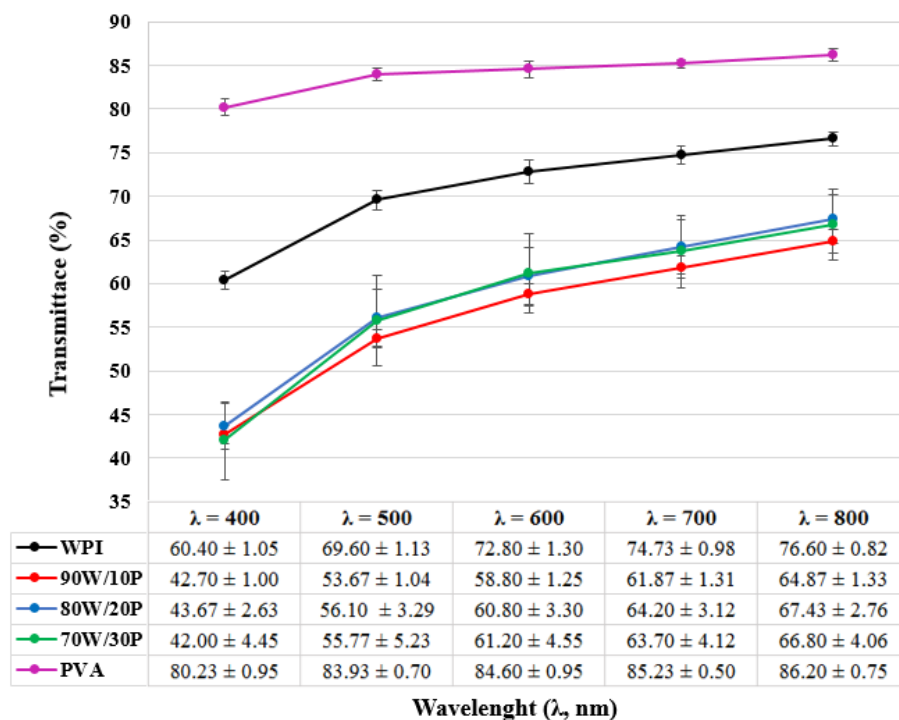
### 3.6 Optical transmittance

Food packaging applications can require or not the transparency characteristic depending to the designated application. WPI films are usually known by their transparency and colorless attributes. Figure 10 shows the visual comparison of WPI film, WPI/PVA blends and PVA film when placed in front of a same picture. The WPI film obtained in this work, as that one produced by Kadam et al. (2013), presented good visual transparency and flexibility, without bubbles or flaws. All blends presented similar visual transparency, and all of them were less transparent than WPI and PVA films. This observable phenomenon is confirmed with the transmittance measures, presented on Figure 11. Blends presented from 42.00% to 67.43% of transmittance considering all wavelengths (400, 500, 600, 700 and 800 nm), while WPI film showed up to 76.60% of transmittance. Materials that allow 100% of transmittance are considering completely transparent. PVA film presented the higher transmittance (80.23 – 86.20%), although the addition of PVA in WPI films caused a decrease on light transmittance.

Figure 10 - Visual aspect of WPI film (a), 90W/10P blend (b), 80W/20P blend (c), 70W/30P blend (d) and PVA film (e).



Figure 11- Average and standard deviation (SD) values of transmittance properties of films WPI, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA.



Transparency in films is usually associated to a highly amorphous polymer state, since in polymeric materials with crystalline regions the light passing through the film is refracted at the crystalline/amorphous interface, producing opacity (AMÉDURI; SAWADA, 2016). Blends allowed lower light transmittances, which can probably be related to strong interactions between WPI and PVA leading to a cohesive and more organized structure. Besides that, the roughness is another parameter which can influence the opacity of films (GUIMARÃES JR. et al., 2015). Microscopy analysis showed more rough structures for blends with 20% and 30%, of PVA, which can deviate the light and make them more opaque. PVA films were the most transparent, possibly

due to highly amorphous state, which can be contributed to the highest water diffusion as presupposed on Figure 8-c.

WPI film, blends and PVA film allowed better the light transmittances in higher visible wavelengths. This fact means that all films were more transparent to radiation with low frequencies, which can be desirable in cases where infrared radiation is used to collect information from devices and labels placed inside the package.

#### **4 CONCLUSION**

FT-IR and MEV analysis indicates the formation of new interactions and structures for 70W/30P blend, as well as confirms the occurrence of hydrogen bonds between WPI and PVA, and a possible compatibility between the polymers. The addition of 30% of PVA provided a lower tensile strength, but a more ductile behavior for WPI matrix, increasing ten times its flexibility, leading to tensile properties close to that from LPDE. On the other hand, puncture resistance was not affected by the PVA addition under the work circumstances. PVA did not act reducing the water barrier of WPI matrix, while caused a reduction on solubility and on optical transmittance of WPI film. Therefore, it is indicated the addition of 30% of PVA in WPI matrix for food packaging in order to improve its flexibility and reduce solubility in water, without prejudice its water barrier property.

#### **Acknowledgements**

We would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), the Universidade Federal de Lavras (UFLA) for their financial support. We would like to thank also the LME – Laboratório de Microscopia Eletrônica (UFLA).

## REFERENCES

- ALIZADEH SANI, M.; EHSANI, A.; HASHEMI, M. Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO<sub>2</sub> nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 251, p. 8–14, 19 jun. 2017.
- AMÉDURI, B.; SAWADA, H. **Fluorinated polymers**. Applications. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2016. v. 2.
- 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, 1 jan. 2015a.
- \_\_\_\_\_. 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, 01 jun. 2015b.
- \_\_\_\_\_. Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 971–980, 2017.
- CAZÓN, P. et al. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136–148, 1 jul. 2017.
- CINELLI, P. et al. Recyclability of PET/WPI/PE Multilayer Films by Removal of Whey Protein Isolate-Based Coatings with Enzymatic Detergents. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 6, 14 jun. 2016.
- CHRISTENSEN, B. T. Carbon and nitrogen in particle size fractions isolated from Danish Arable soils by ultrasonic dispersion and gravity sedimentation. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Copenhagen, v. 35, n. 2, p. 175-187, 1985.
- DÍAZ, O.; CANDIA, D.; COBOS, Á. Effects of ultraviolet radiation on properties of films from whey protein concentrate treated before or after film formation. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 189–199, 2016.



DOAK, K.W. Ethylene Polymers. In: Mark, H.M.; Bilakes, N.M.; Overberg, C.G.; Mendes, G. (Eds.). In: **Encyclopedia of Polymer Science and Engineering**, 6 ed. New York. John-Wiley & Sons, 1986.

GOUNGA, M. E.; XU, S.-Y.; WANG, Z. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. **Journal of Food Engineering**, v. 83, n. 4, p. 521–530, 1 dec. 2007.

GUIMARÃES Jr., M. et al. High moisture strength of cassava starch/polyvinyl alcohol-compatible blends for the packaging and agricultural sectors. **Journal of Polymer Research**, v. 22, n. 10, 2015.

HALIMA, N. BEN. Poly(vinyl alcohol): review of its promising applications and insights into biodegradation. **The Royal Society of Chemistry**, v. 6, p. 39823–39832, 2016.

HASSANNIA-KOLAE, M. et al. Development of ecofriendly bionanocomposite: Whey protein isolate/pullulan films with nano-SiO<sub>2</sub>. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 139–144, 1 maio 2016.

KADAM, D. M. et al. Preparation and characterization of whey protein isolate films reinforced with porous silica coated titania nanoparticles. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 1, p. 133–140, 2013.

KONTOPIDIS, G.; HOLT, C.; SAWYER, L. Invited Review:  $\beta$ -Lactoglobulin: Binding Properties, Structure, and Function. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 785–796, 2004.

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, 1 nov. 2014.

LI, J. et al. A novel strategy for making poly(vinyl alcohol)/reduced graphite oxide nanocomposites by solvothermal reduction. **Materials and Design**, v. 54, p. 520–525, 2014.

LI, Y. et al. Fabrication and characterization of TiO<sub>2</sub>/whey protein isolate nanocomposite film. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1098–1104, 1 jul. 2011.

MANGARAJ, S.; GOSWAMI, T. K.; PANDA, D. K. Modeling of gas transmission properties of polymeric films used for MA packaging of fruits. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 9, p. 5456–69, set. 2015.

MUPPALLA, S. R. et al. Carboxymethyl cellulose–polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, n. 2, p. 51–58, 1 dec. 2014.

NCBI (National Center for Biotechnology Information). **PubChem Compound Database**; CID=9988076, Available in: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9988076>>. Accessed on: 17 dec 2017.

OYMACI, P.; ALTINKAYA, S. A. Improvement of barrier and mechanical properties of whey protein isolate based food packaging films by incorporation of zein nanoparticles as a novel bionanocomposite. **Food Hydrocolloids**, v. 54, p. 1–9, 1 mar. 2016.

OZER, B. B. P. et al. Development of a novel strategy for controlled release of lysozyme from whey protein isolate based active food packaging films. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 877–886, 1 dec. 2016.

QAZANFARZADEH, Z.; KADIVAR, M. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1134–1140, 2016a.

QAZANFARZADEH, Z.; KADIVAR, M. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1134–1140, 01 out. 2016b.

RAMOS, Ó. L. et al. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food hydrocolloids**, v. 30, p. 110–122, 2013.

SCHMID, M. Whey Protein Edible Coatings: Recent Developments and Applications. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 8, p. 3254–3269, 2013a.

\_\_\_\_\_. Properties of Cast Films Made from Different Ratios of Whey Protein Isolate, Hydrolysed Whey Protein Isolate and Glycerol. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 8, p. 3254–3269, 2 ago. 2013b.

SHIMADA, K.; CLAUDE CHEFTEL, J. Sulfhydryl Group/Disulfide Bond Interchange Reactions during Heat-Induced Gelation of Whey Protein Isolate. **J. Agric. Food Chem.** v. 37, p. 161–168, 1989.

SOARES, D. S. B.; SILVA, E. E. A. N.; OLIVEIRA, T. M. Aplicação de filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 3, p. 1–5, 2016.

SOTHORNVIT, R. et al. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 279–284, 01 mar. 2010.

TIAN, H. et al. Fabrication and properties of polyvinyl alcohol/starch blend films: Effect of composition and humidity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 518–523, 2017.

WANG, L.; AUTY, M. A. E.; KERRY, J. P. Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate, gelatin and sodium alginate. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 2, p. 199–207, 01 jan. 2010.

ZHANG, W. et al. Enhanced physicochemical properties of chitosan/whey protein isolate composite film by sodium laurate-modified TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 59–65, 15 mar. 2016.

ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 1, p. 49–59, 01 jan. 2010.

ZOLFI, M. et al. Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 340–345, 01 abr. 2014.

**ARTIGO 2 - Thermal properties and water sorption thermodynamic behaviour of whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging**

**ABSTRACT**

In order to determine suitable applications for whey protein isolate (WPI)/polyvinyl alcohol (PVA) blends for food packaging sector, thermal properties and water sorption thermodynamic behavior were evaluated. The addition of up to 30% of PVA on WPI matrix did not affect the thermal stability or glass transition temperature of WPI films. Water sorption experimental data were well described by GAB model, and curves showed a more expressive increase of water sorption above water activities of 0.6 with higher equilibrium moistures ( $Y_e$ ) at lower temperatures. Differential enthalpy decreased and differential entropy increased with the  $Y_e$  gain, and the occurrence of enthalpy-entropy compensation was confirmed with enthalpy driving the sorption process. The addition of PVA to WPI matrix made the water sorption process more spontaneous. Water sorption thermodynamic analysis indicates that the application of WPI/PVA blends as packaging is suitable for foods and external environments with water activity below 0.90.

**Keywords:** Whey protein isolate; Polyvinyl alcohol; blends; water sorption isotherms.

**1 INTRODUCTION**

Packaging plays an important role in protecting quality of foods, including the management of moisture ingress or regress (MORRIS, 2016). The moisture content influences chemical and physical film properties, also determining processes such as food spoilage, and properties of food texture and crispiness level (JAKUBCZYK; MARZEC; LEWICKI, 2008; PITT; HOCKING, 2009). Therefore, is very important to know water adsorption behavior of flexible films for food packaging, since it can be used to predict

information about stability and quality changes of the packed food product (JAGADISH; RAJ, 2011). More than that, it allows predicting the film behavior under different moisture conditions inside and/or outside the packaging.

Whey protein isolate (WPI) films are known by their excellent barriers to oxygen, lipids and aromas (AZEVEDO et al., 2015). However, like other protein based films, WPI films present a hydrophilic nature, strongly interacting with water, as well as a brittle behavior, which limit their application as food packaging. In previous works, it was observed that the addition of up to 30% of polyvinyl alcohol (PVA) to the WPI matrix provided an increase on flexibility, a reduction on solubility in water and did not change the water vapor permeability of WPI films. In addition to these results, in order to define the most suitable application, is necessary to better understand the interaction of these new WPI/PVA blends with moisture, which can be accomplished through sorption isotherms studies.

Water sorption isotherms are important to hydrophilic biopolymers for packaging since their films are water sensitive, besides the fact that the water content or the water activity can strongly influence their functionality (YANG; PAULSON, 2000). However, few are the published works evaluating the sorption behavior of WPI biofilms or blends with WPI (MACHADO AZEVEDO et al., 2015; ZHANG et al., 2016; ZINOVIADOU; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2009, 2010). Besides that, the published works cited do not contemplate the study of thermodynamic properties, such as differential enthalpy ( $\Delta H_{\text{dif}}$ ), differential entropy ( $\Delta S_{\text{dif}}$ ) and Gibbs free energy ( $\Delta G$ ). These properties are essential for understanding the interactions between water and film material, to evaluate the existence of enthalpy-entropy compensation, allowing to find the mechanism which drives the sorption (enthalpy and/or entropy), and to verify the spontaneity of the water sorption process according to the film composition.

The mobility of polymer chain depends on temperature, decreasing below and increasing above the glass transition temperature ( $T_g$ ) and, therefore, sorption and transport of penetrant into the polymer will be closely related to this property (KARIMI, 2011).  $T_g$  is also dependent on moisture content and, in general, glass transition temperature of amorphous materials decreases as water content increases (JIMÉNEZ et al., 2013). Furthermore, water content can affect other thermal properties of polymeric systems, for example, decreasing thermal stability and decreasing the residue amount by weakening the intermolecular interactions among the polymer chains (DIAS et al., 2018).

This work aimed to: evaluate thermal properties (degradation profile and  $T_g$ ) and water sorption isotherms of new blends of WPI with up to 30% of PVA; understand the interaction between water and the blends under different temperatures and the mechanism which drives sorption on these materials; analyze the effect of PVA addition on the water sorption spontaneity; and determine the appropriated  $a_w$  range of foods which can be packed into the developed flexible material.

## **2 MATERIAL AND METHODS**

### **2.1 Material**

The materials used for this research were: Whey Protein Isolate (WPI 9400) with 90% of proteins produced by Hilmar Ingredients; Polyvinyl alcohol with high molecular weight ( $M_w = 130.000$  g/mol) and highly hydrolyzed (99%), from Sigma-Aldrich; Glycerol ( $\geq 99.5\%$ , density 1.26 g/mL), as plasticizer agent, produced by Sigma-Aldrich.

## 2.2 Preparation of films and blends

### 2.2.1 Preparation of films

WPI film was produced using a concentration of 6% m/v of solution. WPI (12 g) was dissolved on 200 mL of distilled water, added with glycerol (30% m/m of WPI), and kept under agitation for 30 min (250 rpm). Then, the solution was submitted to water bath at 90 °C for 30 min. After cooled at room temperature, it was homogenized in Ultra Turrax (Kika Labortchnik) for 20 min (450 rpm). The homogenized solution of 200 mL was sonified (Sonifier Cell Disruptor Branson – Model 450D, Manchester, UK) at 60% of amplitude (270 W), for 10 min (600 s) in a continuous assay, using ice bath to avoid heating. The ultrasonic energy applied to the solution was calculated through Equation 1, resulting in 810 JmL<sup>-1</sup>.

$$AE = (P \cdot t) / v, \quad (1)$$

where  $AE$  corresponds to the ultrasonic energy applied (JmL<sup>-1</sup>),  $P$  is the power emitted by the sonifier (270 W),  $t$  refers to the time of ultrasonic agitation (600 s) and  $v$  to the volume of solution (200 mL) (CHRISTENSEN, 1985).

Solution was shed on a rectangular teflon plate (750 cm<sup>2</sup>) and conditioned at room temperature for drying. Three replicates of WPI film were performed. Thickness was controlled through the volume of the shed sample (200 mL). The dried films was conditioned under controlled temperature and relative humidity (RH) (25±1 °C and 50% RH).

PVA film was also produced using a concentration of 6% m/v of solution. PVA (12g) was dissolved on 200 mL of distilled water and kept under agitation for 24h (100rpm) in order to hydrate the PVA. Glycerol (30% m/m of PVA) was added and the solution was kept under agitation for more 30 min (250

rpm). Then, the solution was submitted to water bath at 90 °C for 60 min. After cooled at room temperature, it was homogenized in Ultra Turrax and sonified in same conditions as those used for WPI film production. Finally, solution was shed on a similar teflon plate and conditioned at room temperature for drying. Three replicates of PVA film were performed. Thickness was controlled through the volume of the shed sample (200 mL). The dried films was conditioned under controlled temperature and relative humidity (RH) ( $25\pm 1$  °C and 50% RH).

### **2.2.2 Preparation of blends**

The WPI and PVA blends were produced varying the concentrations of WPI/PVA (90/10, 80/20 and 70/30), maintaining the same total amount of polymer (6% m/v of solution) and plasticizer (30% m/m of polymers). Initially a PVA solution was prepared by dissolving the polymer in 100mL of distilled water, and it was kept under agitation for 24h (100rpm) in order to hydrate the PVA. A WPI solution was separately prepared by dissolving it in 100mL of distilled water, it was added the glycerol (3.6 g), and the solution was kept under agitation for 30 min (250 rpm). The both prepared solution (PVA and WPI/glycerol) were separately submitted to water bath at 90°C for, respectively, 60 and 30 min. Then the solutions were cooled to room temperature, merged, homogenized in Ultra Turrax and sonified in same conditions as those used for WPI film production.

Finally, solution was shed on a similar teflon plate and conditioned at room temperature for drying. Three replicates of each blend were performed. Thickness was controlled through the volume of the shed sample (200 mL). The dried films was conditioned under controlled temperature and relative humidity (RH) ( $25\pm 1$  °C and 50% RH).



## **2.3 Characterization of films and blends**

### **2.3.1 Thermogravimetric analysis (TGA)**

The film thermal stability and degradation profile was determined by thermogravimetric analysis (TGA) using a DTG-60H Shimadzu. Samples of 4-6 mg were analyzed. It was used nitrogen atmosphere with 50 mLmin<sup>-1</sup> of flow, a temperature range of 25 °C to 600 °C and heating rate of 10 °C/min to obtain the TG curve. Through the first derivative (DTG) of this curve, it was possible to identify characteristic peaks of thermal degradation of the samples, and extract from the main stage of degradation, the initial and final temperatures of degradation ( $T_{id}$ ,  $T_{fd}$ ) and the temperature of maximum degradation ( $T_{max}$ ).

### **2.3.2 Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

A Differential Scanning Calorimetry analysis was performed using a DSC 60H (Shimadzu) in order to determine the glass transition temperature ( $T_g$ ), and then relate this transition to the behaviour of the films through the sorption isotherms. Film samples of 2-4 mg were heated at a heating rate of 10 °Cmin<sup>-1</sup>, and the following sequence was adopted for DSC analysis: 1) an initial heating run from 25 °C to 110 °C was performed, and the material was maintained at this temperature for 10 min to eliminate the thermal history; 2) the material was cooled from 110 °C to -50 °C; and 3) a second heating run was performed to 180 °C.

### **2.3.3 Water sorption isotherms**

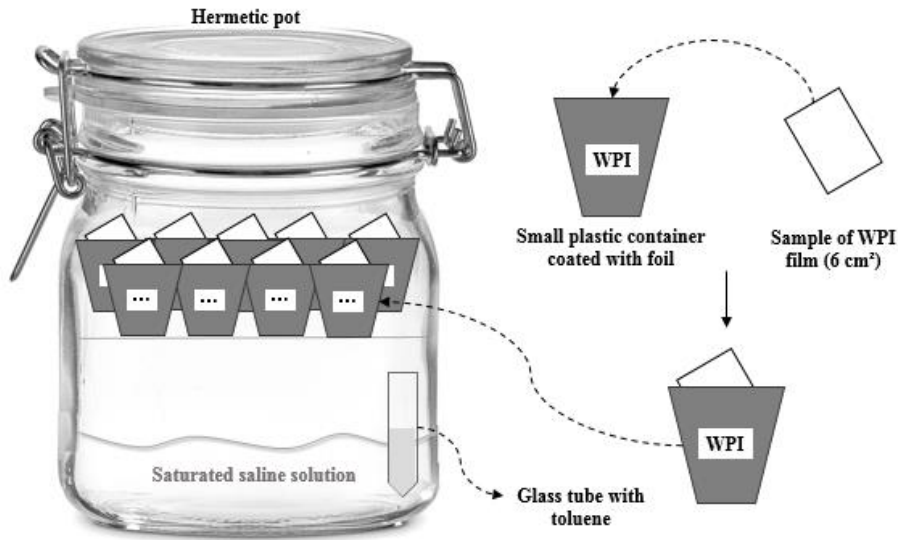
#### **2.3.3.1 Moisture content**

Before initializing the sorption isotherms tests, the moisture content of all films were determined in order to know their dry basis values. Therefore, film samples of 9 cm<sup>2</sup> were cut and had their masses measured in triplicate, before and after drying, at  $103 \pm 5$  °C for 24 h. The moisture values were determined relative to the initial mass and mass lost during drying (ASTM, 2007), and reported on a dry basis. All films presented amounts of moisture of approximately 20% in mass.

#### **2.3.3.2 Isotherms assembly**

Sorption isotherms were determined through static gravimetric method, using film samples with 6 cm<sup>2</sup>, placed in small plastic containers coated with foil (Figure 1). Three samples for each film were balanced into six hermetic pots, each one with a different saturated saline solution (MgCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, NaCl, KCl and K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), with water activity predetermined by Greenspan (1977), ranging from 0.328 to 0.985 and varying according to the temperature. A glass tube containing toluene was placed inside the pots in order to prevent fungi growth. The samples were kept into the pots until they reach equilibrium, which means a weight change  $\leq 5\%$ . The isotherms were performed for 5, 15 and 25°C seeking to determine thermodynamic parameters.

Figure 1 - Representative scheme of water sorption isotherms assembly.



### 2.3.3.3 Mathematical modeling

Since there is no published work about blends of WPI/PVA and their water sorption behavior, in order to identify a model which good describes the water sorption on the developed films and blends, four different models (Table 1) were used to adjust the experimental data. Solver tool, included in Microsoft Excel 2013, was used to carry out the non-linear fitting of experimental data (JIMÉNEZ et al., 2013).

Table 1 - Models for adjustment of water sorption isotherms.

Model	Equation
GAB <sup>a</sup>	$Y_e = \frac{Y_m C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)}$
HALSEY <sup>b</sup>	$a_w = \exp\left(\frac{-A}{Y_e^B}\right)$
SMITH <sup>c</sup>	$Y_e = A - B \ln(1 - a_w)$
OSWIN <sup>d</sup>	$Y_e = A \left(\frac{a_w}{1 - a_w}\right)^B$

$Y_e$  is the water content at the equilibrium (dry basis, g water/100 g film);  $Y_m$  is the water content of the molecular monolayer (dry basis, g water/100 g film);  $a_w$  is the water activity;  $T$  is the temperature;  $A$ ,  $B$ ,  $C$ ,  $K$  and  $n$  are constants. <sup>a</sup> (VAN DER BERG, 1984), <sup>b</sup> (HALSEY, 1948), <sup>c</sup> (SMITH, 1974), <sup>d</sup> (OSWIN, 1946)

#### 2.3.3.4 Thermodynamic properties

According to Liébanes et al. (2006), differential thermodynamic parameters reveal qualitative information regarding the different energy levels in water adsorption, while integral thermodynamic parameters provide valuable quantitative information about the system. It is desirable to know integral parameters in designs of thermal processes, for example for drying of foods. In the case of sorption analysis of packaging, differential thermodynamic parameters are those of higher interest, since the understanding of the interactions between the water and the material is more important than the known amount of energy involved.

The thermodynamic properties of differential enthalpy ( $\Delta H_{dif}$ ), differential entropy ( $\Delta S_{dif}$ ) and Gibbs free energy at the isokinetic temperature ( $\Delta G_{\beta}$ ) were calculated using the parameters obtained from the isotherm model which better described the experimental data. The calculation assumes two hypothesis: the

water adsorption process occurs on an inert solid, since the moisture equilibrium between the water molecules adsorbed on the film surface and the surrounding water vapor is reached; and the vapor has an ideal gas behavior, once only water (physically adsorbed) occupies the film surface (LIÉBANES et al., 2006).

#### 2.3.3.4.1 Differential enthalpy ( $\Delta H_{dif}$ ) and differential entropy ( $\Delta S_{dif}$ )

The differential sorption enthalpy ( $\Delta H_{dif}$ ) is used as an indicator of the intermolecular attractive forces between water vapor and sorption sites, and in this case, of the film or blend sites.  $\Delta H_{dif}$  ( $Jmol^{-1}$ ) is defined as difference between a total heat of sorption ( $Q_{st}$ ) and latent heat of vaporization of pure water ( $\lambda$ ) (TAO et al., 2018). From the Clausius-Clapeyron equation, values of  $\Delta H_{dif}$  can be determined:

$$\left[ \frac{\partial \ln(a_w)}{\partial \frac{1}{T}} \right]_{Y_e} = -\frac{Q_{st} - \lambda}{R} = -\frac{\Delta H_{dif}}{R} \quad (2)$$

Since changes on the free energy due to water sorption process are usually followed by variations of both, enthalpy and entropy, Gibbs- Helmholtz equation can be employed to determine the molar differential entropy of sorption ( $\Delta S_{dif}$ ,  $Jmol^{-1}K^{-1}$ ):

$$[-\ln(a_w)]_{Y_e} = \frac{\Delta H_{dif}}{RT} - \frac{\Delta S_{dif}}{R} \quad (3)$$

A graph of  $-\ln(a_w)$  versus  $1/T$  at certain moisture content ( $Y_e$ ) can be used to calculate  $\Delta H_{dif}$  and  $\Delta S_{dif}$ . Values of  $\Delta H_{dif}$  and  $\Delta S_{dif}$  were obtained, respectively, from the slope ( $\Delta H_{dif}/R$ ) and intersection ( $-\Delta S_{dif}/R$ ) of regression

line. This procedure was repeated at different moisture contents aiming to establish the dependence on moisture content (TAO et al., 2018).

#### 2.3.3.4.2 Theory of Enthalpy-Entropy Compensation and $\Delta G_{\beta}$

A linear relation between differential enthalpy and differential entropy is proposed by the Theory of Enthalpy-Entropy Compensation, and is given by the Equation 4 (VELÁZQUEZ-GUTIÉRREZ et al., 2015).  $T_{\beta}$  is isokinetic temperature, and was expressed as the slope of the  $\Delta S_{dif}$  versus  $\Delta H_{dif}$  graph.

$$\Delta H_{dif} = T_{\beta} \cdot \Delta S_{dif} + \Delta G_{\beta} \quad (4)$$

At  $T_{\beta}$ , all reactions occur at the same rate for different values of  $\ln(a_w)$  (L'VOV, 2007). In cases where  $T_{\beta} \neq T_{hm}$ , being  $T_{hm}$  the harmonic mean temperature, it can be assured the occurrence of enthalpy-entropy compensation, indicating changes on molecular interaction between water and material.  $T_{hm}$  was obtained through Equation 5, in which  $n$  is the number of sorption isotherms and  $T_i$  (K) is the temperature of the  $i$ th isotherm.

$$T_{hm} = \frac{n}{\sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{T_i}\right)} \quad (5)$$

A confidence interval for  $T_{\beta}$ , with a significance level of 0.05, was given by:

$$T_{\beta} = T_{\beta'} \pm t_{m-2, \alpha/2} \sqrt{Var(T_{\beta})} \quad (6)$$

where:

$$T_{\beta'} = \frac{\sum(\Delta H_{dif} - \overline{\Delta H_{dif}})(\Delta S_{dif} - \overline{\Delta S_{dif}})}{\sum(\Delta S_{dif} - \overline{\Delta S_{dif}})^2} \quad (7)$$

$$Var(T_{\beta}) = \frac{\sum(\Delta H_{dif} - \Delta G_{\beta} - T_{\beta} \Delta S_{dif})^2}{(m-2) \cdot \sum(\Delta S_{dif} - \overline{\Delta S_{dif}})^2} \quad (8)$$

$T_{\beta}$  is the slope of enthalpy-entropy plot with a 95% confidence interval calculated for the whole data set,  $Var(T_{\beta})$  is the standard error of isokinetic temperature,  $\overline{\Delta H_{dif}}$  is the average differential enthalpy,  $\overline{\Delta S_{dif}}$  is the average differential entropy,  $m$  is the number of data pairs about  $\Delta H_{dif}$  and  $\Delta S_{dif}$ .

If  $T_{hm}$  stays in the  $T_{\beta}$  interval, the obtained results about  $\Delta H_{dif}$  and  $\Delta S_{dif}$  are merely a reflection of experimental error instead of chemical factors, and the enthalpy-entropy compensation is not confirmed (TAO et al., 2018).

The existence of enthalpy-entropy compensation allows calculating the  $\Delta G$  associated to the isokinetic temperature ( $\Delta G_{\beta}$ ), through the linear coefficient of the  $\Delta S_{dif}$  versus  $\Delta H_{dif}$  graph.  $\Delta G_{\beta}$  can provide information about the spontaneity of the water sorption on the films and blends tested according to their composition.

## 2.4 Statistical analysis

The adequacy of the models used for the description of sorption isothermal behavior was analyzed by evaluating the values of coefficient of determination ( $R^2$ ) and the relative mean deviation (RMD), which is calculated through the Equation 7, where  $N$  is the number of observation (which means the number of salts, six)  $Y_{ei}$  is the  $i$ th observation and  $Y_{ep,i}$  is the value predicted by the model for the  $i$ th observation.

$$RMD = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|Y_{ei} - Y_{ep,i}|}{Y_{ei}} \quad (7)$$

Besides that, from the model with the highest  $R^2$  and the lowest RMD, it was analyzed the function between residual values and the levels of equilibrium

moisture. Residual values are the differences between the experimentally observed values and the values estimated by the model. In cases in which residual values are found in a horizontal zone near zero, not including biased results, the model can be considered as acceptable.

### **3 RESULTS**

#### **3.1 Thermogravimetric Analysis (TGA)**

Figure 2-a,b show the curves of TG and DTG for the films of WPI and PVA, as their blends, while Table 2 presents data obtained from these curves. For starch/PVA blends, there are typically three different decomposition stages. The first, between 75 °C and 200 °C, is related to the loss of adsorbed and/or bound water, as well as to the release of volatile compounds such as plasticizers; the second stage represents the main decomposition of the blends; and the third, above 500 °C, is attributed to the carbonization of organic matter (AYDIN; ILBERG, 2016). In the case of the WPI films and WPI/PVA blends produced, the degradations occurred from about 45°C to 200 °C can be attributed to the loss of water adsorbed on the films surface in lower temperatures, and also to the loss of bound water from the films structure in higher temperatures. This stage represents around 20% of mass loss, which is exactly the content of moisture obtained by drying the films.



Figure 2 - WPI, blends and PVA curves of TGA (a) and first derivative of the TGA curves (DTG, b).

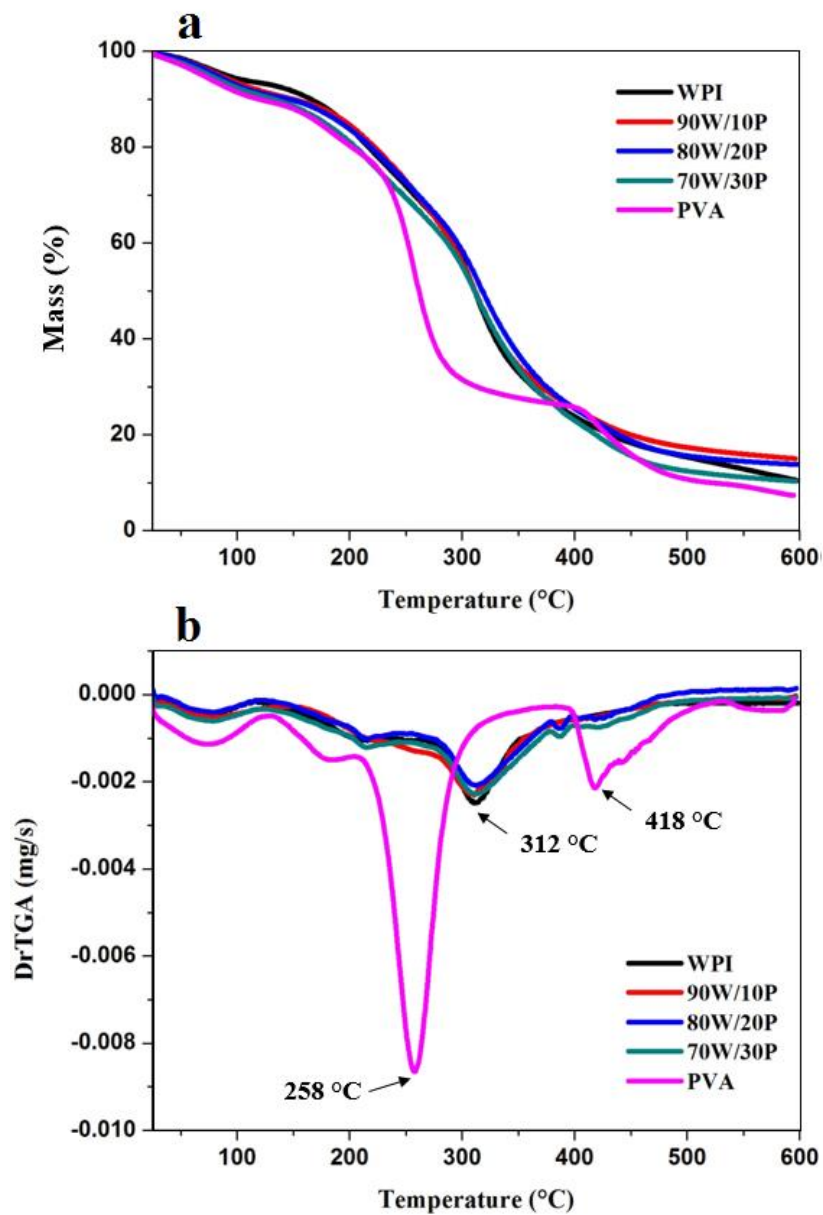


Table 2 - TGA and DSC analysis: initial degradation temperature ( $T_{id}$ , °C), final degradation temperature ( $T_{fd}$ , °C), maximum decomposition temperature ( $T_{dmax}$ , °C), mass loss of the second stage of decomposition ( $ML_2$ , %), and final residue at 600° C ( $R_f$ , %); glass transition temperature ( $T_g$ , °C).

<b>Film</b>	<b>%WPI/ %PVA</b>	<b><math>T_{id}</math></b>	<b><math>T_{fd}</math></b>	<b><math>T_{dmax}</math></b>	<b><math>ML_2</math></b>	<b><math>R_f</math></b>	<b><math>T_g</math></b>
WPI	100/0	275.62	375.28	312.68	38.04	16.61	-5.87
90W/10P	90/10	279.72	381.96	310.75	38.47	19.45	-4.62
80W/20P	80/20	278.98	377.48	312.35	36.06	17.25	-5.63
70W/30P	70/30	279.47	376.36	312.42	35.38	14.98	-5.21
PVA	0/100	214.67	315.67	257.59	48.42	9.051	71.25

From the second and main stage it was extracted the initial degradation temperature ( $T_{id}$ , °C), final degradation temperature ( $T_{fd}$ , °C), maximum decomposition temperature ( $T_{dmax}$ , °C) and mass loss ( $ML_2$ , %). WPI film and blends showed an initial temperature decomposition ( $T_{id}$ , 275 to 280 °C) superior to that presented by PVA film (215 °C). Azevedo et al. (2015) found a close value of initial temperature decomposition (260.5 °C) when producing WPI films with 40% of glycerol. Guimarães et al. (2015) observed a  $T_{id}$  for PVA films of 248 °C, a higher value than that found in the present work, although a very similar curve, with three degradation stages were showed by this author. Maybe the lower amount of glycerol used by Guimarães et al. (2015) (25%) made possible a more thermally stable PVA film, since glycerol acts plasticizing the blend and decreasing the thermal stability. PVA film also presented the highest mass loss in this stage ( $ML_2$ ), at 258 °C. In PVA films, the large amount of hydroxyl groups can contribute for the formation of decomposition reactions, and this fact increases the mass loss from the film. The final degradation temperature ( $T_{fd}$ ), as well as the maximum decomposition temperature ( $T_{dmax}$ ) and  $ML_2$  were all similar for WPI film and blends ( $T_{fd}$  around 380 °C,  $T_{dmax}$

around 312 °C and  $ML_2$  close to 36%). The addition of up to 30% of PVA on WPI matrix seems not to affect the thermal stability of WPI films, and blends kept the same TGA profile from WPI film. Analogously to  $T_{id}$ ,  $T_{dmax}$  of PVA film was lower than those found for WPI film and blends, corroborating the proposition that PVA films were less thermally stable due to the high presence of hydroxyl groups in its structure. In addition to degradation of hydroxyl groups, mass loss from 200 °C to 500 °C, as occurred more evidently for PVA film at 418 °C, can also be attributed to the formation of unsaturated and aliphatic carbon chains of low molecular weight (SIN et al., 2011).

Finally, degradation occurred above 500°C were attributed to carbonization process. Lower residue amounts are usually associated to weak intermolecular interactions, which allows high degradation during the heating and therefore, a higher mass loss (DIAS, et al. 2018). PVA film presented the lowest final residue, which can be attributed to the large amount of hydroxyl groups in its structure that, as previously stated, contributes for the formation of decomposition reactions.

### **3.2 Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

The differential scanning calorimetric analysis was performed in order to know the  $T_g$  from the WPI film, PVA film and blends, and then associate it to the water adsorption presented by the films in sorption isotherms.  $T_g$  is a very important variable when it comes to plastic food packaging because it determines the conditions of application. It is usually desirable an application in which the packaging will be used above its  $T_g$ , when the polymer presents a rubbery behavior, and not a glassy and brittle state as usually observed below  $T_g$ . However, above  $T_g$  there are larger free volume among the polymer chains, which use to provide bigger diffusion of water and/or other substances.

Table 2 presents the T<sub>g</sub> values obtained in the present work. WPI film and blends showed similar T<sub>g</sub> values, between -4.62 °C and -5.87 °C, while PVA film showed the highest T<sub>g</sub>, 71.25 °C. According to Osés et al. (2009), water can act as a plasticizer by weakening the hydrogen bonds and dipole-dipole intra and intermolecular interactions due to shielding of these forces by the water molecule, increasing the free volume and decreasing the T<sub>g</sub>. In WPI films, the presence of nitrogen and oxygen (N and O) atoms from amino and carboxylic acid groups guarantee the interaction of proteins with water molecules, leading to lower T<sub>g</sub> values. Specifically for film of highly hydrolyzed PVA, as the one used in the present work, the presence of one hydroxyl by monomer makes it a material with strong affinity by water. However, these PVA hydroxyl groups are highly interconnected by hydrogen bonding, which provides a high glass transition temperature, as observed in this work (GUIRGUIS; MOSELHEY, 2012).

In general, WPI film and blends presented close and good values of T<sub>g</sub> when it comes to packaging applications for foods stored in chilled environments, around 5°C, and for those stored in room temperatures between 15 °C and 25 °C. Besides that, the presence of only one glass transition for the blends supposedly indicates a good compatibility between WPI and PVA. The T<sub>g</sub> results for all blends similar to that from WPI shows that the addition of up to 30% of PVA on WPI films does not affect their glass transition temperature property.

### **3.3 Water sorption isotherms**

Tables 3, 4 and 5 present the parameters results from models fitting to the experimental water sorption isotherm data for all films and blends under, respectively, 5 °C, 15 °C and 25 °C. Analyzing the fitting results is possible to

affirm that GAB model is the one which best describes the moisture equilibrium data for the three different temperatures, since it presented higher values for  $R^2$  and lower values of RMD when together analyzing all films (WPI, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA). The GAB model was already used to describe the sorption behavior of WPI films by other authors (MACHADO AZEVEDO et al., 2015; ZINOVIADOU; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2009, 2010).

Besides that, residual values considering this model have always tended to zero, not including biased results, confirming the acceptability of GAB model to adjust the experimental data from WPI and PVA films and blends. Therefore, the thermodynamic analysis were performed using the GAB model.

Table 3 - Calculated parameters for the isotherm models for WPI film, blends and PVA film under 5 °C.

Isotherm Model	Films	Constants of linear fitting			R <sup>2</sup>	RMD
		$Y_m$ (g/100g)	C	K		
GAB	WPI	22.29	10.54	0.76	0.97	7.22
	90W/10P	31.91	5.53	0.66	0.99	3.63
	80W/20P	24.33	9.19	0.73	1.00	1.64
	70W/30P	25.56	11.67	0.75	0.97	4.81
	PVA	24.54	6.71	0.70	0.99	2.97
HALSEY		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	87551.05	3.69		0.81	10.96
	90W/10P	1708531.73	4.38		0.82	14.04
	80W/20P	37318.48	3.43		0.84	13.59
	70W/30P	8947.43	2.87		0.74	18.44
PVA	25101.14	3.44		0.79	15.65	
SMITH		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	18.83	36.50		0.88	9.50
	90W/10P	19.48	44.41		0.87	10.29
	80W/20P	14.70	57.60		0.91	8.29
	70W/30P	20.72	53.22		0.85	11.48
PVA	12.45	53.18		0.87	10.82	
OSWIN		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	31.55	0.24		0.85	10.67
	90W/10P	32.03	0.23		0.84	11.34
	80W/20P	31.12	0.24		0.88	11.10
	70W/30P	35.81	0.21		0.83	12.53
PVA	27.21	0.24		0.84	13.05	

Table 4 - Calculated parameters for the isotherm models for WPI film, blends and PVA film under 15 °C.

Isotherm Model	Films	Constants of linear fitting			R <sup>2</sup>	RMD
		$Y_m(g/100g)$	$C$	$K$		
GAB	WPI	19.11	11.01	0.78	0.97	6.99
	90W/10P	27.93	4.65	0.70	0.99	4.36
	80W/20P	21.64	10.53	0.75	0.99	2.97
	70W/30P	23.34	12.73	0.74	0.95	6.05
	PVA	21.64	8.11	0.72	0.99	3.03
HALSEY		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	629251.38	4.34		0.84	18.58
	90W/10P	45982.69	3.58		0.83	12.21
	80W/20P	28365.61	3.48		0.82	13.85
	70W/30P	30966.19	3.36		0.72	17.54
PVA	83699.18	3.84		0.83	13.41	
SMITH		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	15.83	37.62		0.89	9.81
	90W/10P	16.34	42.14		0.90	8.28
	80W/20P	15.05	42.44		0.90	9.71
	70W/30P	20.65	35.82		0.82	13.73
PVA	14.45	42.17		0.89	9.61	
OSWIN		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	26.97	0.26		0.84	11.97
	90W/10P	28.62	0.25		0.86	10.13
	80W/20P	27.35	0.26		0.86	11.78
	70W/30P	31.31	0.22		0.79	14.31
PVA	26.47	0.23		0.86	11.44	

Table 5 - Calculated parameters for the isotherm models for WPI film, blends and PVA film under 25 °C.

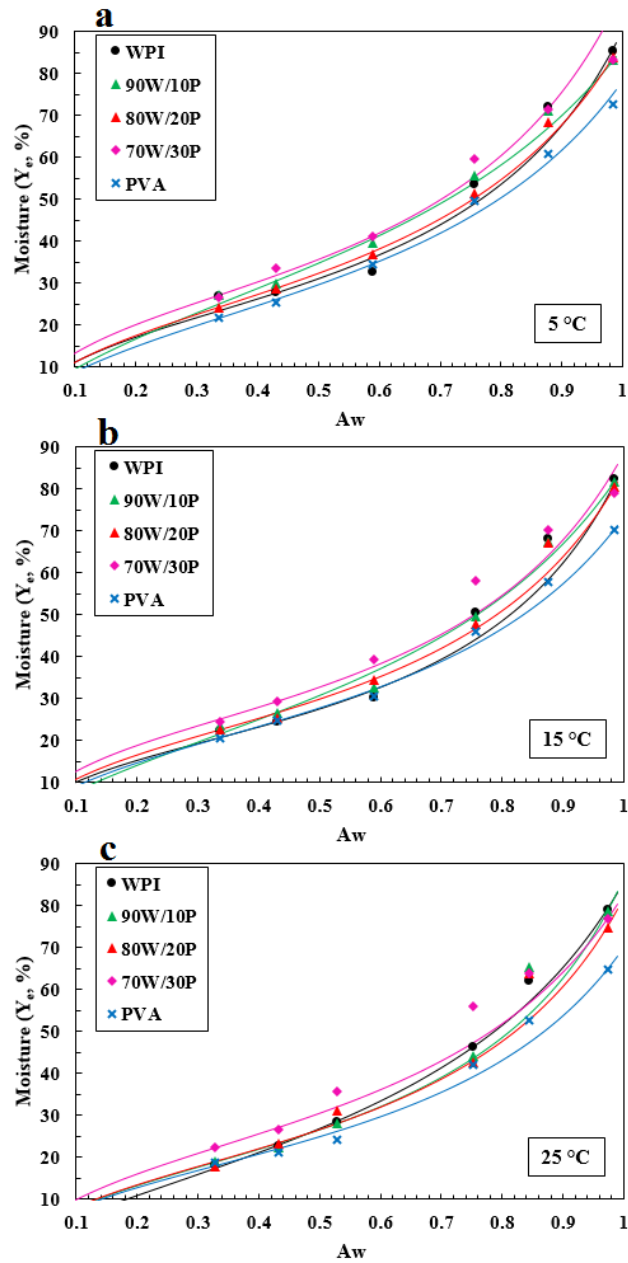
Isotherm Model	Films	Constants of linear fitting			R <sup>2</sup>	RMD
		$Y_m$ (g/100g)	C	K		
GAB	WPI	27.04	3.07	0.72	0.99	2.36
	90W/10P	19.87	7.01	0.78	0.97	4.02
	80W/20P	20.13	7.20	0.76	0.96	5.90
	70W/30P	23.65	8.09	0.73	0.99	4.75
	PVA	19.40	7.36	0.74	0.98	5.71
HALSEY		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	4642.31	2.95		0.86	15.21
	90W/10P	176364.74	4.01		0.86	21.63
	80W/20P	3942.10	2.94		0.82	15.78
	70W/30P	5798.44	2.95		0.78	16.23
PVA	4008.02	3.05		0.84	11.41	
SMITH		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	7.07	64.56		0.93	7.32
	90W/10P	9.11	57.61		0.91	7.69
	80W/20P	10.41	53.01		0.89	10.50
	70W/30P	11.50	62.38		0.91	9.00
PVA	12.55	35.58		0.91	7.89	
OSWIN		<u>A</u>	<u>B</u>			
	WPI	24.79	0.31		0.87	12.53
	90W/10P	24.47	0.33		0.86	11.17
	80W/20P	25.45	0.30		0.85	13.52
	70W/30P	28.82	0.29		0.87	11.77
PVA	22.99	0.29		0.87	9.37	

Figure 3-a,b,c shows the water sorption isotherms under the three different tested temperatures and adjusted by the GAB model. According to the Brunauer's classification, at 5 °C, 15°C and 25 °C all films presented a sigmoid type II format (BRUNAUER,1938). This format is typical of adsorption of gases by a nonporous matrix. Towns (1995) explains that typical sorption isotherms of



proteins present a first region in which water binds to protein charged sites and highly polar groups; a second region presenting the transition of water from monolayer to multilayer coverage, where water binds to weaker sorption sites and through clustering or filling of free volumes created by the polymer swelling; and a third region where water is condensate in very weak protein sites and/or in layers of weakly held water.

Figure 3 - Water sorption isotherms (% Moisture – g water/100g film versus  $a_w$ ) of WPI film, blends and PVA film under (a) 5 °C, (b) 15 °C and (c) 25 °C, adjusted through GAB model.



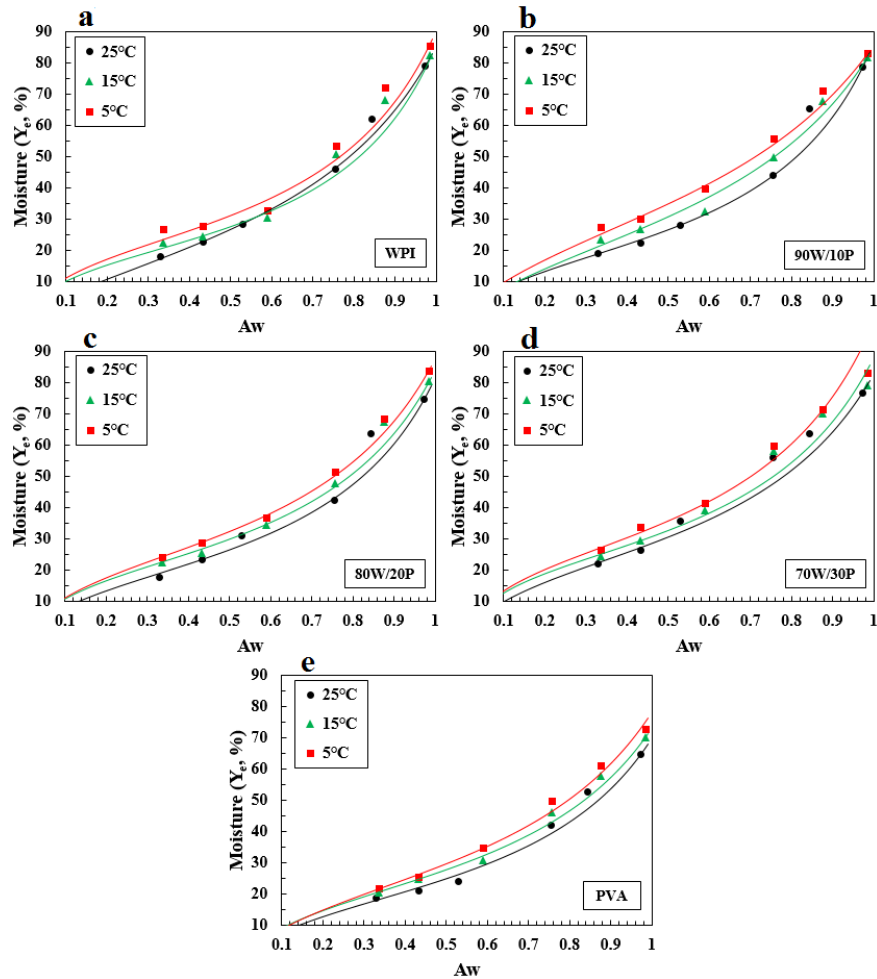
All films in all tested temperatures presented a more expressive increase of water sorption above  $a_w = 0.6$ . This result is related with the larger amount of free water on higher water activities, allowing the film to adsorb more moisture. Besides that, this behavior can be also caused by structural changes occurred with the water content increase, which facilitated the water diffusion. PVA film showed lower equilibrium moistures when compared to WPI films and blends for all the three temperatures tested. Possibly, the work temperatures expressively below its  $T_g$ , led to a lower free volume in its matrix allowing less water molecules to adsorb on it. However, the addition of up to 30% of PVA into the WPI matrix, seems not to decrease the equilibrium moisture values. Besides that, when 30% of PVA is added to the WPI matrix, an increase on the equilibrium moisture is showed at 5 °C, 15 °C and 25 °C. Possibly, the addition of this larger amount of PVA produced an increase on the free volume among the chains of both polymers, allowing a higher water diffusion through the 70W/30P blend.

Figure 4-a,b,c,d,e exposes the water sorption behavior of each film, separately, according to the different tested temperatures, also adjusted through GAB model. For all films is possible to realize that the equilibrium moistures were increased when the temperature decreased along the water activities. In higher temperatures, the excitation of water molecules decreases the interaction among them, therefore decreasing the water adsorption (RAMOS; MANCINI; MENDES, 2015). Kaya and Kahyaoglu (2005) explains that higher temperatures can activate water molecules to higher energy levels allowing them to leave their sorption sites, and it decreases the equilibrium moisture.

For WPI film and blends, in which the  $T_g$  (around -5 °C) is close to the tested temperatures, especially at 5 °C, another behavior could be presented. With a temperature close to the  $T_g$ , the molecules from the material can have lower mobility, as well as lower free volume among them, allowing a lower

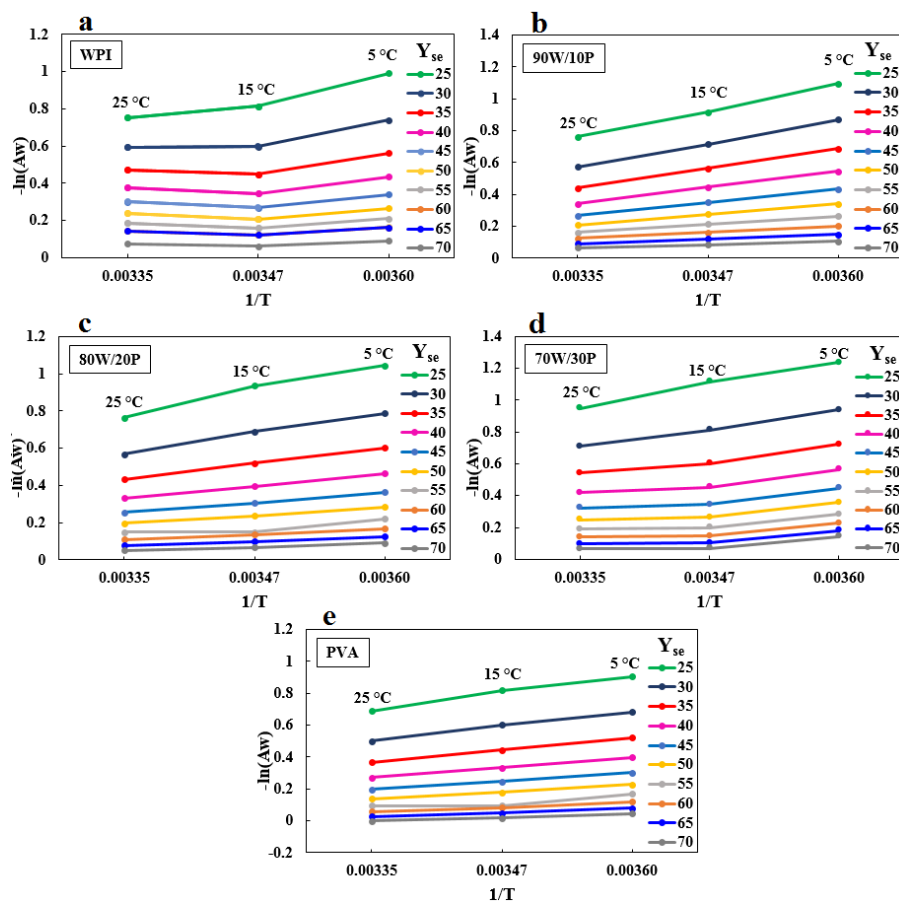
amount of water to diffuse and, therefore, the material presents lower  $Y_e$  values. Regarding WPI film and blends, it can be assumed that temperature of adsorption are more influent on the amount of water adsorbed than the  $T_g$  values of these materials. Besides that, at levels of water content of the molecular monolayer ( $Y_m$ ) until 9%, the mobility of the absorbed water, as well as the flexibility of the polymer chains are limited (TOWNS, 1995). As can be observed on Tables 4, 5 and 6, for GAB model, the  $Y_m$  were always above 9% at 5 °C, 15 °C and 25 °C, reaching almost 26% when analyzing the 70W/30P blend at 5°C. It indicates that water can be acted as plasticizer and possibly decreased the  $T_g$  at higher values of  $a_w$ , leading to higher  $Y_e$  values.

Figure 4 - Water sorption isotherms (% Moisture – g water/100g film versus  $a_w$ ) of (a) WPI film, (b) 90W/10P, (c) 80W/20P, (d) 70W/30P and (e) PVA film under 5 °C, 15 °C and 25 °C, adjusted through GAB model.



By analyzing established values of  $a_w$  in terms of the tested temperatures according to the Equation 3, it was possible to obtain the graphs showed on Figure 5. Through the graphs, it was extracted the differential enthalpy (angular coefficient), as well as the differential entropy (linear coefficient).

Figure 5 - Relation between water activity and temperature ( $-\ln(a_w)$  versus  $1/T$ ) for different values of  $Y_e$  of (a) WPI film, (b) 90W/10P, (c) 80W/20P, (d) 70W/30P and (e) PVA.



### 3.3.1 Differential enthalpy ( $\Delta H_{dif}$ )

Figure 6 presents the behavior of differential enthalpy ( $\Delta H_{dif}$ ) according to the equilibrium moisture content ( $Y_e$ , %, g water absorbed/100 g dry film) on the films.  $\Delta H_{dif}$  gives information about the state of the water adsorbed to the material surface, and can reflect the physical, chemical and microbiological stabilities of this material (TAO et al., 2018). On Figure 6 is possible to observe, for all films, that differential enthalpy decreases with the equilibrium moisture

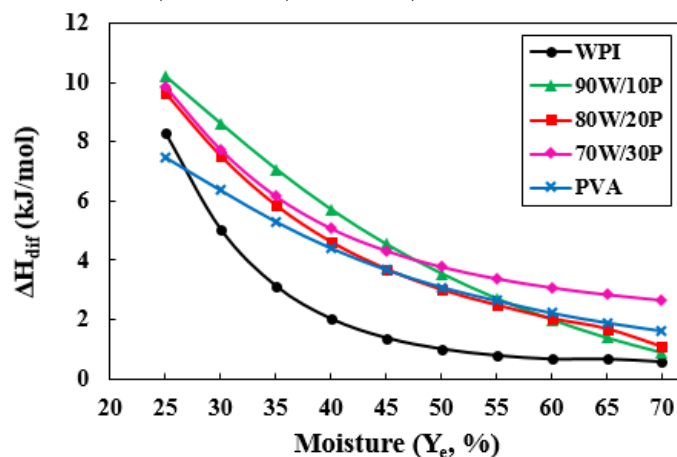
gain until values close to zero. This behavior is expected, since the enthalpy is higher when interactions between water molecules and polymer are stronger in available sites of high energy. With the increment of moisture content, occurs a saturation of the polymer sorption sites with formation of multilayers of adsorption, decreasing these interactions, and, therefore decreasing enthalpy. Besides that, the  $\Delta H_{\text{dif}}$  approaching to zero at high moisture content, indicates that the heat of water adsorption was close to heat of vaporization of water. Another authors, analyzing thermodynamic parameter of water sorption in food systems retorted a similar behavior (SILVA et al., 2014; TAO et al., 2018).

All blends presented an approaching of  $\Delta H_{\text{dif}}$  to zero at moisture contents always above 70%, meaning that at  $Y_e$  above 70% the enthalpy of the sorption water process in WPI/PVA blends becomes similar to the water vaporization enthalpy. Below this value of moisture content, the energy required to vaporize the water molecules adsorbed on the film is higher than that required to vaporize pure water. Al-Muhtaseb, McMinn and Magee (2004), in water sorption tests with starch powders, explain that differential enthalpies higher than vaporization enthalpy indicate that energy of binding between water and active polar sites on the food surface are higher than the energy which holds the pure water molecules together in the liquid phase. This explanation can be extended to the results obtained for the biopolymeric films and blends analyzed.

On Figure 4 is possible to observe that films and blends achieve 70% of equilibrium moisture approximately above 0.90 of water activity. Therefore, when it comes to the WPI/PVA blend application as packaging, is desirable a food, as well as an external environment, with water activities below 0.90, in which the stability of the films are higher due to the more stable bonds with water molecules. The referred water activities are also desirable to prevent a constant process of evaporation/condensation of water molecules on the inner film surface, which can drip to the food, affecting its quality. Foods such as

pasta, dry vegetables and fruits, cereals, some candies, honey and jams, for example, present  $a_w$  below 0.90 (JAY, 2006). However, fresh fruits, vegetables, meat and fish have  $a_w$  always above 0.90, and then are not indicated to be conditioned in the developed blends.

Figure 6 - Differential enthalpy according to the equilibrium moisture content for WPI film, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA film.



### 3.3.2 Differential entropy ( $\Delta S_{dif}$ )

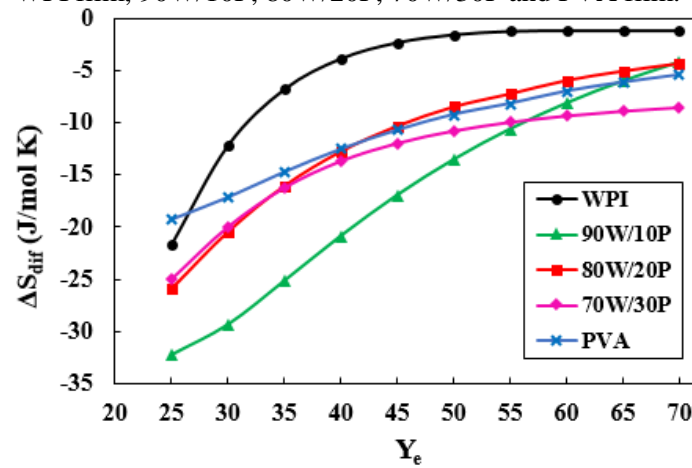
Figure 7 shows the differential entropy ( $\Delta S_{dif}$ ) behavior according to the equilibrium moisture content ( $Y_e$ , %, g water absorbed/ 100 g dry film) on the films. Unlike enthalpy, entropy increases with the  $Y_e$  for all the films. Tao et al. (2018), in their water sorption isotherms of blueberry juice powders and fruit powders study, related a similar behavior of dependence of  $\Delta S_{dif}$  on moisture content with an increasing trend with the moisture increment.

Changes of  $\Delta S_{dif}$  can be related with the variation of number of available sorption sites of the material. In lower moisture contents, water molecules are located in high energy binding sites of the film, allowing low rotational freedom and randomness degree, thus leading to lower entropies (KAYA;



KAHYAOGLU, 2005). When moisture content increases, these high energy sites begin to saturate, then allowing the mobility of water molecules adsorbed, increasing their randomness and the system entropy. Besides that, negative values of  $\Delta S_{\text{dif}}$  indicates the presence of a large number of polar groups which can bind strongly with water (ROSA; MORAES; PINTO, 2010).

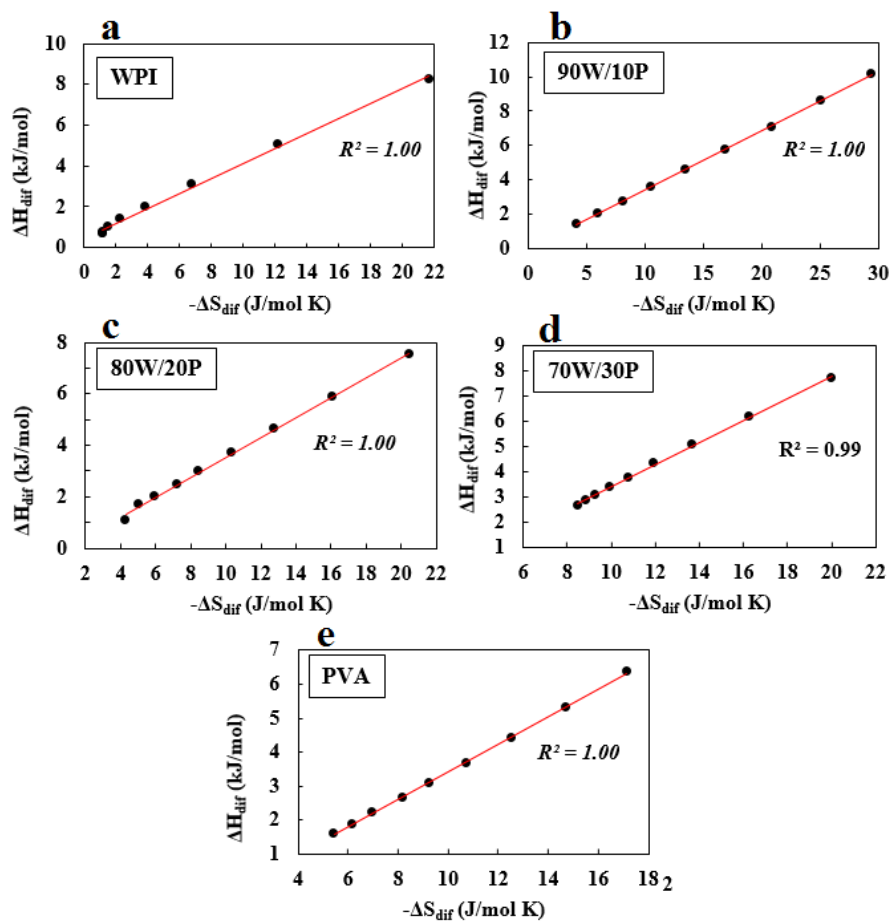
Figure 7 - Differential entropy according to the equilibrium moisture content for WPI film, 90W/10P, 80W/20P, 70W/30P and PVA film.



### 3.3.3 Enthalpy-entropy compensation

Figure 8 presents the linear relation between differential enthalpy and differential entropy for all films, with great coefficients of determination ( $R^2$ ) varying from 0.99 to 1.00, indicating the occurrence of enthalpy-entropy compensation for all films.

Figure 8 - Linear relation between differential enthalpy and differential entropy for (a) WPI film, (b) 90W/10P, (c) 80W/20P, (d) 70W/30P and (e) PVA.



Through the adjusted lines, it was possible to obtain the isokinetic temperatures ( $T_\beta$ ) and free Gibbs energies at  $T_\beta$  ( $\Delta G_\beta$ ) and, after that, the harmonic mean temperatures ( $T_{hm}$ ) were calculated. These variables are presented on Table 6.

Table 6 - Values of isokinetic temperature ( $T_{\beta}$ ) and free Gibbs energy ( $\Delta G$ ) and harmonic mean temperature ( $T_{hm}$ ) for the sorption process of the films.

<b>Films</b>	<b><math>T_{\beta}</math> (K)</b>	<b><math>\Delta G_{\beta}</math> (Jmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>T_{hm}</math> (K)</b>
WPI	397.00 ± 88.51	-55.31	287.92
90W/10P	433.50 ± 7.42	-169.73	287.92
80W/20P	399.52 ± 20.13	-328.44	287.92
70W/30P	453.56 ± 24.68	-974.44	287.92
PVA	395.93 ± 26.25	-613.86	287.92

Since  $T_{\beta} \neq T_{hm}$  for all films, considering the confidence interval, it can be assured the occurrence of enthalpy-entropy compensation, predicted by the linear relation between these parameters. The compensation indicates changes on molecular interaction between water and material. When a transformation occurs in a system, such as the sorption process in biopolymeric films, its enthalpy and its entropy are modified. Compensation occurs because, if the interaction between the water and the polymer is strong, the enthalpy increases, while the molecules freedom of configuration is reduced, as well as the entropy. All films presented  $T_{\beta} > T_{hm}$ , indicating only one mechanism of sorption controlled by enthalpy. These results show that energy interactions related to the film composition are more influent than the number of available sorption sites for all films and blends (TELIS et al., 2000).

Results of  $\Delta G_{\beta}$  can indicate about the water sorption process spontaneity at the isokinetic temperature, representing the energy required to a water molecule in vapor state to adsorb on the film surface. All films and blends presented a negative  $\Delta G_{\beta}$ , indicating that the water is spontaneously adsorbed to them. WPI film showed a less spontaneous sorption, with a  $\Delta G_{\beta}$  of -55.31 Jmol<sup>-1</sup>, than PVA film, which showed -613.83 Jmol<sup>-1</sup>. Since the sorption is more spontaneous in PVA, as expected, WPI films with larger amounts of PVA had lower  $\Delta G_{\beta}$  values. When added in 30%, PVA acted intensely increasing the

interaction of WPI films with water, being the the water sorption for 70W/30P blend more spontaneous than that for PVA film. 70W/30P blend, on previous work, presented a reduction on solubility in water and similar water permeability when compared to WPI film. This behavior indicates that possibly this blend allowed a higher water diffusion through its matrix, due to a higher free volume among the polymers chain caused by the higher amount of PVA. This higher water diffusion can explain the more expressive spontaneity of water adsorption obtained for this blend.

#### **4 CONCLUSION**

The addition of up to 30% of PVA on WPI matrix did not affect the thermal stability or Tg of WPI films, being the blends applicable to packaging for foods stored in chilled environments and in room temperatures. Water sorption experimental data were well described by GAB model, and curves showed a more expressive increase of water sorption above  $a_w = 0.6$  and higher equilibrium moistures at lower temperatures. Differential enthalpy decreased and differential entropy increased with the equilibrium moisture gain, and the occurrence of enthalpy-entropy compensation was confirmed with enthalpy driving the sorption process. The addition of PVA to WPI matrix made the water sorption process more spontaneous. Water sorption thermodynamic analysis indicates that the application of WPI/PVA blends as packaging is suitable for foods and external environments with water activity below 0.90.

#### **Acknowledgements**

We would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), the Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq), the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), the Universidade Federal de Lavras (UFLA) for their financial support. We would like to thank also the LME – Laboratório de Microscopia Eletrônica (UFLA).

## REFERENCES

AL-MUHTASEB, A. H.; McMINN, W. A. M.; MAGEE, T. R. A. Water sorption isotherms of starch powders: Thermodynamic characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 62, 135-142, 2004.

ASTM. American Society Standard Testing and Materials. **Standard test method for moisture content of paper and paperboard by oven drying**. ASTM D644-99R07. Philadelphia. 2007.

AYDIN, 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. 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, 2015.

BERISTAIN, C. I., GARCIA, H. S., AZUARA, E. Enthalpy-entropy compensation in food vapor adsorption. **Journal of Food Engineering**, v. 30, 405-415, 1996.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**. v.60, n. 2, p.309- 319, 1938.

CHRISTENSEN, B. T. Carbon and nitrogen in particle size fractions 664 isolated from Danish Arable soils by ultrasonic dispersion and gravity 665 sedimentation. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Copenhagen, v. 35, n. 2, 666 p. 175-187, 1985.

DIAS, M. V. et al. Thermal and morphological properties and kinetics of diffusion of antimicrobial films on food and a simulant. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 15–22, 2018.

GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. **Journal of Research of the National Bureau of Standards**. A. Physics and Chemistry, 81a, 89-112, 1977.

GUIMARÃES, M. et al. High moisture strength of cassava starch/polyvinyl alcohol-compatible blends for the packaging and agricultural sectors. **Journal of Polymer Research**, v. 22, n. 10, 2015.

GUIRGUIS, O. W.; MOSELHEY, M. T. H. Thermal and structural studies of poly(vinyl alcohol) and hydroxypropyl cellulose blends. **Natural Science**, v. 4, n. 1, p. 57–67, 2012.

HALSEY, G. Physical adsorption on uniform surfaces. In: **The Journal of Chemical Physics**, v. 16, n. 10, p. 931-937, 1948.

IGLESIAS, H. A.; CHIRIFE, J.; VIOLLAZ, P. Thermodynamics of water vapor sorption by sugar beet root. **J. Food Technology**, v. 11, p. 91-101, 1976.

JAGADISH, R. S.; RAJ, B. Properties and sorption studies of polyethylene oxide starch blended films. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1572–1580, 2011.

JAKUBCZYK, E.; MARZEC, A.; LEWICKI, P. P. Relationship between water activity of crisp bread and its mechanical properties and structure. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 58, n. 1, p. 45–51, 2008.

JAY, M. J.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7th ed. New York, 790 p., 2006.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Phase transitions in starch based films containing fatty acids. Effect on water sorption and mechanical behaviour. **Food hydrocolloids**, v. 30, p. 408–418, 2013.

KARIMI, M. Diffusion in Polymer Solids and Solutions. In: **Mass Transfer in Chemical Engineering Processes**. Croatia: InTech, 2011. 318 p.

KAYA, S.; KAHYAOGU, T. Influence of dehulling and roasting process on the thermodynamics of moisture adsorption in sesame seed. **Journal of Food Engineering**, v. 76, p. 139–147, 2005.

LIÉBANES, M. D.; ARAGÓN, J. M.; PALANCAR, M. C.; ARÉVALO, G. JIMÉEZ, D. Equilibrium moisture isotherms of two-phase solid olive oil by-products: Adsorption process thermodynamics. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, 282-283, p. 298-306, 2006.

LIM, L.-T.; MINE, Y.; TUNG, M. A. Barrier and Tensile Properties of Transglutaminase Cross-linked Gelatin Films as Affected by Relative Humidity, Temperature, and Glycerol Content. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 4, 1999.

LOVOV, B. V. **Thermal decomposition of solids and melts : new thermochemical approach to the mechanism, kinetics, and methodology**. [s.l.] Springer, 2007.

MORRIS, B. A. **The science and technology of flexible packaging : multilayer films from resin and process to end use**. Cambridge, MA, United States: Elsevier Inc., 2016.

OSÉS, J. et al. Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 125–131, 2009.

OSWIN, C.R. The kinetics of package life. III. The isotherm. **Journal of Chemical Industry**. v.65, p.419–42, 1946.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 3. ed. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2009.

RAMOS, B. A.; MANCINI, M. C.; MENDES, M. F. Isotermas de sorção e propriedades termodinâmicas do pinhão-manso (*Jatropha curcas*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v. 17, n. 4, p. 371–380, 2015.

ROSA, G. S.; MORAES, M. A.; PINTO, L. A. A. Moisture sorption properties of chitosan, **LWT– Food Science and Technology**, v. 43, p. 415–420, 2010.

SILVA, E. K.; FERNANDES, R. V. de B.; BORGES, V. S.; BOTREL, D. A.; QUEIROZ, F. Water adsorption in Rosemary essential oil microparticles: Kinetics, thermodynamics and storage conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 140, 39-45, 2014.

SIN, L. T. et al. Determination of thermal stability and activation energy of polyvinyl alcohol–cassava starch blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 303–305, 1 jan. 2011.

SLAVUTSKY, A. M.; BERTUZZI, M. A. A phenomenological and thermodynamic study of the water permeation process in corn starch/MMT films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 551–557, 2012.



SMITH, S.E. The sorption of water vapour by high polymers. **Journal of the American Chemical Society**. v.69, p.646, 1947.

TAO, Y. et al. Thermodynamic sorption properties, water plasticizing effect and particle characteristics of blueberry powders produced from juices, fruits and pomaces. **Powder Technology**, v. 323, p. 208–218, 2018.

TELIS, V. R. N.; GABAS, A. L.; MENEGALLI, F. C.; TELIS-ROMERO, J. Water sorption thermodynamic properties applied to persimmon skin and pulp. **Thermochimica Acta**, v. 343, 49–56, 2000.

TOWNS, J. K. Moisture content in proteins: its effects and measurement. **Journal of Chromatography A**, v. 705, p. 115–127, 1995.

VAN DEN BERG, C. Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the GAB model of sorption. In: **Engineering and Food**. London: B. M. McKenna Elsevier Applied Science, v. 1, p.311-321, 1984.

VAN DEN BERG, C.; BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems. In: Rockland, Stewart, Water Activity: Influence on Food Quality. Academic Press, New York, p.147–17, 1981.

VELÁZQUEZ-GUTIÉRREZ, S. K.; FIGUEIRA, A. C.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; ROMÁN-GUERRERO, A.; CARRILLO-NAVAS, H.; PÉREZ-ALONSO, C. Sorption isotherms, thermodynamic properties and glass transition temperature of mucilage extracted from chia seeds (*Salvia hispanica* L.), **Carbohydrate Polymers**, v. 121, p. 411–419, 2015.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan @lms. **Food Research International**, v. 33, p. 563–570, 2000.

ZHANG, W. et al. Enhanced physicochemical properties of chitosan/whey protein isolate composite film by sodium laurate-modified TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 59–65, 2016.

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.

ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 1, p. 49–59, 2010.