

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ANA PAULA STORT FERNANDES

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES
FILMOGÊNICAS DE PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE
SUBMETIDAS À IRRADIAÇÃO E MODIFICAÇÃO DE pH**

Goiânia
2014



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TEDE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações - BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor(a):	Ana Paula Stort Fernandes		
CPF:	024.987.091-69	E-mail:	ana.stort@gmail.com
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não			
Vínculo Empregatício do autor	Bolsista		
Agência de fomento:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Sigla:	Capes
País:	Brasil	UF:	GO
CNPJ:			
Título:	Avaliação e Caracterização das Propriedades Filmogênicas de Proteínas do Soro de Leite submetidas à Irradiação e Modificação de pH		
Palavras-chave: pH, radiação gama, filmes biodegradáveis; proteínas do soro de leite			
Título em outra língua:	Evaluation and Characterization of Whey Film Protein Properties submitted to Radiation and Modification of pH		
Palavras-chave em outra língua: pH, gamma radiation; biodegradable films; whey proteins			
Área de concentração:	Ciência e Tecnologia de Alimentos		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	14/02/2014		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos		
Orientador(a):	Ângelo Luiz Fazani Cavallieri		
CPF:	213109928-27	E-mail:	angelo.lf.cavallieri@gmail.com
Co-orientador(a):	Adriana Régia Marques de Souza		
CPF:	036792546-01	E-mail:	adriana.souza@pq.cnpq.br

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ ☒ total ☐ parcial

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do (s) arquivo (s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação. O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Ana Paula Stort Fernandes
Assinatura do(a) autor(a)

Data: 07 / 03 / 2014

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

ANA PAULA STORT FERNANDES

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES
FILMOGÊNICAS DE PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE
SUBMETIDAS À IRRADIAÇÃO E MODIFICAÇÃO DE pH**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri

Co-Orientadora: Profa. Dra. Adriana Régia Marques de Souza

Goiânia
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

F364a	Fernandes, Ana Paula Stort. Avaliação e caracterização das propriedades filmogênicas de proteínas do soro de leite submetidas à irradiação e modificação de pH [manuscrito] / Ana Paula Stort Fernandes. - 2014. 98 f. Orientador: Prof.Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri; Co-Orientadora: Prof^a.Dr^a. Adriana Régia Marques de Souza. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia, 2014. Bibliografia. 1. Soro de leite – Filmes biodegradáveis 2. Soro de leite - Proteína 3.Biomateriais – Tecnologia 4. Leite – pH - Radiação 5. Embalagens biodegradáveis I. Título. CDU: 637.13
-------	---



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

ANA PAULA STORT FERNANDES

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES FILMOGÊNICAS DE
PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE SUBMETIDAS Á IRRADIAÇÃO E
MODIFICAÇÃO DE pH**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 14 de fevereiro de 2014, pela Banca
Examinadora constituída pelos membros:

Prof. Dra. Adriana Régia Marques de Souza
Membro – EA/UFG

Prof. Dra. Maria Ássima Bittar Gonçalves
Membro – EA/UFG

Prof. Dr. Flávio Alves da Silva
Membro – EA/UFG

Prof. Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri
Presidente – EA/UFG

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora, por ter guiado meus passos todos os dias, por ter escutado minhas orações e anseios.

Aos meus pais, Maria Elena e Júlio César, pelo amor incondicional, pela amizade, por me ensinar a lutar pelos meus ideais e não me render diante das dificuldades.

Ao meu irmão, Dudu, pelo companheirismo, por cada gesto, palavras e abraços de conforto.

Ao meu amor, João Paulo, pela paciência, dedicação, ajuda e, acima de tudo, por sempre acreditar que eu posso ir além.

À pequena e doce Anita, por transmitir uma alegria irradiante no meu coração.

Às minhas amigas Ermã, Gabi, Carol, Deda, Tóia e Naty, por todo apoio e palavras de estímulo.

Aos meus queridos orientadores Adriana e Ângelo. À Adriana, pela sua presença constante em todas as etapas de desenvolvimento desse trabalho, pelo incentivo, respeito e confiança. Você foi mais que orientadora, você passou a ser uma amiga de coração. Ao Ângelo, pela contribuição imprescindível no desenvolvimento desse trabalho, pelo apoio, disponibilidade e gentileza. Obrigada por tudo!

À minha amiga Dayana, que não mediu nenhum esforço para o esclarecimento das minhas dúvidas. Obrigada pela ajuda preciosa!

Aos professores Celso, Ássima, Gabriel, Robson, Lucidarcy, Flávio e Clarissa, pelo apoio e contribuição com esse trabalho.

Aos técnicos de laboratório Anna Paula, Deivis e Anderson.

Ao Laboratório de Biologia Molecular (ICB II – UFG), nas pessoas do professor Alexandre Bailão e do mestrando Luiz Paulo, que não mediram esforços na realização das análises de eletroforese.

Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução – LABMIC (IF-UFG), nas pessoas da Tatiane e Nayara, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

À Juliana Braga pela ajuda e dedicação na realização das análises.

Aos meus colegas de mestrado, em especial à Thaty, Nayana, Priscylla, Mirtza Izabel e Fernanda.

À professora Katiuchia e à Marinna Barros, pelos ensinamentos transmitidos durante a graduação.

À banca examinadora pela disponibilidade e por contribuir com meu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo financiamento desse projeto.

A Arla Foods Ingredients pelo fornecimento do concentrado proteico de soro de leite.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho. O meu
MUITO OBRIGADA!

“Eu aprendi que todos querem viver no topo da montanha, mas toda felicidade e crescimento ocorrem quando você está escalando-a.”

(William Shakespeare)

RESUMO

As embalagens compõem grande parte dos descartes diários dos resíduos domiciliares e estes resíduos domésticos são os mais impactantes ao meio ambiente. O desenvolvimento de material para embalagem biodegradável, visando substituir polímeros sintéticos, é uma abordagem utilizada na tentativa de reduzir o impacto ambiental provocado pela degradação muito lenta das embalagens de material sintético. Sabe-se que o desenvolvimento de tecnologia de biomateriais, aplicáveis aos vários setores industriais, na área de embalagens, vem ganhando atenção especial em relação à questão da preservação do ambiente. O objetivo desse estudo foi desenvolver filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a modificações de pH, e avaliar suas propriedades mecânicas, ópticas, estruturais e de barreira. O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado protéico de soro de leite foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods. A análise estatística dos dados foi efetuada por meio de análises de variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). O programa computacional R versão 2.15.1 (Vienna, Austria) foi utilizado para cálculos. No experimento, todas as análises foram feitas com três repetições lidas em triplicatas com exceção dos testes mecânicos, em que as três repetições foram lidas nove vezes. Concluiu-se que as proteínas de soro de leite apresentaram ser uma excelente alternativa para a produção de filmes biodegradáveis. Os filmes apresentaram-se translúcidos, de coloração amarelada, sem tendência a cores verde e vermelha. Os filmes de pH 8,5 tiveram valores de opacidade aumentados com o incremento das doses de radiação. Os filmes de pH 5,5 apresentaram valores de solubilidade em água inferiores aos demais, devido à proximidade do ponto isoelétrico das proteínas do soro de leite. A modificação de pH e o processo de irradiação podem servir como uma alternativa para alterar as propriedades de filmes a base de concentrado protéico de soro de leite e, conseqüentemente, representaram uma alternativa de matéria-prima na elaboração de filmes biodegradáveis.

Palavras-chave: pH; Radiação gama; Filmes biodegradáveis; Proteínas do soro de leite.

EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF WHEY FILM PROTEIN PROPERTIES SUBMITTED TO RADIATION AND MODIFICATION OF pH

ABSTRACT

The packages comprise a large part of the daily disposal of household waste and these household waste are the most impactful to the environment. The development of biodegradable packaging material, seeking to replace synthetic polymers, is an approach used in an attempt to reduce the environmental impact caused by the very slow degradation of synthetic material packages. It is known that the development of biomaterials, applicable to various industries technology in the area of packaging, gaining particular attention on the issue of preserving the environment. The aim of this study was to develop a biodegradable films of whey protein irradiated subjected to pH modification, and evaluate their mechanical, optical, structural and barrier properties. The experiment was conducted in the Department of Food Engineering, College of Agronomy, Federal University of Goiás (UFG), located in Goiânia (GO). The protein concentrate, whey was supplied by the Argentine company Arla Foods. Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey test ($p \leq 0.05$). The computer program Version 2.15.1 R (Vienna, Austria) was used for calculations. In the experiment, all analyzes were performed with three replicates read in triplicate except mechanical tests, in which three replicates were read nine times. It was found that the whey protein had an excellent alternative for the production of biodegradable films. The films were presented translucent, yellowish, with no tendency green and red colors. Movies pH 8.5 had opacity values increased with increasing doses of radiation. The films showed values of pH 5.5 solubility in water below the other, due to the proximity of the isoelectric point of proteins from whey. The pH modification and irradiation process can serve as an alternative to changing the mechanical properties of films based on whey protein concentrate milk and therefore represented an alternative raw material in the preparation of biodegradable films.

Keywords: pH; Gamma radiation; Biodegradable films; Whey proteins.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 EMBALAGENS.....	16
2.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS.....	17
2.2.1. Fatores que influenciam a formação de filmes biodegradáveis.....	19
2.2.1.1. Agente formador do filme.....	19
2.2.1.2. Plastificantes e solventes.....	20
2.2.1.3. pH.....	21
2.2.1.4. Irradiação	22
2.5 OBJETIVOS	25
2.5.1 Objetivo Geral	25
2.5.2 Objetivos Específicos.....	25
REFERÊNCIAS	26
 3 ARTIGO I - ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE IRRADIADO SUBMETIDO A MODIFICAÇÕES DE pH.....	 34
 4 ARTIGO II - EFEITO DO pH E IRRADIAÇÃO NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS, ÓPTICAS E DE BARREIRA DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE CONCENTRADO PROTEICO DE SORO DE LEITE.....	 55
 5 ARTIGO III – PERFIL ELETROFORÉTICO E CURVA DE ESCOAMENTO DA SOLUÇÃO FILMOGÊNICA A BASE DE CONCENTRADO PROTEICO DE SORO DE LEITE IRRADIADO SUBMETIDA A DIFERENTES VALORES DE pH.....	 83
 CONCLUSÃO GERAL	 98

LISTA DE TABELAS

Artigo I

Tabela 1: Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , h^* e C^*) de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado e diferença total de cor (ΔE^*) entre os filmes.....44

Tabela 2: Valores médios de opacidade (Y) de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH.....46

Tabela 3: Valores médios de solubilidade em água (%) de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH.....47

Artigo II

Tabela 1: Valores médios de permeabilidade ao vapor de água de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado produzidos com diferentes valores de pH....64

Artigo III

Tabela 1: Parâmetros do modelo de Herschel-Bukley calculado para a solução filmogênica sem aquecimento..92

Tabela 2: Parâmetros do modelo de Herschel-Bukley calculado para a solução filmogênica submetida ao aquecimento.....93

LISTA DE GRÁFICOS

Artigo II

Gráfico 1: Valores médios de tensão na ruptura (MPa) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH... ..	69
Gráfico 2: Valores médios de alongação na ruptura (%) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH..	71
Gráfico 3: Valores médios de módulo de elasticidade (MPa/%) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH...	72
Gráfico 4: Força na perfuração (N) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH... ..	73
Gráfico 5: Deformação na perfuração (%) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH...	74

LISTA DE FIGURAS

Artigo II

Figura 1: Esquema do dessecador utilizado para a determinação da permeabilidade ao vapor de água.....	60
Figura 2: Esquema do corpo de prova para teste de tração..	62
Figura 3: Esquema do sistema de determinação da deformação em teste de ruptura..	63
Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura da superfície de filmes biodegradáveis de concentrado proteico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH.....	67
Figura 5: Microscopia eletrônica de varredura da seção de ruptura de filmes biodegradáveis de concentrado proteico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH.....	68

Artigo III

Figura 1: (A) Solução Filmogênica de pH 5,5, (B) Solução Filmogênica de pH 6,7, (C) Solução Filmogênica de pH 8,5.....	90
Figura 2: Desenvolvimento de uma estrutura filamentosa de maior peso molecular, através do aquecimento das proteínas do soro.....	93

1 INTRODUÇÃO GERAL

A reciclagem de embalagens plásticas inquieta a sociedade mundialmente, devido ao crescente volume de utilização e as implicações ambientais relacionadas ao seu descarte não racional, principalmente no setor de alimentos. De acordo com um estudo realizado pelo IBRE (Instituto Brasileiro de Economia) / FGV (Fundação Getúlio Vargas) para a Associação Brasileira de Embalagem (ABRE), os fabricantes nacionais de embalagens registraram receitas líquidas de vendas de R\$ 43,7 bilhões em 2011, superando os R\$ 40,6 bilhões gerados em 2010.

As embalagens compõem grande parte dos descartes diários dos resíduos domiciliares. Apesar de corresponderem a uma pequena parte do lixo mundial, os resíduos domésticos são os mais impactantes ao meio ambiente (WALDMAN, 2010).

A maior parte do consumo mundial de embalagens é derivada de polímeros sintéticos. Devido a sua alta estabilidade físico-química e grande durabilidade, após serem descartados, pode permanecer muito tempo no ambiente, com tempo de degradação na ordem de 100 anos (ROSA; FRANCO; CALIL, 2001). Sua decomposição pode dar origem a substâncias nocivas como a dioxinas, furanos e ftalatos, dentre outros que afetam a saúde humana e o ambiente. Tal fato aumenta a poluição ambiental, que é um dos fatores que mais contribui atualmente para o aquecimento global (VILLADIEGO et al., 2005).

Tem surgido um grande interesse mundial no desenvolvimento de tecnologias "verdes" que possibilitem a utilização de produtos de menor impacto ambiental. A química "verde" implica no desenvolvimento de processos químicos e produtos que levem a um ambiente mais limpo, saudável e sustentável (WARNER et al., 2004). Neste contexto, os materiais poliméricos sintéticos têm recebido especial atenção por conterem em seus métodos de preparação questões que devem ser priorizadas, como a não biodegradabilidade dos polímeros e por serem oriundos de fontes não renováveis (LUCAS et al., 2008; SILVA et al., 2009).

O desenvolvimento de material para embalagem biodegradável, visando substituir polímeros sintéticos, é uma abordagem utilizada na tentativa de reduzir o impacto ambiental provocado pela degradação muito lenta das embalagens de material sintético. Os materiais biodegradáveis são considerados “amigos da natureza - ecofriendly”, não tóxicos, e tem sido utilizados para preparar filmes biodegradáveis e revestimentos destinados a conservação e proteção de alimentos (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011; KIM et al.; 2008; SHI;

LI; ZHANG, 2008; SOTHORNVIT; PITAK, 2007; TANADA-PALMU et al., 2005).

Além disso, esses materiais biodegradáveis estão diretamente relacionados às formulações de baixo custo, em especial, aqueles que utilizam matérias-primas disponíveis de origem agropecuária como: os amidos, proteínas (isolado protéico de soro, gelatina, proteína de soja, proteínas miofibrilares, colágeno etc.), também tem se sugerido o uso de materiais compostos ou blendas destes materiais (GONTARD et al., 1992; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000; DE SOUZA, 2001; SAKANAKA, 2007; ARVANITOYANNIS et al., 1996; ARAVNITOYANNIS et al., 1997).

Pesquisas neste campo têm-se intensificado devido a fatores como demanda por alimentos de alta qualidade pelo consumidor, indústrias de alimentos que precisam de novas técnicas de estocagem, conceitos ambientais sobre disposição de matérias renováveis para embalagem e oportunidades para criar novos mercados por meio do uso de resíduos agrícolas (GENNADIOS; HANNA; KURTH, 1997).

Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi desenvolver filmes biodegradáveis a base de concentrado proteico de soro de leite irradiado com modificações de pH, bem como avaliar suas propriedades mecânicas, ópticas, estruturais e de barreira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EMBALAGENS

Historicamente a embalagem representou uma importante ferramenta para o desenvolvimento do comércio e para o crescimento das cidades, possuindo funções iniciais de proteger, conter e viabilizar o transporte de produtos. Com o desenvolvimento da humanidade e de suas atividades econômicas, a embalagem foi incorporando novas funções, passando a conservar, expor, vender os produtos e, finalmente, conquistar o consumidor por meio de seu visual atraente e comunicativo (MESTRINER, 2002).

O setor de embalagem constitui um importante segmento da indústria brasileira. De acordo com a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE, 2014), o ano de 2013 apresentou um crescimento de 2% em volume de produção e obteve receitas líquidas de vendas próximas a R\$ 50,4 bilhões, uma expansão de 7,9% em relação aos R\$ 46,7 bilhões do ano de 2012. Com isso, algumas das principais tendências de crescimento que devem ser consideradas durante projetos de desenvolvimento de embalagens são preocupação com o meio ambiente e segurança (COVEL, 1995; GERDING; RIJK; JETEN, 1996).

Uma embalagem pode se tornar parte fundamental de um produto, tornando-o mais versátil, seguro e fácil de usar, podendo influenciar nas atitudes dos consumidores para com o produto e, desse modo, afetar suas decisões de compra (PRIDE; FERRELL, 2001).

As embalagens de alimentos exploram cada vez mais e de forma mais sofisticada a imagem do produto servido, pronto para ser saboreado (MESTRINER, 2002), possuindo a finalidade, nos produtos alimentícios, de estimular o paladar (FARINA, 1990).

Segundo Maistro (2001), um produto adequado é aquele que atende as exigências do consumidor, apresentando-se em conformidade com suas características originais, preservando sua coloração, sabor, aroma e textura.

Para Azeredo et.al. (2000), as embalagens tradicionalmente têm sido planejadas para proteger o produto e um de seus principais requisitos é a não interação com o alimento acondicionado.

A embalagem desempenha um papel essencial, segundo uma pesquisa realizada, os consumidores gastam um tempo estimado entre 10 e 12 segundos, olhando as marcas e embalagens antes de selecionar os devidos produtos (SHIMP, 2002).

O comportamento do consumidor é um tema que permite compreender a vida diária das pessoas, seu cotidiano e a maneira como se relacionam com o produto, serviços e com outras pessoas (SERRALVO; IGNÁCIO, 2004), sendo que todo o ser humano possui uma personalidade distinta, que de algum modo irá influenciar em seu comportamento de compra (MEDEIROS; CRUZ, 2006).

A embalagem é um recipiente ou envoltura que armazena produtos temporariamente e serve principalmente para agrupar unidades de um produto, com vista à sua manipulação, transporte ou armazenamento. Outras funções da embalagem são informar sobre as condições de manipulação, exibir os requisitos legais como composição, ingredientes (ABRE, 2012).

No Brasil são despejados de 240 a 300 mil toneladas diárias de resíduo urbano no meio ambiente, dos quais cerca de 30% são embalagens e 19% são plásticos derivados do petróleo. A matéria prima para produção da maior parte das embalagens são compostos orgânicos considerados não biodegradáveis, ou seja, materiais cujas bactérias decompositoras não são capazes de degradar, por esse motivo, esses materiais ao serem descartados aumentam o volume de resíduo nos aterros. Outro problema ambiental relacionado às embalagens tradicionais é que sua matéria prima é proveniente de uma fonte não renovável (o petróleo) (CARR et al., 2006).

As embalagens produzidas com polímeros sintéticos convencionais são consideradas inertes ao ataque imediato de microrganismos, apresentando longo período de vida útil. Conseqüentemente, provocam sérios problemas ambientais visto que após o seu descarte, demoram cerca de 100 anos para a decomposição total (ROSA; FRANCO; CALIL, 2001).

Como alternativa a esse problema surge os biofilmes comestíveis ou degradáveis biologicamente, que quando entram em contato com diversos tipos de microrganismos, degradam-se rapidamente. Assim, constituem alternativas viáveis para materiais de embalagens, apresentando a vantagem de não contribuir para a poluição do ambiente (ARVANITOYANNIS; BILIADERIS, 1999).

2.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS

Muitos esforços têm sido realizados pelas indústrias de alimentos e de embalagens, na tentativa de diminuir o impacto ambiental causado pela deposição de materiais de embalagem no meio ambiente. A necessidade da redução do acúmulo de resíduos sólidos não

biodegradáveis é um fator primordial, devido aos distúrbios ecológicos e às questões sociais (COLLA et al., 2006).

Os filmes biodegradáveis podem ser de dois tipos: coberturas, quando são aplicadas diretamente nas superfícies dos alimentos, e filmes, que possuem a capacidade de formar estruturas próprias independentes. Ambos podem ser definidos como uma fina camada contínua formada ou depositada no alimento, preparada a partir de matérias biológicas, que age como barreira a elementos externos (umidade, óleos, gases), protegendo o alimento e aumentando sua vida de prateleira (KROCHTA; MULDER – JOHNSTON, 1997).

As propriedades de barreira dos filmes constituem parâmetros importantes na avaliação de sua capacidade para uso como embalagens de alimentos (ANKER et al., 2002). As proteínas e carboidratos possibilitam a obtenção de filmes com boas propriedades mecânicas, no entanto, não fornecem adequada barreira ao vapor de água, devido ao seu caráter hidrofílico (ANKER et al., 2002).

A elaboração de biofilmes é um processo de transformação que utiliza biopolímeros (BP) capazes de formar uma matriz contínua (GONTARD; GUILBERT, 1996). As características desta matriz dependerão das propriedades físico-químicas e estruturais das macromoléculas formadoras de filme, dentre as quais se destacam as proteínas e amidos. As combinações destes biopolímeros adicionados de agentes plastificantes e lipídios têm sido muito empregados na área de desenvolvimento de biomateriais (FARRO, 2008).

O desenvolvimento de tecnologia de biomateriais, aplicáveis aos vários setores industriais, na área de embalagens, vem ganhando atenção especial em relação à questão da preservação do ambiente. Sabe-se que as embalagens plásticas garantem proteção aos diferentes produtos alimentícios; mas também são as maiores responsáveis pela contaminação por acúmulo no meio ambiente, uma vez que seu processo de degradação é difícil ou demorado (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992).

As alternativas encontradas para minimizar o efeito negativo dos resíduos gerados pelas embalagens deste tipo vão desde a reciclagem, até a substituição parcial ou total dos materiais sintéticos por biomateriais (GARCÍA et al., 2000).

As técnicas de elaboração de filmes a partir destas matérias-primas são também diversas, sendo as mais utilizadas, “casting”, extrusão e por compactação térmica (MONTERREY-QUINTERO, 1998; SAKANAKA, 2007; OGALE et al., 2000).

A técnica de “casting” para a obtenção de biofilmes, amplamente difundida, consiste na desidratação de uma solução filmogênica (SF), aplicada de maneira conveniente sobre um suporte. No que diz respeito à palavra “conveniente” refere-se ao volume/massa aplicado da

solução filmogênica, com a finalidade de se obter uma espessura determinada e ao tipo de material de suporte, de área conhecida, utilizado para facilitar a retirada do filme após a sua secagem (MONTERREY-QUINTERO, 1998; SAKANAKA, 2002; VICENTINI, 2003).

2.2.1. Fatores que influenciam a formação de filmes biodegradáveis

Durante a elaboração de filmes biodegradáveis, existem vários constituintes que apresentam finalidades específicas. Em geral as formulações são constituídas de um agente formador de filme (macromoléculas), solvente (água, etanol, etanol/água, entre outros), plastificante (glicerol, sorbitol, triacetina, etc) e agente ajustador de pH (ácido acético, hidróxido de amônia, etc) (FERREIRA, 2006).

2.2.1.1. Agente formador do filme

A escolha do material a ser utilizado na formulação dos filmes e revestimentos é muito importante, pois deste dependerão as interações entre os componentes do material, que poderão interferir nas propriedades de barreira, mecânicas e sensoriais. As características de um filme estão relacionadas à estrutura química do polímero, natureza do solvente, presença de aditivos, como agentes de ligações cruzadas, e condições do meio durante sua produção (DONHOWE; FENNEMA, 1994; GONTARD et al., 1994; KESTER; FENNEMA, 1986).

Filmes comestíveis e/ou biodegradáveis a base de polissacarídeos (celulose e derivados, carboidratos e derivados, gomas, entre outros) ou proteínas (gelatina, zeína, farinha de glúten, entre outras) apresentam excelentes propriedades mecânicas e ópticas e eficiente barreira a óleos e lipídios, porém apresentam baixa barreira ao vapor de água por serem sensíveis à umidade (GUILBERT, 1986). Ao contrário, os filmes compostos de lipídios (ceras, lipídios e derivados, entre outros) apresentam boas propriedades de barreiras ao vapor de água, porém sua aplicação é limitada em função de reduzidas características mecânicas e sensoriais (GALLO et al., 2000).

As características estruturais e a composição química do biopolímero utilizado na elaboração dos filmes biodegradáveis são muito importantes. Nesse sentido as proteínas são mais interessantes que os polissacarídeos (homopolímeros), por possuírem em sua estrutura até 20 monômeros diferentes (aminoácidos) que conferem uma gama maior de propriedades funcionais e potenciais por formar ligações intra e intermoleculares diferindo nas posições, tipos e energia (GONTARD; GUILBERT, 1996). Com isso, filmes proteicos apresentam propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água limitada, mas, superiores aos formados a partir de polissacarídeos (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992b). As proteínas formam

estruturas tridimensionais estabilizadas, principalmente, por associações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e limitadas ligações dissulfídicas intercadeias, sendo que os tipos de interações variam quanto ao tipo de proteína e condições de processamento (FANG et al., 2002; LONGARES, et al., 2004).

Os filmes proteicos podem ser utilizados como um complemento à embalagem sintética, prolongando a vida de prateleira, garantindo maior qualidade do produto final, além de apresentar potencial econômico, pois sua matéria-prima é de baixo custo e biodegradável, e ainda conferir excelente valor nutritivo aos filmes e produtos a serem armazenados (DONG; SUN; WANG, 2004; FABRA; TALENTS; CHIRALT, 2008; MATÉ; KROCHTA, 1998; McHUGH; SENESI, 2000; NUNES et al., 2010). Filmes e coberturas protéicas podem atuar como barreira semipermeável à umidade, gases e compostos aromáticos, controlando a transferência de massa (umidade, oxigênio, dióxido de carbono, lipídio) em sistemas alimentícios, mantendo a integridade estrutural e características de manuseio, retendo compostos aromáticos voláteis e servindo de veículos para aditivos (KROCHTA, 2002; LIMPAN et al., 2010).

Filmes a base de proteínas são transparentes, homogêneos, flexíveis e de fácil manuseio (SOBRAL et al., 2001). Para Denavi et al. (2009), as propriedades funcionais dos filmes proteicos dependem das condições de obtenção dos filmes e também do estado estrutural inicial das proteínas.

Segundo Monterrey-Quintero e Sobral (2000), filmes biodegradáveis produzidos à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo são transparentes, podendo ser indicados para embalagem de produtos coloridos. Além disso, apresentaram características mecânicas interessantes para seu emprego em embalagens de alimentos. Filmes biodegradáveis de glúten de trigo apresentam baixa permeabilidade ao oxigênio, alta ao vapor de água e seletiva a gases, são insolúveis em água, além de apresentar boas propriedades mecânicas (MOJUMDAR et al., 2011). Yoshida e Antunes (2009) observaram que filmes protéicos de soro de leite apresentaram uma moderada barreira à umidade e a gases, mantendo a sua integridade até o final do armazenamento, indicando um grande potencial para aplicação como embalagem.

2.2.1.2. Plastificantes e solventes

Os plastificantes são substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade. Quando adicionados a outro material provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos. Os plastificantes mais utilizados na elaboração de biofilmes a partir

de proteínas ou polissacarídeos são os polióis como glicerol, sorbitol ou uma mistura destes nas blends das soluções filmogênicas. Estes plastificantes por serem moléculas pequenas são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido à sua habilidade em reduzir a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias, causando um aumento de volume livre ou da mobilidade molecular do polímero (GENNADIOS et al., 1994).

A escolha do plastificante a ser adicionado no processamento de biofilmes deve ser realizada de acordo com a compatibilidade deste com o polímero e o solvente utilizados, isto é, deve ser miscível ao polímero e solvente, de forma a evitar a separação prematura destes componentes. Os principais efeitos dos plastificantes sobre o processamento de obtenção de biofilmes são: (1) Reduzir as forças intermoleculares entre as cadeias, aumentando a mobilidade e facilitando o deslizamento entre as cadeias dos polímeros, (2) Reduzir as discontinuidades e zonas quebradiças, (3) Reduzir as temperaturas de transição vítrea (T_g) e de fusão (T_m), (4) Modificar as propriedades de barreira e mecânicas dos biofilmes (BANKER, 1966; GONTARD et al., 1992; MAHMOUD e SAVELLO, 1992). No entanto, os plastificantes geralmente diminuem as propriedades de barreira, relacionados à permeabilidade ao vapor de água, gases e componentes aromáticos (KROTCHKA, 2002).

No Brasil, diversas pesquisas (MONTERREY-QUINTERO, 1998, MALI et al., 2002, VICENTINI et al., 2003, COLLA et al., 2006, SAKANAKA, 2002) relatam o desenvolvimento de metodologias de preparo de soluções filmogênicas (SF) constituídas de suspensões aquosas de polímeros agrícolas (polissacarídeos, proteínas) adicionados de plastificantes (glicerol, sorbitol, família dos PEG, etc) na obtenção de filmes e coberturas.

2.2.1.3. pH

Muitas vezes é necessário o ajuste de pH da solução filmogênica para que uma matriz homogênea possa vir a ser constituída, ou seja, uma maior solubilidade da macromolécula seja atingida. O pH da solução, a força iônica e o tipo de solvente empregados na elaboração das soluções filmogênicas são parâmetros que podem ser modificados para alterar as propriedades mecânicas e a porosidade dos filmes (ARVANITOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998).

O ajuste de pH é requerido principalmente em filmes biodegradáveis protéicos. Em valores de pH acima ou abaixo do ponto isoelétrico (pI), as moléculas de proteínas possuem cargas positivas ou negativas em excesso, que interagem com as moléculas de água contribuindo para sua solubilização (SGARBIERI, 1996).

Segundo Chen; Lin; Yang (1994), a mudança no pH e na força iônica altera a repulsão eletrostática inter e intramolecular entre cadeias de proteínas, permitindo a aproximação das mesmas, promovendo ligações de hidrogênio inter e intramolecular.

2.2.1.4. Irradiação

A palavra “radiação” é utilizada para designar a energia radiante que se move através do espaço na forma de ondas eletromagnéticas. A irradiação de alimentos emprega uma faixa de energia eletromagnética conhecida como radiação ionizante. Radiações ionizantes são partículas ou fótons com energia suficiente para produzirem partículas eletricamente carregadas (íons) nos materiais com os quais entram em contato (HERNANDES; VITAL; SABAA-SRUR, 2003). Existem três tipos de energia radiante utilizada para a irradiação de alimentos: feixe de elétrons, raios X e raios gama. Os dois primeiros utilizam eletricidade como fonte de energia, enquanto para a radiação gama são utilizadas fontes radioativas como o cobalto 60 e o célio 137 (SAPCHENCO, 2003).

O processo de irradiação é regulamentado pela Organização para a Agricultura e Alimentação (FAO), pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) sendo que são limitadas em 0,66 e 1,33 MeV para raios gama emitidos pela desintegração radiotiva do ^{60}Co e ^{137}Cs , inferior a 5 MeV para raios-X, inferior a 10 MeV para feixe de elétrons (DIEHL, 1995).

A partir disso, denomina-se irradiação o processo de aplicação de energia radiante a um alvo qualquer, como por exemplo, um alimento ou uma embalagem, com a finalidade de aumentar a estabilidade de armazenamento através da redução da população de microorganismos, da eliminação de parasitas ou insetos, ou o bloqueio da atividade enzimática (ANDREWS et al., 1998; INGRAM; ROBERTS, 2007).

No processo de irradiação, o alimento (a granel ou empacotado) é exposto a uma dose controlada de radiação em uma sala ou câmara especial de processamento por tempo determinado (RUIZ, 2000). Os produtos irradiados podem ser transportados, armazenados ou consumidos imediatamente após o tratamento. Entre os fatores que influenciam os efeitos da radiação destaca-se a dose de radiação, que é a quantidade de energia absorvida por uma determinada massa de alimento. A unidade internacional é o Gray (Gy) que corresponde à absorção de 1 joule por Kg de alimento (DIEHL, 1995). Em 1980, um comitê composto por representantes do fundo das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), do grupo consultivo Internacional para a irradiação de Alimentos (ICGFI), da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) foi

formado para estudar as doses de irradiação em alimentos, sendo que este comitê concluiu que doses de radiação ionizante até 10 kGy são seguras para a maioria dos alimentos. Em 1983, a Comissão do Codex Alimentarius adotou os resultados e as recomendações da FAO/ICGFI/IAEA/OMS (SAPTCHENKO, 2003).

No Brasil, existe regulamentação sobre a irradiação de alimentos desde 1973 e portarias complementares foram editadas em 1985 e 1989 (OLIVEIRA, 2000). A Portaria n.º 30 de 02/08/89, da Divisão de Alimentos do Ministério da Saúde, determinava limite superior de irradiação de 10 kGy e apresentava lista de produtos aprovados para irradiação, suas respectivas doses e proibia a re-irradiação. Em 26/01/2001, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou a Resolução (RDC) n.º 21, que não restringe quais alimentos podem ser irradiados e nem a dose máxima absorvida para se obter o fim desejado, desde que não haja prejuízo nas suas qualidades funcionais e sensoriais (BRASIL, 2001).

Proteínas, carboidratos e lipídeos podem ser afetados pelo uso da radiação. A radiação gama induz mudanças nas propriedades físico-químicas das proteínas, dependendo de sua natureza e da dosagem da radiação (NISIZAWA, 1988). Transformações químicas de aminoácidos, tais como, quebra de ligações peptídicas, dissulfídicas, pontes de hidrogênio, bem como ligações cruzadas das cadeias proteicas podem acontecer, influenciando a estrutura terciária das proteínas e suas propriedades físico-químicas (CIÉSLA; ROOS; GLUSZEWSKI, 2000). Modificações estruturais da proteína, como aumento da hidrofobicidade e reação de desamidação, promovidos pela irradiação são possivelmente responsáveis pela maior solubilidade (DOGBEVI; VACHON; LACROIX, 2000).

Além disso, o processo de irradiação gama tem também aplicações na área de polímeros, onde a reticulação (ligações cruzadas) das moléculas causada pela radiação confere melhoria às propriedades dos materiais (SABATO, 2000).

O processo de irradiação gama foi apontado como método efetivo no aperfeiçoamento da coesão de caseinatos (BRAULT; D'APRANO; LACROIX, 1997). Na radiólise de uma solução aquosa de proteínas, os radicais hidroxilas (OH) gerados (VON SONTAG, 1987) reagem prontamente com os aminoácidos (THAKUR; SINGH, 1994). A tirosina (aminoácido essencial de proteínas) reage com radicais hidroxilas para produzir radicais tirosilas. Os radicais tirosilas reagem, então, com outros radicais tirosilas ou com moléculas de tirosina para formar diversos compostos estáveis bifenólicos, nos quais as partes fenólicas são ligadas através de uma ligação covalente (PRÜTZ; BUTLER; LAND, 1983). O composto 2',2-bifenol bitirosina que exibe fluorescência, parece ser o maior produto devido ao efeito direto do grupo

hidroxila (PRÜTZ et al, 1983; VON SONTAG, 1987). A formação da bitirosina é certamente um mecanismo de reticulação de proteína embora outros tipos de ligações cruzadas possam ocorrer (DAVIES et al, 1987).

Brault; D`Aprano; Lacroix (1997) usaram a irradiação gama para produzir ligações cruzadas em filmes de caseinato. As principais vantagens do processo de irradiação gama, com a finalidade de melhorar as propriedades dos filmes, quando comparados aos métodos físicos e enzimáticos, são o menor custo e a formação de filmes insolúveis e estéreis. Métodos físicos ou enzimáticos permitem a formação de filmes de proteínas com boas propriedades mecânicas (MOTOKI et al., 1987), no entanto, esses filmes são solúveis e sensíveis à umidade, limitando sua área de aplicação (LE TIEN et al., 2000).

2.2.2. Propriedades Requeridas Em Filmes Biodegradáveis

As propriedades funcionais dos filmes plásticos mais importantes são as propriedades ópticas, mecânicas e de barreira. As propriedades ópticas dos filmes influenciam principalmente a apresentação do produto embalado e estão relacionados à cor, brilho e transparência dos filmes. Na área de alimentos, muitas vezes é desejável uma embalagem transparente que permita a visualização da qualidade do produto embalado. Em relação à qualidade do material polimérico, filmes devem ser resistentes à ruptura e abrasão (para suportar o alimento a ser embalado, para protegê-lo e facilitar manuseio) e flexíveis (suportar deformações sem quebra) (GONTARD; GUILBERT, 1996). Adicionalmente, o filme deve ser seletivamente permeável aos gases (vapor de H₂O, CO₂ e O₂), de modo que mantenha as propriedades sensoriais do produto embalado inalteradas pelo maior tempo possível, ou durante seu transporte e armazenamento (SAKANAKA, 2007).

2.5 OBJETIVOS

2.5.1 Objetivo Geral

Avaliar e caracterizar as propriedades filmogênicas de proteínas de soro de leite submetidas à irradiação e modificação de pH.

2.5.2 Objetivos Específicos

Produzir filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico irradiado nas doses 0 (controle), 10, 30 e 50 kGy com diferentes valores de pH (5,5; 6,7 e 8,5);

- Caracterizar a solução filmogênica quanto ao perfil eletroforético e curva de escoamento;
- Caracterizar os filmes biodegradáveis quanto à solubilidade em água, espessura, permeabilidade ao vapor de água, cor e opacidade, microscopia eletrônica de varredura e propriedades mecânicas (tração, elasticidade, módulo de elasticidade, perfuração);
- Comparar os resultados dos filmes que receberam os tratamentos (variação de pH e doses de radiação) com seus respectivos filmes controle;
- Avaliar o efeito do pH e irradiação nas propriedades físicas e mecânicas dos filmes.

REFERÊNCIAS

ABRE, Associação Brasileira de Embalagem. **Dados de mercado das embalagens no ano de 2013**. Disponível em: <<http://www.abre.org.br/setor/dados-de-mercado/>>. Acessado em 17 de janeiro de 2014.

ABRE, Associação Brasileira de Embalagem. **Definição de embalagem**. Disponível em: <http://www.abre.org.br/apres_setor_embalagem.php>. Acessado em 19 de abril de 2012.

AHAMED, N.T.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R.; KALE, D.D.; PAL, M. Studies on Chenopodium quinoa and Amaranthus paniculatas starch as biodegradable fillers in LDPE films. **Carbohydrate Polymers**, v.31, p.157-160, 1996a.

AHAMED, T.N.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R.; PAL, M. Physicochemical and functional properties of Chenopodium quinoa starch. **Carbohydrate Polymers**, v.31, p. 99-103, 1996b.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials – ASTM E96/E96M-10**. Filadelfia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2010.

ANDREWS, L. S.; AHMEDNA, M.; GRODNER, R. M.; LIUZZO, J. A.; MURANO, P. S.; MURANO, E. A.; RAO, R. M.; SHANE, S.; WILSON, P. W. Food preservation using ionizing radiation. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, Nova Jersey, v.154, p.1-53, 1998.

ANKER, M.; BERNTSEN, J.; HERMANSSON, A.; STADING, M. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. **Innovate Food Science & Emerging Technologies**, v.3, p. 254-260, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods o analysis**. 15. ed. Arlington: AOAC, 1990.

ARVANITOYANNIS, I. S.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 37, n. 4, p. 371-382, 1998.

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

ARVANITOYANNIS, I., PSOMIADO, E.; NAKAMURA, S. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Part I. **Carbohydrate Polymers**, v.31, p. 179-192, 1996.

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

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. DE A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 20, n. 3, set./dez. 2000.

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

BRASIL. Ministerio da Saude. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria - ANVISA, Resolucao - RDC n.21, de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 de 14 de janeiro de 2001. Disponível em <http://anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm>. Acesso 19 abr. 2012.

BRAULT, D.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Formation of free-standing sterilized edible films from irradiated caseinates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n.8, p. 2964-2969, 1997.

CAMPOS, C., GERSCHENSON, L., FLORES, S. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. **Food and Bioprocess Technology**. New York, v. 4, n. 6, p. 849-875, 2011.

CARR, L.G.; PONCE, P.; PARRA, D.F.; LUGÃO, A.B.; BUCHLER, P.M. Influência da adição de caulim e CaCO₃ na propriedades mecânicas das espumas de amido. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, 2006, Foz do Iguaçu. **Resumo Expandido...** Foz do Iguaçu: CBECiMat, 2006. p. 8778-8786. Disponível em: <<http://www.metallum.com.br/17cbecimat/resumos/17Cbecimat-410-009.pdf>>. Acessado em 19 de abril de 2012.

CAVALLIERI, A. L. F. **Influência da desnaturação térmica e do pH sobre as propriedades reológicas de proteínas do soro e sua compatibilidade termodinâmica com a xantana**. 2003. 130f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

CHEN, P. H.; LIN, J. H.; YANG, M. H. Relationships between the chains flexibilities of chitosan molecules and the physical properties of their casted films. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 41-46, 1994.

CIÉSLA, K.; ROOS, Y.; GLUSZEWSKI, W. Denaturation processes in gamma irradiated proteins studied by differential scanning calorimetry. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 58, n. 3, p. 233-243, 2000.

COLLA, E.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. Effect Of Composite Edible Coating From Amaranthus Cruentus Flour And Stearic Acid On Refrigerated Strawberry (Fragaria Ananassa) Quality. **Latin American Applied Research**, v.36, p. 249-254, 2006.

COPELAND, R. A. Eletrophoretic and chromatographic methods for protein purity. In: COPELAND R. A. **Methods for protein analysis: A practical assessing guide to laboratory protocols**. New York: Chapman & Hall, 1990. p.59-91.

COSTA SANTOS, R., FERRAZ de CASTRO, V. M. Uma proposta sistêmica para o desenvolvimento de embalagens. **Revista de Administração de Empresas**, v. 38, n. 2, p.26-35, 1998.

COVEL, P. Seminário Internacional de Embalagem, Alimentec 95, São Paulo, **Anais.....**Campinas: CETEA/ITAL, 1995, 88 p.

DAVIES, J.A.; DELSIGNORE, M.E.; LIN, S.W. Protein damage and degradation by oxygen radicals, II Modification of amino acids. **The Journal of Biological Chemistry**, Maryland v.262, n. 20, p.9902-9907, 1987.

DE SOUZA, S M A. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis biodegradáveis a base de proteínas miofibrilares bovina**. Campinas, 2001, 207p, Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

DENAVI, G.; TAPIA-BLACIDO, D. R.; ANON, M. C.; SOBRAL, P. J. A.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, Chicago, v. 90, p.341-349, 2009.

DIAS, S. R. **Gestão de marketing**. São Paulo: Milênio Pretince, 1996.

DIEHL, J. F. **Safety of irradiated foods**. New York: Marcel Deckker, 1995, 454p.

DOGBEVI, M. K.; VACHON, C.; LACROIX, M. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and on the functional properties of proteins in dry red Kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, n. 3-6, p. 265- 268, 2000.

DONG, J.; SUN, Q.; WANG, J-Y. Basic study of corn protein, zein, as a biomaterial in tissue engineering, surface morphology and biocompatibility. **Biomaterials**, New York, v. 25, n. 19, p. 4691–4697, 2004.

DONHOWE, I. G.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: characteristic, formation, definitions and testing methods. In: KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROSCARRIEDO, M. O. Edible coating and films to improve food quality, Lancaster: **Technomic Publishing Company**, 1994. cap. 1, p. 1-24.

FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. **Journal of Food Engineering**, London, v. 85, n. 3, p. 393–400, 2008.

FANG, Y.; TUNG, M.A.; BRITT, I.J.; YADA, S.; DALGLEISH, D.G. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, n.1, p.188-193, 2002.

FARINA, M. **Psicodinâmica das cores em comunicação**. 4º. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1990.

FARRO, P. C. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) variedade “Real”**. 2008. 320f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FERRAZ DE CASTRO, V. **Visão sistêmica da embalagem de alimentos no processo da comunicação: um estudo exploratório sobre a visão empresarial e a do consumidor.** São Paulo. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Saúde Pública- USP] 1994.

FERREIRA, A. H. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e cera de carnaúba e de cana-de-açúcar.** 2006. 220f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GALLO, J-A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v.180, n.1, p.37- 46, 2000.

GARCIA, M.; MARTINO, M.; ZARITZKY, N. Microstructural Characterization of Plasticized Starch-Based Films. **Starch/Stärke** v.52, n. 4, p 118-124, 2000.

GARFIN, D. E. One dimensional gels electrophoresis. In: DEUSTSCHER, M. P. **Guide to protein purification.** Methods in Enzymology. San Diego: Academic Press, 1990. v 1, p.425-441.

GENNADIOS, A.; McHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. Edible coating and films based on proteins. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Eds.), **Edible Coatings and to Improve Food Quality**, Technomic Publishing Company, NY. USA. , Chapter 9, p.201-277, 1994.

GENNADIOS, A., HANNA, M.A.; KURTH, L.B. Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review. **Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie**, 30(4):337-50,1997.

GERDING, T. K., RIJK, M. A. H.,JETEN, J. Trends in food packing: arising oppurtunities and shifting demands. **Packing Technology and Science**, v. 9, n. 3, p. 153-65, 1996.

GONTARD, N.; DUCHES, C. ;CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

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

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.3-15, 1996.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 1, p. 206-211, 1992b.

GONZALES, L. Linguagem publicitária: análise e produção. 2. ed. São Paulo: **Arte e Ciência**, 2003.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective film. In: MATHLOUTHI, M. (Ed.). **Food Packaging and Preservation**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. cap.19, p. 371-394.

HALEK, G.W. Relationship between polymer structure and performance in food packaging applications. In: HOTCHKISS, J.H. **Food and Packaging Interactions**. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1988. P.195-202. (ACS Symposium Series).

HERNANDES, N. K.; VITAL, H. C.; SABAA-SRUR, A. U. O. Irradiação de Alimentos: Vantagens e Limitações. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 37, n. 2, p. 154-159, 2003.

INGRAM, M.; ROBERTS, T. A. Application of the “D – concept” to heat treatments involving curing salts. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.6, n.1, p. 21-28, 2007.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, Chicago, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

KIM J-H, KIM Y-S, PARK K, KANG E, LEE S, NAM HY, KIM K, PARK JH, CHI DY, PARK R-W, KIM I-S, CHOI K, KWON IC. Self-assembled glycol chitosan nanoparticles for the sustained and prolonged delivery of antiangiogenic small peptide drugs in cancer therapy. **Biomaterials**. New York, v. 29, n 12, p. 1920–1930, 2008.

KOTLER, Philip. **Administração de marketing: a edição do novo milênio**. 10. ed. Tradução Bazán Tecnologia e Linguística; Revisão técnica Arão Sapiro. São Paulo: Prentice Hall, 2000.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, n.2, p. 60-74, 1997.

KROCHTA, J. M. Protein as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: **GENNADIOS**, A. Protein-based films and coating. New York: CRC Press, p. 1–39, cap. 1, 2002.

LE TIEN, C.; LETENDRE, M.; ISPAS-SZABO, P. MATEESCU, M. A. DELMASPATTERSON, G.; YU, H. L.; LACROIX, M. Development of biodegradable films from whey proteins by cross-linking and entrapment in cellulose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n. 11, p. 5566–5575, 2000.

LIMPAN, N., PRODPRAN, T., BENJAKUL, S., & PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, London, v. 100, n. 1, p. 85–92, 2010.

LONGARES, A.; MONAHAN, F. J.; O’ SULLIVAN, M.; O’RIORDAN, E. D. Physical properties and sensory evaluation of WPI films of varying thickness. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Oxford, v.37, n.5, p.545-550, 2004.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUEDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVASAUCEDO, J. E. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. **Chemosphere**, v.73, n, 4, p. 429-442, 2008.

MAHMOUD, R. ; SVELLO, P.A. Mechanical properties and water vapor transferability through whey protein films, **Journal of Dairy Science**, v.75, n. 4, p. 942-946, 1992.

MALI, S. GROSSMANN, M.V.E., Garcia, M.A., MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.50, p. 379-386, 2002.

MAISTRO, Liliane Corrêa. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de nutrição**. Campinas, v. 14, n. 3, set./dez. 2001.

MATE, J. I.; KROCHTA, J. M. Oxygen uptake model for uncoated and coated peanuts. **Journal of Food Engineering**, London, v. 35, n. 3, p. 299-312, 1998.

McHUGH, T. H.; SENESI, E. Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. **Journal of Food Science**, Chicago, v.65, n.3, p.480-485, 2000.

MEDEIROS, J. F; CRUZ. C. M. L. **Comportamento do consumidor: fatores que influenciam no processo de decisão de compra dos consumidores**. Teoria e evidência econômica. Passo Fundo, v 14, p. 167 – 190, 2006.

MESTRINER, Fabio. Design de embalagem – curso básico. 2º. ed. São Paulo: **Makron Books**, 2002.

MOJUMDAR , S. C.; MORESOL, C.; SIMON, L. C.; LEGGE, R. L. Edible wheat gluten (WG) protein films: Preparation, thermal, mechanical and spectral properties. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, London, v. 104, n. 3, p. 929–936, 2011.

MONTERREY-QUINTERO E.S., SOBRAL A. P.J., Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de Tilapia – do- Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, n. 1, p. 179-189, jan 2000.

MONTERREY-QUINTERO, E.S. **Caracterização Físico-química de Proteínas Miofibrilares e Elaboração de Biofilmes**. Pirassununga, 1998. 83p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia, na área de Concentração de Qualidade e Produtividade Animal) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

MOTOKI, M.; ASO, H.; SEGURO, K.; NIO, N. α 1-Casein film prepared using transglutaminase. **Agricultural and Biological Chemistry**, Kawaguchi-shi, v. 51, n. 4, p. 993-996, 1987.

MOURA, R. A.; BANZATO, J. M. **Embalagem Unitização & Containerização**. IMAM, São Paulo, 2000.

NISIZAWA, M. Studies on irradiation of agar agar in the solid-state - on the changes of water holding capacity of agar agar hydrogel produced by irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 36, n. 7, p. 1673-1676, 1988.

NUNES, P. S.; BEZERRA, M. S.; COSTA, L. P.; CARDOSO, J. C.; ALBUQUERQUE, R. L. C.; RODRIGUES, M. O.; BARIN, G. B.; SILVA, F. A.; ARAUJO, A. A. S. Thermal characterization of usnic acid/collagen-based films. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, London, v. 99, n. 3, p. 1011–1014, 2010.

OGALE A.A., CUNNINGHAM P, DAWSON P.L., e ACTON J.C. Viscoelastic, termal, and microstructural characterization of soy protein isolate films. **Journal of Food Science**, v.65, p 672-679, 2000.

OLIVEIRA, L. C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, n. 3/6, p. 249-252, 2000.

PRIDE, W. M.; FERRELL, O. C. **Marketing Conceitos e Estratégias**. 11º. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2001.

PRUTZ, W.A.; BUTLER, J.; LAND, E.J. Phenol couphng initiated by one-electron oxidation of tyrosine units in peptides and histone. **International Journal of Radiation Biology**, New Jersey, v .44, p .183-196, 1983.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2011.

ROSA, D.S.; FRANCO, B.L.M.; CALIL, M.R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.61, n.2, p. 82-88, 2001.

RUIZ, S. **Irradiação de Alimentos**. **Alimentos & Tecnologia**, São Paulo, v.87, p. 34-36, 2000.

SABATO, S. F. **Aplicação da irradiação na formação de filmes comestíveis protéicos**. 2000. 107f. Tese (Doutorado em Ciencias na Area de Tecnologia Nuclear - Aplicacoes.) – Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, 2000.

SAKANAKA, L. S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. Campinas, 2002, 256 p., Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SAKANAKA, L.S. **Confecção de filmes biodegradáveis por extrusão de blendas de amido termoplástico e polibutileno succinato co-adipato (PBSA)**. Londrina, 2007, 108p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) Centro de Ciências, Departamento de Ciência e Tecnologia de alimentos, Universidade Estadual de Londrina.

SAPTCHENCO, N. As Tecnologias de Feixe de Életrons e Raios-X da Surebeam In: 1º SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS, 2003, Campinas. **Anais**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2003. p. 58-70.

SGARBIERI, V. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, degradação e modificação**. São Paulo: Ed. Varela, p.84, 1996.

SERAGINI, L. Packing design, In: Alimentec 95, **Packing Trends**, São Paulo, p.85 - 88, 1995.

SERRALVO, F. A.; IGNÁCIO, C. P. O comportamento do consumidor de produtos alimentícios: um estudo exploratório sobre a importância das marcas líderes. In: **Anais do VII Seminários de Administração**, 2004, São Paulo.

SHI, P.; LI, Y.; ZHANG, L. Fabrication and property of chitosan film carrying ethyl cellulose microspheres. **Carbohydr Polymers**, Barking, v. 72, n. 3, p. 490–499, 2008.

SHIMP, Terence A. **Propaganda e Promoção Aspectos Complementares da Comunicação integrada do Marketing**. 5º. ed. Porto Alegre: Brookman, 2002.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Quím. Nova**, v.32, n. 3, p. 661-671, 2009.

SOARES, D. S. B. **Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

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

SOTHORNVIT, R.; PITAK, N. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. **Food Research International** , London, v. 40, n. 3, p. 365–370, 2007.

TANADA-PALMU, P. S.; PROENCA, P. DE S.; TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; GROSSO, C. R. F. G. **Recobrimento de sementes de brócolos e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis**. Bragantia, Campinas, v.64, n.2, p.291-297, 2005.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K. Food irradiation chemistry and applications. **Food Reviews International**, Philadelphia, v. 10, n. 4, p.437-473, 1994.

VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós colheita**. Botucatu, 2003, 198p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Horticultura)- Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista.

VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIS, V. P. R.; CRUZ, R. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.

VON SONTAG, C **The Chemical Basis of Radiation Biology**. London: Taylor & Francis. 1987. 515 p.

YOSHIDA, C. M. P.; ANTUNES, A. J. Aplicação de filmes protéicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.2, p. 420-430, 2009.

WALDMAN, M., **Desafios dos resíduos sólidos domiciliares, in Com Ciência Ambiental - Dialogando para um mundo melhor**. 2010. p. 14-17.

WARNER, J. C.; CANNON, A. S.; DYE, K. M. Environmental Impact Assessment Review. **Green Chemistry**, v. 24, n. 7-8, p. 775-779, 2004.

3 ARTIGO I

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE IRRADIADO SUBMETIDO A MODIFICAÇÕES DE pH

FERNANDES, A. P. S. Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a modificações de pH. In: _____. **Avaliação e caracterização das propriedades filmogênicas de proteínas do soro de leite submetidas à irradiação e modificação de pH.** Cap. 3, p.34-53. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás, GO.

RESUMO

O aumento da urbanização e do consumo de produtos industrializados trouxe como consequência o aumento de resíduos acumulados nos aterros sanitários. Uma alternativa para a redução de resíduos plásticos é a utilização de matérias-primas provenientes da agricultura, devido ao fato de elas partirem de fontes renováveis e serem completamente biodegradáveis. O uso de filmes biodegradáveis vem se tornando tópico de grande interesse, devido ao seu potencial de evitar a deterioração de alimentos e pela característica de biodegradabilidade. Este estudo objetiva elaborar filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a modificação de pH. Os filmes foram caracterizados quanto ao teor de proteínas, espessura, cor, opacidade e solubilidade em água. O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado protéico de soro de leite foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods. A análise estatística dos dados foi efetuada por meio de análises de variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$), o qual foi utilizado para determinar as diferenças significativas das médias das propriedades dos filmes, com intervalo de 95% de confiança. O programa computacional R versão 2.15.1 (Vienna, Austria) foi utilizado para esses cálculos. No experimento, todas as análises foram feitas com três repetições lidas em triplicatas. Concluiu-se que as proteínas de soro de leite apresentaram ser uma excelente alternativa para a produção de filmes biodegradáveis. Tanto a irradiação quanto a modificação de pH influenciaram significativamente os parâmetros de cor e opacidade. Os filmes apresentaram-se translúcidos, de coloração amarelada, sem tendência a cores verde e vermelha. Os filmes de pH 8,5 tiveram valores de opacidade aumentados com o incremento das doses de radiação. Os filmes de pH 5,5 apresentaram valores de solubilidade em água inferiores aos demais, devido à proximidade do ponto isoelétrico das proteínas do soro de leite. Diante disso, os diferentes tratamentos empregados podem promover melhora nas propriedades dos filmes.

Palavras-chaves: Proteínas do soro de leite; Filmes biodegradáveis, Propriedades ópticas.

ABSTRACT

Increasing urbanization and consumption of industrial products brought as a consequence the increase of accumulated waste in landfills. An alternative to reducing plastic waste is the use of raw materials from agriculture, due to the fact they depart from renewable sources and are completely biodegradable. The use of edible films and coatings is becoming a topic of great interest due to their potential to prevent food spoilage and the feature of biodegradability. This study aims to develop biodegradable films of whey protein irradiated subjected to pH modification. The films were analyzed for protein content, thickness, color, opacity, and water solubility. The experiment was conducted in the Department of Food Engineering, College of Agronomy, Federal University of Goiás (UFG), located in Goiânia (GO). The protein concentrate whey was supplied by the Argentine company Arla Foods. Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey test ($p \leq 0.05$), which was used to determine significant differences of the mean properties of the films, with the 95% confidence. The computer program R version 2.15.1 (Vienna, Austria) was used for these calculations. In the experiment, all analyzes were performed with three replicates read in triplicate. It was found that the whey protein had an excellent alternative for the production of biodegradable films. Both irradiation and modifying pH significantly influenced the parameters of color and opacity. The films were presented translucent, yellowish, with no tendency green and red colors. Movies pH 8.5 had opacity values increased with increasing doses of radiation. The films showed values of pH 5.5 solubility in water below the other, due to the proximity of the isoelectric point of proteins from whey. Therefore, the different treatments employed can promote improvement in the properties of the films.

Keywords: Whey protein; Biodegradable films; Optical properties.

1 INTRODUÇÃO

A embalagem é considerada um fator que auxilia na mudança de hábitos e costumes da sociedade, sendo uma facilitadora do cotidiano do consumidor. O aumento da urbanização e do consumo de produtos industrializados trouxe como consequência o aumento de resíduos acumulados nos aterros sanitários. Grande parte da matéria-prima utilizada para a fabricação de embalagens do tipo sacola é constituída por polímeros sintéticos, que provêm de fontes não renováveis e que não são biodegradáveis (CARR, 2007).

Uma alternativa para a redução de resíduos plásticos é a utilização de matérias-primas provenientes da agricultura, devido ao fato de elas partirem de fontes renováveis e serem completamente biodegradáveis (CARR, 2007).

Dessa forma, varias pesquisas com diferentes materiais tem sido desenvolvidas na tentativa de minimizar ou solucionar o problema da poluição através da obtenção de plásticos biodegradáveis, ou seja, os biofilmes (BENGTSSON et al., 2003; JAGADEESH; REDDY; RAJULI, 2011).

Biofilme ou filme biodegradável é um filme fino preparado a partir de materiais biológicos, que age como barreira a elementos externos tais como umidade, óleo e gases, e, consequentemente, pode proteger o produto embalado de danos físicos e biológicos e aumentar a sua vida útil (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008; TANADA-PALMU et al., 2005). Podem ser produzidos a partir de diferentes fontes, incluindo proteínas, lipídios e polissacarídeos (HERNANDEZ-IZQUIERDO; KROCHTA, 2008; SIRACUSA et al., 2008).

O uso de filmes e revestimentos comestíveis vem se tornando tópico de grande interesse, devido ao seu potencial de evitar a deterioração de alimentos e pela característica de biodegradabilidade (McHUGH; HUXSOLL; KROCHTA, 1996). Desta forma, as pesquisas sobre embalagens têm sido enfocadas em filmes e revestimentos comestíveis à base de biopolímeros, que são completamente biodegradados, dentro de um período consideravelmente curto de tempo, contribuindo assim para a diminuição da poluição ambiental (GUILBERT; GONTARD; GORRIS, 1996).

Os filmes e revestimentos comestíveis são definidos por dois princípios. Primeiro, o termo comestível implica que os componentes usados na elaboração da embalagem serem GRAS, sigla em inglês que significa compostos geralmente reconhecidos como seguros pelo FDA (Food and Drug Administration), e processados dentro das Boas Práticas de Fabricação (BPF), estabelecidas para alimentos. Estes filmes e revestimentos devem ser feitos a partir de

um polímero, tipicamente um biopolímero, já que a cadeia longa é necessária para dar certa insolubilidade e estabilidade à matriz da embalagem em meio aquoso. São apresentados em formas diferentes. Como filme, é uma fina película formada separadamente do alimento e depois aplicada sobre ele. Como revestimento ou cobertura, é uma suspensão ou emulsão aplicada diretamente sobre a superfície do alimento, formando, após a secagem, a formação de uma fina película sobre o produto (GENNADIOS; WELLER, 1990).

O processo de produção dos filmes a partir de solução filme formadora envolve: uma primeira etapa de solubilização da macromolécula em um solvente (água, etanol, solução de ácido acético e outras) ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes agentes reticulantes); na segunda etapa, a solução filme-formadora é espalhada sobre o suporte e, usualmente, submetida à secagem (Cuq *et al.*, 1995).

As características finais dos filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são resultantes de inúmeros parâmetros, tais como: características e concentração da macromolécula e demais constituintes (solvente, plastificante); pH; condições de desnaturação; tipo de suporte utilizado; condições de secagem e condições ambientais (temperatura e umidade) para aplicação.

Filmes a base de proteínas são transparentes, homogêneos, flexíveis e de fácil manuseio (SOBRAL *et al.*, 2001). Para Denavi *et al.* (2008), as propriedades funcionais dos filmes protéicos dependem das condições de obtenção dos filmes e também do estado estrutural inicial das proteínas. Kim e Ustunol (2001) obtiveram bons resultados com filmes a base de isolado protéico de soro de leite, com formação de filmes transparentes, o que favoreceu sua aplicação. Dentre as proteínas mais utilizadas para a obtenção de filmes biodegradáveis, estão as proteínas do soro de leite.

O soro de leite é um importante coproduto, gerado pelos laticínios após a coagulação da caseína, variando suas características de acordo com a qualidade do leite e tipologia de processamento (MARSHALL, 2004; SMITHERS, 2008).

Algumas técnicas como ajuste de pH e irradiação vem sendo usadas com objetivo de melhorar as propriedades dos filmes biodegradáveis. De acordo com Chen; Lin; Yang (1994), a mudança no pH altera a repulsão eletrostática inter e intramolecular entre cadeias de proteínas, permitindo a aproximação das mesmas, promovendo ligações de hidrogênio inter e intramolecular. A irradiação apresenta vantagens ao ser aplicadas em polímeros uma vez que interações fortes entre as macromoléculas podem ser formadas, havendo reticulação das proteínas, com isso, promovendo melhora nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes (CHANTRA; ABDULLA; ISMAIL, 2006; SABATO *et al.*, 2001).

No presente estudo objetivou-se elaborar filmes biodegradáveis a base de concentrado proteico de soro de leite irradiado com modificação de pH. Os filmes foram caracterizados quanto ao teor de proteínas, espessura, cor, opacidade e solubilidade em água.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado protéico de soro de leite foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods e, antes à elaboração dos filmes, esse concentrado foi irradiado.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Irradiação

A irradiação do concentrado proteico foi feita no IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares), localizado em São Paulo (SP), utilizando um irradiador comercial com fonte de ^{60}Co . O concentrado proteico foi submetido a doses de 0 (controle), 10, 30 e 50 kGy com taxa de dose de 2 kGy/h.

2.2.2 Elaboração dos filmes

Os filmes foram produzidos a partir do método de *casting*, segundo Soares (2012). Soluções filmogênicas aquosas foram preparadas contendo 5% de proteínas, 3,75% de glicerol e 91,25% de água destilada, havendo a total solubilização das proteínas em água e posterior adição do glicerol (Cromato). Em seguida, as soluções foram aquecidas a 90°C por 30 minutos em banho-maria com agitação lenta (Marconi – MA 093, Piracicaba, Brasil) e resfriada em banho de gelo, aplicando-se agitação moderada, até a temperatura de 25°C. O pH das soluções foram ajustados para 5,5 (próximo ao ponto isoelétrico médio das proteínas do soro de leite), 6,7 (pH natural do leite) ou 8,5, utilizando-se hidróxido de sódio (Vetec) ou ácido láctico (Vetec). As alíquotas de solução filmogênica foram dispersas em placas de vidro encapadas com plástico adesivo (22 x 22 cm²), sendo a espessura controlada pelo volume disperso em cada placa. A solução foi seca em estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal – TE 394/3, Piracicaba, Brasil) a 35°C por 18 horas. Os filmes foram retirados das placas de vidro e identificados para análises subseqüentes.

2.2.3. Teor de proteínas do soro

O teor de proteínas no concentrado foi determinado segundo método de micro-kjeldahl (AOAC, 1990).

2.2.4. Caracterização dos filmes

2.2.4.1. Espessura

As medidas de espessura dos filmes foram efetuadas utilizando um micrômetro com sensibilidade de 0,001 mm (Modelo Insize, 3210-25, China). A espessura foi obtida através da média dos valores de seis pontos aleatórios em diferentes segmentos do filme.

2.2.4.2. Cor

A cor dos filmes foi medida em colorímetro de bancada (Hunter Associates Laboratory Inc - Colorquest II, Roston, EUA), operando no sistema CIE (L^* , a^* e b^*). Os valores de L^* (luminosidade), a^* (intensidade da cor verde a vermelho) e b^* (intensidade da cor amarela a azul) foram obtidos depois da calibração do equipamento (padrão branco e preto), utilizando o software Universal v 3.6 (Hunter Lab, EUA). Foram realizadas 24 leituras de cada tratamento.

Também foram calculados o índice croma (C^*), considerado o atributo quantitativo de cor (Equação 1) e hue (h^*), em radianos, considerando o atributo qualitativo de cor (Equação 2).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

A diferença total de cor (ΔE^*) entre as doses 10, 30 e 50 kGy e a amostra padrão (dose 0 kGy) foi calculada a partir da equação 3.

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

Onde: ΔL^* , Δa^* , Δb^* são os diferenciais entre os parâmetros de cor das amostras.

2.2.4.3. Opacidade

A opacidade foi avaliada de acordo com o método HunterLab (1997) por meio de um colorímetro de bancada (Hunter Associates Laboratory Inc - Colorquest II, Reston, EUA). A opacidade (Y) foi calculada através da razão entre a opacidade da amostra colocada sob um padrão preto (Yb) e a opacidade da amostra colocada sob um padrão branco (Yw) (Equação 4) em uma escala arbitrária (entre 0% e 100%).

$$Y = \frac{Y_b}{Y_w} \cdot 100\% \quad (4)$$

2.2.4.4. Solubilidade em água

Porções de filmes de 2 cm de diâmetro foram secos em estufa (Olidef cz - EES1B, Ribeirão Preto, Brasil) a 105°C por 24 horas para determinação da matéria seca inicial dos filmes. Após a primeira pesagem as amostras foram imersas em recipientes com 50mL de água destilada e agitadas lentamente por 24 horas (25°C) em homogeneizador de soluções (Phoenix - AP 32 – 09076, Araraquara, Brasil). As amostras foram removidas e secas em estufa (Olidef cz - EES1B, Ribeirão Preto, Brasil) a 105°C por 24 horas para determinar a massa de matéria seca que não dissolveu em água. O percentual de solubilidade dos filmes foi determinado como porcentagem de matéria seca solubilizada (GONTARD et al., 1994).

2.2.5. Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi efetuada por meio de análises de variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$), o qual foi utilizado para determinar as diferenças significativas das médias das propriedades dos filmes, com intervalo de 95% de confiança. O programa computacional R versão 2.15.1 (Vienna, Austria) foi utilizado para esses cálculos.

No experimento, todas as análises foram feitas com três repetições lidas em triplicatas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TEOR DE PROTEÍNAS

O concentrado proteico de soro de leite apresentou teor de proteínas de $72,70 \pm 0,48$, valor este que se enquadra nas faixas de concentrados protéicos (CPS).

Os CPS podem variar sua composição de proteínas de 35 a 80% e os isolados protéicos de soro (IPS) devem apresentar valores superiores a 90% de proteínas. Quando CPS contém, em média, 53% de proteínas terão em torno de 35% de lactose, 5% de gordura e 7% de cinzas. Quando a concentração de proteínas aumenta para 80%, o conteúdo de lactose diminui, ficando em média 7%, gordura e cinzas entre 4 e 7% (ANTUNES, 2003, HUFFMAN, 1996). Esta variação na composição pode ser explicada pelas diferenças na composição inicial do soro, que depende da composição do leite e, sobretudo, dos processos de obtenção de queijos ou caseínas (de la FUENTE et al., 2002).

As doses de radiação não afetaram a quantidade inicial de proteínas no CPS, visto que os valores encontrados foram muito próximos. De acordo com Sabato (2000), a molécula de proteína responde à radiação de dois modos: como uma entidade protéica e como aminoácidos individuais e outros constituintes. Na faixa de dose usada para irradiar alimentos, o efeito nas proteínas é, em geral, pequeno e independente da proteína.

3.2 ESPESSURA

A espessura média dos filmes foi de $0,119 \pm 0,027$ mm. A espessura dos filmes é um parâmetro que influencia nas suas propriedades (CUQ *et al.*, 1996). O controle da espessura dos filmes é importante para se avaliar a uniformidade dos materiais, a repetibilidade da medida de suas propriedades, bem como a validade das comparações entre filmes. A partir da espessura é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira ao vapor d'água do material (OLIVEIRA *et al.*, 1996).

Essa variação nas espessuras dos filmes biodegradáveis é decorrente do processo *casting*, onde os filmes são secos em suportes (MONTERREY-QUINTERO, 1998; SOBRAL, 2000; MALI, 2002).

De acordo com Carvalho (1997), Sobral (2000a, 2000b), Mali et al. (2004) e Galdeano (2007), este parâmetro influencia fortemente as propriedades mecânicas, principalmente a força na perfuração e a permeabilidade ao vapor de água de filmes hidrofílicos.

À medida que se aumenta a espessura, mais resistentes à perfuração são os filmes e maior a sua permeabilidade ao vapor de água. Teoricamente, segundo a lei de difusão de Fick e a lei de sorção de Henry, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) de um filme plástico sintético varia com o inverso da sua espessura, enquanto que a permeabilidade ao vapor de água (PVA) deve ser constante (CUQ *et al.*, 1996).

3.3 COR

A cor é um dos principais atributos de qualidade que afeta a percepção do consumidor (HUTCHINGS, 2005), que possui uma posição proeminente na aceitação alimentar, e pode ser um fator predominante de atributos não sensoriais, como teor de umidade, excesso de processamento, e teor de pigmentos (HEREDIA *et al.*, 2008 ; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2008).

Os valores medidos dos parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , h^* , C^* e ΔE^*) dos filmes biodegradáveis estão apresentados na Tabela 1. Tanto a irradiação quanto a modificação de pH influenciaram significativamente ($p < 0,05$) os parâmetros de cor.

Tabela 1: Parâmetros de cor (L*, a*, b*, h* e C*) de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado e diferença total de cor (ΔE^*) entre os filmes.

Parâmetro		Filme			
	pH	Dose (kGy)			
		0	10	30	50
L*	5,5	86,506±0,742 ^{a**A*}	86,305±0,630 ^{aA}	85,211±0,440 ^{aA}	86,045±0,601 ^{aA}
	6,7	87,798±0,730 ^{aA}	87,380±0,354 ^{aA}	86,712±0,625 ^{aA}	85,655±1,230 ^{aA}
	8,5	86,103±0,898 ^{aA}	84,133±0,484 ^{aA}	86,158±0,652 ^{aA}	85,208±0,768 ^{aA}
a*	5,5	-0,190±0,222 ^{aA}	0,042±0,230 ^{bA}	0,102±0,224 ^{cA}	-0,206±0,260 ^{dA}
	6,7	0,431±0,426 ^{aB}	0,435±0,185 ^{aB}	0,345±0,234 ^{bB}	0,660±0,518 ^{cB}
	8,5	0,718±0,376 ^{aC}	1,577±0,072 ^{bC}	0,788±0,148 ^{aC}	1,306±0,266 ^{cC}
b*	5,5	19,242±2,980 ^{aA}	19,850±1,656 ^{aA}	21,224±1,762 ^{bA}	21,857±1,476 ^{bA}
	6,7	17,546±2,060 ^{aB}	18,846±1,029 ^{bB}	19,116±1,231 ^{cB}	21,928±2,559 ^{dA}
	8,5	22,234±2,818 ^{aC}	25,427±0,438 ^{bC}	25,850±1,061 ^{bA}	25,320±1,116 ^{bB}
h*	5,5	1,548±0,005 ^{aA}	1,555±0,015 ^{aA}	1,551±0,017 ^{aA}	1,544±0,012 ^{aA}
	6,7	1,541±0,015 ^{aA}	1,549±0,009 ^{aA}	1,550±0,007 ^{aA}	1,536±0,019 ^{bA}
	8,5	1,540±0,010 ^{aA}	1,505±0,008 ^{bB}	1,533±0,007 ^{cB}	1,518±0,008 ^{dB}
C*	5,5	18,588±3,112 ^{aA}	19,850±1,656 ^{bA}	20,878±1,641 ^{cA}	21,861±1,476 ^{dA}
	6,7	17,556±2,071 ^{aA}	18,852±1,033 ^{bA}	19,120±1,234 ^{cB}	21,952±2,580 ^{dA}
	8,5	21,385±1,822 ^{aB}	24,794±1,570 ^{bB}	24,862±1,064 ^{bC}	25,366±1,132 ^{cB}
ΔE^*	5,5	-	2,861±1,323 ^{aA}	2,287±1,162 ^{bA}	3,520±2,76 ^{cA}
	6,7	-	3,446±1,495 ^{aB}	3,543±1,963 ^{aB}	4,950±1,257 ^{bB}
	8,5	-	5,166±1,180 ^{aC}	2,008±2,239 ^{bA}	2,428±2,462 ^{bA}

**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose; *Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

Os filmes apresentaram valores elevados de luminosidade ($L^* \geq 84,133$), demonstrando que são de coloração clara. Os resultados estão em concordância com Yoshida (2002) que obteve valores de $L^* \geq 83,680$ em filmes proteicos de soro de leite, e com Rhim *et al.* (1998) que encontrou resultados de $L^* \geq 89,800$ em filmes proteicos de soja. Brindle; Krochta (2008); Yoshida; Antunes (2009) também obtiveram filmes translúcidos de blendas de proteínas do soro de leite.

De acordo com Ramos *et al.* (2013), as proteínas do soro de leite são importantes polímeros empregados na elaboração de filmes biodegradáveis transparentes e flexíveis, com boas propriedades de barreira ao oxigênio.

O aumento da dose provocou um incremento nos valores de croma b^* (Tabela 1), gerando filmes de coloração amarelada intensa tendendo ao marrom. Durante o processo de irradiação ocorre degradação de açúcares e, durante esta degradação há formação de compostos que absorvem a energia emitida, gerando compostos de coloração marrom, processo este conhecido como reação de Maillard (HODGE, 1953).

Os valores do índice croma aumentaram com o incremento das doses de radiação (Tabela 1). De acordo com Granato e Masson (2010), quanto maior os valores de croma, maior é a intensidade da cor das amostras, com isso, a maior intensidade de cor foi mais percebida nos filmes de pH 8,5 e dose de 50 kGy.

Anker; Standing e Hermansson (1998) obtiveram filmes a base de β -lactoglobulina e isolado proteico de soro de leite em diferentes condições de pH, e concluíram que esta variável exerceu grande efeito nas propriedades finais dos filmes, onde valores entre 4,0 e 6,6 os filmes caracterizavam-se por uma coloração esbranquiçada, e em pH maior que 6,0, os filmes eram transparentes e flexíveis.

3.4 OPACIDADE

A opacidade é uma propriedade de grande importância na aplicação de filmes como embalagem alimentícia (YOSHIDA, 2002). Tanto as doses de radiação quanto a modificação de pH afetaram significativamente ($p < 0,05$) a opacidade dos filmes. Entretanto, os diferentes tratamentos não indicaram diferenças acentuadas nesses valores (Tabela 2).

Tabela 2: Valores médios de opacidade (Y) de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH

Opacidade (Y)				
Filme	Dose (kGy)			
pH	0	10	30	50
5,5	20,061±0,682 ^{a**A*}	20,440±0,530 ^{aA}	20,543±0,619 ^{aA}	20,930±0,403 ^{aA}
6,7	22,036±1,347 ^{aB}	22,803±0,753 ^{aB}	22,331±0,460 ^{aB}	22,701±1,061 ^{aB}
8,5	20,660±0,520 ^{aA}	22,632±0,439 ^{bB}	22,920±0,464 ^{bB}	24,594±0,429 ^{cC}

**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose; *Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH

A avaliação da opacidade de um material demonstra sua maior ou menor transparência. A baixa transparência de um material é caracterizada pelo bloqueio da passagem de luz. Para a elaboração de filmes biodegradáveis que visam ser utilizados como embalagens ou ainda como coberturas para alimentos, uma maior transparência tende a ser melhor (YANG; PAULSON, 2000a; GONTARD et. al. 1994) quando se deseja manter as características originais do produto, como a cor, por exemplo.

A coloração e a opacidade dos filmes não devem ser alteradas ao longo do armazenamento do material, uma vez que essa mudança de aspecto pode prejudicar a aceitação do produto que foi adicionado do filme (SAKANAKA, 2002).

Os filmes de pH 8,5 tiveram valores de opacidade aumentados com o incremento das doses (Tabela 2). Esse aumento na opacidade nos filmes de pH 8,5 pode ser devido a intensificação da coloração amarelada gerada pelo processo de irradiação.

3.5 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

A solubilidade em água dos filmes está relacionada diretamente com as interações intermoleculares entre seus componentes, de acordo com sua estrutura e suas características químicas como hidrofiliabilidade e hidrofobicidade (FERREIRA, 2006).

Tanto as doses de radiação quanto as modificações de pH afetaram significativamente ($p < 0,05$) a solubilidade em água dos filmes (Tabela 3).

Tabela 3: Valores médios de solubilidade em água (%) de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH

Filme pH	Solubilidade em Água (%)			
	0	DOSE (kGy)		
		10	30	50
5,5	12,504±2,946 ^{b**A*}	16,862±1,658 ^{aA}	12,792±1,955 ^{bA}	15,110±2,439 ^{bA}
6,7	17,344±1,706 ^{aAB}	15,246±2,942 ^{aB}	20,149±2,630 ^{aA}	19,738±2,600 ^{aA}
8,5	18,594±2,116 ^{aA}	18,692±5,770 ^{aA}	18,676±1,770 ^{aA}	19,688±2,292 ^{aA}

**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose; *Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

De acordo com McHugh; Aujard e Krochta (1994) a variação de pH (5,0 a 10,0) na solução filmogênica, associado a um aumento na força iônica ou adição de íons, contribui para o aumento da solubilidade dos filmes.

Os filmes de pH 5,5 apresentaram valores de solubilidade inferiores aos demais (Tabela 3). Uma hipótese para explicar este resultado pode estar associada ao ponto isoelétrico (pI) - quando uma molécula apresenta igual número de cargas positivas e negativas - das principais proteínas do soro de leite. O pI da β -lactoglobulina (β -Lg) encontra-se na faixa de 5,2, e da α -lactoalbumina (α -La) entre 4,2 e 4,5 (Schmitt et al., 1998). Sabe-se que o ponto isoelétrico (pI) da proteína corresponde ao pH de menor solubilidade proteica. Em valores de pH acima ou abaixo do pI, as moléculas de proteínas possuem cargas positivas e negativas em excesso, que vão interagir com as moléculas de água, contribuindo para sua solubilização (SGARBIERI, 1996).

De acordo com Pelegrine e Gasparetto (2005), a solubilidade é uma propriedade de fatores intrínsecos como teor e composição de proteínas, e fatores extrínsecos, como pH, força iônica e temperatura. Entre os fatores extrínsecos, o pH é o de maior importância, pois influencia significativamente a natureza e distribuição das cargas sobre a superfície da proteína.

De acordo com Damodaram (1996), os filmes elaborados sem ajuste de pH (pH=5,5) apresentam menores valores de solubilidade por estarem próximos do pI da proteína, onde a repulsão eletrostática é mínima o que favorece a agregação através das interações hidrofóbicas. Por outro lado, o aumento da densidade de cargas da proteína, em valores de pH afastados da região do ponto isoelétrico, como é o caso dos filmes produzidos com ajuste de pH (8,5), favorecem as interações proteína-água resultando em um aumento das propriedades de hidratação e consequentemente um aumento na solubilidade.

Wittaya (2009) afirma que a solubilidade é uma característica importante em filmes, pois está ligada a biodegradabilidade destes, quando utilizado como embalagem.

CONCLUSÃO

As proteínas de soro de leite apresentaram ser uma excelente alternativa para a produção de filmes biodegradáveis. O concentrado protéico apresentou elevados teores de proteínas, o que confere aos filmes uma vasta gama de propriedades funcionais e potenciais já que esses polímeros são capazes de formar ligações intra e intermolecular. Não houve uma elevada variação na espessura dos filmes, o que facilitou a avaliação da uniformidade dos materiais. Tanto a irradiação quanto a modificação de pH influenciaram significativamente os parâmetros de cor e opacidade. Os filmes apresentaram-se translúcidos e de coloração amarelada. Os filmes de pH 8,5 tiveram valores de opacidade aumentados com o incremento das doses de radiação. Os filmes de pH 5,5 apresentaram valores de solubilidade em água inferiores aos demais, devido à proximidade do ponto isoelétrico das proteínas do soro de leite. Diante disso, os diferentes tratamentos empregados podem promover melhora nas propriedades dos filmes.

REFERÊNCIAS

- ANKER, M.; STANDING, M.; HERMANSSON, A. M. Mechanical properties, water vapor permeability and moisture contents of b-Lg and whey protein using multivariate analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 5, p. 1820-1829, 1998.
- ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. Barueri: Manole, 2003. 135p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods o analysis**. 15. ed. Arlington: AOAC, 1990.
- BENGTSSON, M.; KOCH, K.; GATENHOLM, P. Surface octanoylation of high amylose potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 54, n.1, p. 1-11, 2003.
- BRINDLE, L. P.; KROCHTA, J. M. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 9, p. E446-E454, 2008.
- CARR, L. G. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável tipo espuma a partir de fécula de mandioca**. Tese (doutorado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Engenharia Química. São Paulo, 2007.
- CARVALHO, R. M. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina**. Campinas, 1997. 128p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade de Campinas. Campinas.
- CHANTRA, T. R; ABDULLA, Z.; ISMAIL, H. Electron beam irradiation of EVA/ENR Blend. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, Glen Allen, v. 45, n. 4, p. 555-559, 2006.
- CHAWLA, S. P.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Antioxidant properties of Maillard reaction products obtained by gamma-irradiation of whey proteins, **Food Chemistry**, Great Britain , v.116, n. 1, p. 122-128, 2009.
- CHEN, P. H.; LIN, J. H.; YANG, M. H. Relationships between the chains flexibilities of chitosan molecules and the physical properties of their casted films. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 41-46, 1994.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein – based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 3, p. 580- 584, 1996.
- DAMODARAM, S. Aminoacids, peptides and proteins. In: FENNEMA, O. (Ed.) **Food Chemistry**, 3ra. Ed. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 6, p. 321-429.

de la FUENTE, M. A.; HEMAR, Y.; TAMEHANA, M.; MUNRO, P. A.; SINGH, H. Process-induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein concentrates. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 12, n.4, p. 361-369, 2002.

DENAVI, G.; TAPIA-BLACIDO, D. R.; ANON, M. C.; SOBRAL, P. J. A.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, Londres, v. 90, n. 3, p.341-349, 2008.

FERREIRA, A. H. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e ceras de carnaúba e de cana-de-açúcar**. 2006. 184f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GALDEANO, M. C. **Filmes e laminados biodegradáveis de amido de aveia com diferentes plastificantes, produzidos por casting e extrusão**. 2007. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina.

GRANATO, D.; MASSON, M. L. Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, vol. 30, n. 4, p. 1090-1096, 2010.

GONTARD, N.; DUCHES, C. ;CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GUILBERT, S.; GONTARD, N; GORRIS, G.M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 29 (1-2): 10-7, 1996.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. Edible Filmes and Coatings from Wheat and Corn Proteins. **Food Technology**, 44 (10): 63-9, 1990.

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

JAGADEESH, D.; REDDY, D. J. P.; RAJULU, A. V. Preparation and properties of biodegradable films from wheat protein isolate. **Journal of Polymers and the Environment**, New York, v. 19, n. 1, p. 248-253, 2011.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HEREDIA, F. J. et al. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. **Food Research International**, v. 41, n. 5, p. 513-521, 2008.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M.; KROCHTA, J. M. Thermoplastic processing of proteins for film formation - a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 2, p. 30-39, 2008.

HODGE, J. E. Dehydrated food: Chemistry of browning reaction in model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 1, n. 15, p. 928-943, 1953.

HUTCHINGS, J. B. Color Measurements. **Encyclopedia of Analytical Science**, p.198-208, 2005.

MALI, S. **Produção, caracterização e aplicação de filmes plásticos biodegradáveis a base de amido de cará**. 2002. 150p. Londrina, 2002. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina.

MALI, S., KARAM, L. B, RAMOS, L. P.; GROSSMANN, M. V. E. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 25, p. 7720-7725, 2004.

MELLENDEZ-MARTINEZ, A. J. et al. Does the carotenoid neoxanthin occur in orange juice? **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, 2008.

McHUGH, T. H.; AUJARD, F. J.; KROCHTA, J. M. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 2, p. 416-419, 1994.

McHUGH, T.H.; HUXSOLL, C.C.; KROCHTA, J.M. Permealibity Properties of Fruit Puree Edible Filmes. **Journal of Food Science**, 61 (1): 88-91, 1996.

MONTERREY-QUINTERO, E. S. **Caracterização físico-química de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Pirassununga, 1998.

OH, S. H.; LEE, Y. S.; LEE, J.W.; KIM, M. R.; YOOK, H. S.; BYUN, M.W. The effect of gamma-irradiation on the non-enzymatic browning reaction in the aqueous model solutions. **Food Chemistry**, Great Britain, v. 92, n.2, p. 357-363, 2005.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓUPOLOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, 1996.

OSORIO, C. et al. Colour and flavour changes during osmotic dehydration of fruits. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 3, p. 353-359, 2007.

Pelegrine, D. H. G., & Gasparetto, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **Food Science and Technology**, 38, 77-80, 2005.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**. Chicago, 66, n.5, p.705-710, 2001.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2011.

RAMOS, O.L., REINAS, I., SILVA, S.I., FERNANDES, J.C., CERQUEIRA, M.A., PEREIRA, R.N., VICENTE, A.A., POÇAS, M.F., PINTADO, M.E., MALCATA, F.X. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids** 30, 110–122, 2013.

SABATO, S. F.; OUATTARA, B.; YU, H.; D'APRANO, G.; LE TIEN, C.; MATEESCU, M. A.; LACROIX, M. Mechanical and barrier properties of cross-linked soy and whey protein based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 3, p. 1397-1403, 2001.

SAKANAKA, L. S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 175p. 2002.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; DALLA ROSA, M. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science and Technology**, Kidlington Oxford, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.

SOARES, D. S. B. **Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

SOBRAL, P. J. DO A. Influencia da espessura de biofilmes feitos a base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, n.6, p.1251-1259, 2000a.

SOBRAL, P. J. DO A. **Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes**. 2000b. 156p. Tese (Tese de Livre Docência) – Universidade de São Paulo. Pirassununga.

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

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESODOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and technofunctional properties of proteinpolysaccharide complexes: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.38, p.689-753, 1998.

SGARBIERI, V. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, degradação e modificação**. São Paulo: Ed. Varela, p.84, 1996.

TANADA-PALMU, P. S.; PROENCA, P. DE S.; TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; GROSSO, C. R. F. G. Recobrimento de sementes de brócolis e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 291-297, 2005.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. 62f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de ciencias agronomicas da Unesp, Sao Paulo, 2003.

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

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine**, Buffalo, v. 9, n. 2, p. 136-156, 2004.

RHIM, J.W. et al. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. **Industrial Crops and Products**, v.8, p. 195-203, 1998.

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

YOSHIDA, C. M. P. **Aplicação de concentrado proteico de soro de leite bovino na elaboração de filmes comestíveis**. 2002. 246f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição)– Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2002.

YOSHIDA, C. M. P.; ANTUNES, A. J. Aplicação de filmes proteicos a base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 420-430, 2009.

WITTAYA, T. Microcomposites of rice starch film reinforced with microcrystalline cellulose from palm pressed fiber. **International Food Research Journal**, Selangor, v.16, p. 493-500, 2009.

4 ARTIGO II

EFEITO DO pH E IRRADIAÇÃO NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS, ÓPTICAS E DE BARREIRA DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE CONCENTRADO PROTEICO DE SORO DE LEITE

FERNANDES, A. P. S. Efeito do pH e irradiação nas propriedades mecânicas, ópticas e de barreira de filmes biodegradáveis a base de concentrado proteico de soro de leite. In: _____. **Avaliação e caracterização das propriedades filmogênicas de proteínas do soro de leite submetidas à irradiação e modificação de pH**. Cap. 4, p.54-89. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás, GO.

RESUMO

A maior parte do consumo mundial de embalagens é derivada de polímeros sintéticos que, por sua alta estabilidade físico-química e grande durabilidade, após serem descartados, podem permanecer muito tempo no ambiente, com tempo de degradação na ordem de 100 anos, e sua decomposição, pode dar origem a substâncias nocivas que afetam a saúde humana e o ambiente. Sabendo disso, o baixo custo da matéria-prima e a biodegradabilidade são características vantajosas que promovem o interesse no estudo de desenvolvimento de filmes biodegradáveis. Como diferentes tratamentos empregados na produção de filmes biodegradáveis afetam a interação entre seus agentes formadores, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do pH e da irradiação nas propriedades de barreira, ópticas, mecânicas e estruturais nos filmes a base de concentrado proteico de soro de leite irradiado. Os filmes foram caracterizados quanto à permeabilidade de vapor d'água, microscopia eletrônica de varredura de superfície, microscopia eletrônica de varredura na seção de ruptura, tração e perfuração. O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado proteico de soro de leite, com 72,70% de proteínas, foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods e, antes à elaboração dos filmes, esse concentrado foi irradiado. A análise estatística dos dados foi efetuada por meio de análises de variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$), o qual foi utilizado para determinar as diferenças significativas das médias das propriedades dos filmes, com intervalo de 95% de confiança. O programa computacional R versão 2.15.1 (Vienna, Austria) foi utilizado para esses cálculos. No experimento, as análises foram feitas com três repetições lidas em triplicatas, com exceção dos testes mecânicos, em que as três repetições foram lidas nove vezes. Concluiu-se que a modificação de pH e o processo de irradiação podem servir como uma alternativa para alterar as propriedades mecânicas de filmes a base de concentrado proteico de soro de leite e, conseqüentemente, representaram uma alternativa de matéria-prima na elaboração de filmes biodegradáveis.

Palavras-chaves: pH; Irradiação, Propriedades mecânicas.

ABSTRACT

Most of the world's packaging is derived from synthetic polymers, for their high physical and chemical stability and high durability after being discarded, may remain long in the environment, with degradation time in the 100 years and its decomposition, can lead to harmful that affect human health and the environment. Knowing this, the low cost of raw materials and biodegradability are advantageous features that promote interest in the study of development of biodegradable films. As the different treatments that are used in the production of biodegradable films affect the interaction between its forming agents, the purpose of this study was the effect of pH and irradiation was assessed in barrier properties, optical, mechanical and structural in films based protein concentrate, whey irradiated milk. The films were characterized by the permeability of water vapor, surface scanning electron microscopy, scanning electron microscopy in strength, traction and drilling section. The experiment was conducted in the Department of Food Engineering, College of Agronomy, Federal University of Goiás (UFG), located in Goiânia (GO). The protein concentrate of whey, with 72.70 % protein, was provided by the Argentine company Arla Foods and before the preparation of the films, this concentrate was spent. Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey test ($p \leq 0.05$), which was used to determine significant differences of the mean properties of the films, with the 95 % confidence. The computer program R version 2.15.1 (Vienna, Austria) was used for these calculations. In the experiment, the analyzes were performed with three replicates read in triplicate, except for the mechanical tests, in which three replicates were read nine times. It was concluded that the change of pH and irradiation process can serve as an alternative to changing the mechanical properties of films based protein concentrate whey and therefore represented an alternative raw material in the preparation of biodegradable films.

Keywords: pH, Irradiation, Mechanical properties.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial e do seu poder aquisitivo, o número de produtos comercializados trouxe consigo um aumento na quantidade de resíduos gerados, sobretudo de embalagens de materiais não biodegradáveis (YOSHIGA; TOFFOLI; WIEBECK, 2004).

A maior parte do consumo mundial de embalagens é derivada de polímeros sintéticos. Devido a sua alta estabilidade físico-química e grande durabilidade, após serem descartados, podem permanecer muito tempo no ambiente, com tempo de degradação na ordem de 100 anos (ROSA; FRANCO; CALIL, 2001). Sua decomposição pode dar origem a substâncias nocivas como as dioxinas, furanos e ftalatos, dentre outros que afetam a saúde humana e o ambiente. Tal fato aumenta a poluição ambiental, que é um dos fatores que mais contribui atualmente para o aquecimento global (VILLADIEGO *et al.*, 2005).

Com o decorrer do tempo, à medida que novas necessidades vão surgindo, novas tecnologias e novos produtos passam a ser utilizados no desenvolvimento de embalagens (COLES, 2003). Com isso, a crescente preocupação com a segurança alimentar, a extensão da vida de prateleira, a relação custo-eficiência, a conveniência para o consumidor e problemas ambientais, têm impulsionado o desenvolvimento de novas embalagens, bem como de novas matérias-primas para a sua elaboração (AHVENAINEN, 2003).

A preocupação com o descarte de embalagens sintéticas e a diminuição das reservas de petróleo deu um impulso para o desenvolvimento de embalagens com filmes biodegradáveis, que é degradada através da ação de microorganismos no solo, usando biopolímeros renováveis tais como polissacarídeos, proteínas, lipídios e outros componentes (KESTER; FENNEMA, 1986; DEBEAUFORT; QUEDAZA-GALLO; VOILLEY, 1998).

De acordo com LeTien *et al.* (2000), o baixo custo da matéria-prima e a biodegradabilidade são características vantajosas que promovem o interesse no estudo de desenvolvimento de filmes biodegradáveis.

Filmes proteicos podem ser considerados como um tipo de embalagem comestível e/ou biodegradável, que oferecem vantagens sobre as embalagens sintéticas, no que diz respeito à redução de resíduos e poluição ambiental, devido ao seu caráter biodegradável, ou seja, a degradação completa em componentes como gás carbônico, água, sais, metano e biomassa, que são produtos da ação de microrganismos. Outra vantagem é a fonte de matéria-prima para a formação do filme, pois são mais fáceis de obter, ao contrário da embalagem plástica que é formada a partir de um recurso, que pode ser definido como limitado e não

renovável, o petróleo. De acordo com Debeaufort *et al.*(1998), este tipo de embalagem requer características específicas para seu uso, como propriedades de barreira e mecânicas efetivas; ser inócuo, livre de produtos tóxicos e não poluente; e o processamento ser simples e de baixo custo.

As características e a formação de filmes protéicos estão diretamente relacionadas com a natureza da interação proteína-proteína. Fatores como composição, distribuição e polaridade de aminoácidos, ligações de hidrogênio, ligações dissulfídicas inter e intramoleculares, interferem na formação da matriz filmogênica (GENNADIOS; WELLER, 1991).

De acordo com Pérez-Gago e Krochta (2001), é indispensável o entendimento da estrutura e as interações proteína-proteína para a obtenção de filmes com características de solubilidade e propriedades mecânicas específicas.

As proteínas do soro de leite, quando expostas a diferentes valores de pH, sofrem mudanças estruturais que interferem nas interações proteína-proteína relacionadas com a formação e propriedades finais dos filmes, como propriedades de permeabilidade ao vapor d'água, propriedades mecânicas (PÉREZ-GALO, KROCHTA, 1999).

O processo de irradiação gama também possui aplicações na área de polímeros, onde a reticulação (ligações cruzadas) das moléculas causada pela radiação confere melhoria nas propriedades dos materiais (SABATO, 2000).

Como diferentes tratamentos empregados na produção de filmes biodegradáveis afetam a interação entre seus agentes formadores, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do pH e da irradiação nas propriedades de barreira, ópticas, mecânicas e estruturais nos filmes a base de concentrado proteico de soro de leite. Os filmes foram caracterizados quanto à permeabilidade de vapor d'água, microscopia eletrônica de varredura de superfície, microscopia eletrônica de varredura na seção de ruptura, tração e perfuração.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado proteico de soro de leite, com 72,70% de proteínas, foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods e, antes à elaboração dos filmes, esse concentrado foi irradiado.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Irradiação

A irradiação do concentrado proteico foi feita no IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares), localizado em São Paulo (SP), utilizando um irradiador comercial com fonte de ^{60}Co . O concentrado proteico foi submetido a doses de 0 (controle), 10, 30 e 50 kGy com taxa de dose de 2 kGy/h.

2.2.2. Elaboração Dos Filmes

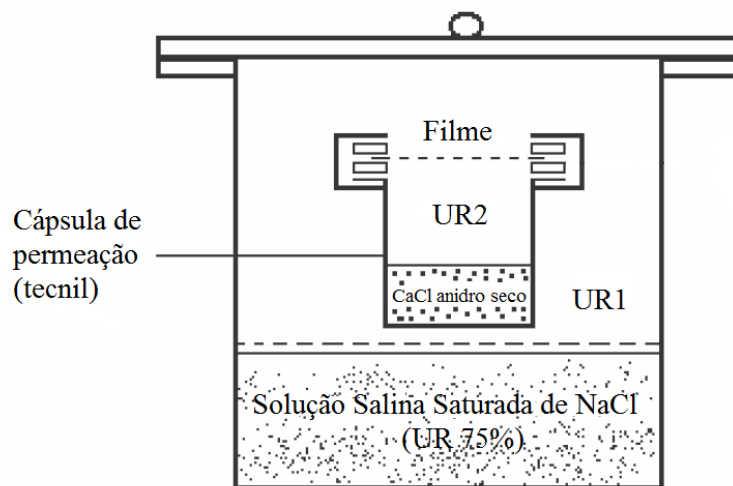
Os filmes foram produzidos a partir do método de *casting*, segundo Soares (2012). Soluções filmogênicas aquosas foram preparadas contendo 5% de proteínas, 3,75% de glicerol e 91,25% de água destilada, havendo a total solubilização das proteínas em água e posterior adição do glicerol (Cromato). Em seguida, as soluções foram aquecidas a 90°C por 30 minutos em banho-maria com agitação lenta (Marconi – MA 093, Piracicaba, Brasil) e resfriada em banho de gelo, aplicando-se agitação moderada, até a temperatura de 25°C. O pH das soluções foram ajustados para 5,5 (próximo ao ponto isoelétrico médio das proteínas do soro de leite), 6,7 (pH natural do leite) ou 8,5, utilizando-se hidróxido de sódio (Vetec) ou ácido láctico (Vetec). As alíquotas de solução filmogênica foram dispersas em placas de vidro encapadas com plástico adesivo (22 x 22 cm²), sendo a espessura controlada pelo volume disperso em cada placa. A solução foi seca em estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal – TE 394/3, Piracicaba, Brasil) a 35°C por 18 horas. Os filmes foram retirados das placas de vidro e identificados para análises subseqüentes.

2.2.3. Caracterização Dos Filmes

2.2.3.1. Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente de acordo com o método E96/E96 da ASTM (ASTM, 2010) a 25°C. As amostras dos filmes foram cortadas na forma de discos e seladas com parafina em cápsulas de permeação feitas de tecnil, contendo cloreto de cálcio anidro seco em estufa à 200°C. As cápsulas de permeação foram acondicionadas em dessecadores contendo solução salina saturada de cloreto de sódio (umidade relativa de 75%) (Figura 1).

Figura 1: Esquema do dessecador utilizado para a determinação da permeabilidade ao vapor de água



O vapor de água transferido através do filme foi determinado pelo ganho de massa no sistema, sendo as medições realizadas periodicamente em intervalos de 30 minutos durante as primeiras 2 h, a cada 2 h durante as 8 h seguintes e, finalmente, após 24h. Mudanças na massa da cápsula de permeação foram registradas e o ganho de massa (g) foi graficado em função do tempo (h) e, da reta obtida por regressão linear, foi determinado o coeficiente angular e calculada a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TVA) (Equação 1).

$$TVA = \frac{g/t}{A} \quad (1)$$

Onde:

TVA: taxa de permeabilidade ao vapor de água (g/h.m²)

g/t: coeficiente angular da reta (g/h)

A: área de permeação (m²)

Em seguida, a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada utilizando-se Equação 2:

$$PVA = \frac{TVA \cdot x}{\Delta P} \quad (2)$$

Onde:

PVA: permeabilidade ao vapor de água (gmm/h. m²kPa)

x: espessura média do filme (mm)

ΔP : diferença de pressão de vapor do ambiente (kPa) contendo cloreto de cálcio anidro (0% de UR) e solução saturada de NaCl (75% de UR).

2.2.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da seção de ruptura e da superfície

As amostras de filmes foram colocadas em dessecadores sob vácuo com sílica-gel (0% UR) durante 7 dias para eliminar resíduos de umidade, em seguida, sofreram fratura criogênica após congelamento rápido em nitrogênio líquido. As amostras a serem analisadas foram montadas em suporte de alumínio ou “stubs” com fita adesiva dupla-face, em seguida, foram colocadas em câmara metalizadora (SCO –040 Marca Balzers), para serem revestidas com uma camada de ouro. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no microscópio eletrônico (JEOL – JSM 6610, Tokyo, Japão), utilizando-se um acelerador de voltagem de 2,5 kV. A análise de MEV foi realizada no laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás (Goiânia/GO).

2.2.3.3. Propriedades Mecânicas: em tração

As análises de tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (E), módulo de elasticidade (ME) foram realizadas com o texturômetro (Stable Micro System, TA.XT.plus Texture Analyser, Surrey, Inglaterra), operando de acordo com o método ASTM D 882-10 (ASTM, 2010). Para os testes de tensão na ruptura, alongação na ruptura e módulo de elasticidade, amostras de 14 cm de comprimento x 1,5 cm de largura foram fixadas nas garras

do equipamento (Figura 2). A separação inicial entre as garras foi de 10 cm e velocidade do teste fixada em 0,21 mm/s. A tensão na ruptura foi calculada por meio da equação 3:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (3)$$

Sendo:

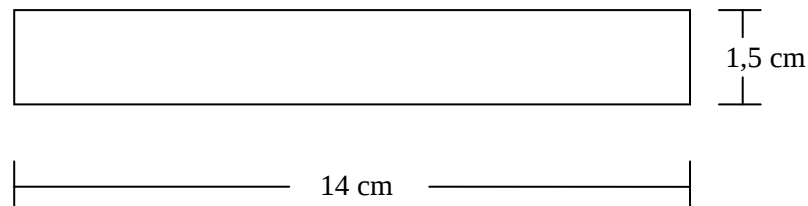
σ : tensão na ruptura (MPa)

F: força (N) na ruptura

A: área da secção transversal inicial (m²)

A porcentagem de alongação foi calculada dividindo-se a alongação na ruptura pelo tamanho inicial do filme e multiplicando por 100. O módulo de elasticidade (MPa) foi calculado através da tangente da porção linear da curva tensão x deformação.

Figura 2: Esquema do corpo de prova para teste de tração



2.2.3.4. Propriedades Mecânicas: em perfuração

As análises de força máxima na ruptura e deformação na ruptura foram realizadas com o texturômetro (Stable Micro System, TA.XT.plus Texture Analyser, Surrey, Inglaterra) segundo Gontard et al. (1994). As amostras foram cortadas em formato circular (6,5 cm de diâmetro), fixadas no *probe* circular de mesmo diâmetro e perfuradas com uma sonda deslocando-se a 0,21mm/s até perfuração dos filmes (Figura 3). Os valores da força (F) na ruptura e do deslocamento (d) da sonda foram determinados diretamente da curva obtida da força em função da distancia deslocada. A deformação na ruptura foi determinada por meio da Equação 4:

$$D = \frac{(d^2 + l_0)^{\frac{1}{2}} - l_0}{l_0} \quad (4)$$

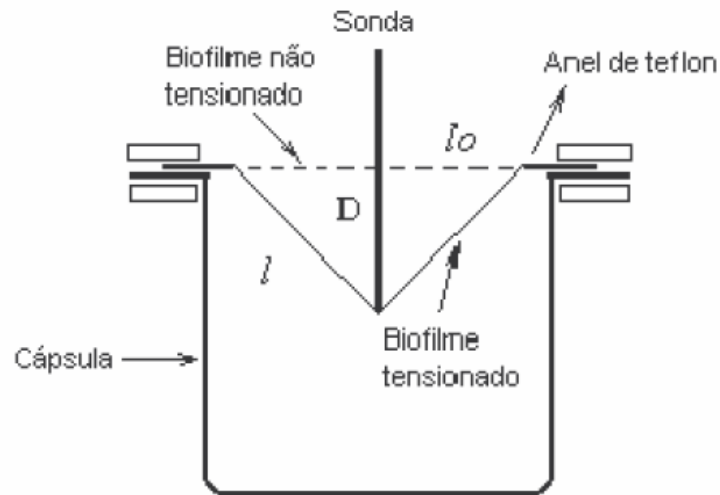
Onde:

D: deformação na ruptura (%)

D: distância penetrada pela sonda (m)

l_0 : raio da superfície do filme (m)

Figura 3: Esquema do sistema de determinação da deformação em teste de ruptura



2.2.5. Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi efetuada por meio de análises de variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$), o qual foi utilizado para determinar as diferenças significativas das médias das propriedades dos filmes, com intervalo de 95% de confiança. O programa computacional R versão 2.15.1 (Vienna, Austria) foi utilizado para esses cálculos.

No experimento, as análises foram feitas com três repetições lidas em triplicatas, com exceção dos testes mecânicos, em que as três repetições foram lidas nove vezes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

A transferência de massa em materiais poliméricos ocorre através de difusão molecular (KESTER, FENNEMA, 1986) e envolve principalmente o movimento do permeante na superfície do filme, a absorção do mesmo na matriz polimérica, a difusão através do filme pelos poros formados devido ao movimento da cadeia polimérica, bem como a evaporação através da superfície do filme (STUCHELL, KROCHTA, 1994).

Alguns fatores podem afetar este processo e, com isso, a permeabilidade ao vapor de água em filmes proteicos, que são o nível de plastificação, a morfologia do filme, as características do permeante, as interações da cadeia polimérica e o grau de intercrossamento da matriz polimérica (KESTER, FENNEMA, 1986).

Esta é uma importante propriedade para aplicação de filmes como embalagens, pois por meio dela pode-se fazer a escolha de qual o tipo de produto mais adequado a ser acondicionado. Os filmes proteicos possuem alta permeabilidade ao vapor de água devido à alta proporção de aminoácidos hidrofílicos em suas estruturas (McHUGH; AUJARD; KROCHTA, 1994).

Tanto as diferentes doses de radiação quanto as modificações de pH não afetaram significativamente ($p < 0,05$) os valores de PVA (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de permeabilidade ao vapor de água de filmes biodegradáveis de concentrado protéico de soro de leite irradiado produzidos com diferentes valores de pH.

Permeabilidade ao Vapor de Água (gmm/h.m ² kPa)				
Filme	Dose (kGy)			
pH	0	10	30	50
5,5	0,324±0,074 ^{a**A*}	0,235±0,133 ^{aA}	0,257±0,005 ^{aA}	0,277±0,072 ^{aA}
6,7	0,334±0,081 ^{aA}	0,241±0,102 ^{aA}	0,483±0,067 ^{aA}	0,273±0,012 ^{aA}
8,5	0,339±0,037 ^{aA}	0,215±0,119 ^{aA}	0,285±0,169 ^{aA}	0,220±0,115 ^{aA}

^{**}Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose; ^{*}Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

De acordo com Perez-Gago; Nadaud e Krochta (1999), no intervalo de pH entre 3 e 8 não ocorrem efeitos notáveis sobre as propriedades mecânicas, solubilidade e permeabilidade

ao vapor de água de filmes a base de isolado proteico de soro de leite, estando os autores em concordância com o presente trabalho.

Maia; Forte e Souza (2000) afirmam que quanto mais hidrofílico o polímero, mais fácil será a transmissão de umidade, logo, os filmes proteicos apresentam uma alta permeabilidade ao vapor de água. Entretanto, diversas alterações podem ser realizadas, como a inserção de ligações cruzadas com ácidos láctico e tânico em filmes de proteínas, resultando na redução à permeabilidade de umidade do filme. Isto porque as ligações cruzadas diminuem os deslocamentos segmentais da estrutura do polímero, diminuindo a difusão ativada, a solubilidade do permeante e, por conseguinte, a permeabilidade.

Vários autores (BANKER, 1966; CUQ *et al.*, 1996; McHUGH; AVENABUSTILLOS; KROTCHA, 1993; SOBRAL, 2000; SAKANAKA, 2002) demonstraram que filmes de materiais hidrofílicos e plastificantes na composição apresentam diversos fatores que interferem a transmissão de vapor de água nestes materiais, como interações da água do meio ambiente e o material testado, características estruturais do material como espessura, teor do plastificante.

3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DA SUPERFÍCIE E DA SEÇÃO DE RUPTURA

Estudos que envolvem a avaliação de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis utilizam o microscópio eletrônico de varredura como ferramenta, buscando correlacionar as propriedades dos mesmos com sua estrutura morfológica (SOUZA, 2001; MAUER *et al.*, 2000; McHUGH *et al.*, 1994; BRANDENBURG *et al.*, 1993; GREENER; FENNEMA, 1989).

A partir da microscopia eletrônica de varredura torna-se possível a visualização de possíveis imperfeições, presença de poros, separação dos componentes utilizados na formulação dos filmes e a estrutura da superfície do material (BATISTA, 2004).

Em relação às microscopias eletrônicas de varredura de superfície (Figura 4), observa-se que não houve um comportamento padrão com o emprego das doses de radiação, porém, os filmes de pH 5,5 apresentaram estrutura lisa homogênea na dose 0 e 10 kGy e aparência irregular quando irradiados nas demais doses. Nos filmes de pH 6,7 percebe-se uma aparência irregular em todas as doses de radiação, com quantidades significativas de poros. Já nos filmes de pH 8,5 verifica-se uma estrutura lisa homogênea para todas as doses de radiação, indicando que o efeito do pH é maior do que o efeito da irradiação sobre o aspecto do filme.

Hermansson (1986) relatou que a microestrutura de géis de proteína de soro de leite em pH 9,0 apresentou-se menos agregada que em pH 7,0, estando o autor em concordância com o presente trabalho.

Frinault *et al.*(1997) relataram que filmes de caseína produzidos em pH 9,0 apresentaram uma estrutura mais densa do que filmes formados em pH 7,0. Poucos trabalhos têm sido publicados sobre o efeito do pH alcalino em filmes de proteínas de soro de leite. Por sorte, o comportamento dos filmes de proteínas de soro de leite é bastante semelhante aos géis de proteínas de soro de leite, o que significa que os resultados podem ser comparáveis . Isto é devido à proteína dominante do soro de leite β -Lactoglobulina (β -Lg), que influencia o comportamento dos filmes de proteína de soro de leite (ANKER *et al.*, 1998) e géis (HERMANSSON, 1979, 1986; STADING; HERMANSSON, 1990, 1991; LANGTON; HERMANSSON, 1992; STADING *et al.*, 1992, 1993).

Boye *et al.* (1997) relataram que os géis de β -Lg de pH 8,6 apresentavam uma estrutura mais densa quando comparados com os géis de pH 7,0. De acordo com os autores, a estrutura da proteína mais densa pode ser explicada devido a uma melhor formação do gel em pH alcalinos. Essa boa capacidade de geleificação se deve, em grande parte, ao desdobramento da molécula de β -Lg e ao aumento de reações de troca do grupo tiol para ligações dissulfídicas. Esse desdobramento é iniciado pelo aumento das forças de repulsão intramoleculares em pH alcalino (CASAL, 1988). A proteína parcialmente desdobrada requer menos calor para desnaturar do que proteínas nativas (MA; HARWALKAR, 1988; WAISSBLUTH; GRIEGER, 1974).

Em relação às microscopias eletrônicas de varredura da seção de ruptura (Figura 5) observa-se que também não houve um comportamento padrão com o emprego das doses de radiação, porém os filmes de pH 5,5 apresentaram estrutura lisa homogênea em todas as doses de radiação. Nos filmes de pH 6,7 e 8,5 percebe-se uma estrutura aparentemente desordenada em todas as doses de radiação.

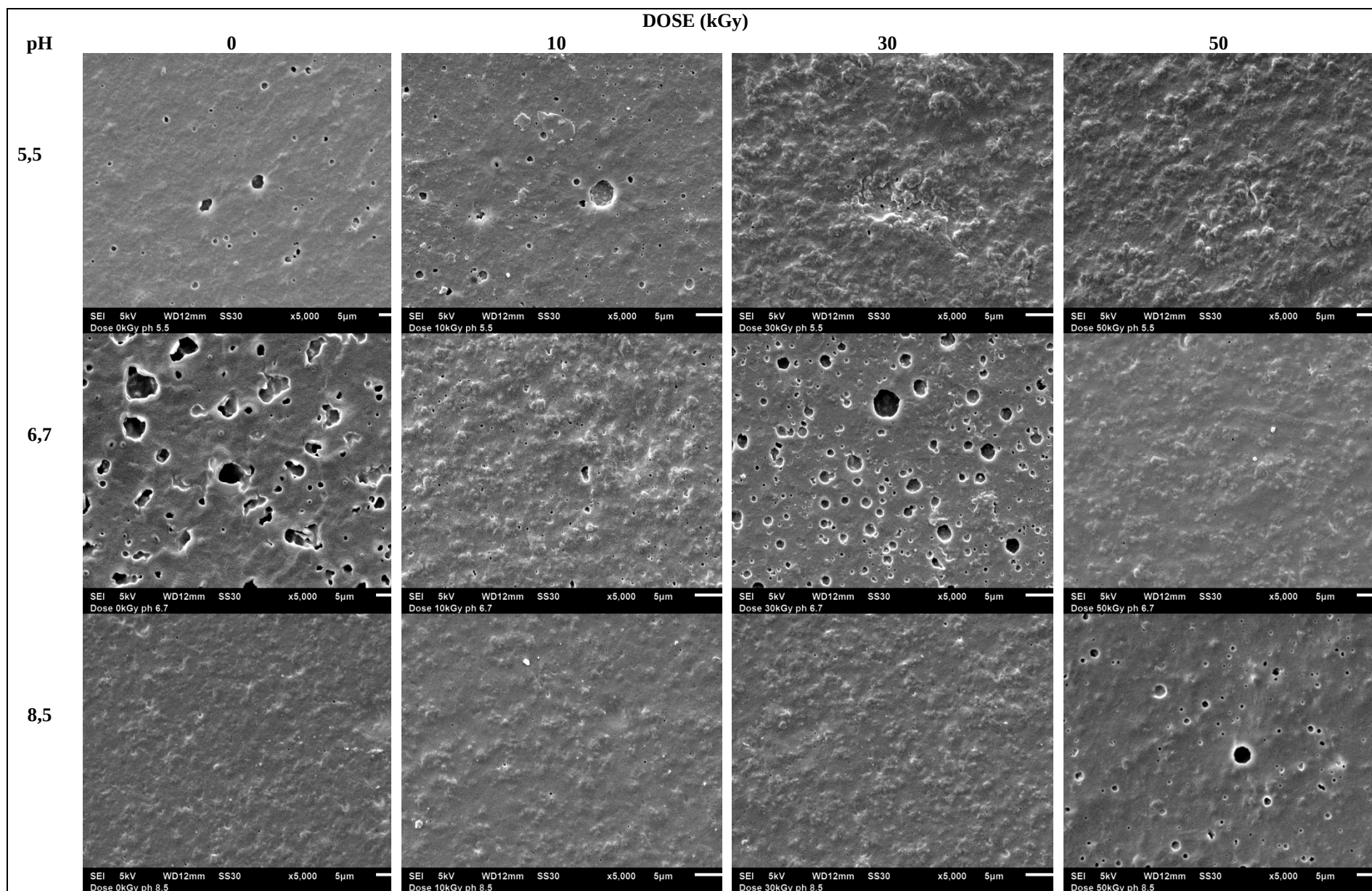


Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura da superfície de filmes biodegradáveis de concentrado proteico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH.

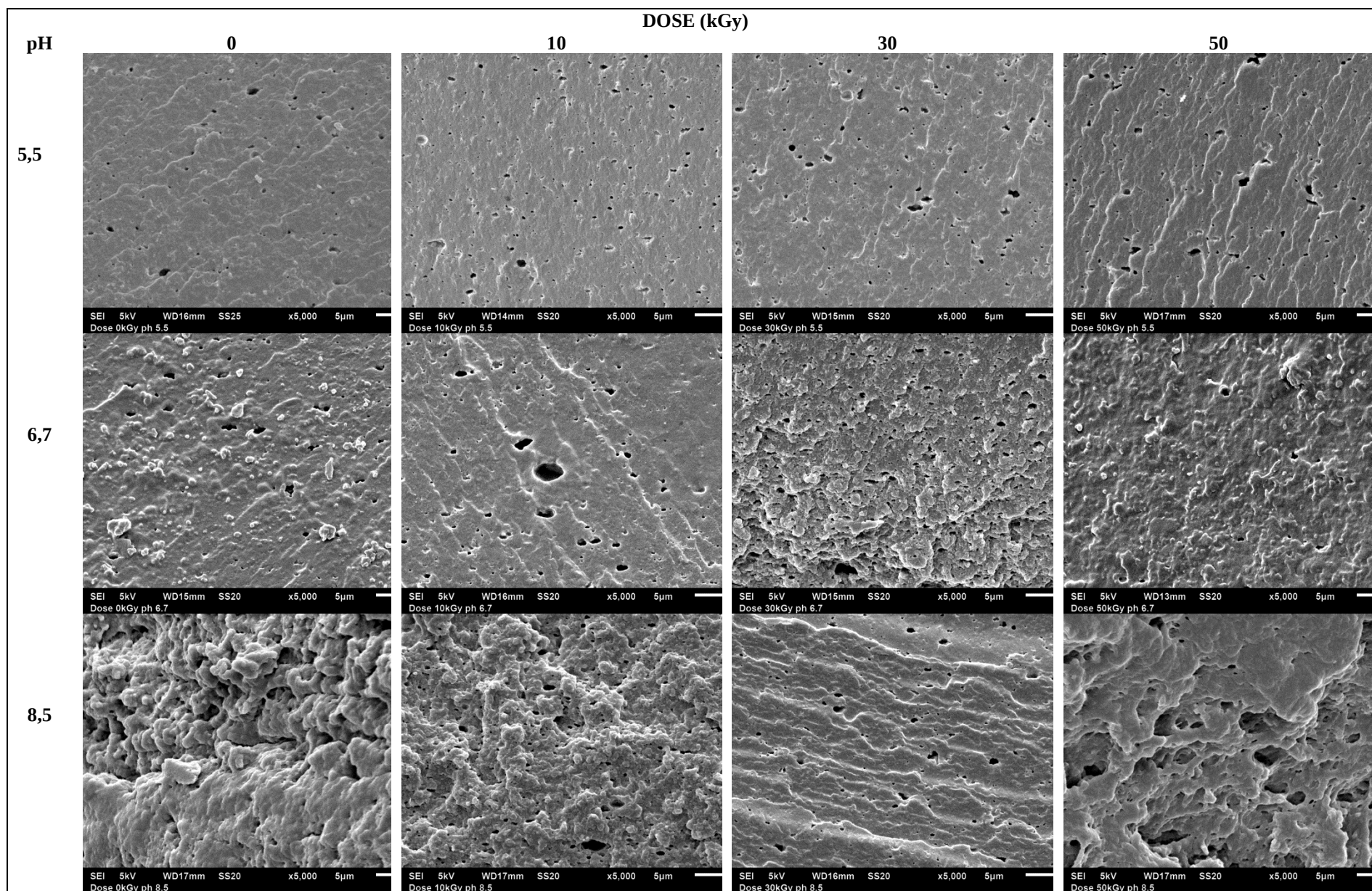


Figura 5: Microscopia eletrônica de varredura da seção de ruptura de filmes biodegradáveis de concentrado proteico de soro de leite irradiado com diferentes valores de pH.

3.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS: EM TRAÇÃO

As propriedades mecânicas dependem fortemente da formulação (macromolécula, solvente, plastificante, ajustador de pH) e do processo de obtenção. Na formulação, o teor de plastificante é um importante fator capaz de alterar o perfil das propriedades mecânicas (MALI et al., 2004).

O teste mais utilizado para medir a força mecânica é o teste de tração, onde podem ser derivadas suas propriedades que são tensão de ruptura (MPa), alongação (%) e módulo de elasticidade. A tensão de ruptura é a resistência oferecida pelo material no ponto da ruptura. A deformação é o alongamento relativo do corpo de prova em relação a seu comprimento original. O alongamento é a relação percentual entre o alongamento do corpo de prova no teste e seu comprimento inicial (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

As principais propriedades mecânicas dos filmes são a resistência à tração e a porcentagem de alongação. A primeira é expressa pela tração máxima desenvolvida pelo filme no teste. A segunda é a habilidade do filme em se estender. Os filmes obtidos devem ser resistentes à ruptura e à abrasão, fazendo com que o alimento não perca sua integridade e proteção por manuseio e transporte. Além disso, ele deve possuir flexibilidade suficiente para adaptar-se a eventuais deformações no alimento sem dano mecânico (GONTARD et al., 1995).

As propriedades de tração expressam a resistência do material à deformação por alongamento quando submetido à tração, característica requerida em máquinas de acondicionamento e de manuseio de embalagens (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

O aumento do pH aumentou significativamente ($p < 0,05$) os valores de tensão na ruptura dos filmes em todas as doses de radiação (Gráfico 1). No incremento das doses, a variação de pH exerceu influência significativa ($p < 0,05$) em todas as doses de radiação, visto que os maiores valores de tensão de ruptura foram encontrados no pH 8,5. Tal fato corrobora com os resultados obtidos por Gennadios et al. (1993) e Kayserilioglu et al. (2001) que relataram encontrar filmes mais fortes em condições alcalinas.

Morel et al. (2000) afirma que em valores elevados de pH as ligações dissulfeto são clivadas e os grupamentos tiol liberados. Esses grupamentos ficam disponíveis para a formação de novas pontes dissulfeto, conferindo maior resistência aos filmes.

O aumento nos valores de tensão de ruptura foi acompanhado com o incremento das doses empregadas nos pH 5,5 e 6,7. No pH 5,5 os maiores valores de tensão de ruptura foram

observados nas doses 0 e 50 kGy. No pH 6,7, os maiores valores foram verificados nas doses 30 e 50 kGy. Em relação ao pH 8,5, o maior valor foi encontrado na dose 10 kGy.

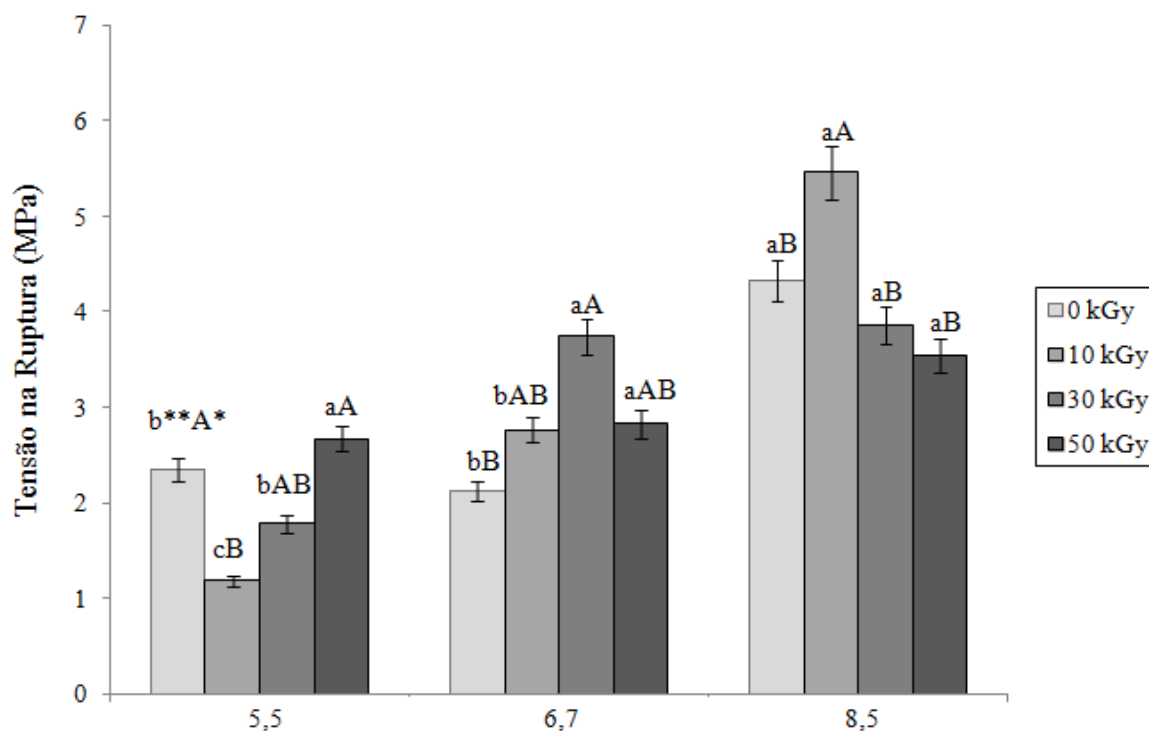
Durante o processo de irradiação ocorre a formação de bitirosina, que aumenta a força de coesão da proteína através de ligação cruzadas. O aumento na tensão de ruptura nas doses 50 kGy (pH 5,5 e 6,7) pode ser explicado pela formação da bitirosina.

Na radiólise, radicais hidroxilas (OH) são gerados (VON SONTAG, 1987), estes reagem com os aminoácidos aromáticos e o enxofre (THAKUR; SINGH, 1994), promovendo a reticulação das proteínas e formando a bitirosina, que é a responsável pela melhoria do comportamento mecânico dos filmes (DAVIES; DELSIGNORE; LIN, 1987).

Sabato, Nakamurakare e Sobral (2007) perceberam uma leve melhora nas propriedades mecânicas de filmes de proteínas de tilápia quando tratados com irradiação.

Soliman, Eldin e Furuta (2009) trabalhando com filmes de zeína irradiados e Ciesla, Salmiere e Lacroix (2006) estudando filmes de caseinato e proteínas do soro de leite também relataram melhora nas suas propriedades mecânicas.

Gráfico 1: Valores médios de tensão na ruptura (MPa) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH.



**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose;

*Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

O aumento do pH aumentou significativamente ($p < 0,05$) os valores de porcentagem de alongação dos filmes (Gráfico 2). No incremento das doses, a variação de pH exerceu influência significativa ($p < 0,05$) nas doses de radiação, visto que os maiores valores de porcentagem de alongação foram encontrados no pH 8,5. Neste pH os filmes apresentaram um maior capacidade em se estender.

De acordo com Yoshida (2002), a alcalinidade favorece a exposição de grupos sulfidrilas (SH) e, uma grande quantidade desses grupos SH na superfície resulta em um aumento de ligações covalentes dissulfídicas (S-S) nos filmes, gerando filmes mais estáveis e com uma maior capacidade em se estender.

Além disso, a diminuição do pH promoveu um desenvolvimento estrutural limitando, produzindo filmes mais frágeis. O mesmo foi discutido por Yoshida (2002) que produziu filmes proteicos a base de soro de leite sob diferentes condições de pH. Baixos valores de alongação implicam em filmes quebradiços (MACLEOD, FELL, COLLETT, 1997).

Gennadios et al. (1993) determinaram maiores valores de alongação em filmes de isolado proteico de soja em pH acima do pI (ponto isoelétrico). Handa et al. (1999) observaram que a porcentagem de alongação aumentou proporcionalmente com o valor de pH em filmes de proteínas de clara de ovo.

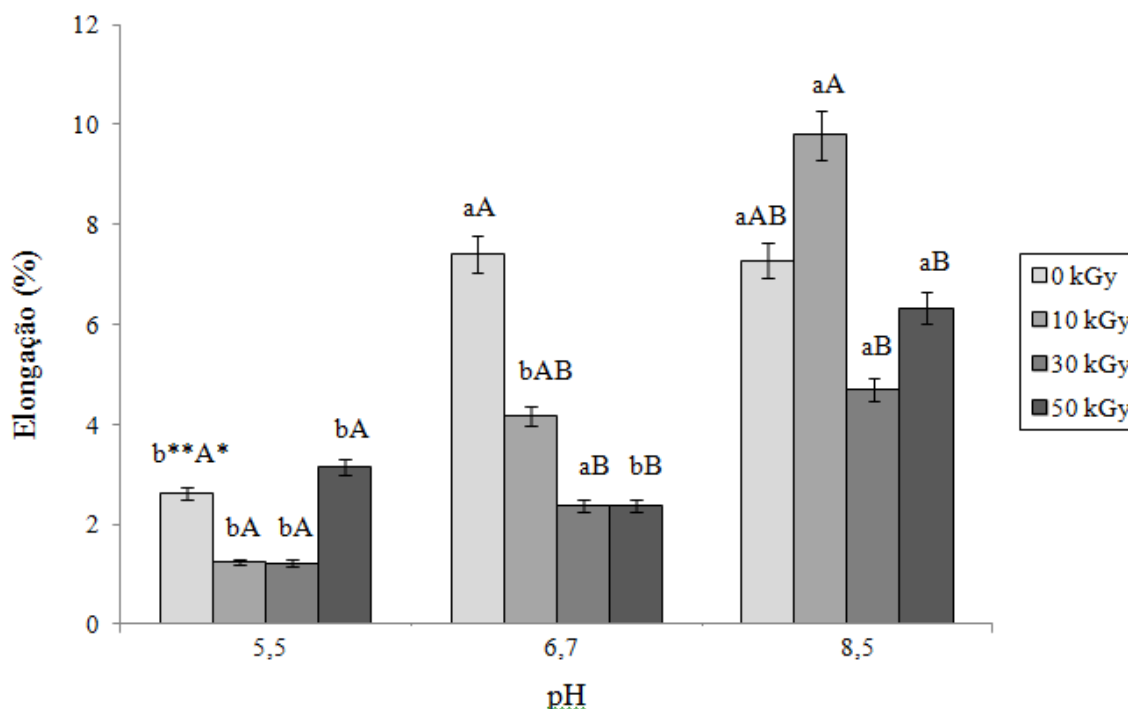
Fairley et al. (1996) trabalharam com filmes a base de isolado proteico de soro de leite e discutiram que grupos SH livres associaram-se positivamente na capacidade de estender os filmes.

Observa-se um aumento da porcentagem de alongação nas doses 0 kGy (pH 6,7 e 8,5) e 10 kGy (pH 8,5) e uma queda nas doses 30 e 50 kGy. De acordo com Soares (2012), esse fato pode estar relacionado à quantidade de bitirosina formada. A quantidade de bitirosina está relacionada ao número de ligações cruzadas, visto que, quanto maior a quantidade de bitirosina formada, maior o número de ligações cruzadas dentro de macro moléculas polipeptídicas.

Ligações cruzadas conferem aos filmes flexibilidade ou rigidez, dependendo da densidade dessas ligações. Quanto maior a densidade de ligações cruzadas, o teor de cadeias ramificadas é mais elevado e, conseqüentemente, mais rígido o material (STEVENS, 1990).

Resultados relacionando o aumento de pH com o aumento da alongação foram obtidos para filmes de proteína de amendoim (Jangchud e Chinnan, 1999) e de isolado proteico de soja (Gennadios et al., 1993).

Gráfico 2: Valores médios de alongação na ruptura (%) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH.



**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose;

*Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

O módulo elástico é a medida da rigidez dos filmes; quanto maior esse módulo, maior a rigidez do material (GALDEANO, 2007). É a relação entre a resistência a tração e porcentagem de alongamento (OLIVEIRA, 1996). De acordo com Takeuchi (2008) está relacionado a pequenas deformações reversíveis, sendo possível avaliar a interação entre os componentes.

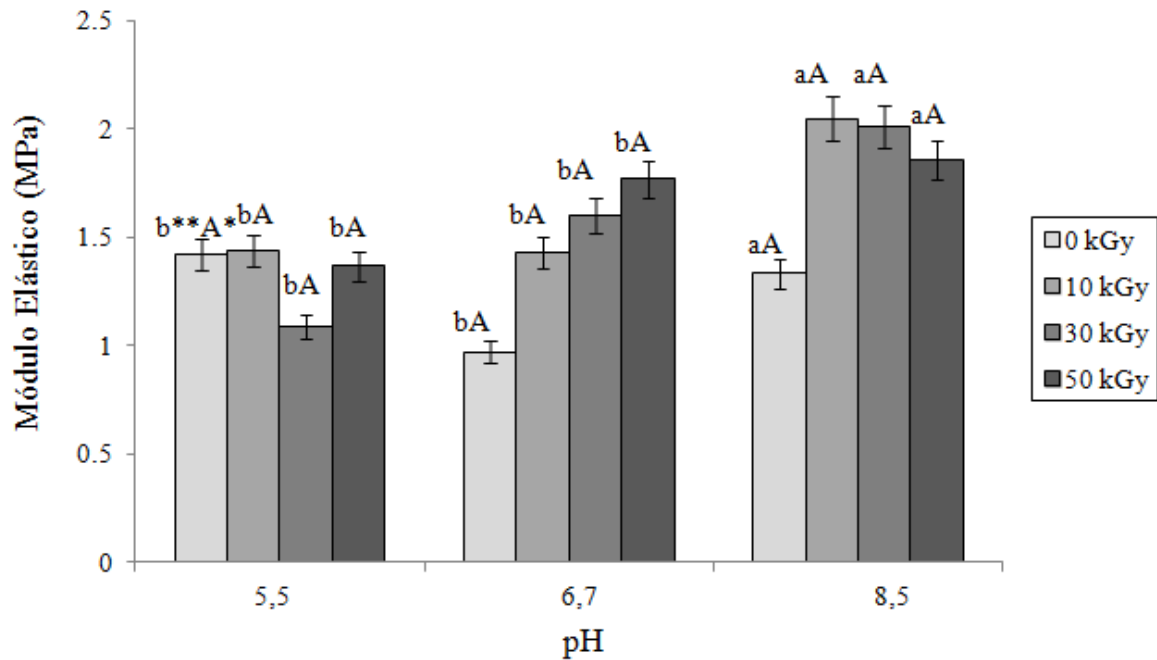
As propriedades mecânicas podem ser diretamente afetadas por vários fatores, como a natureza do material filmogênico e a coesão da estrutura da matriz polimérica, que está relacionada com a distribuição e concentração inter e intramolecular na estrutura filmogênica (CUQ et al, 1996).

O aumento do pH influenciou significativamente ($p < 0,05$) os valores do módulo elástico. Já as doses de radiação não influenciaram significativamente ($p < 0,05$) os valores dessa análise.

O incremento do pH foi acompanhado com o aumento do módulo elástico (Gráfico 3) para o pH de 8,5. O módulo elástico foi estatisticamente ($p < 0,05$) igual para os pHs 5,5 e 6,7.

De acordo com Chang et al. (2000) e Myllanirem et al. (2002), a tensão de ruptura ou o módulo elástico não decrescem linearmente, bem como a elongação não aumenta da mesma forma.

Gráfico 3: Valores médios de módulo de elasticidade (MPa/%) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH.



**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH na mesma dose;

*Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

3.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS: EM PERFURAÇÃO

Para que o alimento adicionado de cobertura ou acondicionado em embalagens do tipo biofilmes não perca sua proteção pelo manuseio ou armazenamento é necessário que os filmes apresentem certa resistência à ruptura e à abrasão e também uma certa flexibilidade, que permita a deformação do filme sem a sua ruptura (VICENTINI, 2003).

Os valores de força máxima na perfuração foram afetados significativamente ($p < 0,05$) pela variação de pH. O aumento do pH promoveu o acréscimo nos valores de força máxima na perfuração, conferindo maior resistência aos filmes, sendo que os maiores resultados foram encontrados no pH 8,5 (Gráfico 4).

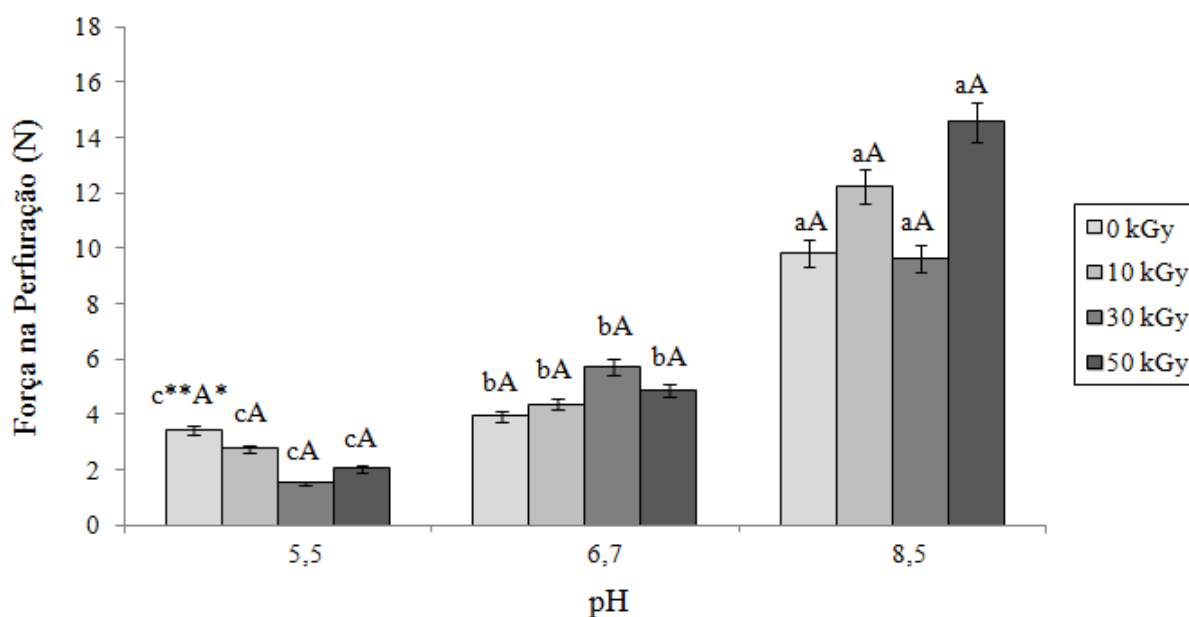
Os valores de deformação na ruptura também foram afetados significativamente ($p < 0,05$) apenas pela variação de pH, visto que os maiores resultados foram encontrados no pH 8,5 (Gráfico 5).

As doses de radiação não influenciaram significativamente ($p < 0,05$) os valores de força máxima de perfuração e deformação na ruptura.

De acordo com Anker; Standing e Hermansson (1999), em pH alcalino as proteínas do soro de leite sofrem desdobramento, fazendo com que se forme ligações dissulfídicas, conferindo maior resistência aos filmes.

O aumento do pH favorece a exposição de grupos sulfidrilas (SH), sendo que uma maior quantidade de grupos SH na superfície permite a rápida troca de ligações covalentes dissulfídicas por novas ligações dissulfídicas inter e intramolecular, formando ligações cruzadas que conferem maior estabilidade e maior capacidade de estender aos filmes (JENSEN, 1959; FAIRLEY et al., 1996; YOSHIDA, 2002).

Gráfico 4: Força na perfuração (N) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH.



**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose;

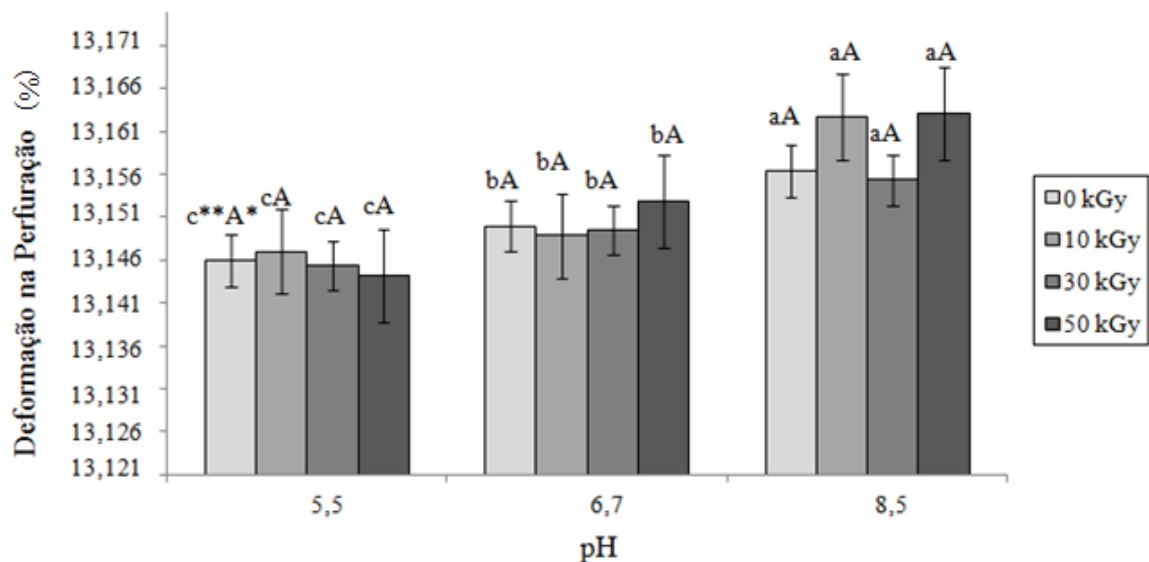
*Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

Segundo CALLEGARIN et al. (1997), as propriedades mecânicas dos filmes dependem das interações entre os componentes, ou seja, da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias.

Wang et al. (2008) relataram aumento nos valores de força máxima na perfuração para filmes de isolado proteico de soro de leite com o aumento do pH 6,5-8,5, concluindo que filmes formados a partir de soluções alcalinas possuem maior resistência a perfuração do que

aqueles formados a partir de soluções ácidas, estando o presente trabalho em concordância com os autores.

Gráfico 5: Deformação na perfuração (%) de filmes biodegradáveis a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH.



**Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH, na mesma dose;

*Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de radiação no mesmo pH.

Soliman; Eldin e Furuta (2009) afirmam que a interpretação dos efeitos da radiação gama sobre as propriedades mecânicas e de barreira é considerada um problema extremamente complicado, porque as interações fundamentais que ocorrem durante o processo (proteína-interface; proteína-proteína; proteína-solvente), bem como as condições ambientais, são numerosas e dependentes uma das outras.

O presente trabalho está de acordo com Soares (2012) que encontrou maiores valores de força máxima na perfuração e deformação na ruptura em filmes proteicos irradiados a base de soro de leite submetidos a um pH alcalino.

CONCLUSÃO

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes não foi afetada pela modificação de pH e incremento das doses. A microscopia eletrônica de superfície revelou uma estrutura lisa homogênea em todas as doses de radiação para o pH alcalino, devido a uma melhor formação do gel. A microscopia eletrônica da seção ruptura apresentou uma estrutura aparentemente desordenada em todos os tratamentos. Os valores médios de tensão de ruptura, porcentagem de alongação, módulo de elasticidade aumentaram em pH alcalino e variaram com o incremento das doses aplicadas. Os resultados de força máxima na perfuração e deformação na perfuração foram afetados apenas pela variação de pH, sendo que os maiores resultados foram encontrados no pH 8,5, enquanto as doses de radiação não influenciaram nos valores dessa análise. Portanto, a modificação de pH e o processo de irradiação podem servir como uma alternativa para alterar as propriedades mecânicas de filmes a base de concentrado proteico de soro de leite e, conseqüentemente, representaram uma alternativa de matéria-prima na elaboração de filmes biodegradáveis.

REFERÊNCIAS

AHVENAINEN, R. In: **Novel Food Packaging Techniques**. Published by Woodhead Publishing Limited. Abington Hall, Abington. Cambridge. England, p. 20-36, 2003.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials – ASTM E96/E96M-10**. Filadelfia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2010.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. **Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting – ASTM D882-10**. Filadelfia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2010.

ANKER, M.; STADING, M.; HERMANSSON, A.-M. Mechanical Properties, Water Vapor Permeability, and Moisture Contents of β -Lactoglobulin and Whey Protein Films Using Multivariate Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46, 1820-1829, 1998.

ANKER, M., STANDING, M. & HERMANSSON, A. M. Effects of pH and gel state on the mechanical properties, moisture contents, and glass transition temperatures of whey protein films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 5, p. 1878–1886, 1999.

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

BATISTA, J.A. **Desenvolvimento, Caracterização e Aplicações de Biofilmes a Base de Pectina, Gelatina e Ácidos Graxos em Bananas e Sementes de Brócolos**. Campinas, 2004, 140p., Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

BOYE, J. I.; MA, C.-Y.; INSMAIL, A.; HARWALKAR, V. R., KALAB, M. Molecular and Microstructural Studies of Thermal Denaturation and Gelation of β -Lactoglobulins A and B. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45, 1608-1618, 1997.

BRADENBURG, A. H.; Weller, C. L. & Testin, R. F. (1993). Edible films and coatings from soy protein. **Journal of Food Science**, Vol.58, No. 5, (September 1993), pp. 1086-1089. ISSN: 1750-3841.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J-A. Q.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 1183-1192, 1997.

CASAL, H. L.; KOHLER, U.; MANTSCH, H. H. Structural and conformational changes of β -lactoglobulin B: An infrared spectroscopic study of the effect of the pH and temperature. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, 957, 11-15, 1988.

CHANG, Y. P.; CHEAH, P. B.; SEOW, C. C. Plasticizing-antiplasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch in the glassy state. **Journal of Food Science**, v.65, n.3, p.44S-451, 2000.

CIESLA, K.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. γ -Irradiation influence on the structure and properties of calcium caseinate–whey protein isolate based films. Part 1. Radiation effect on the structure of proteins gels and films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Whashington, v.54, n.17, p.6374–6384, 2006.

COLES, R. In: **Food packaging technology**. Blackwell publishing LTD. Oxford. p.1-29, 2003.

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

DAVIES, J.A.; DELSIGNORE, M.E.; LIN, S.W. Protein damage and degradation by oxygen radicals, II Modification of amino acids. **The Journal of Biological Chemistry**, Maryland v.262, n. 20, p.9902-9907, 1987.

DEBEAUFORT, F.; QUEDAZA-GALLO, J.A.; VOILLEY, A. Edible Films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science and nutrition**, Boca Raton, v.38, n.4, p. 299-313, 1998.

FARLEY, P.; MONAHAN, F. J.; GERMAN, B. B.; KROCHTA, J. M. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and N-ethylmaleimide or cysteine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Whashington, v. 44, n. 12, p. 3789-3792, 1996.

FRINAULT, A.; GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; DUMONT, J. P. Preparation of Casein Films by a Modified Wet Spinning Process. **Journal of Food Science**, 62, 744-747, 1997.

GALDEANO, M. C. **Filmes e laminados biodegradáveis de amido de aveia com diferentes plastificantes, produzidos por casting e extrusão**. 2007. 167f. Tese (Doutorado em Ciencia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L. Edible films and coatings from soy milk and soy protein, **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 36, n. 12, p. 1004–1009, 1991.

GENNADIOS, A., et al., Effect of pH on Properties of Wheat Gluten and Soy Protein Isolate Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.41, n.11, p. 1835-1839, 1993.

GONTARD, N.; DUCHES, C. ;CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1995.

HANDA, A.; GENNADIOS, A.; HANNA, .A.; WELLER, C.L.; KURODA, N. Physical and molecular properties of egg-white lipid films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n.5, p. 860-864, 1999.

HERMANSSON, A. M. Aggregation and Denaturation Involved in Gel Formation. In **Functionality and Protein Structure**; Pour-El, A., Ed.; ACS Symposium Series 92; American Chemical Society: Washington, DC, p. 82-103, 1979.

HERMANSSON, A.-M. Water- and fatholding. In **Functional Properties of Food Macromolecule**; Mitchell, J. R., Leward, D. A., Eds.; Elsevier Applied Science Publishers: London, 1986.

JANGCHUD, A.; CHINNAN, M.S. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. **Lebensmitte-Wissenschaft and Technologie**, London, v.32. n.1, p.89-94, 1999.

JENSEN, E. V. Sulfhydryl-disulfide interchange. **Science**, Washington, v. 130, n. 3385, p. 1319-1323, 1959.

LANGTON, M.; HERMANSSON, A.-M. Fine-stranded and particulate gels of α -lactoglobulin and whey protein at varying pH. **Food Hydrocolloids**, 5, 523-539, 1992.

LeTIEN, C.; LATENDRE, M.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, G.; DELMAS-PATTERSON, G.; YU, H. L.; LACROIX, M. Development of biodegradable films from whey proteins by cross-linked and entrapment in cellulose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.11, p. 5566-5575, 2000.

KAYSERLIOGLU, B.S., et al., Mechanical and Biochemical Characterization of Wheat Gluten Films as a Function of pH and Co-solvent. **Starch/Stärke**, 53: p. 381- 386, 2001.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edibles films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, 47-59, 1986.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n.4, p. 695-698, 1999.

MA, C.-Y.; HARWALKAR, V. R. Studies of thermal denaturation of oat globulin by differential scanning calorimetry. **Journal of Food Science**, 53, 531-534, 1988.

MACLEOD, G. S.; FELL, J. T.; COLLETT, J. H. Studies on the physical properties of mixed pectin/ethylcellulose films intended for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. Amsterdam, v.157, p.53-60, 1997.

MAIA, L. H.; FORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos B. CEPPA**, Curitiba, v. 18, n.1, p. 105-128, jan./jun, 2000.

McHUGH, T.H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROTCHKA, J.M., Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, v.58, n. 4, p. 899-903, 1993.

McHUGH, T. H.; AUJARD, J. F.; KROCHTA, J. M. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n.1, p. 416-419, 423, 1994.

MYLLÄRINEN, P.; PARTANEN, R.; SEPPÄLÄ, J.; FORSELL, P. Effect of glycerol on behaviour of amylase and amylopectin films. **Carbohydrate polymers**, v.50, n° 4, p. 355-361, 2002.

MOREL, M.H., et al., Protein Insolubilization and Thiol Oxidation in Sulfite-Treated Wheat Gluten Films during Aging at Various Temperatures and Relative Humidities. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 48: p. 186-192, 2000.

OLIVEIRA, L. M. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA, p. 219, 1996.

PEREZ-GAGO, M. B.; NADAUD, P.; KROCHTA, J. M. Water vapour permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 6, p. 1034–1037, 1999.

PÉREZ-GAGO, M.B.; KROCHTA, J.M. Desnaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**, Chicago, v.66, n.5, p.705-710, 2001.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2011.

ROSA, D.S.; FRANCO, B.L.M.; CALIL, M.R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.61, n.2, p. 82-88, 2001.

SABATO, S. F. **Aplicação da irradiação na formação de filmes comestíveis protéicos**. 2000. 107f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações.) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SABATO, S. F.; NAKAMURAKARE, N.; SOBRAL, P. J. A. Mechanical and thermal properties of irradiated films based on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) proteins. **Radiation Physics and Chemistry**, New York, v. 76, n. 11-12, p. 1862–1865, 2007.

SAKANAKA, L. S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. Campinas, 2002, 256 p., Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. **Embalagens plásticas flexíveis, principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

SOARES, D. S. B. **Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

SOBRAL, P.J.A. **Proteínas de Origem Animal na Tecnologia de Biofilmes**. Pirassununga, 2000, 149p. Tese (Livre Docência), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

SOBRAL, P.J.A., Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n.6, p, 1-14, 2000.

SOLIMAN, E. A.; MOHY ELDIN, M. S.; FURUTA, M. Biodegradable zein based films: influence of γ -irradiation on structural and functional properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, n. 6, p. 2529–2535, 2009.

STADING, M.; HERMANSSON, A.-M. Viscoelastic behaviour of α -Lactoglobulin gel structures. **Food Hydrocolloids**, 4, 121-135, 1990.

STADING, M.; HERMANSSON, A.-M. Large deformation properties of β -lactoglobulin gel structures. **Food Hydrocolloids**, 5, 339-352, 1991.

STADING, M.; LANGTON, M.; HERMANSSON, A.-M. Inhomogeneous fine-stranded α lactoglobulin gels. **Food Hydrocolloids**, 6, 455-470, 1992.

STADING, M.; LANGTON, M.; HERMANSSON, A.-M. Microstructure and rheological behaviour of particulate α -lactoglobulin gels. **Food Hydrocolloids**, 7, 195-212, 1993.

STEVENS, M. P. **Polymer chemistry: an introduction**. New York: Oxford University Press, 2 ed., 700 p, 1990.

STUCHELL, Y. M.; KROCHTA, J. M. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 59, n.6, p. 1332-1337, 1994.

TAKEUCHI, K. P. **Propriedades macro- e microscópicas de géis de proteínas do leite e k-carragena**. 2008. 139 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. 2008.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K. Food irradiation chemistry and applications. **Food Reviews International**, Philadelphia, v. 10, n. 4, p.437-473, 1994.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 198 p. 2003.

VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIS, V. P. R.; CRUZ, R. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.

VON SONTAG, C **The Chemical Basis of Radiation Biology**. London: Taylor & Francis. 515 p., 1987.

YOSHIDA, C. M. P. **Aplicação de concentrado proteico de soro de leite bovino na elaboração de filmes comestíveis**. 2002. 246f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutricao)– Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2002.

YOSHIGA, A.; TOFFOLI, S. M.; WIEBECK, H. **Estudo do Composto PVC Reciclado/CaCO₃ em Pastas Vinílicas**. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 14, nº 3, p. 134-141, 2004.

WAISSBLUTH, M. D.; GRIEGER, R. A. Alkaline denaturation of β -lactoglobulin. Activation parameters and effect on dyebinding site. **Biochemistry**, 13, 1285-1488, 1974.

WANG, L.; LIU, L.; HOLMES, J.; HUANG, J.; KERRY, J. F.; KERRY, J. P. Effect of pH and addition of corn oil on the properties of whey protein isolate-based films using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, n. 5, Oxford, p. 787–796, 2008.

WITTAYA, T. **Protein-Based Edible Films: Characteristics and Improvement of Properties, Structure and Function of Food Engineering**. Book edited by Ayman Amer Eissa, ISBN 978-953-51-0695-1, Published: August 22, 2012 under CC BY 3.0 license.

5 ARTIGO III

PERFIL ELETROFORÉTICO E CURVA DE ESCOAMENTO DA SOLUÇÃO FILMOGÊNICA A BASE DE CONCENTRADO PROTEICO DE SORO DE LEITE IRRADIADO SUBMETIDA A DIFERENTES VALORES DE pH

FERNANDES, A. P. S. Perfil eletroforético e curva de escoamento da solução filmogênica a base de concentrado proteico de soro de leite irradiado submetida a diferentes valores de pH. In: _____. **Avaliação e caracterização das propriedades filmogênicas de proteínas do soro de leite submetidas à irradiação e modificação de pH**. Cap. 5, p.82-95. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás, GO.

RESUMO

As proteínas do soro de leite são largamente utilizadas como ingredientes na indústria de alimentos devido às suas excelentes propriedades funcionais e nutricionais. As propriedades funcionais das proteínas são fortemente determinadas pela sua estrutura e pelas interações entre suas moléculas. As características da rede protéica do gel irão depender da intensidade dos diferentes tipos de interações entre as proteínas associadas à rede, bem como das características destas proteínas (hidrofobicidade e hidrofiliicidade, composição aminoacídica, grupos funcionais disponíveis). O objetivo desse estudo foi caracterizar a solução filmogênica a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a modificação de pH quanto ao perfil eletroforético e à curva de escoamento. O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado proteico de soro de leite, com 72,70% de proteínas, foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods e irradiado. Concluiu-se que o perfil eletroforético da solução filmogênica a base de concentrado protéico de soro de leite indicou que as frações monoméricas de β -Lg diminuem com o incremento de valores de pH, enquanto as frações de α -La aumentam com o incremento de valores de pH. Em relação às curvas de escoamento, o índice de consistência (k) foi relativamente baixo e o índice de comportamento (n) ficou menor ou próximo a 1, o que permite caracterizar a solução filmogênica como um fluido pseudoplástico ($n < 1$) tendendo a newtoniano ($n = 1$). Além disso, o tratamento térmico levou a uma agregação das proteínas do soro, aumentando a viscosidade da solução. A viscosidade pode estar relacionada com a natureza polimérica de alguns constituintes alimentícios e, diante disso, este parâmetro pode ser aplicado no desenvolvimento de novas formulações e no desenvolvimento e modelagem de processos.

Palavras-chaves: pH; Proteínas do soro de leite; Reologia.

ABSTRACT

The whey proteins are widely used as ingredients in the food industry due to its excellent functional and nutritional properties. The functional properties of proteins are strongly determined by their structure and the interactions. The characteristics of the protein network of the gel will depend on the intensity of the different types of interactions between proteins related to the network, as well as the characteristics of these proteins (hydrophilicity and hydrophobicity, amino acid composition, functional groups available). The aim of this study was to characterize the film solution-based whey protein concentrate of irradiated milk submitted to different pH values on the electrophoretic profile and the flow curve. The experiment was conducted in the Department of Food Engineering, College of Agronomy, Federal University of Goiás (UFG), located in Goiânia (GO). The protein concentrate of whey, with 72.70 % protein, was provided by the Argentine company Arla Foods and irradiated. It was concluded that the electrophoretic profile of the film solution -based protein concentrate, whey fractions indicated the monomeric β -Lg decrease with the increase of pH values, while the fractions of α - La increase with increasing values of pH. Regarding the flow curves, the consistency index (k) was relatively low and the behavior index (n) was less than or close to 1, which allows to characterize the film solution as a pseudoplastic fluid ($n < 1$) tending to Newtonian ($n = 1$). Furthermore, the heat treatment led to aggregation of whey proteins by increasing the viscosity of the solution. The viscosity can be related to the polymeric nature of some food constituents and, before that, this parameter can be applied in the development of new formulations and development and process modeling.

Keywords: pH; Whey proteins; Rheology.

1 INTRODUÇÃO

O soro de leite é um importante coproduto, gerado pelos laticínios após a coagulação da caseína, mudando suas características de acordo com a qualidade do leite e tipologia de processamento (MARSHALL, 2004; SMITHERS, 2008).

Todo o potencial comercial do soro não tem sido ainda bem explorado no Brasil devido ao alto custo das tecnologias para a obtenção das frações protéicas concentradas ou isoladas. No entanto, o Brasil é um importador de produtos industrializados de proteínas do soro utilizados como ingredientes. Ingredientes a base de proteínas do soro podem ser adquiridos em diferentes formas, visto que as mais comuns são os isolados (WPI) e concentrados protéicos (WPC). O WPI possui elevado teor protéico (geralmente maior que 90%) e contém menos impurezas que os concentrados (50 a 85% de proteínas) (BRYANT e MCCLEMENTS, 1998; MORR e HA, 1993).

As principais frações protéicas do soro incluem a β -lactoglobulina (β -Lg), α -lactalbumina (α -La) e a albumina bovina sérica (BSA), nas concentrações em torno de 3,7; 0,6; e 0,3 g/L de leite no soro do leite bovino, respectivamente. Outras proteínas estão presentes em concentrações mais baixas, que são: imunoglobulinas (Ig), lisozima, lipase, lactoferrina e xantina oxidase (DE WIT, 1998, MORR & HA, 1993).

Essas proteínas do soro de leite são largamente utilizadas como ingredientes na indústria de alimentos devido às suas excelentes propriedades funcionais e nutricionais. São proteínas globulares de massas molares que variam de 14 a 1000 kDa e são compostas por 60% de β -lactoglobulina (β -Lg), 22% de α -lactalbumina (α -La), 5,5% de albumina bovina sérica (BSA) e 9% de imunoglobulinas (Ig). Os pontos isoelétricos destas proteínas são 5,2 para β -Lg, de 4,2 a 4,5 para α -La, de 4,7 a 4,9 para BSA e de 5,5 a 8,3 para Ig (MORR & HA, 1993).

As propriedades funcionais das proteínas são fortemente determinadas pela sua estrutura e pelas interações entre as moléculas protéicas (KINSELLA e WHITEHEAD, 1990).

O entendimento das bases da funcionalidade protéica é essencial para o desenvolvimento e aplicação de novos produtos. As possibilidades principais de interações protéicas correspondem a interações do tipo estérica e de van der Waals, interações hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações do tipo pontes de hidrogênio e dissulfídicas, estas

últimas resultantes das interações entre grupos cisteína ou sulfidrilas livres (CAVALLIERI, 2007).

Para a elaboração de filmes biodegradáveis por método *casting*, o biopolímero é solubilizado com água ou etanol e essa solução é depois seca em moldes. Essa solução também pode ser aplicada diretamente sobre produtos alimentícios como cobertura. Por isso, é importante o conhecimento das propriedades reológicas das soluções formadoras do filme para o desenho das operações de processo. Certos defeitos observados em filmes ou coberturas depende parcialmente das propriedades reológicas da solução formadora de filme (PERESSINI et al., 2003).

Uma caracterização reológica completa de polímeros pode ser realizada através de ensaios em estado estacionário e dinâmico. Cada um deles fornece um tipo de informação específica. A princípio, os parâmetros obtidos dos testes estacionários podem ser calculados a partir dos testes dinâmicos de maneira analítica (BIRD et al., 1987; BARNRES et al., 1989).

Géis de proteínas do soro podem ser formados pela adição de sais, ação enzimática, mudanças no pH ou por aquecimento. Quando uma proteína é aquecida, as ligações químicas que mantém as estruturas secundárias e terciárias são enfraquecidas ou mesmo quebradas. Nos primeiros estágios de desnaturação térmica as moléculas de proteína começam a se desdobrar. Este desdobramento aumenta as interações solvente-proteína e proteína-proteína, levando à formação de uma estrutura tridimensional capaz de reter água, que pode conduzir à gelificação (MANGINO, 1984). De acordo com Cavallieri (2007), os géis formados por aquecimento são denominados de “termicamente induzidos”.

As características da rede protéica do gel irão depender da intensidade dos diferentes tipos de interações entre as proteínas associadas à rede, bem como das características destas proteínas (hidrofobicidade e hidrofiliabilidade, composição aminoacídica, grupos funcionais disponíveis). Por sua vez, estas características serão profundamente influenciadas pelas condições empregadas durante o processo de gelificação (temperatura, pressão) e das características do meio (concentração de proteína, pH e força iônica do sistema) (TOTOSAUS et al., 2002).

Diante disso, o objetivo desse estudo foi caracterizar a solução filmogênica a base de concentrado protéico de soro de leite irradiado submetido a diferentes valores de pH quanto ao perfil eletroforético e à curva de escoamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O experimento foi realizado nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO). O concentrado proteico de soro de leite, com 72,70% de proteínas, foi fornecido pela empresa argentina Arla Foods e, posteriormente, irradiado.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Irradiação

A irradiação do concentrado proteico foi feita no IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares), localizado em São Paulo (SP), utilizando um irradiador comercial com fonte de ^{60}Co . O concentrado proteico foi submetido a doses de 0 (controle), 10, 30 e 50 kGy com taxa de dose de 2kGy/h.

2.2.2 Elaboração dos filmes

Soluções filmogênicas aquosas foram preparadas segundo Soares (2012) contendo 5% de proteínas, 3,75% de glicerol e 91,25% de água destilada, havendo a total solubilização das proteínas em água e posterior adição do glicerol (Cromato). Em seguida, as soluções foram aquecidas a 90°C por 30 min. em banho-maria com agitação lenta (Marconi – MA 093, Piracicaba, Brasil) e resfriada em banho de gelo, aplicando-se agitação moderada, até a temperatura de 25°C. O pH das soluções foram ajustados para 5,5 (próximo ao ponto isoelétrico médio das proteínas do soro de leite), 6,7 (pH natural do leite) ou 8,5, utilizando-se hidróxido de sódio (Vetec) ou ácido láctico (Vetec).

2.2.3. Caracterização da solução filmogênica

2.2.3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida

A caracterização da solução filmogênica do concentrado proteico de soro de leite irradiado e da agregação das proteínas foi realizada através de eletroforese em gel de

poliacrilamida (PAGE). Para a construção do gel foram utilizadas lâminas verticais de vidro do sistema, em que a poliacrilamida ainda não polimerizada foi adicionada. As amostras foram diluídas cinco vezes e aplicados 4,5µL no gel SDS-PAGE a 20% de poliacrilamida, o que equivale a aproximadamente 60µg de proteínas. As amostras foram fervidas por 7 minutos em 10µL de tampão de amostra antes de serem aplicadas no gel. Os géis desnaturantes foram diluídos em um tampão de amostra pH 6,8 que contém 1 M de Tris-HCl, 10% de SDS, 2 mL de glicerol, 2 mL de β-mercaptoetanol e 0,01 g de azul de bromofenol.

2.2.3.2. Curva de escoamento

Para a realização dos ensaios estacionários foram utilizadas soluções filmogênicas submetidas ao aquecimento e soluções filmogênicas não aquecidas.

Os ensaios reológicos estacionários foram realizados em um Reômetro Physica MCR 101 (Anton Paar, Áustria), computadorizado, pertencente ao Laboratório Multiusuário (LabMulti – EA/UFG), dentro do intervalo de tensão de cisalhamento entre 1 e 300 s⁻¹ em três rampas para a eliminação da tixotropia. Para a determinação das curvas de escoamento da solução filmogênica foi utilizada a geometria cone-placa externa em aço inoxidável e um dispositivo de cobertura externa para evitar a perda de água por evaporação da amostra. A quantidade de amostra utilizada foi de aproximadamente 2,0 mL. A temperatura de aquecimento e resfriamento da amostra foi controlada por sistema “peltier” instalado na placa inferior. Todas as medidas para obtenção das curvas de fluxo foram realizadas à temperatura de 25°C.

Todas as amostras foram previamente aquecidas desde a temperatura inicial da amostra (25°C) até 90°C com uma taxa de cisalhamento de 1 s⁻¹. Uma vez atingida a temperatura de 90°C, a amostra foi logo resfriada à temperatura de 25°C. As determinações das curvas de escoamento foram realizadas entre 1 e 300 s⁻¹, utilizando módulo de deformação controlada para quantificar o intervalo de tensão a ser aplicado.

Posteriormente, três rampas de escoamento em estado estacionário foram efetuadas dentro do intervalo de tensão de cisalhamento determinado. A primeira delas, com tensão de cisalhamento crescente, a segunda decrescente e a terceira crescente novamente. Os ensaios foram feitos em triplicatas utilizando uma nova amostra para cada repetição.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

A composição das proteínas de soro de leite e a formação de agregados foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida. Os agregados apresentaram massas moleculares superiores a 97 kg.mol^{-1} , uma vez que não foram capazes de entrar no empilhamento do gel a 20% (Figura 1).

As bandas das frações proteicas do soro de leite (β -Lg, α -La, BSA e Ig) podem ser visualizadas nos três valores de pH e em todas as doses de radiação. As duas principais frações proteicas podem ser observadas na região de peso molecular entre 14 e 20 kDa. Estas bandas correspondem à β -Lg e α -La, pois esta faixa de peso molecular inclui os valores de peso molecular de 18 kDa para β -Lg e 14 kDa para α -La (Figura 1).

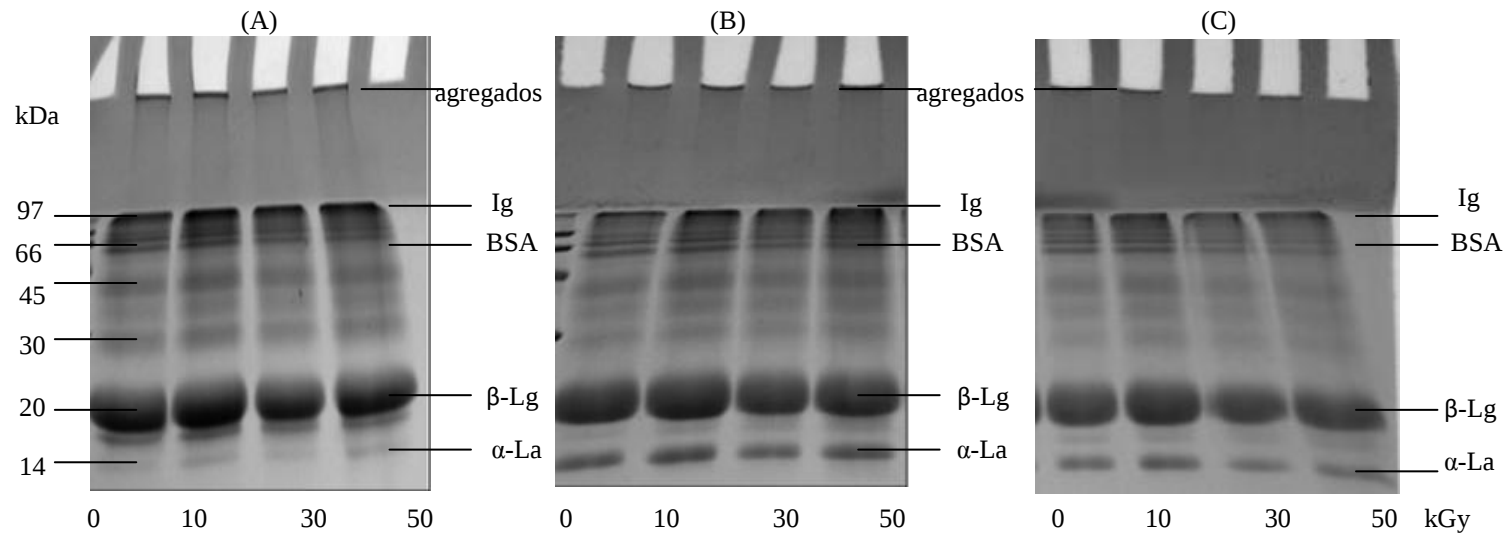
O perfil mostra que as frações monoméricas de β -Lg diminuem com o incremento de valores de pH, enquanto as frações de α -La aumentam com o incremento de valores de pH.

Tal fato é explicado por Sgarbieri (1996) que afirma que, em pHs entre 5,1 e 6,7, a β -Lg se apresenta como um dímero estável consistindo de duas unidades esféricas. Com o aumento de pH para 8,5, essa proteína se torna menos estável e, conseqüentemente, sua fração monomérica diminui.

Em pH 7,5, a β -Lg sofre uma alteração na conformação acompanhada por uma expansão molecular. Acima de pH 7,0 há um aumento rápido da reatividade dos grupos tiol e, nessa região, ocorre a dissociação do dímero, tornando-se a proteína instável para valores de pH iguais ou acima de 8, pois há formação de agregados de proteína desnaturada (LYSTER, 1972). Em pH básico a polimerização ocorre predominantemente através de reações que envolvem a oxidação de grupos tiol, enquanto que a pH ácido prevalecem reações de conversão tiol/dissulfureto (MONAHAN et al., 1995).

Em relação à α -La, no pH natural do leite (pH 6,6) e acima deste valor, ela aparece como um monômero (SGARBIERI, 1996).

Figura 1: (A) Solução Filmogênica de pH 5,5, (B) Solução Filmogênica de pH 6,7, (C) Solução Filmogênica de pH 8,5.



3.2. CURVA DE ESCOAMENTO

As proteínas também são chamadas de biopolímeros, e um estudo qualitativo para a explicação de suas propriedades em sistemas aquosos é de extrema importância. Estes biopolímeros são complexos, com uma extensa faixa de interações moleculares, afetando sensivelmente as características reológicas e de equilíbrio de fases dos alimentos que os contém (SYRBE; BAUER; KLOSTERMEYER, 1998).

Para a realização dessa análise, foram produzidas soluções filmogênicas submetidas ao aquecimento e soluções filmogênicas não aquecidas.

As Tabelas 1 e 2 apresentam o ajuste dos dados experimentais de tensão de cisalhamento e taxa de deformação da solução filmogênica de concentrado proteico de soro de leite, ao modelo de Herschel-Bukley de acordo com a equação 1.

Modelo de Herschel-Bukley:

$$\tau = \tau_0 + k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Onde:

τ_0 : tensão inicial de cisalhamento (Pa)

k: índice de consistência (Pa.sⁿ)

n: índice de comportamento do fluido

Os dados experimentais obtidos ajustaram-se bem ao modelo Herschel-Bukley, já que apresentaram coeficiente de regressão linear (R²) muito próximos a 1.

O índice de consistência (k) foi relativamente baixo e o índice de comportamento (n) ficou menor ou próximo a 1, o que permite caracterizar a solução filmogênica como um fluido pseudoplástico (n<1) tendendo a newtoniano (n=1) (Tabelas 1 e 2). A pseudoplasticidade da solução pode ser caracterizada através da inclinação das curvas de escoamento.

Observa-se também que a viscosidade aumenta após a solução filmogênica ser submetida ao aquecimento (Tabela 2). De acordo com Verheul e Roefs (1998), sob condições específicas, as proteínas de soro formam géis não reversíveis. Mudanças no pH da solução ou condições de aquecimento também afetarão as propriedades de aglutinação e a formação de géis das proteínas do soro (VERHEUL e ROEFS, 1998).

A capacidade de retenção de água envolve uma interação entre a proteína, ou alimento proteico, com a água. A maior ou menor afinidade da proteína para com a água também influencia outras propriedades como textura, viscosidade, gelificação e emulsificação. A

atração hidrofílica pode ser medida em termos do grau de hidratação (massa de água/g de proteína) e da habilidade do produto para captar água espontaneamente (esponjamento). Os termos mais frequentes encontrados na literatura para se referir à capacidade de uma proteína, ou alimento proteico, de absorver e de reter água são capacidade de ligar água, de reter água, de absorver água (SGARBIERI, 1996).

O fator de principal influência sobre o comportamento viscoso dos fluidos proteicos é o diâmetro aparente das moléculas (ou partículas dispersas). Este diâmetro depende: a) das características intrínsecas da molécula proteica, tais como massa molecular, tamanho, volume, estrutura, assimetria, cargas elétricas e facilidade de deformação. Estas características podem ser modificadas por fatores ambientais como pH, força iônica e temperatura (DEMETRIADES E McCLEMENTS, 2000; BHARGAVA E JELEN, 1995); b) das interações proteína-solvente, que afetam o enchimento e a solubilidade e c) das interações proteína-proteína, que determinam o tamanho dos agregados (PATINO; GRACIA; NIÑO, 2001).

Um estudo das propriedades reológicas de géis formado com WPC e β -Lg revelou que o WPC participou na formação e no reforço dos géis produzidos com β -Lg. As propriedades mecânicas do gel formado com a mistura de WPC e β -Lg melhoraram, evidenciando um efeito sinérgico, quando a razão da mistura foi de 2:1 (β -Lg:WPC) (RENARD et al., 1999).

Tabela 1: Parâmetros do modelo de Herschel-Bukley calculado para a solução filmogênica sem aquecimento

	pH	Dose	n	k	η_{150}	R ²
Sem Aquecimento	5.5	0	0.8874	0.0046	0.0022	0.9843
		10	0.8380	0.0067	0.0022	0.9539
		30	0.7726	0.0131	0.0022	0.9456
		50	0.9725	0.0024	0.0020	0.9983
	6.7	0	0.9722	0.0025	0.0021	0.9980
		10	0.8763	0.0050	0.0022	0.9826
		30	0.9218	0.0035	0.0022	0.9934
		50	1.0150	0.0020	0.0021	0.9962
	8.5	0	0.9755	0.0026	0.0022	0.9987
		10	0.8086	0.0020	0.0024	0.9702
		30	0.9701	0.0028	0.0024	0.9983
		50	0.9737	0.0027	0.0023	0.9993

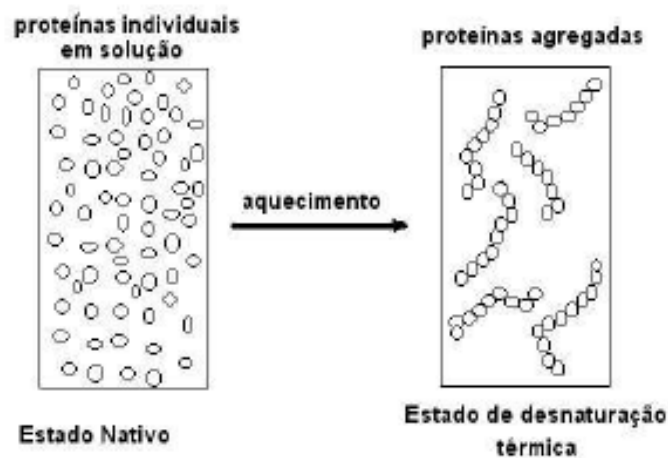
As proteínas do soro se agregam após o tratamento térmico. As moléculas das proteínas se agregam de maneira ordenada na forma de “colar de contas” (BRYANT e McCLEMENTS, 1998) de acordo com a figura 2. Através de microscopia eletrônica, Ju e

Killara (1998), verificaram esta estrutura fina e filamentosa de agregados de proteínas do soro formados termicamente. Nesse caso, os agregados das proteínas do soro teriam um volume efetivo muito maior que o volume inicial das proteínas individuais do sistema. Uma rede espacial poderia se formar com o aumento da concentração de proteínas em solução, devido a um aumento na razão axial dos agregados em forma de filamentos, o que aumenta a viscosidade da solução, podendo levar à formação de géis (BRYANT e McCLEMENTS, 1998; JU e KILARA, 1998).

Tabela 2: Parâmetros do modelo de Herschel-Bukley calculado para a solução filmogênica submetida ao aquecimento

	pH	Dose	n	k	η_{150}	R ²
Com Aquecimento	5.5	0	0.5492	0.1951	0.0198	0.9948
		10	0.3563	1.0944	0.0449	0.9686
		30	1.000	0.0237	0.0776	0.9872
		50	0.7859	0.0204	0.0053	0.8789
	6.7	0	0.9766	0.0031	0.0027	0.9989
		10	0.9678	0.0030	0.0024	0.9980
		30	1.0000	0.0029	0.0035	0.9811
		50	1.0000	0.0029	0.0029	0.9999
	8.5	0	0.9812	0.0038	0.0035	0.9995
		10	0.9861	0.0033	0.0031	0.9998
		30	0.9764	0.0039	0.0035	0.9992
		50	0.9638	0.0042	0.0034	0.9987

Figura 2: Desenvolvimento de uma estrutura filamentosa de maior peso molecular, através do aquecimento das proteínas do soro. Fonte: BRYANT e McCLEMENTS, 1998.



CONCLUSÃO

O perfil eletroforético da solução filmogênica a base de concentrado protéico de soro de leite indicou as frações monoméricas de β -Lg diminuem com o incremento de valores de pH, enquanto as frações de α -La aumentam com o incremento de valores de pH. Em relação às curvas de escoamento, o índice de consistência (k) foi relativamente baixo e o índice de comportamento (n) ficou menor ou próximo a 1, o que permite caracterizar a solução filmogênica como um fluido pseudoplástico ($n < 1$) tendendo a newtoniano ($n = 1$). Além disso, o tratamento térmico levou a uma agregação das proteínas do soro, aumentando a viscosidade da solução. A viscosidade pode estar relacionada com a natureza polimérica de alguns constituintes alimentícios e, diante disso, este parâmetro pode ser aplicado no desenvolvimento de novas formulações e no desenvolvimento e modelagem de processos.

REFERÊNCIAS

- BARNES, H. A.; HUTTON, J. F.; WALTERS, K. An introduction to rheology. New York: **Elsevier Science Publishers**, v. 3, 1989.
- BHARGAVA, A.; JELEN, P. Freezing of whey protein concentrate solutions and its effect on protein functionality indicators. **International Dairy Journal**. v. 5, p.533-541, 1995.
- BIRD, R. B.; CURTISS, C. F.; ARMSTRONG, R. C.; HASSAGER, O. Dynamics of polymeric liquids, 2. Ed. VI, New York: **John Willey & Sons**, 1987.
- BRYANT, C. M.; MCCLEMENTS, D. J. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 143-151, 1998.
- CAVALLIERI, A. L. F. **Gelificação a frio de proteínas do soro do leite: efeito da taxa de acidificação, pH final e adição de polissacarídeos**. 2007. 236p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. 2007.
- DE WIT, J. N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 81, n. 3, p. 597-608, 1998.
- DEMETRIADES, K.; McCLEMENTS, J. D. Influence of sodium dodecyl sulfate on the physicochemical properties of whey protein-stabilizes emulsions. **Colloids and Surfaces**. v. 161, p. 391-400, 2000.
- JU, Z. Y.; KILARA, A. Gelation of pH-aggregated whey protein isolate solutions induced by heat, protease, calcium salt, and acidulant. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, p.1830-1835, 1998.
- KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D. M. Proteins in whey: Chemical, physical, and functional properties. **Advanced Food and Nutrition Research**, v. 33, p. 343-437, 1990.
- LYSTER, R. L. J. Review of the progress of dairy science, section C. Chemistry of milk proteins. **Journal of Dairy Research**, 39, 279, 1972.
- MANGINO, M. E. Physicochemical aspects of whey protein functionality. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 67, n. 11, p. 2711-2722, 1984.
- MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine**, Buffalo, v.9, n. 2, p. 136-156, 2004.
- MORR, C. V.; HA, E. Y. W. Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. **Critical reviews in food science and nutritional**, Boca raton, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

MONAHAN, F. J.; GERMAN, J. B.; KINSELLA, J. E. Effect of pH and temperature on protein unfolding and thiol/disulfide interchange reactions during heat-induced gelation of whey proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 43, 46-52, 1995.

PATINO, J. M. R.; GARCIA, J. M. N.; NIÑO, M. R. R. Protein-lipid interactions at the oil-water interface. **Colloids and Surfaces B**. v. 21, p. 207-216, 2001.

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

RENARD, D.; ROBERT, P.; FAUCHERON, S.; SANCHEZ, C. Rheological properties of mixed gels made of microparticulated whey proteins and β -lactoglobulin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 12, p. 113-121, 1999.

SGARBIERI, V. C. Fontes de proteínas na alimentação. In: SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**: Propriedades - Degradações - Modificações. São Paulo: Livraria Varela, p.149-155, 1996.

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

SOARES, D. S. B. **Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

SYRBE, A.; BAUER, W. J.; KLOSTERMEYER, N. Polymer science concepts in dairy systems - an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. **International Dairy Journal**, Oxford, v.8, n.3, p.179-193, 1998.

TOTOSAUS, A.; MONTEJANO, J. G.; SALAZAR, J. A.; GUERRERO, I. A review of physical and chemical protein-gel induction. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 6, p. 589-601, 2002.

VERHEUL, M.; ROEFS, S. Structure of particulate whey protein gels: Effect of NaCl concentration, pH, heating temperature, and protein composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, n.12, p.4909-4916, 1998.

CONCLUSÃO GERAL

Tem surgido um grande interesse mundial no desenvolvimento de tecnologias que possibilitem a utilização de produtos de menor impacto ambiental, com o intuito de desenvolver processos e produtos que gerem um ambiente limpo e sustentável. As proteínas de soro de leite apresentaram ser uma boa alternativa para a produção de filmes biodegradáveis. Os diferentes tratamentos empregados na produção de filmes biodegradáveis afetaram a interação entre seus agentes formadores, com exceção de permeabilidade ao vapor de água. A variação de pH promoveu mudanças na estrutura das proteínas e, com isso, gerou atrações e repulsões eletrostáticas. O processo de irradiação promoveu rearranjo da estrutura proteica, através da ruptura de ligações de enxofre e formação de ligações cruzadas. Portanto, a modificação de pH e o processo de irradiação podem servir como uma alternativa para alterar as propriedades de filmes a base de concentrado proteico de soro de leite e, consequentemente, representaram uma alternativa de matéria-prima na elaboração de filmes biodegradáveis.