



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Elaboração e caracterização de biofilmes a base de farinha de amaranto

Delia Rita Tapia Blácido
Engenheira Agroindustrial

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Delia Rita Tapia Blácido** aprovada pela Comissão Julgadora em 19 de março de 2003.

Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli
Orientadora

Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral
Co-orientador

Campinas, 19 de março de 2003.

Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli
Presidente da Banca

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do Título de MESTRE EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS.

Campinas, 2003

UNIDADE	Be
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	T162e
V	EX
TOMBO BC	54522
PROC.	16.124103
C ☐	D ☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	02/07/03
Nº CPD	

CM00186561-5

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

BIB ID 294956

T162e Tapia Blácido, Delia Rita
Elaboração e caracterização de biofilmes a base de farinha de
amaranto / Delia Rita Tapia Blácido. – Campinas, SP: [s.n.],
2003.

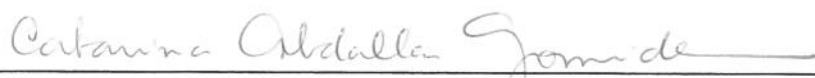
Orientador: Florencia Cecília Menegalli
Co-orientador: Paulo José do Amaral Sobral
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Biofilme. 2. Amarantos. 3. Amido. 4. Proteínas.
5. Farinhas. I. Menegalli, Florencia Cecília. II. Sobral, Paulo
José do Amaral. III. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

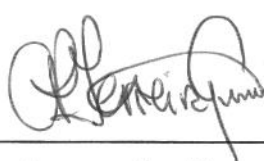
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli
(Orientadora)



Profa. Dra. Catarina Abdalla Gomide
(Membro)



Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
(Membro)

Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos
(Suplente)

Campinas, 2003

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

*Aos meus pais, Susana e Filomeno,
à minha irmã Jenny e ao
Harold, pelo amor, apoio e
confiança em todos os
momentos. Os amo muito*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pelas grandes oportunidades, pelos bons momentos que me proporcionou desde minha chegada ao Brasil e pelos bons amigos que encontrei neste país.

À minha orientadora, Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli, por compartilhar sua experiência de pesquisadora e seus conhecimentos na área dos biofilmes, mas principalmente pela confiança e apoio em todos os momentos. Obrigada!!!!!!!!!!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral, pela orientação e valiosas sugestões que ajudaram a melhorar este trabalho.

Aos meus pais, Susana e Filomeno e à minha irmã, Jenny, porque sem sua ajuda não teria sido possível realizar este sonho. Aos meus tios Alberto e Raul por todo seu carinho.

Ao Juan Harold Sosa, por estar sempre comigo, apoiando-me em todos os momentos e dando-me forças para vencer os obstáculos do dia a dia.

Ao pessoal do laboratório de tecnologia de alimentos da FZEA-USP, em especial à técnica Ana Mônica Quinta Barbosa Habitante pela atenção e disponibilidade para a realização de algumas análises dos biofilmes.

Ao pessoal do laboratório de Bioquímica da FC-UNS (Facultad de Ciencias da Universidad Nacional del Santa-PERU), em especial à Eng. Elza Aguirre, à Prof. Orlinda Villanueva e ao técnico Oscar pelo apoio e disponibilidade a mim dispensados.

Ao pessoal do laboratório de Engenharia de Processos (LEP) da FEA-UNICAMP, em especial, à técnica Joyce e à Alline pelo auxílio na impressão das fotos. Assim mesmo, um agradecimento muito especial às colegas do laboratório e amigas: Eliana, Severina, Olga, Mari e Katiucha; pelos conselhos, pelo carinho e disponibilidade para compartilhar de momentos adversos.

Às pessoas que me deram uma grande acolhida desde minha chegada ao Brasil, em especial a Paula Kipper, Alfredo, Ângelo, Roberta, Sueli, Wanda, Felipe, Lyssa e Edna. Às minhas colegas Ana Paula, Angela e Kelly pela boa convivência durante a época de aulas.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE TABELAS.....	xvi
NOMENCLATURA.....	xix
RESUMO.....	xxi
SUMMARY.....	xxii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. O amaranto.....	3
2.1.1. O amido de Amaranto.....	5
2.1.2. Proteína do amaranto.....	9
2.2. Desnaturação das proteínas.....	11
2.3. Biofilmes de amido.....	13
2.4. Biofilmes de proteína.....	15
2.5. Biofilmes a base de amido e proteína	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Matéria Prima.....	18
3.2. Caracterização da farinha de amaranto.....	20
3.2.1. Umidade.....	20
3.2.2. Cinzas.....	20
3.2.3. Proteína.....	20
3.2.4. Lipídeos.....	20
3.2.5. Determinação de amilose.....	21
3.2.6. Cor.....	21
3.2.7. Análise calorimétrica de varredura (por DSC).....	22
3.3. Elaboração dos biofilmes de farinha de amaranto.....	22
3.4. Caracterização dos biofilmes.....	25

3.4.1. Testes Mecânicos.....	25
3.4.1.1. Força e deformação na ruptura em teste de perfuração.....	25
3.4.1.2. Força e deformação na ruptura em teste de tração.....	26
3.4.2. Solubilidade em água.....	27
3.4.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	27
3.5. Propriedades ópticas.....	29
3.5.1. Cor.....	29
3.5.2 Opacidade.....	29
3.6. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	29
3.7. Planejamento Experimental.....	30
3.7.1. Planejamento Experimental Fracionado.....	30
3.7.2. Planejamento Fatorial Completo.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1. Ensaios Preliminares.....	34
4.1.1. Determinação da metodologia de extração da farinha de amaranto.....	34
4.1.2. Determinação da metodologia de obtenção dos biofilmes de farinha de amaranto.....	36
4.1.2.1. Solubilidade.....	37
4.1.2.2. Tipo de plastificante.....	37
4.1.2.3. Espessura do biofilme em função da gramatura.....	37
4.1.2.4. Determinação da umidade final ótima do biofilme.....	39
4.2. Caracterização da farinha de amaranto.....	40
4.2.1. Cor.....	41
4.2.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	45
4.3. Planejamento fracionado.....	47
4.3.1. Tempos de secagem dos filmes segundo o planejamento fracionado.....	47
4.3.2. Resultados do planejamento experimental fracionado e análises estatística .	51
4.3.2.1. Força de ruptura no teste de perfuração.....	52

4.3.2.2. Deformação na ruptura.....	53
4.3.2.3. Tensão de ruptura no teste de tração.....	55
4.3.2.4. Elongação no teste de tração.....	57
4.3.2.5. Módulo de Young.....	58
4.3.3. Discussão Final sobre o Planejamento Experimental Fracionado.....	59
4.4. Planejamento Experimental Completo.....	60
4.4.1. Tempos de secagem dos filmes segundo o planejamento fatorial completo.....	60
4.4.2. Resultados do Planejamento Experimental Completo.....	63
4.4.3. Força e Deformação de Ruptura em Teste de Perfuração.....	64
4.4.3.1. Força de Ruptura.....	64
4.4.3.2. Deformação de Ruptura.....	67
4.4.3.3. Superfícies de Resposta.....	70
4.4.4. Tensão, Elongação de ruptura e Módulo de Young no Teste de Tração.....	83
4.4.4.1. Tensão de Ruptura.....	83
4.4.4.2. Elongação de Ruptura no teste de Tração.....	86
4.4.4.3. Módulo de Young.....	89
4.4.4.4. Superfícies de Resposta.....	92
4.4.5. Solubilidade.....	104
4.4.5.1. Superfícies de Resposta.....	107
4.5. Caracterização do biofilme a base de farinha de amaranto.....	111
4.5.1. Cor.....	117
4.5.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	121
5. CONCLUSÕES.....	128
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	130
ANEXOS.....	146

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Representação da cadeia reta da amilose.....	6
Figura 2.2. Representação esquemática da amilopectina.....	6
Figura 3.1. Fluxograma de produção da farinha de amaranto.....	19
Figura 3.2. Fluxograma para a elaboração de biofilmes a base de farinha de amaranto.	24
Figura 3.3. Esquema do sistema de determinação da deformação em teste de ruptura.	26
Figura 3.4. Esquema do corpo de prova para teste de tração.....	26
Figura 3.5. Esquema do dispositivo utilizado para a determinação da permeabilidade ao vapor de água.....	28
Figura 4.1. Espessura média de biofilmes com 4% (□) e 7%(Δ) de farinha de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>) em função da gramatura.....	38
Figura 4.2. Espessura média de biofilmes com 4% (□) e 7%(Δ) de farinha de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>) em função da gramatura da matéria seca.....	39
Figura 4.3. Aspecto visual da farinha e do amido obtidos a partir do grão de amaranto por moagem úmida (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	43
Figura 4.4. Termogramas do amido (a) e da farinha (b) de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	45
Figura 4.5. Análise calorimétrica de varredura por DSC da farinha de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	47
Figura 4.6. Tempos de secagem dos filmes de farinha de amaranto elaborados segundo o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$	49
Figura 4.7. Controle da umidade final do filme de farinha de amaranto depois da secagem no planejamento fracionado.....	49
Figura 4.8. Tempos de secagem dos filmes de farinha de amaranto elaborados segundo o planejamento completo.....	61
Figura 4.9. Controle da umidade final do filme de farinha de amaranto depois da secagem no planejamento completo.....	61

Figura 4.10. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a força de ruptura para o planejamento completo 2^3	65
Figura 4.11. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a deformação de ruptura para o planejamento completo 2^3	69
Figura 4.12. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da força de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.....	73
Figura 4.13. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da deformação de Ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.....	73
Figura 4.14. Superfície de resposta e respectiva curvas de contorno da variação da força de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.....	77
Figura 4.15. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da deformação de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.....	77
Figura 4.16. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da força na ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.....	81
Figura 4.17. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da deformação de ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.....	81
Figura 4.18. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a tensão de ruptura para o planejamento completo 2^3	84
Figura 4.19. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a elongação de ruptura para o planejamento completo 2^3	87
Figura 4.20. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre o módulo de Young para o planejamento completo 2^3	90
Figura 4.21. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da	

tensão na ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.....	93
Figura 4.22. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da elongação na ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.....	93
Figura 4.23. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação do módulo de Young em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.....	93
Figura 4.24. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da tensão de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.....	97
Figura 4.25. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da elongação na ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.....	97
Figura 4.26. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação do módulo de Young em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.....	97
Figura 4.27. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da tensão de ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.....	101
Figura 4.28. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da elongação na ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.....	101
Figura 4.29. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação do módulo de Young em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.....	101
Figura 4.30. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a solubilidade no planejamento completo 2 ³	105
Figura 4.31. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da	

solubilidade em função: (a)Cg e pH, fixando o valor de Tp em 85°C (b) Cg e Tp, fixando o valor de pH em 11 e (c) pH e Tp, fixando o valor de Cg em 30%.....	109
Figura 4.32. Esquema das possíveis interações entre os cinco principais componentes dos filmes de farinha de amaranto: amido, proteína, lipídeo, glicerol e água.....	113
Figura 4.33. Aspecto visual da solução formadora do biofilme de amido e de farinha de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	119
Figura 4.34. Aspecto visual dos biofilmes de (a) farinha de amaranto e (b) amido de amaranto elaborados segundo a formulação ótima.....	119
Figura 4.35. Termogramas de (a) Biofilme de amido pH 10,7; (b) BioFilme de amido pH 7,00; (c) Biofilme de farinha de amaranto pH 10,7 condicionadas a 25°C e em sílica gel por 2 semanas.....	122
Figura 4.36. Termogramas de biofilme de amido condicionado a (a) 58% de UR e (b) 75% de UR, e biofilme de farinha de amaranto (c) 58% de UR e (d) 75% de UR; elaborados segundo a formulação ótima.....	124

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1. Composição centesimal de alguns grãos de amaranto.....	5
Tabela 2.2. Propriedades físico-químicas do amido de trigo e amaranto	8
Tabela 3.1. Planejamento experimental fatorial fracionado $2^{(5-1)}$	31
Tabela 3.2. Matriz do planejamento experimental completo 2^3	33
Tabela 4.1. Efeito da solução de NaOH 0,25% no teor de proteínas e no rendimento na produção de farinha de amaranto.....	34
Tabela 4.2. Balanço de massa para obter a perda de proteína na extração da farinha....	36
Tabela 4.3. Composição centesimal da farinha de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>)....	40
Tabela 4.4. Valores dos parâmetros de cor para a farinha e o amido de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	43
Tabela 4.5. Resultados do planejamento experimental fracionado.....	51
Tabela 4.6. Efeito dos fatores sobre a força de ruptura calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$	52
Tabela 4.7. Efeito dos fatores sobre a deformação na ruptura calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$	54
Tabela 4.8. Efeito dos fatores sobre a tensão de ruptura calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$	55
Tabela 4.9. Efeito dos fatores sobre a elongação calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$	57
Tabela 4.10. Efeito dos fatores sobre o módulo de Young calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$	58
Tabela 4.11. Resultados do planejamento experimental completo 2^3	63
Tabela 4.12. Efeito dos fatores calculados para a força de ruptura no planejamento completo 2^3	64
Tabela 4.13. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a força de ruptura.....	66
Tabela 4.14. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a força de ruptura.....	67

Tabela 4.15. Efeito dos fatores calculados para a deformação de ruptura no planejamento completo 2^3	68
Tabela 4.16. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a deformação de ruptura.....	69
Tabela 4.17. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a deformação de ruptura.....	70
Tabela 4.18. Efeito dos fatores calculados para a tensão de ruptura no planejamento completo 2^3	83
Tabela 4.19. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a tensão de ruptura.....	85
Tabela 4.20. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a tensão de ruptura.....	86
Tabela 4.21. Efeito dos fatores calculados para a elongação de ruptura no planejamento completo 2^3	86
Tabela 4.22. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a elongação de ruptura.....	88
Tabela 4.23. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a elongação de ruptura.....	89
Tabela 4.24. Efeito dos fatores calculados para o módulo de Young no planejamento completo 2^3	90
Tabela 4.25. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para o módulo de Young.....	91
Tabela 4.26. ANOVA do ajuste do modelo obtido para o módulo de Young.....	92
Tabela 4.27. Efeito dos fatores calculados para a solubilidade no planejamento completo 2^3	104
Tabela 4.28. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a solubilidade.....	106
Tabela 4.29. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a solubilidade.....	107
Tabela 4.30. Caracterização do biofilme de farinha de amaranto segundo a formulação ótima.....	112
Tabela 4.31. Solubilidade e propriedades mecânicas dos biofilmes de farinha e amido	

de amaranto.....	114
Tabela 4.32. Valores dos parâmetros de cor (a^* , b^* , L^* e ΔE^*) e opacidade para biofilmes de farinha e amido de amaranto.....	117
Tabela 4.33. Valores de temperatura de fusão (T_m) e temperatura de transição vítrea (T_g) para filmes de farinha e amido de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>) condicionado a 25°C e em sílica gel por 2 semanas.....	123
Tabela 4.34. Valores de temperatura de transição vítrea (T_g) para filmes de farinha e amido de amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>) condicionados a 25°C em 58% e 75% de UR.....	126

NOMENCLATURA

A - área (mm^2).

ASTM - American Society for Testing and Materials.

aw - atividade de água.

a* - croma HunterLab do verde ao vermelho.

b* - croma HunterLab do azul ao vermelho.

b.s. - base seca.

b.u. - base úmida.

Cg - concentração do glicerol (g de glicerol/100 g de farinha).

D - deslocamento da sonda na ruptura (mm).

DSC - calorímetro diferencial de varredura.

ΔE^* - diferença de cor HunterLab.

ΔH_m - entalpia de transição sol-gel (J.g^{-1}).

$\Delta l/l_o$ - deformação na ruptura (%).

ΔP - diferença de pressão de vapor (kPa).

et al. - termo latim "e colaboradores".

ε - espessura (mm).

E - elongação (%).

F - força na ruptura.

FEA - Faculdade de Engenharia de Alimentos.

g - ganho de peso.

L* - croma HunterLab do brilho.

Lo* - índice de luminosidade do padrão.

l_o - comprimento inicial do filme (mm).

m - massa (g).

Pa - Pascal.

pH - potencial hidrogeniônico.

pI - ponto isoelétrico.

PVA - permeabilidade ao vapor de água ($\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}$).

SF - solução filmogênica.

t - tempo (horas).

T - temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

T_D - temperatura de desnaturação ($^{\circ}\text{C}$).

T_p - temperatura de processo ($^{\circ}\text{C}$).

T_g - temperatura de transição vítrea ($^{\circ}\text{C}$).

T_m - temperatura de transição sol-gel ($^{\circ}\text{C}$).

TPVA - taxa de permeabilidade ao vapor de água ($\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$).

UR - umidade relativa.

w - ganho do peso por volume.

Y - opacidade HunterLab.

Y_b - opacidade HunterLab da amostra colocada sobre padrão branco.

Y_p - opacidade HunterLab da amostra colocada sobre padrão preto.

RESUMO

Nos últimos vinte anos, as pesquisas dedicadas a desenvolver materiais comestíveis e biodegradáveis, para ser usado como material de embalagem e conservação, a partir de biopolímeros naturais têm-se incrementado grandemente. As proteínas, os lipídeos e os polissacarídeos têm sido usados como agentes formadores do filme. As proteínas e os polissacarídeos são bons materiais formadores do filme, mas apresentam baixa barreira ao vapor de água. Os lipídeos oferecem limitadas propriedades de barreira ao oxigênio devido à presença de poros microscópicos, à elevada solubilidade e difusividade. O objetivo deste trabalho foi elaborar filmes a base de farinha de amaranto usando o glicerol como plastificante. Primeiro, foi determinada a metodologia para produzir farinha de amaranto por moagem úmida. O rendimento na produção de farinha de amaranto foi de 67,46%. A farinha de amaranto apresentou teores de 14,21% de proteínas, 8,27% de lipídeos e 68,17% de amido. Foram estudados os efeitos da concentração de glicerol, do pH da solução filmogênica, da temperatura de processo, da temperatura e da umidade relativa do ar na secagem sobre as propriedades mecânicas dos filmes de farinha de amaranto. Os efeitos destas variáveis foram analisados segundo o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$ e foram determinados os fatores que influem significativamente, os quais depois foram considerados no desenvolvimento de um planejamento experimental completo. As variáveis escolhidas foram a concentração de glicerol, o valor do pH e a temperatura de processo. Os efeitos destas variáveis foram analisadas em função das propriedades dos filmes como: solubilidade, força e deformação no teste de perfuração e tensão, alongação e módulo de Young, no teste de tração. Utilizou-se a metodologia de superfície de resposta para obter a formulação ótima, a qual consistiu em: concentração de glicerol 22,5%, pH 10,7 e temperatura de processo 82°C. Os biofilmes apresentaram uma coloração amarelada, moderada opacidade, alta flexibilidade, baixa resistência e excelente propriedade de barreira ao vapor de água. O processo de desnaturação das proteínas e a presença de lipídeos no filme permitiram obter baixa permeabilidade ao vapor de água quando comparados com filmes de amido e proteína encontrados na literatura.

SUMMARY

For the last twenty years, research interest into the use of natural biopolymers for manufacturing edible or biodegradable materials for packaging and preservation, has greatly increased. Proteins, lipids and polysaccharides have been used as film-forming agents. Proteins and polysaccharides are good film-former materials, but they are poor moisture barriers. Lipids offer limited oxygen barrier properties, due to the presence of microscopic pores and elevated solubility and diffusivity but provide a better moisture barrier. The aim of this work was to develop amaranth flour films using glycerol as plasticizer. First, the methodology of production of amaranth flour by humidity milling was defined. The yield of amaranth flour was 67.46%. The amaranth flour had 14.21% protein, 8.27% fat and 68.17% starch. The effects of glycerol concentration, pH values of the solution to film formation, temperature of process (heat denaturation), drying temperature and drying air humidity on mechanical properties of amaranth flour films were evaluated. The effect of these variables was analyzed according to a fractional experimental design $2^{(5-1)}$, for determination of the statistically significant factors. With these factors previously chosen a complete experimental design was performed. Glycerol concentration, pH values and process temperature were optimized to obtain low solubility and flexible amaranth flour films, using an experimental design (response surface methodology). The effect of these variables was investigated at film formation conditions analyzing the final properties of the films as solubility, puncture strength, puncture deformation, tensile strength, elongation and modulus of Young. The optimum conditions were reached at 22.5% glycerol, pH 10.7 and 82°C. The biofilms presented a yellowish color, moderate opacity and high flexibility but low tensile strength. The denaturation of proteins and lipid presence improved water vapor permeability of amaranth flour films compared to that of other protein and polysaccharide films.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o interesse por substituir os polímeros sintéticos, que até hoje são utilizados como material de embalagem, tem aumentado. Os materiais sintéticos garantem uma proteção desejada para diversos tipos de produtos, mas apresentam o inconveniente de não serem biodegradáveis, portanto de difícil reciclagem (GONTARD & GUILBERT, 1996), sendo responsáveis por grande parte dos resíduos plásticos que se acumulam no meio ambiente. Na Austrália, aproximadamente 350.000 toneladas de plásticos são usadas como embalagem e mais de 40.000.000 de toneladas são usados no mundo inteiro. Estes materiais contribuem em torno de 20% do total de desperdícios no mundo, causando sérios distúrbios ecológicos (HALLEY et al., 2001).

Desde a década de 70, tem-se estudado biopolímeros polares como polissacarídeos e proteínas para substituir os materiais plásticos derivados do petróleo, apresentando uma grande vantagem sobre eles, isto é sua característica biodegradável (GARCIA et al., 1999). Os biofilmes podem ser de dois tipos: coberturas, quando são aplicadas diretamente na superfície dos alimentos e filmes quando possuem a capacidade de formar estruturas próprias independentes. Os filmes comestíveis podem ser ingeridos pelo consumidor, além de fornecer propriedades de barreira à umidade e à migração de solutos, necessárias à conservação do alimento.

Os biofilmes são produzidos a partir de polissacarídeos (celulose e derivados, carboidratos e derivados, gomas, etc.) e proteínas (gelatina, zeína, glúten, etc.), capazes de produzir matrizes contínuas. Esses filmes possuem boas propriedades mecânicas e ópticas, mas são sensíveis à umidade e possuem baixa barreira ao vapor de água. Dentre os polissacarídeos, o amido constitui uma fonte importante para a elaboração de filmes comestíveis devido a seu baixo custo. Nos primeiros estudos realizados, o amido foi usado como aditivo na fabricação de plástico, ou seja o material plástico foi aditivado com quantidades menores que 10% de amido (OTEY et al., 1980).

Diversos pesquisadores (ARVANITOYANNIS et al., 1994; BADER & GORITZ, 1994; SHOGREN, 1992) ressaltam que existe um maior interesse pelo uso do amido puro ou misturado com outros biopolímeros para a obtenção de filmes. Os filmes de amido de

alto conteúdo de amilose (> 40%) possuem boas propriedades de barreira ao oxigênio e óleo, no entanto apresentam baixo porcentagem de elongação (6%) quando comparado com o polietileno, embora possua maior resistência à tração (30-60 MPa). As propriedades mecânicas dependem principalmente do conteúdo de amilose e amilopectina, o qual também depende da espécie vegetal.

Vários cereais ou pseudocereais consumidos desde épocas precolombianas têm recebido um interesse crescente por seu estudo, um deles é o amaranto, o qual é um pseudocereal consumido em lugares específicos das Américas. A espécie *Amaranthus caudatus* é nativa do Peru e outros países andinos. A planta é consumida como um vegetal e as sementes são usadas como cereal (SAUNDERS & BECKER, 1984). O grão de amaranto está constituído em maior porcentagem por amido (~7% de amilose). Este amido possui características especiais: grânulo de amido de pequeno diâmetro, uma faixa ampla de viscosidade, resistência ao cisalhamento, géis estáveis ao congelamento, e uma baixa temperatura de gelificação (CALZETTA et al, 1999; WU & CORKE, 1999).

Além do amido, o grão de amaranto contém proteínas (~15%), e apresenta características nutricionais únicas, com valores nutritivos equivalentes ao leite, a carne e os ovos, além de aminoácidos essenciais, como a lisina, metionina e cistina, mantendo uma altíssima porcentagem desses elementos. A lisina é o fator primordial para o desenvolvimento orgânico mental do homem. Além disso, atenção especial merece o alto conteúdo de minerais e vitaminas, cujo valor é superior ao de outros cereais. Os grãos de amaranto, devido a sua elevada qualidade protéica e conteúdo de carboidratos, podem ser transformados em subprodutos com maior agregação de seu valor (SPEHAR et al., 1998; RIVERO, 1994).

Diante do descrito, esta dissertação teve como objetivo estudar a viabilidade da obtenção de filmes biodegradáveis a base de farinha de amaranto (livre de fibras) determinando às propriedades mecânicas, ópticas e de barreira, a fim de propor uma nova alternativa de uso comercial do amaranto, incentivando assim seu cultivo no Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O amaranto

O amaranto é cultivado na América desde antes da chegada dos espanhóis, alcançando seu apogeu nos períodos, Maia, Asteca e Inca e era considerado até então um alimento sagrado para esses povos. Acredita-se que os astecas produziam 15000-20000 toneladas por ano de amaranto (WU & CORKE, 1999).

O amaranto é uma planta dicotiledônea, pertencente à família *Amaranthaceae*, cujas folhas e sementes são consumidas como alimento em várias partes do mundo (SAUER, 1950). Essa planta apresenta uma inflorescência tipo panícula, sendo por isso considerada como um falso cereal. Algumas espécies, como *A. hybridus* L., *A. deflexus* L., *A. retroflexus* L., *A. spinosus* L., e *A. viridis* L., têm recebido nomes populares como Caruru, Caruru-bravo, bredo, Caruru-rasteiro, Caruru-roxo, Caruru-branco, Caruru-verde, Caruru-gigante, Caruru-de-espinho, entre outros (TEUTONICO & KNORR, 1985).

As espécies mais estudadas e cultivadas são: o *A. cruentus* (México, África, Caribe, Ásia e América do Sul), o *A. caudatus* (América do Sul), o *A. hypochondriacus* (Índia, México e Estados Unidos) e o *A. tricolor* (China e Índia) (SAUNDERS & BECKER, 1984; BREENE, 1991).

O *Amaranthus caudatus* é uma espécie cultivada nos vales interandinos do Peru e da Bolívia, em altitudes de 2700 até 3500 metros ao nível do mar. (SUMAR-KALINOWSKI, 1982). É uma planta anual, adaptável a climas temperados e frios, de rápido crescimento e elevada altura (1,80 a 2,60 m). O grão tem um diâmetro que varia de 1,55 a 2,14 mm e o peso varia de 0,46 a 1,18 mg (BRESSANI et al., 1987); a composição química do grão está apresentada na Tabela 2.1.

Diferente da maioria das outras culturas de alimentos, o amaranto cresce bem em solos áridos e pobres, não aptos para cereais e outras culturas. No Peru, os lugares de cultivo situam-se em Ancash (Callejón de Huaylas e Conchucos, perto de Huaraz), Ayacucho, Huancavelica, Cusco (Colca, Paruro e a região Yanatile), La Libertad (Huamanchuco) e Cajamarca.

O amaranto, embora fosse cultivado há séculos, os primeiros estudos sistemáticos sobre esta cultura foram realizados, há 30 anos pelos Estados Unidos e há 20 anos pela China, aproximadamente, logrando obter informações a respeito das propriedades nutricionais e as características agrônômicas do cultivo. Ainda há muito que se pesquisar sobre o amaranto, pois atualmente existe um grande interesse pelo seu desenvolvimento comercial em vários países da União Européia, América Latina e os Estados Unidos.

No Brasil, o amaranto é pouco conhecido, se bem que existe um esforço técnico-científico desenvolvido pela Embrapa-Planaltina, Distrito Federal, no sentido de adaptar espécies, oriundas das regiões andinas aos solos do Cerrado brasileiro, obtendo resultados encorajadores. A espécie cultivada é o *Amaranthus cruentus* (MARCÍLIO, 2001).

O interesse recente por esta planta pode ser atribuído, às seguintes razões:

Os grãos de amaranto chamam a atenção pelo seu conteúdo relativamente alto de proteínas (15%), gorduras e minerais, especialmente em relação aos cereais. Sua proteína é considerada de alta qualidade biológica devido ao seu conteúdo em lisina e outros aminoácidos essenciais. Esses fatores situam o amaranto, acima dos cereais em termos de potencial nutricional (BRESSANI, 1988; BREENE, 1991).

SAUNDERS & BECKER (1984) constataram que o conteúdo percentual de proteína (14,9%), gordura (6,98%) e fibra (4,5%) do amaranto são superiores aos dos cereais comuns, como trigo (proteína 12,3%, gordura 1,8% e fibra 2,3%), milho (proteína 8,9%, gordura 3,9% e fibra 2,0%), arroz integral (proteína 7,5%, gordura 1,9% e fibra 0,9%) e aveia (proteína 16,1%, gordura 6,4% e fibra 1,9%).

O conteúdo de lipídeos varia entre 6 e 8% aproximadamente. Sua composição indica que os ácidos linoléico e o ácido esteárico constituem cerca de 70 e 20% da gordura total, respectivamente (YÁÑEZ et al., 1994).

O grão de amaranto apresenta um conteúdo de amido superior a 62%, pelo qual é uma fonte potencial de amido para ser usado como ingrediente na formulação de alimentos como pudins, sopas e molho para saladas (PEREZ et al., 1993).

Tabela 2.1. Composição centesimal de alguns grãos de amaranto.

Espécie	N (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Fibra (%)	Cinza (%)
<i>A. cruentus</i>	3,05	17,8	7,9	4,4	3,3
<i>A. hypochondriacus</i>	2,67	15,6	6,1	5,0	3,3
<i>A. caudatus</i>	2,54	14,9	6,9	4,2	3,2
<i>A. paniculatus</i>	2,66	15,5	4,9	5,0	4,1
<i>A. retroflexus</i>	2,26	13,2	6,4	6,4	3,1
<i>A. edulis</i>	2,70	15,8	8,1	3,2	3,2

Fonte: SAUNDERS & BECKER (1984)

2.1.1. O amido de Amaranto

O amido é o carboidrato mais abundante no grão do amaranto. BECKER et al. (1981) relataram um conteúdo de 48% de amido no *A. cruentus*, 62% no *A. hypochondriacus*, 62,8% no *A. leucosperma* e na faixa de 50-55% no *A. caudatus* (TEJADA, 1994). Os grânulos de amido de amaranto são muito pequenos, com diâmetro de 1-3 μm , quando comparados aos grânulos de amido de arroz, que apresentam diâmetro de 3-8 μm e amido de batata, com diâmetro de 100 μm (BREENE, 1991).

O amido está constituído por uma mistura de dois polissacarídeos denominadas amilose e amilopectina, em proporções que variam entre os amidos procedentes de diferentes espécies vegetais e, mesmo, entre amidos provenientes da mesma espécie, onde as proporções de amilose e amilopectina variam também com o grau de maturação das plantas. A maioria das variedades cultivadas de amaranto contém amido ceroso com cerca de 98-100% de amilopectina, no entanto alguns amarantos são conhecidos por terem mais de 20% de amilose. LORENZ (1981) e BECKER et al. (1981) observaram que o amido de *A. hypochondriacus* apresentou um conteúdo de amilose de 7,2%. TOMITA et al. (1981)

relataram valores de amilose que variaram de 0% a 22% para o *A. hypochondriacus* e de 5 a 7% para *A. caudatus*.

A amilose é um polissacarídeo composto por unidades de D-glicose ligadas entre si por ligações α 1 $\rightarrow$ 4. A Figura 2.1 ilustra a cadeia reta da amilose. Na forma cristalina, a molécula de amilose tem uma conformação helicoidal, devido a conformação das unidades de glicose.

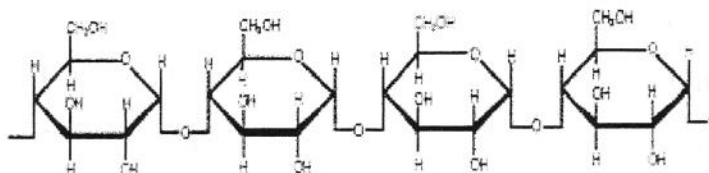


Figura 2.1. Representação da cadeia reta da amilose.

A amilopectina é um polímero formado por cadeias curtas de amilose ligadas entre si, por ligações α 1 $\rightarrow$ 6. Seu peso molecular é alto e pode estar compreendido no intervalo 10^7 - 20×10^7 Dalton. A amilopectina proporciona soluções claras e de alta viscosidade, em água quente; além disso, são filamentosas e coesivas. Ao contrário da amilose não tem tendência à retrogradação (BELITZ & GROSCH, 1988). A Figura 2.2 ilustra a estrutura ramificada de amilopectina:

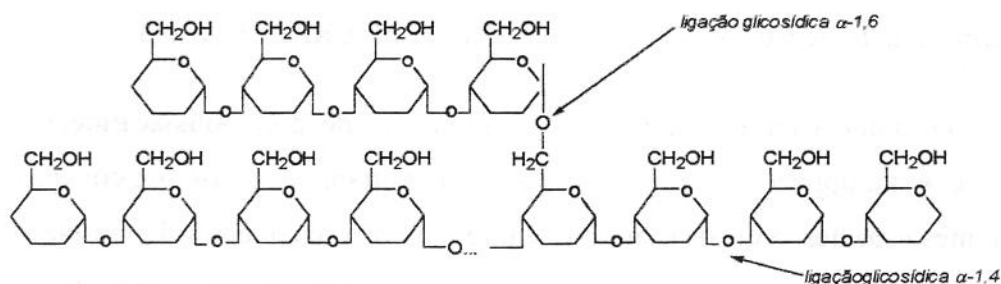


Figura 2.2. Representação esquemática da amilopectina.

Esta representação da amilopectina é distinguida por três tipos de cadeias: a) cadeias curtas de amilose sem grupos OH no carbono 6 comprometidos; b) cadeias com um ou mais grupos OH no carbono 6 comprometidos; c) cadeias com grupo redutor.

As moléculas de amilose e amilopectina estão associadas entre si por pontes de hidrogênio formando regiões cristalinas radialmente orientadas. Entre estas regiões cristalinas existem regiões amorfas, nas quais as moléculas não têm uma orientação particular. As regiões cristalinas mantêm a estrutura do grânulo e controlam o comportamento do amido na água. É por este motivo que o grânulo de amido exibe uma capacidade limitada de absorção de água, embora fosse constituído de polímeros solúveis ou parcialmente solúveis neste líquido.

O amido de amaranto (*A. hypochondriacus*) quando comparado com o amido de trigo (Tabela 2.2), apresenta um baixo conteúdo de amilose, maior solubilidade e baixo poder de intumescência, maior absorção de água, menor viscosidade e maior temperatura de gelatinização, entretanto quando comparado com o amido de milho e amido de arroz, apresenta temperatura de gelatinização, menor (LORENZ, 1981).

Elevada susceptibilidade dos grânulos de amido de *A. hypochondriacus* e *A. caudatus* às amilases foi relatada por TOMITA et al. (1981), esta característica está relacionada com a degradabilidade do amido.

Segundo BREENE (1991) um dos possíveis usos do amido de amaranto é a elaboração de plásticos biodegradáveis. Também pode ser usado como espessante para alimentos, amido para lavanderia, molhos, tempero e sopas devido a sua menor temperatura de gelificação e estabilidade no armazenamento em frio.

Tabela 2.2. Propriedades físico-químicas do amido de trigo e amaranto.

Análise	Trigo	Amaranto(*)
Amilose(%)	22,2	7,2
Viscosidade amilográfica (U.B)		
• Máximo	350	320
• 92°C	270	260
• Após de 30 min a 92°C	340	260
• Esfriado a 35°C	510	280
• Após de 60 min a 35°C	810	320
Solubilidade (%)		
60°C	1,67	9,12
70°C	2,35	14,21
80°C	2,48	32,76
90°C	8,21	37,43
Poder de inchamento		
60°C	4,77	1,02
70°C	6,13	1,51
80°C	8,28	3,44
90°C	11,80	3,53
Temperatura de gelatinização(°C)		
• Inicial	52	62
• Ponto médio	55	64
• Final	56	68

Fonte: SAUNDERS & BECKER (1984)

(*) *Amaranthus hypochondriacus*

2.1.2. Proteína do amaranto

As três espécies mais cultivadas e estudadas do grão de amaranto apresentam a seguinte variação no teor protéico: na espécie *A. cruentus*, o teor protéico varia de 13,2 a 18,2%, na espécie *A. caudatus* varia de 17,6 a 18,4% e relata-se 17,9% para o *A. hypochondriacus* (GORINSTEIN et al., 1998).

Esta variação no conteúdo de proteína, entre espécies, ocorre devido a vários fatores, como os diferentes cultivares, condições ambientais, região de cultivo, estação do ano, tratamento de fertilizantes e o fator de conversão de nitrogênio (IRVING et al., 1981 e SAUDERS & BECKER, 1984; GORINSTEIN et al., 1998). Segundo BECKER et al. (1981) o fator de conversão de nitrogênio para *A. edulis* é 5,85; CARLSSON (1980) relatou valores de 5,2 a 5,6 para algumas espécies de amaranto e 6,25 para outras.

Um fator comum, entre todas as espécies estudadas é o alto conteúdo de lisina, que é o aminoácido mais limitante na maioria dos cereais, e os aminoácidos sulfurados, que são aminoácidos limitantes nas leguminosas, carne e leite. No entanto, as espécies de amaranto apresentam baixo conteúdo de treonina, leucina, valina e isoleucina. IMERI et al. (1987) observou que, o principal aminoácido limitante na espécie *A. caudatus* é a treonina

CORREA et al. (1986) observaram que, a proteína de cinco espécies de amaranto apresentaram 65% de albumina, 17% de globulina, 11% de prolamina e 7% de glutelina. PAREDES-LOPEZ et al. (1988) caracterizaram a proteína do *A. hypochondriacus*, a qual apresentou conteúdos de 46-49% de albumina, 3% de prolamina e 30-33% de glutelina. Segundo MARTINEZ & AÑÓN (1996), as principais frações de proteína do grão de amaranto são: albuminas, globulinas e glutelinas, as quais diferem na sua solubilidade. Essas autoras concluíram que a proporção das diferentes frações na proteína isolada e suas propriedades funcional e nutricional depende do método de extração usado.

Na maioria de alimentos, a albumina encontra-se em maior quantidade, seguido pela glutelina, e as globulinas em terceiro lugar (SEGURA-NIETO et al., 1994), pelo qual essas proteínas são consideradas como proteínas de reserva (HIGGINS, 1984). No amaranto, encontrou-se dois tipos de albumina: albumina 1, extraída com água e/ou solução salina,

albumina 2, extraída com água depois da extração da albumina 1 e a globulina (solução salina). Portanto, a albumina 2 poderia estar incluída na fração de globulina e de glutelina.

As globulinas estão compostas de 11-S globulina, globulina-P e pequenas quantidades de 7S globulina (SEGURA-NIETO et al., 1994; MARCONE, 1999; MARTINEZ et al., 1997). A globulina-P está composta de unidades de moléculas, cujo peso molecular e composição polipeptídica é semelhante à globulina-11S, mas a globulina-P tende a polimerizar-se, por isso mostra diferente solubilidade (MARTINEZ et al., 1997; CASTELLANI et al., 1998). Além disso, a globulina-P contém uma alta proporção de subunidades monoméricas de 54 kDa do que a globulina 11S (MARTINEZ et al., 1997).

A utilização da proteína de amaranto como ingrediente em alimentos depende amplamente de suas propriedades funcionais, o qual está relacionado às suas características estruturais. Algumas dessas propriedades são: a capacidade de formar misturas com a água, a formação do gel, a emulsificação e a formação de espuma.

LEHMANN et al.(1990) observaram que as propriedades emulsificantes e espumantes das proteínas isoladas de *A. cruentus* e *A. hypochondriacus* são pobres e apresentam limitada absorção de água, no entanto têm boas propriedades de formação de gel.

É importante considerar que a proteína extraída apresenta comportamento diferente do que quando se encontra no grão, sendo que a forma de extração pode modificar suas propriedades funcionais (BREENE, 1991). Além disso, muitas propriedades funcionais das proteínas, incluindo a habilidade em formar géis, dependem de sua solubilidade. O pH influi na solubilidade das proteínas. O comportamento da proteína em função do pH está relacionado com o número de resíduos dos aminoácidos de cargas positivas ou negativas, ou seja, do caráter anfótero da proteína. O pH, onde o número de cargas é igual, corresponde a solubilidade mínima da proteína. Esse ponto é denominado ponto isoelétrico (pI). Além do pH, a solubilidade das proteínas depende de outros fatores como força iônica, tipo de solvente e temperatura (CARVALHO, 1997).

A estrutura das proteínas, e portanto, sua funcionalidade depende grandemente da força iônica e do pH do meio. A variação destas condições pode perturbar ou equilibrar a estrutura quaternária, terciária e secundária (PENG et al., 1984; DAMODARAN & KINSELLA, 1982; DAMODARAN, 1989a; WAGNER & GUEGUEN, 1995; GUEGUEN et al., 1988; SRIPAD & NARASINGA RAO, 1987) e essas modificações podem conseguir novas e diferentes propriedades funcionais (DAMODARAN, 1989b; KINSELLA & PHILLIPS, 1989).

O amarantho apresenta uma composição balanceada de aminoácidos, com um conteúdo de lisina e aminoácidos sulfurados, que conferem um potencial como alimento, podendo ser utilizado para complementar as proteínas de outros cereais e leguminosas. Nas proteínas alimentares, os grupos sulfidrípicos e dissulfetos são muito importantes porque eles determinam a funcionalidade das proteínas. Por outro lado, as pontes intramoleculares dissulfetos adicionam rigidez e estabilidade na estrutura das proteínas, fazendo com que estes sejam capazes de formar espumas, filmes e emulsões, sistemas nos quais as propriedades de superfície são desenvolvidas (KINSELLA & PHILLIPS, 1989).

2.2. Desnaturação das proteínas

Na ciência e tecnologia de alimentos, a estrutura nativa de uma proteína, ou mistura delas, tem uma importância apenas relativa de acordo as necessidades do tecnólogo ou do consumidor, o que faz com que, em muitos casos, um certo grau de desnaturação seja desejável. Por exemplo, na elaboração de surfactantes, adesivos, recubrimentos ou plásticos (GRAAF, 2000).

A desnaturação da proteína é o desdobramento da proteína desde uma estrutura nativa até um estado não estruturado (parcialmente) (GRAAF, 2000). Segundo FARFAN (1990), a palavra "desnaturação" é empregado para denotar qualquer alteração, ou alterações, nas estruturas quaternária, terciária ou secundária das proteínas. A desnaturação pode ser produzida por meios mecânicos, químicos e físico-químicos. De maneira geral, mecanicamente podem-se imprimir alterações na estrutura quaternária e até na estrutura terciária, mas raramente atinge-se a estrutura secundária. Um exemplo de desnaturação mecânica é a efetuada nas proteínas do trigo durante a mistura da massa para se obter a rede

estrutural que dá o corpo e a textura característicos do pão de trigo. A desnaturação ocasionada por meios químicos envolve a quebra ou formação de ligações covalentes e é geralmente irreversível. As reações mais usuais são as de óxido-redução que agem sobre grupos -SH e -S-S-, respectivamente. Pode ainda ocorrer desnaturação através de proteólise ou mediante a ação da radiação UV, ionizante ou, talvez, no momento de se efetuar uma modificação química. Um exemplo que mostra de forma muito clara o efeito desnaturante da quebra de uma ligação peptídica é o da ação da renina na precipitação da caseína do leite.

Os meios físico-químicos de desnaturação são aqueles que, como o calor, o tipo de solvente e pH fora do normal, perturbam as ligações físico-químicas, e alteram além das estruturas quaternária e terciária, as estruturas secundária das proteínas. Segundo SCHMIDT et al. (1978), a desnaturação de proteínas é altamente dependente do pH e a razão de desdobramento pode ser influenciada pelo pH de aquecimento. O ajuste de pH permite encontrar um balanço entre a razão de desnaturação e a razão de agregação, bem como entre forças de atração e forças de repulsão entre as proteínas (MANGINO, 1984). A desnaturação pode acontecer em conteúdos de água acima de 5% e temperatura altas ($>75^{\circ}\text{C}$). É sabido que a temperatura de desnaturação das proteínas depende do tipo de proteína (fonte), dos aditivos ou desnaturantes e a metodologia do processo utilizado.

MARTÍNEZ & AÑÓN (1996) determinaram as temperaturas de desnaturação (T_D) das frações protéicas isoladas da proteína do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus*), observando que a fração protéica de globulina e glutelina apresentaram duas temperaturas de desnaturação, uma a alta temperatura ($T_D = 94^{\circ}\text{C}$ e 96°C) e a outra a menor temperatura ($T_D = 64^{\circ}\text{C}$ e 70°C), entretanto as frações protéicas de albumina-1 e albumina-2 apresentaram só uma temperatura de desnaturação ($T_D = 64^{\circ}\text{C}$ e 94°C).

CASTELLANI et al. (1998) estudaram a desnaturação da globulina-P do amaranto por efeito do pH e do cloreto de sódio (NaCl) observando que valores de pH em torno de 9 a globulina produz uma desnaturação maior da globulina do que em meio ácido, causando uma dissociação em sub-unidades de baixa estabilidade térmica. Além disso, observaram que uma concentração acima de 0,1 M de NaCl causou um aumento na força iônica e, conseqüentemente, uma elevação da temperatura e da entalpia de desnaturação.

Os filmes comestíveis produzidos a partir de proteínas desnaturadas podem apresentar menor solubilidade e permeabilidade ao vapor de água e ao gás, além disso, melhores propriedades mecânicas para seu uso como material de embalagem. Alguns filmes elaborados a partir de proteínas melhoraram suas propriedades físicas quando a solução filmogênica foi submetida a processos térmicos (tempo e temperatura) que causaram a desnaturação das proteínas. Por exemplo os filmes de proteína de soro de leite (STUCHELL & KROCHTA, 1994), os filmes de proteína de glúten (ROY et al., 1995) e os filmes de proteína de ervilha (CHOI & HAN, 2001).

2.3. Biofilmes de amido

O amido é considerado como a matéria prima mais promissora para a elaboração de filmes biodegradáveis devido à boa combinação de preço e capacidade (DOANE et al., 1992; TOMKA, 1991). Os filmes de amido com alto conteúdo de amilose são menos caros (\$0.60-\$0.70/Lb) que os filmes de celulose, mas sua instabilidade à umidade limitam seu uso (KROCHTA & MULDER-JOHNSTON, 1996). No entanto, pode-se misturar o amido com outros materiais para elaborar filmes com propriedades desejáveis e com baixo custo.

A conversão do amido em material termoplástico por extrusão ou em filmes por “gel-casting”, produz perdas na organização natural dos polímeros do amido (VAN SOEST et al., 1996). Alguns estudos demonstraram que durante a gelificação e armazenamento dos géis de amido, estes desenvolveram, cristalinidade de tipo B, ao longo do tempo (ARVANITOYANNIS et al., 1994). Esse tipo de cristalinidade origina-se de um ordenamento linear de tipo B das hélices do amido (amilose e amilopectina).

Nos primeiros estudos realizados sobre filmes de amido, com alto conteúdo de amilose, avaliou-se o efeito do glicerol utilizado como plastificante nas propriedades mecânicas e de barreira (WOLFF et al., 1951; RANKIN et al., 1958). Outros autores estudaram a relação que existe entre a cristalinidade dos filmes de alto conteúdo de amilose com suas propriedades mecânicas (LLOYD & KIRST, 1963; HEALY et al., 1974; OLLET et al., 1991).

As propriedades mecânicas dos filmes de amido dependem da proporção de amilose e amilopectina presentes no amido, no entanto esta proporção depende da espécie vegetal. LOURDIN et al. (1995) estudaram a influência do conteúdo de amilose nas propriedades dos filmes, encontrando que a resistência à tração aumenta com o aumento de amilose, obtendo um valor máximo de 60 MPa em filmes de amilose pura sem plastificante e de 25 MPa com plastificante; a porcentagem de alongação aumenta à medida que aumenta o conteúdo de amilose nos filmes sem plastificante e diminui nos filmes com plastificante (6%). Os máximos ou mínimos valores de resistência à tração e alongação atingidos nos filmes de amido com plastificante, mantêm-se constantes naqueles cujo conteúdo varia de 40 a 100% de amilose. Os autores concluíram que a presença do glicerol como plastificante afeta as propriedades mecânicas dos filmes, sendo os filmes de amilopectina mais sensíveis que os filmes de amilose. GARCÍA et al. (2000) relataram que os filmes com plastificante mostraram menor cristalinidade que os filmes sem plastificante.

RINDLAV et al. (1997) estudaram o efeito da umidade relativa do ar (%UR) de secagem na cristalinidade dos filmes de amilose e amilopectina, e a influência desta, sobre a microestrutura dos filmes e nas propriedades mecânicas e de barreira. Esses autores, concluíram que, em filmes de amilopectina e glicerol, a cristalinidade relativa aumentou à medida que aumentou a umidade do ar (%UR) durante a formação do filme, entretanto os filmes sem glicerol permanecem amorfos independentemente da %UR; os filmes de amilose tiveram uma cristalinidade relativa de 34% independente da adição de glicerol e da umidade relativa do ar. As propriedades mecânicas em ambos filmes dependeram da umidade relativa do ar (%UR). Por outro lado, eles mencionaram que, a permeabilidade ao oxigênio e ao vapor de água são maiores nos filmes de amilopectina que nos filmes de amilose. STANDING et al. (2001) também estudaram o efeito da umidade relativa do ar de secagem nas propriedades mecânicas e de barreira, e na microestrutura dos filmes de amilose e amilopectina. Esses autores, concluíram que o aumento da umidade relativa do ar (%UR) modificou a estrutura da rede dos filmes de amilose-glicerol, desde uma estrutura densa e homogênea até uma com flutuações no tamanho dos poros, isto, devido à plasticização das áreas amorfas com o incremento no conteúdo de água, permitindo um movimento na rede e posteriormente uma expansão não homogênea, originando-se um aumento na permeabilidade ao oxigênio.

GARCÍA et al. (2000) elaboraram filmes de amido com adição de lipídeos a fim de melhorar suas propriedades de barreira, encontrando que os filmes de amido com alto conteúdo de amilose mostraram menor permeabilidade ao vapor de água e aos gases, além disso a permeabilidade dos filmes elaborados com sorbitol foram menores do que os elaborados com glicerol. Com a adição de 2 g/L de óleo de girassol conseguiu-se diminuir a permeabilidade ao vapor de água.

2.4. Biofilmes de proteína

Os filmes a base de proteínas de alto peso molecular são geralmente insolúveis ou pouco solúveis em água, além de possuir boas propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade) (CARVALHO, 1997).

A elaboração de biofilmes a base de proteínas envolve vários componentes com finalidades específicas. De um modo geral as formulações estão constituídos pelos seguintes compostos: agente formador de filmes (macromoléculas), agente plastificante, solvente e de ajuste de pH (SOUZA, 2001).

Dentre as proteínas utilizadas como agente formador de filmes destacam-se, as de origem animal, como gelatina (CARVALHO, 1997; SARMENTO, 1999), proteínas miofibrilares de peixe (CUQ, 1997; MONTERREY & SOBRAL, 2000), proteínas miofibrilares de carne bovina (SOUZA, 2001), proteínas de soro de leite (MG HUGH & KROCHTA, 1994; MATE & KROCHTA, 1996; MILLER & KROCHTA, 1997); e as de origem vegetal, como glúten, zeína e proteína de soja.

Na maioria dos estudos sobre biofilmes de proteína utilizaram-se glicerol e sorbitol como plastificante. Biofilmes de gelatina foram obtidos utilizando sorbitol como plastificante (CARVALHO, 1997; SARMENTO, 1999), cuja concentração influenciou nas propriedades mecânicas dos biofilmes. Os filmes de proteína de soro de leite elaborados com sorbitol apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água do que os elaborados com glicerol (ANKER et al., 2000).

Outro componente do filme é o agente ajustador de pH, que também influencia a solubilidade da proteína. O pH para trabalhar com proteínas deve estar acima ou abaixo do

pI, onde a proteína possuirá cargas disponíveis para interagir com a água e aumentando, assim, a sua solubilidade, o qual permitirá a formação de gel (CARVALHO, 1997).

Existem muitos estudos que avaliaram o efeito do pH nas propriedades dos biofilmes. WALL & BECKWITH (1969) obtiveram filmes a partir de uma solução de glúten, ácido láctico e água como solvente, mas eles foram muito quebradiços. ANKER et al. (1972) solubilizaram o glúten de trigo em aquecimento alcóolico e meio alcalino para elaborar filmes pelo método de *casting*, utilizando glicerol como plastificante. Filmes de proteína de glúten foram elaboradas com 20% de etanol e pH 5 (GONTARD et al., 1992), entretanto os filmes de gelatina foram elaborados utilizando-se água destilada como solvente e pH 5,6 (CARVALHO, 1997; SARMENTO, 1999). Filmes de proteína miofibrilar de carne bovina foram obtidos utilizando-se água destilada como solvente e pH 2,8 (SOUZA, 2001).

PEREZ & KROCHTA (2000) estudaram o efeito das condições de secagem na elaboração dos filmes de proteína de soro e de emulsões proteína-lipídeo, encontrando que o aumento na temperatura de secagem e 40% de umidade relativa diminuiu a permeabilidade ao vapor de água, em ambos os casos, e que as propriedades mecânicas não foram afetadas pelas condições de secagem.

2.5. Biofilmes a base de amido e proteína

Estudos sobre filmes elaborados com misturas de amido e proteína são raros. PARRIS et al. (1997) estudaram o efeito da incorporação de amido nas propriedades de resistência e solubilidade em filmes elaborados a partir de zeína, concluindo que, os filmes de zeína com 1% de amido apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água que os filmes sem amido e a presença de 8% de amido na zeína extraída do milho não afetou a permeabilidade ao vapor de água sendo semelhantes aos obtidos com zeína comercial.

Em filmes elaborados a partir de uma mistura de gelatina e amido solúvel de batata, observou-se que um elevado conteúdo de gelatina (>20% w/w) originou um aumento na resistência à tração e porcentagem de alongamento (ARVANITOYANNIS et al., 1997).

Um comportamento diferente foi observado em filmes elaborados a partir de uma mistura de caseinato de sódio e amido (milho e trigo). Um aumento no conteúdo de caseinato de sódio (>10% w/w) originou uma diminuição na resistência à tração e permeabilidade ao vapor de água (ARVANITOYANNIS et al., 1996).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria Prima

A farinha de amaranto foi produzida a partir do grão de amaranto da espécie "*Amaranthus caudatus*", cultivada na zona do *Callejón de Huaylas* (Huaraz-Peru), segundo a tecnologia de moagem úmida.

Na Figura 3.1 mostra-se a metodologia que foi utilizada para a produção de farinha de amaranto, a qual foi obtida em base a testes preliminares. Para produzir a farinha, o grão (200 g) foi macerado em uma solução de NaOH a 0,25% (400 ml), essa mistura foi mantida a temperatura de refrigeração (5°C) durante 24 horas. Após o período citado, foi adicionado ao material original um volume de solução de hidróxido de sódio a 0,25% suficiente para permitir a moagem. O processo de moagem foi realizado em uma processadora durante dois minutos a máxima potência.

O material moído foi filtrado através de uma peneira de aço inoxidável de abertura 80 mesh (177 microns de diâmetro). O resíduo não filtrado foi processado quatro vezes com adição de solução de NaOH a 0,25%, em quantidades suficientes para assegurar a moagem sem que se manifeste elevação de temperatura no material. O material foi peneirado sucessivamente através de uma peneira com aberturas de 200 e 270 mesh (74 e 53 microns de diâmetro respectivamente). O líquido foi neutralizado com uma solução de ácido clorídrico 0,2 N até pH 7 e depois foi centrifugado a 1500 rpm durante 20 minutos. O amido, proteína e lipídeos, precipitados foram suspensos com água destilada. Esse material foi colocado em pratos de alumínio em camadas de cinco milímetros de espessura e foi secado em estufa de convecção forçada a 37°C por 48 horas.

Depois de retirar as placas da estufa, foi realizado a moagem da farinha de amaranto e foi peneirada com peneira de aço inoxidável de 80 mesh de abertura. A farinha de amaranto foi conservada em frascos de vidro escuros e fechados hermeticamente até seu uso.

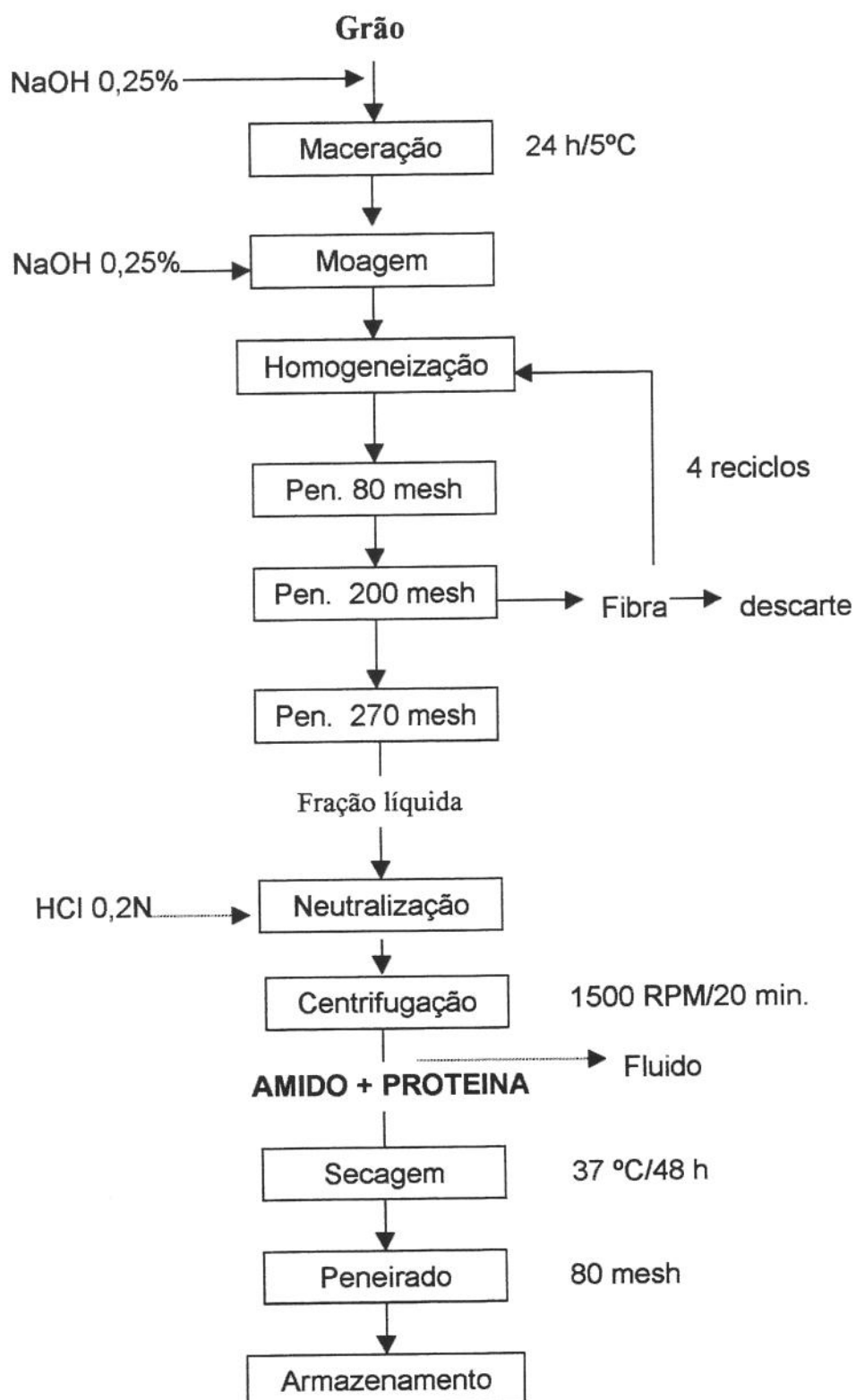


Figura 3.1. Fluxograma de produção da farinha de amaranto.

3.2. Caracterização da farinha de amaranto

3.2.1. Umidade

A umidade foi determinada segundo a técnica de CALZETTA (1999). As amostras foram dessecadas em estufa a vácuo a 100°C durante 24 horas.

3.2.2. Cinzas

As cinzas foram determinadas utilizando-se o método de incineração segundo a técnica 923.03 da AOAC (1997).

3.2.3. Proteína

A proteína foi determinada pelo método micro-Kjeldhal segundo a técnica 926.86 da AOAC (1997). Usou-se o fator de conversão de 6,25 para o cálculo do teor de proteína.

3.2.4. Lipídeos

Os lipídeos foram determinados utilizando-se o método de BLIGH & DYER (1959). Pesaram-se 3,0 – 3,5 g (G) de farinha e adicionou-se como solventes: clorofórmio (10 ml), metanol (20 ml) e água destilada (8 ml), em uma relação de volume de 1:2:0,8. Essa mistura foi submetida a agitação e depois adicionou-se 10 ml clorofórmio e 10 ml de solução de sulfato de sódio 1,5%, mudando-se a proporção de clorofórmio a uma relação de 2,0:2,0:1,8 (clorofórmio:metanol:água destilada), isto causa a separação total do clorofórmio que carrega os lipídeos da amostra. Deixou-se separar as camadas em forma natural, após isso, retirou-se a camada superior e filtrou-se a camada inferior até a solução ficar límpida. Mediu-se 5 ml do filtrado e transferiu-se para um Becker de 50 ml previamente pesado e deixou-se na estufa a 100°C até a evaporação do solvente (de 15 a 20 minutos). Após disso, deixou-se esfriar em um dessecador e pesou-se os lipídeos (P) contidos nos 5 ml. Para o cálculo da % Lipídeos foi utilizada a Equação 3.1.

$$\% \text{Lipídeos} = \frac{P \times 4}{G} \times 100 \quad [3.1]$$

3.2.5. Determinação de amilose

O teor de amilose foi determinado segundo o método colorimétrico do iodo simplificado, que se baseia na transmissão de luz através de um complexo colorido que a amilose forma ao reagir com o iodo, de acordo com a metodologia proposta por JULIANO (1971), adaptada por MARTINEZ & CUEVAS (1989). A metodologia é descrita no Anexo I.

3.2.6. Cor

A análise da cor foi realizado empregando a técnica do Sistema Hunterlab, para o qual foi utilizado um colorímetro portátil Miniscan XE (Hunterlab). As determinações foram realizadas em triplicata, utilizando-se um iluminante D65 (luz do dia). As amostras foram colocadas em um copo de quartzo, próprio para a determinação de cor de pós e líquidos. Os dados obtidos pelo equipamento foram analisados pelo programa Universal Software 3.2, em um PC ao qual estava conectado. O programa calculou a diferença total de cor pela Equação 3.2., através dos valores de a^* , b^* e L^* :

$$\Delta E^* = \left[(a^* - a_o^*)^2 + (b^* - b_o^*)^2 + (L^* - L_o^*)^2 \right]^{1/2} \quad [3.2]$$

Onde:

- ΔE^* : diferença total de cor
- L^* : índice de luminosidade da amostra
- L_o^* : índice de luminosidade do padrão
- a^* e b^* : índice de luminosidade da amostra
- a_o^* e b_o^* : índice de luminosidade da amostra

Antes de cada medição, o equipamento foi calibrado com um fundo branco, usado como padrão, sendo usados os seguintes valores dos parâmetros: $L_o^* = 93,494$; $a_o^* = -0,766$ e $b_o^* = 1,399$.

3.2.7. Análise calorimétrica de varredura (por DSC)

A determinação de transições de fase foi realizada por análise calorimétrica de varredura, utilizando-se um DSC TA 2010 controlado por um módulo TA5000, e provido de um acessório de refrigeração crioscópica (Quench cooling accessory). As alíquotas, da ordem de 10 mg, pesadas ($\pm 0,01$ mg) em balança de precisão (Ohaus, Analytical Plus), foram acondicionadas em cápsulas herméticas de alumínio, e aquecidas $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, entre -150 e 150°C , dependendo da amostra, em ambiente inerte ($45\text{ ml}/\text{min}$ de N_2). O equipamento foi calibrado com amostra de indium ($T_m = 156,6^{\circ}\text{C}$, $\Delta H_m = 28,71\text{ J/g}$) (TA instruments). Através do programa Universal Analysis V1.7F (TA Instruments) foram obtidos a temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura máxima de fusão (T_m) e a entalpia (ΔH_m) de transição, calculada como a área sob o pico endotérmico observado.

3.3. Elaboração dos biofilmes de farinha de amaranto

Foram realizados testes preliminares para se determinar a metodologia para elaboração dos filmes de farinha de amaranto, uma vez que não se encontrou nenhuma literatura a esse respeito. Observou-se que o maior problema consistia em formar uma estrutura homogênea, já que o amido e a proteína, presentes na farinha de amaranto, têm características diferentes de solubilização e de formação do gel.

Na Figura 3.2 mostra-se a metodologia usada para a elaboração de filmes a base de farinha de amaranto. Esse filmes foram elaborados segundo o método “casting” a partir de uma solução contendo 4% (p/p) de farinha de amaranto, a qual foi homogeneizada no agitador (Fisatom, Brasil) durante 25 minutos. Após este período, a solução foi aquecida em banho-maria até atingir a temperatura de processo, antes do qual, regulou-se o pH da solução filmogênica (SF) com adição de NaOH (0,1 N) para conseguir solubilizar a proteína presente na farinha. Todo o processo foi realizado sob agitação suave (a fim de se evitar a formação de bolhas). Quando a solução filmogênica (SF) atingiu a temperatura de processo foi adicionado o glicerol como plastificante, previamente dissolvido em água destilada. A temperatura de processo foi mantida constante durante 15 minutos. Após este período, a solução filmogênica do filme (SFF) foi espalhada em placas retangulares de

acrílico (9,2x17,9 cm). Para se obter uma espessura constante de 85 ± 5 μm em todos os filmes, medida com um micrômetro (Modelo Tesa, Suíça) em 15 posições diferentes, foi adicionado em cada placa $40\pm 0,8$ g de SFF, o qual foi determinado nos testes preliminares.

As soluções filmogênicas foram submetidas a desidratação em estufa com ventilação forçada a temperatura e umidade relativa fixadas segundo o planejamento a ser estudado. Para estudar a umidade relativa (%) na secagem, de acordo com o planejamento fracionado, teve-se que acondicionar a estufa de circulação forçada a três diferentes umidades relativas (40%, 55% e 70%) por meio do uso de soluções salinas saturadas: carbonato de potássio, nitrato de magnésio e cloreto de sódio. Como as umidades relativas destas soluções dependem da temperatura (Anexo II), teve-se que controlar este parâmetro utilizando um Higrômetro marca VEB-FMG. Em alguns casos teve-se que usar uma solução saturada de menor umidade relativa para poder obter o valor desejado, para este fim, utilizou-se cloreto de magnésio.

O tempo de desidratação foi controlado de maneira a permitir retirar os biofilmes sem quebrá-los ou danificá-los, o qual foi obtido para um dado valor de umidade final do biofilme. Este valor foi fixado para todos os ensaios e foi determinado nos testes preliminares.

Os biofilmes obtidos foram condicionados a 25°C e 58% de umidade relativa, em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, por 2 dias, antes de serem caracterizados. Os análises calorimétricos de varredura foram realizados em biofilmes submetidos a três condições: 58% de umidade relativa, em dessecadores contendo solução saturada de NaBr; 75% de umidade relativa, em dessecadores contendo solução saturada de NaCl; e em dessecadores contendo sílica gel por 3 semanas, no mínimo, para a obtenção do material o mais desidratado possível. Todas as caracterizações foram realizadas em condições ambiente de sala climatizada ($T = 25^\circ\text{C}$ e umidade relativa entre 55 e 65%).

Farinha de amaranto

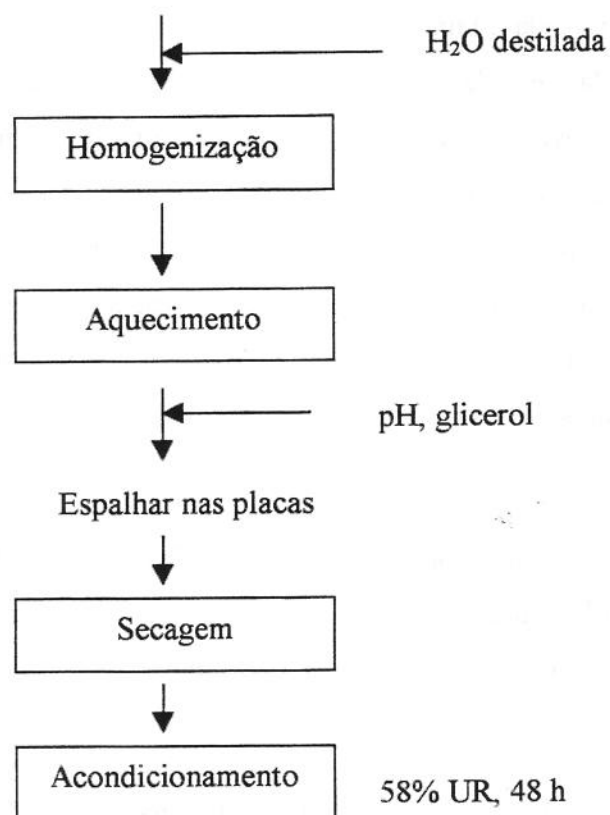


Figura 3.2. Fluxograma para a elaboração de biofilmes a base de farinha de amaranto.

3.4. Caracterização dos biofilmes

3.4.1. Testes Mecânicos

Todos os testes mecânicos foram realizados utilizando um texturômetro TA.XT2 (SMS) e empregando-se o programa “Texture Expert” Versão 1.22 (Stable Micro System, Surrey, UK, Inglaterra). Para cada teste foram realizadas triplicatas, no mínimo. Os parâmetros utilizados para cada teste foram escolhidos de acordo com a norma da ASTM D882-95a (1995).

3.4.1.1. Força e deformação na ruptura em teste de perfuração.

Esses testes foram realizados segundo a metodologia de GONTARD et al. (1994). Os filmes foram cortados em forma de discos com 6 cm de diâmetro, e fixados em uma célula com uma abertura circular na tampa de 3,4 cm de diâmetro. O vidro foi perfurado anteriormente para evitar uma pressão de resistência contrária a força de perfuração. No teste, um sensor cilíndrico de 3 mm de diâmetro é deslocado perpendicularmente à superfície do filme, com velocidade constante (1 mm/s), até a ruptura do filme, como é mostrado na Figura 3.2; onde l_0 é o raio da superfície do filme não tensionado, D é a distância penetrada pela sonda no momento da ruptura e L é o raio da superfície do biofilme no ponto da ruptura (filme tensionado).

Os valores de força (F) na ruptura e o deslocamento de sonda (D) na ruptura são determinados diretamente das curvas de força em função do deslocamento da sonda permitindo o cálculo da deformação na ruptura ($\Delta l/l_0$) através da Equação 3.3.

$$\frac{\Delta l}{l_0} = \frac{(D^2 + l_0^2)^{1/2} - l_0}{l_0} \quad [3.3]$$

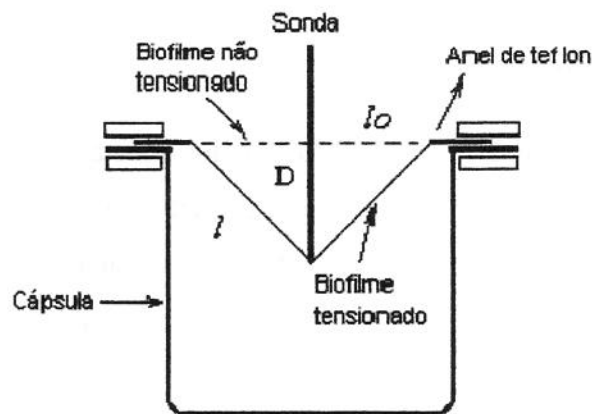


Figura 3.3. Esquema do sistema de determinação da deformação em teste de ruptura.

3.4.1.2. Força e deformação na ruptura em teste de tração

Corpos de provas cortados segundo a Figura 3.4, foram submetidos à tração com velocidade de 1,0 mm/s, partindo-se de uma separação inicial de 80 mm, até a ruptura do filme. A tensão na ruptura e a elongação na ruptura foram obtidos diretamente da curva de tensão em função da elongação, conhecidas as dimensões iniciais dos corpos de prova. O módulo de elasticidade, ou módulo de Young, foi obtido da tangente na região linear da curva.

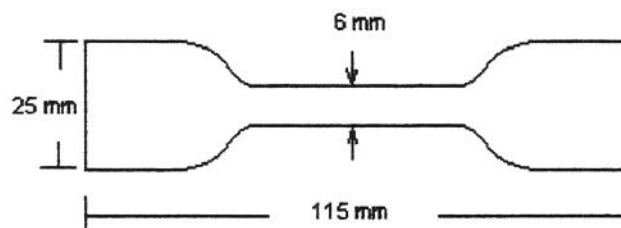


Figura 3.4. Esquema do corpo de prova para teste de tração.

3.4.2. Solubilidade em água.

Os testes de solubilidade foram realizados segundo a metodologia proposta por GONTARD et al. (1992). Três discos de cada amostra de filme, com 2 cm de diâmetro, previamente pesadas, foram imersos em 50 ml de água contendo azida sódica (0,02% p/v), a 25°C, e mantidos por 24 horas, sob agitação esporádica, após o qual, foi determinado o conteúdo de matéria seca não solubilizada. A matéria sólida insolúvel foi determinada utilizando-se o método de filtração segundo a técnica 971.09 da AOAC (1995). A solubilidade foi calculada conforme a Equação 3.4:

$$\%MS = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} * 100 \quad [3.4]$$

Onde:

% MS : porcentagem de material solubilizado.

m_i : massa inicial da amostra

m_f : massa final da amostra

3.4.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada pelo método dessecante, com base na norma E 96-80 (ASTM, 1995) e de acordo com o procedimento descrito por SOUZA (2001). As amostras de filme foram fixadas em células de permeação de vidro, com abertura circular (diâmetro 34 mm), correspondendo à área do filme exposta para a troca, vedada hermeticamente, e contendo sílica gel no seu interior (0% UR), em ambiente climatizado a 25 °C. As células de permeação, foram colocadas dentro de dessecadores contendo água destilada com traços de azida sódica (0,02% p/v) (100% de UR; P= 3,167 kPa a 25 °C). O peso ganho pelas células foi determinado em balança semi-analítica (Sartorius, modelo A200S) em intervalos de 24 horas durante 7 dias. As determinações foram realizadas em triplicata, conforme o esquema da Figura 3.5.

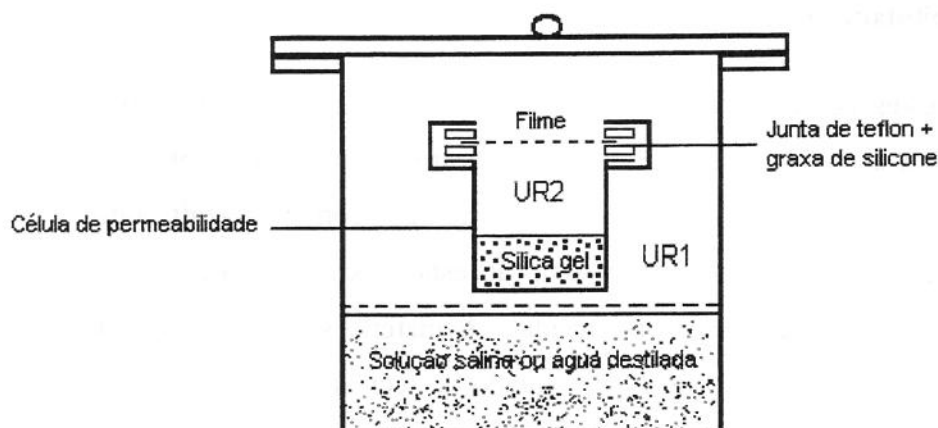


Figura 3.5. Esquema do dispositivo utilizado para a determinação da permeabilidade ao vapor de água.

Foram calculados a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) através da Equação 3.5 e a permeabilidade (PVA) através da Equação 3.6. A relação w/t foi calculada por regressão linear dos pontos experimentais de ganho de peso (g) da célula de medida em função do tempo para a zona de estado estacionário ($r^2 = 0,98$); A é a área exposta do filme ($907,46 \text{ mm}^2$), ε é a espessura do filme e ΔP é a diferença de pressão entre os dois lados do filme (kPa).

$$TPVA = \frac{w}{t \times A} \quad (\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}) \quad [3.5]$$

$$PVA = \frac{TPVA \times \varepsilon}{\Delta P} \quad (\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}) \quad [3.6]$$

3.5. Propriedades ópticas

3.5.1. Cor

A cor dos biofilmes foi determinada através dos padrões CIE Lab: L*, variando de 0 (preto) a 100 (branco); a*, do verde (-) ao vermelho (+); e b*, do azul (-) ao amarelo (+) (GHORPADE et al., 1995; KUNTE et al., 1997; GENNADIOS et al., 1996), determinados com um colorímetro Miniscan XE (Hunterlab) trabalhando com D₆₅ e luz do dia. Os biofilmes foram aplicados na superfície de uma placa branca padrão e os padrões L*, a* e b* foram medidos e transferidos em tempo real, para um microcomputador. A diferença de cor (ΔE^*) foi calculada com a Equação 3.2.

3.5.2. Opacidade

A opacidade foi determinada segundo o método HUNTERLAB (1997), utilizando-se um colorímetro portátil Miniscan XE (Hunterlab). O método consiste na determinação da opacidade do biofilme sobreposto a um fundo negro (Opn) e sobreposto a um fundo branco (Opb). A opacidade será obtida pela razão entre esses dois valores, de acordo com a Equação 3.7. Esse valor é determinado automaticamente no micro-computador, pelo programa Universal Software 3.2. A opacidade assim medida (entre 0 e 100%) apresenta escala arbitrária.

$$Op = \frac{Opn}{Opb} \times 100 \quad [3.7]$$

3.6. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A determinação de transições de fase foi realizada por análise calorimétrica de varredura, utilizando-se um DSC TA 2010, controlado por um módulo TA5000 (TA Instruments, New Castle, DE, EUA), e provido de um acessório de refrigeração crioscópica (*Quench cooling accessory*). As amostras foram pesadas em balança analítica (Ohaus Analytical Plus), da ordem de 10 mg ($\pm 0,01$ mg), colocadas em cápsulas de alumínio TA

hermeticamente fechadas. As amostras foram aquecidas a uma taxa de 5 °C/minuto, entre -150 e 120°C, em ambiente inerte (45 mL/min de N₂). A referência utilizada era uma cápsula vazia. O equipamento foi calibrado com amostra de indium (T_m=156,6°C, ΔH_m=28,71 J/g) (TA Instruments). Após a primeira varredura, as células de medida foram resfriadas crioscopicamente, com N₂ líquido, até a temperatura abaixo da primeira transição vítrea observada na primeira varredura, procedendo-se em seguida à segunda varredura.

Os resultados foram analisados com o *Universal Analyser TA Software*, considerando a temperatura de transição vítrea (T_g) como o ponto médio de inflexão, a qual é causada pela descontinuidade do calor específico da amostra. Tomou-se como temperatura de transição sol-gel (T_m), a temperatura onde ocorreu o pico endotérmico, isto é, temperatura máxima de fusão. Determinou-se também a entalpia (ΔH_m) de transição sol-gel da amostra, calculada como a área sob o pico endotérmico observado. Essa entalpia foi expressa em J/g.

3.7. Planejamento Experimental

3.7.1. Planejamento Experimental Fracionado

Depois que foram realizados os testes preliminares para se definir as variáveis que influem nas propriedades do biofilme de farinha de amaranto e de acordo com a literatura revisada previamente, escolheram-se 5 variáveis para serem estudadas. Para tal, empregou-se um planejamento experimental fracionado 2⁵⁻¹. As variáveis selecionadas para esse planejamento foram: concentração do glicerol (C_g), pH da solução filmogênica (pH), temperatura do processo (T_p), temperatura de secagem (T_s) e umidade relativa na secagem (UR). As variáveis respostas foram: a força e deformação nos testes de perfuração e tensão, alongação e módulo de Young nos testes de tração.

Estatisticamente, um planejamento fracionado é muito importante, uma vez que diminui drasticamente o número de ensaios a serem realizados, de 32 (2⁵) para 19 (2⁵⁻¹) incluindo 3 ensaios no ponto central, tornando viável o estudo de 5 variáveis no processo. Além disso, essa etapa foi considerada como um estudo preliminar, com o objetivo principal de selecionar os fatores estatisticamente mais significativos nas respostas, que

devem ser escolhidos para a realização de um planejamento fatorial completo (SARMENTO, 1999).

Na Tabela 3.1 mostram-se os níveis dos cinco fatores estudados (variáveis independentes) e suas respectivas codificações (-1, 0 e +1), utilizados para realizar as análises estatísticas. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o programa *Statistica 5.0*, obtendo-se os efeitos das variáveis independentes a um nível de confiança de 90% e 95%.

Tabela 3.1. Planejamento experimental fatorial fracionado $2^{(5-1)}$.

Ensaio	Cg (X ₁)*	pH (X ₂)	Tp (X ₃)	Ts (X ₄)	UR (X ₅)
1	40 (+1)	11 (+1)	95 (+1)	50 (+1)	70 (+1)
2	40 (+1)	11 (+1)	95 (+1)	30 (-1)	40 (-1)
3	40 (+1)	11 (+1)	85 (-1)	50 (+1)	40 (-1)
4	40 (+1)	11 (+1)	85 (-1)	30 (-1)	70 (+1)
5	40 (+1)	10 (-1)	95 (+1)	50 (+1)	40 (-1)
6	40 (+1)	10 (-1)	95 (+1)	30 (-1)	70 (+1)
7	40 (+1)	10 (-1)	85 (-1)	50 (+1)	70 (+1)
8	40 (+1)	10 (-1)	85 (-1)	30 (-1)	40 (-1)
9	30 (-1)	11 (+1)	95 (+1)	50 (+1)	40 (-1)
10	30 (-1)	11 (+1)	95 (+1)	30 (-1)	70 (+1)
11	30 (-1)	11 (+1)	85 (-1)	50 (+1)	70 (+1)
12	30 (-1)	11 (+1)	85 (-1)	30 (-1)	40 (-1)
13	30 (-1)	10 (-1)	95 (+1)	50 (+1)	70 (+1)
14	30 (-1)	10 (-1)	95 (+1)	30 (-1)	40 (-1)
15	30 (-1)	10 (-1)	85 (-1)	50 (+1)	40 (-1)
16	30 (-1)	10 (-1)	85 (-1)	30 (-1)	70 (+1)
17	35 (0)	10,5 (0)	90 (0)	40 (0)	55 (0)
18	35 (0)	10,5 (0)	90 (0)	40 (0)	55 (0)
19	35 (0)	10,5 (0)	90 (0)	40 (0)	55 (0)

*Os valores entre parêntesis são os códigos dos níveis das variáveis independentes.

Onde :

Cg : concentração do glicerol na solução formadora do filme (g glicerol/100g farinha)

Tp : temperatura do processo de preparo da solução filmogênica (°C)

Ts : temperatura de secagem (°C)

UR: umidade relativa na secagem (%)

3.7.2. Planejamento Fatorial Completo

Depois da determinação das variáveis, que influenciaram significativamente nas propriedades mecânicas dos biofilmes de farinha de amaranto, de acordo com o planejamento experimental fracionado, foi realizado um planejamento experimental completo utilizando a metodologia de superfície de resposta (RSM). Usou-se um planejamento fatorial 2^n completo, com 3 repetições no ponto central e $2n$ pontos axiais, onde "n" é o número de variáveis independentes. O valor desses pontos axiais pode ser calculado pela Equação 3.8 (KHURI & CORNELL, 1987). F refere-se ao número de tratamentos na porção fatorial que, deve ser fixado através da fórmula $F = 2^n$.

$$\alpha = (F)^{1/4} = (2^n)^{1/4} \quad [3.8]$$

A adição dos pontos axiais tem como objetivo possibilitar o ajuste de um modelo quadrático multivariável (ver Equação 3.9) aos pontos experimentais. As variáveis independentes são os fatores escolhidos através do planejamento experimental fracionado e a variável dependente é a resposta estudada.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 \quad [3.9]$$

A matriz do planejamento fatorial completo 2^3 está apresentado na Tabela 3.2. As variáveis respostas foram: a força (N) e a deformação (%), nos testes de ruptura, a tensão (MPa), a elongação (%) e o módulo de Young (MPa), nos testes de tração, e a solubilidade (%).

Utilizou-se o programa *Statistica* 5.0 para análise do planejamento completo, ajuste dos pontos experimentais a modelos matemáticos, tratamentos estatísticos e plotagem das superfícies de resposta. O ajuste dos modelos testados e sua significância foram analisados através dos coeficientes de correlação e do teste F.

Tabela 3.2. Matriz do planejamento experimental completo 2^3 estrela

Ensaio	Cg (X1)*	pH (X2)	Tp (X3)
1	25 (-1)	10,5 (-1)	80 (-1)
2	25(-1)	10,5 (-1)	90 (+1)
3	25(-1)	11,5 (+1)	80 (-1)
4	25(-1)	11,5 (+1)	90 (+1)
5	35 (+1)	10,5 (-1)	80 (-1)
6	35 (+1)	10,5 (-1)	90 (+1)
7	35 (+1)	11,5 (+1)	80 (-1)
8	35 (+1)	11,5 (+1)	90 (+1)
9	21,59(-1,68)	11 (0)	85 (0)
10	38,41 (+1,68)	11 (0)	85 (0)
11	30 (0)	10,16 (-1,68)	85 (0)
12	30 (0)	11,84 (+1,68)	85 (0)
13	30 (0)	11 (0)	76,6 (-1,68)
14	30 (0)	11 (0)	93,4 (+1,68)
15 (C)	30 (0)	11 (0)	85 (0)
16 (C)	30 (0)	11 (0)	85 (0)
17 (C)	30 (0)	11 (0)	85 (0)

*Os valores entre parêntesis são os códigos dos níveis das variáveis independentes.

Onde:

Cg : concentração do glicerol na solução formadora do filme (g glicerol/100g farinha)

pH : pH da solução formadora do filme

Tp : temperatura do processo de preparo da solução formadora do filme (°C)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ensaio Preliminares

Para se obter a farinha de amaranto, a qual está composta basicamente de amido e proteína, livre de fibras, partiu-se da metodologia de moagem úmida utilizada por CALZETTA (1999), na qual foram introduzidas diversas modificações.

Devido à escassa literatura sobre biofilmes a base de amido e proteína, foram realizados muitos testes até poder definir a metodologia adequada para a elaboração de biofilmes a partir deste material. Encontraram-se diversos problemas a serem controlados:

- Solubilidade da proteína.
- Tipo de plastificante.
- Espessura do biofilme em função da gramatura.
- Determinação da umidade final ótima do biofilme, para facilitar a retirada da placa.

4.1.1. Determinação da metodologia de extração da farinha de amaranto

Na metodologia de moagem úmida utilizada por CALZETTA (1999) para a extração do amido a partir do grão de amaranto, utilizou-se uma solução de NaOH 0,25% para macerar o grão. Como primeiro passo para se determinar a metodologia de extração da farinha, avaliou-se o efeito desta solução no teor de proteína do produto final. Os resultados são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Efeito da solução de NaOH 0,25% no teor de proteínas e no rendimento na produção de farinha de amaranto.

Tipo de extração	Proteína (g/100 matéria seca)			Rendimento (%) (g de farinha/100 g de grão)
	^a Fibra 1	^b Fibra 2	Farinha	
Maceração com NaOH	18,9	16,8	14,2	67,4
Maceração com H ₂ O	20,3	16,5	10,5	61,3

^a - Fibra que ficou na peneira de 80 mesh.

^b - Fibra que ficou na peneira de 200 mesh.

Na Tabela 4.1, observa-se que o teor de proteínas da farinha (14,2%) é maior no processo de extração usando NaOH (0,25%) para a maceração do grão, o valor obtido é próximo ao relatado por MARCÍLIO (2001) (13,91%), que obteve farinha de amaranto com um teor de fibras de 3,14%, por moagem seca. No presente caso a farinha não contém fibras. Também observa-se que as frações Fibra 1 e Fibra 2 foram as que apresentaram alta concentração de proteína, em ambos os casos, como ocorre nos cereais. O rendimento foi maior na extração da farinha utilizando NaOH na maceração, o qual estaria relacionado ao teor de proteínas, visto que o mesmo foi superior quando comparado à extração utilizando água destilada na maceração. O rendimento obtido por MARCÍLIO (2001), na obtenção de uma farinha refinada (13,91% de proteína) a partir do grão de *Amaranthus cruentus*, por moagem seca, com um teor de fibras médio de 3,14%, foi de 38%. CALZETTA (1999) obteve um rendimento de 40%, na extração do amido por moagem úmida. Comparando-se este valor com o obtido neste estudo pode-se observar que a diferença encontra-se, basicamente, na quantidade adicional de proteína e lipídeos extraídos com o amido. Observou-se que na maceração do grão com H₂O destilada, o teor de proteína da Fibra 1 foi maior que na maceração com NaOH, isto quer dizer que o uso de NaOH facilita a extração do amido e da proteína presente no grão de amaranto. O uso de NaOH na maceração e durante a moagem permitiu realizar a extração em meio alcalino (pH 11), no qual a maior quantidade das proteínas: albumina-1, globulina, albumina-2 e glutelina, são solúveis, o que pode ser verificado no estudo realizado por MARTINEZ & AÑÓN (1996). Esses autores isolaram as proteínas de amaranto variando o pH da extração, concluindo que a pH 8, o isolado protéico foi composto principalmente de albumina-1 e globulina; entretanto a pH 9, 10 e 11, a albumina-2 e a glutelina, também, estiveram presentes no isolado protéico.

Baseado nestes resultados, a farinha de amaranto foi produzida utilizando-se uma solução NaOH 0,25% para a maceração do grão sendo que o líquido obtido na moagem foi neutralizado antes de ser centrifugado para se evitar a perda das proteínas solubilizadas. Esta foi uma das modificações realizadas ao procedimento descrito por CALZETTA (1999) na extração do amido. No presente caso, não foi necessário separar o amido da proteína, pois realizou-se a secagem do material sólido obtido após a centrifugação.

Uma vez determinada a metodologia de extração da farinha de amaranto, avaliou-se a perda de proteína no processo, para o qual realizou-se um balanço de massa. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Balanço de massa para obter a perda de proteína na extração da farinha.

Material	Matéria total (g)	Umidade (%)	Proteína (g/100 g m.s)	% proteína/proteína inicial
Grão de amaranto	100,0	9,8	15,8	100,0
Fibra 1	125,3	93,9	18,9	10,2
Fibra 2	59,3	93,6	16,8	4,5
Farinha	67,5	7,4	14,2	62,4

a- Fibra que ficou na peneira de 80 mesh

b-Fibra que ficou na peneira de 200 mesh

Na Tabela 4.2 pode-se observar que o teor de proteína no grão de amaranto (*Amaranthus caudatus*) obtido neste estudo é próximo ao valor apresentado por BRESSANI et al. (1987) e por CHAVEZ et al., (2000).

A perda de proteína no processo foi de 23%, isto é, a metodologia utilizada permitiu a extração de 77% de proteína do grão de amaranto, distribuída entre os três materiais obtidos na extração (farinha, fibra 1 e fibra 2). A maior porcentagem de proteínas (62,35%) extraídas do grão foi encontrada na farinha, e o restante do conteúdo de proteína (14,65%) encontra-se distribuída nas fibras: 1 e 2.

4.1.2. Determinação da metodologia de obtenção dos biofilmes de farinha de amaranto

A metodologia para a obtenção de biofilmes a base de farinha de amaranto foi obtida a partir das metodologias de obtenção de biofilmes de amido e de proteína encontrados na literatura, para o qual realizaram-se vários testes buscando obter um filme de textura homogênea. Os principais fatores controlados foram:

4.1.2.1. Solubilidade

O principal problema na elaboração de biofilmes de farinha de amaranto, foi a solubilidade da proteína. Em pH neutro, a solução filmogênica apresentou proteína não dissolvida que precipitaram no fundo do becker. Após a secagem dessa solução filmogênica, observou-se pontos de material não dissolvido na superfície dos biofilmes. Um resultado semelhante foi obtido em pH ácido. Por isso, decidiu-se testar pH básico e observou-se que a partir de pH 9,0 e temperatura maiores de 50 °C a proteína se dissolvia e formava uma solução com o amido, já que a temperaturas próximas à temperatura de gelatinização (~70°C), o amido apresenta maior solubilidade. Essas observações estão de acordo com a literatura. MARTÍNEZ & AÑON (1996), observaram que as proteínas do grão de amaranto são solúveis em meio alcalino. Essas autoras obtiveram maior quantidade de proteínas no isolado protéico obtido em pH 9, 10 e 11. Após a extração, essas proteínas foram precipitadas em meio ácido (pH de 4 e 5) para sua posterior caracterização.

4.1.2.2. Tipo de plastificante

Elaboraram-se biofilmes de farinha de amaranto utilizando-se glicerol e sorbitol como plastificante. Nos biofilmes elaborados com sorbitol, observou-se a formação de aglomerados em diferentes partes da superfície do filme, os quais originaram-se durante a secagem. Os biofilmes elaborados com glicerol apresentaram uma textura homogênea e contínua, pelo qual decidiu-se utilizar este composto como plastificante.

4.1.2.3. Espessura do biofilme em função da gramatura

Testaram-se duas concentrações de farinha na solução filmogênica: 4 e 7%. Observa-se na Figura 4.1 que a espessura média dos biofilmes, obtidos a partir de uma solução filmogênica contendo 4 e 7% de farinha de amaranto aumentou linearmente com a massa de solução adicionada, e que para um mesmo valor de gramatura, a espessura dos biofilmes é maior para aqueles elaborados com a solução contendo 7% de farinha, devido ao seu maior conteúdo de matéria seca. SOBRAL (2000) obteve resultados semelhantes ao estudar a espessura de biofilmes de origem animal em função da gramatura. Segundo esse autor, a espessura dos biofilmes é função da gramatura dos biofilmes e da densidade do

material ($x=m/A.p$). Na Figura 4.2 observa-se que as duas retas se superpõem quando se grafica espessura em função da gramatura da matéria seca, isto indica que a concentração da farinha de amaranto não teria efeito sobre os filmes. Considerando-se que a matéria seca depositada no suporte é diretamente proporcional à massa de SF aplicada, a linearidade observada nas Figuras 4.1 e 4.2, foi possível porque a densidade dos biofilmes manteve-se constante, no domínio deste estudo (0,058 a 0,254 mm).

A solução contendo 7% de farinha de amaranto era muito viscosa e consequentemente era difícil de espalhar a solução filmogênica em toda a placa e além disso a solução apresentou muitas bolhas de ar. Por isso, optou-se por trabalhar com solução filmogênica a 4% de farinha. Assim, optou-se por fixar a gramatura em 0,25 g de solução/cm², que corresponde a uma espessura de $0,085 \pm 0,005$ mm, para a solução a 4% de farinha.

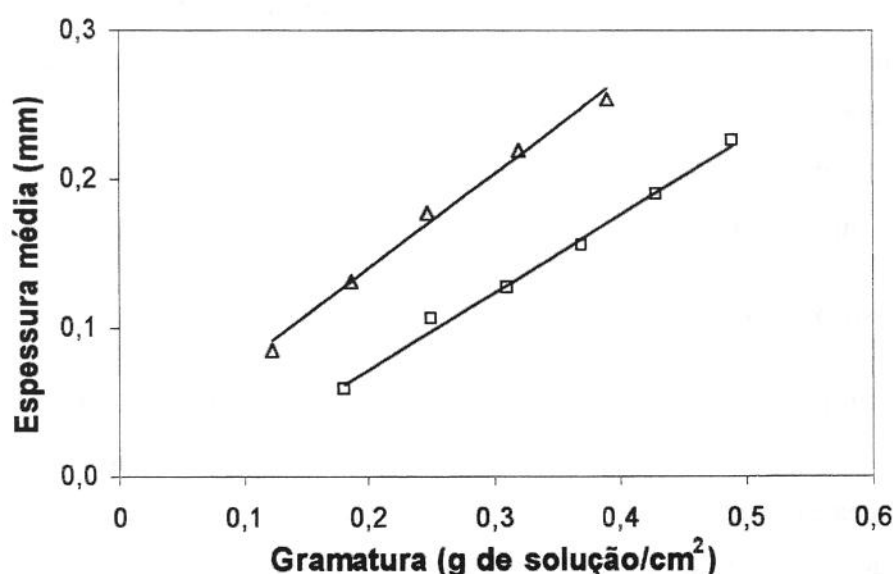


Figura 4.1. Espessura média dos biofilmes com 4% (□) e 7% (Δ) de farinha de amaranto (*Amaranthus caudatus*) em função da gramatura.

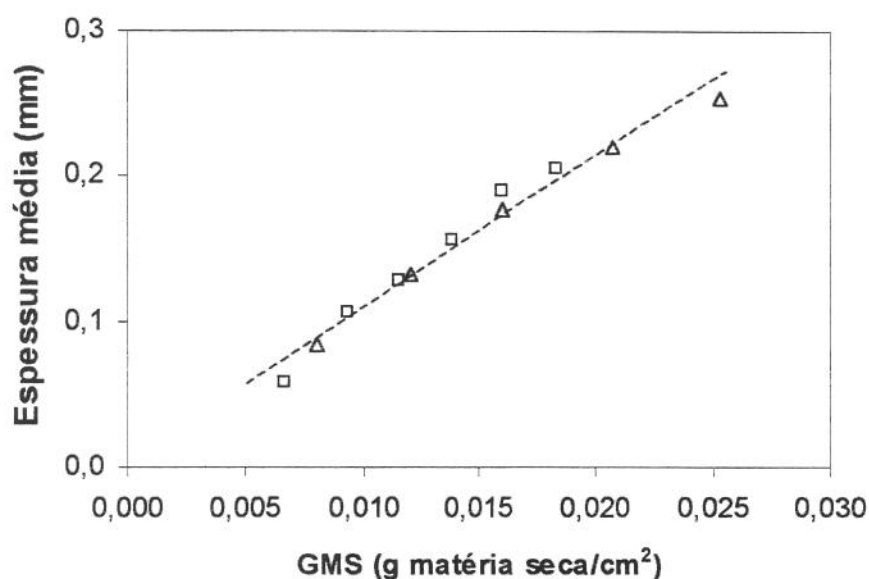


Figura 4.2. Espessura média dos biofilmes com 4% (□) e 7% (Δ) farinha de amaranto (*Amaranthus caudatus*) em função da gramatura da matéria seca.

4.1.2.4. Determinação da umidade final ótima do biofilme

Foi necessário fixar um parâmetro para controlar a secagem dos biofilmes, pois para cada condição estudada de temperatura e umidade relativa na secagem, os tempos de secagem foram diferentes, o qual será demonstrado no item 4.3. Observou-se que existia uma umidade ótima final tal que permitia a remoção do filme da placa, de $22\% \pm 1,11$ (28,6 g de água/100 g m.s). Valores maiores de umidade, os biofilmes ficavam colados na placa e para valores menores de umidade, os biofilmes se apresentavam quebradiços.

4.2. Caracterização da farinha de amaranto

Na Tabela 4.3 estão apresentados os dados da composição centesimal e o teor de amilose da farinha de amaranto.

Tabela 4.3. Composição centesimal da farinha de amaranto (*Amaranthus caudatus*)

Composição centesimal	Farinha de amaranto (g/100 g de m.seca) Média $\pm$ DP ^a
Umidade	7,97 $\pm$ 0,18
Cinzas	2,14 $\pm$ 0,03
Lípideos	8,93 $\pm$ 0,03
Proteínas	14,21 $\pm$ 0,77
Amilose	7,58 $\pm$ 0,40

a- DP= desvio padrão. Resultados representam média de 3 determinações

O teor de cinza da farinha (2,14%) está no limite inferior da faixa citada por alguns autores (2,1% - 4,2%) para o grão de amaranto (BRESSANI et al., 1987; TEUTONICO & KNORR, 1985; TEJADA, 1994), mas é maior, quando comparado ao valor encontrado por MARCÍLIO (2001) para a farinha refinada de amaranto obtida por moagem seca (1,26%).

A farinha de amaranto apresentou níveis de lipídeos muito semelhantes aos relatados para o grão de amaranto (*Amaranthus caudatus*), mas foi superior aos obtidos por MARCÍLIO (2001), que determinou teores de lipídeos de 7,70% e 7,18% para a farinha integral e a farinha refinada, respectivamente. Segundo esse autor, grande parte dos lipídeos encontram-se uniformemente distribuídos no grão, permitindo que as perdas durante o processo de extração da farinha sejam mínimas.

Em relação ao teor de proteína, foi verificado que o processo de extração utilizado permite extrair o maior conteúdo de proteínas do grão de amaranto. O teor de proteína

obtido foi semelhante ao relatado por MARCÍLIO (2001) para a farinha refinada (13,9%) de *Amaranthus cruentus*, a qual apresentou um teor de fibra de 3,14%.

A farinha de amaranto apresentou um teor de amilose semelhante ao grão de amaranto (*Amaranthus caudatus*), encontrando-se dentro da faixa (5,5-7,5%) citada por TOMITA et al. (1981). O teor de amilose obtido encontra-se um pouco acima ao valor relatado por CALZETTA (1999) para o amido da espécie *Amaranthus cruentus* (6,6%) e ao determinado por PAMPA (2003) para o *Amaranthus cruentus* cultivado no Brasil (5,8%), no entanto foi menor do que os valores relatados por PEREZ et al. (1993) para a espécie *Amaranthus hypochondriacus* (10,4%) e *Amaranthus cruentus* (10,1%).

4.2.1. Cor

A análise de cor foi realizada em amostras de amido de amaranto e farinha de amaranto com teor de umidade de 10% e 7,38% (g de água/100 g m.total), em média, com o objetivo de comparar e determinar o efeito das proteínas e dos lipídeos, na cor da farinha. Os resultados dos parâmetros de cor (a^* , b^* , L^* e ΔE^*) estão apresentados na Tabela 4.4, onde pode-se observar que o amido apresentou maior valor de luminosidade do que a farinha de amaranto.

O valor de ΔE^* de amido, muito próximo de zero, indica a brancura desse produto. A farinha, por sua vez, apresentou uma coloração menos branca ($\Delta E^* \gg 0$), tendendo para o amarelo ($b^* = 6,25$), como pode-se observar na Figura 4.3. Essa coloração amarelada da farinha de amaranto deve ser definida pela presença de proteínas e lipídeos presentes na mesma.

O valor de ΔE^* , para o amido, obtido neste trabalho foi semelhante ao relatado por CALZETTA (1999) e PAREDES-LOPEZ et al. (1989), mas foi menor ao relatado por PEREZ et al. (1993) (3,37-6,34). O valor de L^* foi maior do que o relatado por CALZETTA (1999) para o amido de amaranto da espécie *Amaranthus cruentus* (92,71) e encontra-se dentro da faixa (96,30-99,50) relatada por PEREZ et al. (1993).

Tabela 4.4. Valores dos parâmetros de cor para a farinha e o amido de amaranto (*Amaranthus caudatus*).

	Farinha de amaranto	Amido de amaranto
a*	0,05	0,13
b*	6,25	1,16
L*	89,92	96,78
ΔE^*	9,16	2,09

Padrão de calibração: a*=-0,8, b*=1,44, L* = 94,83



Figura 4.3. Aspecto visual da farinha e do amido obtidos a partir do grão de amaranto por moagem úmida (*Amaranthus caudatus*).

4.2.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Na Figura 4.4 apresentam-se os termogramas da farinha e do amido de amaranto, obtidos por análise calorimétrica de varredura sem prévio condicionamento. Observa-se no termograma do amido de amaranto a ocorrência da transição vítrea ($T_g=136,16^\circ\text{C}$), na forma de uma suave inflexão da curva, seguida da fusão dos cristais, na forma de um pico endotérmico bem visível ($T_m=180,20^\circ\text{C}$). Este resultado é concordante com o obtido por PAREDEZ-LOPEZ & HERNANDEZ-LOPEZ (1991) no estudo do efeito da água na temperatura de gelatinização do amido de *Amaranthus hypochondriacus*. Segundo esses autores, a existência de um pico endotérmico no termograma do amido é devido ao seu baixo conteúdo de umidade (6%). Outros autores também relataram o mesmo comportamento do termograma do amido em baixos conteúdos de água. CALZETTA (1999) também observou que as relações menores de 0,81: 1 (água: amido) registrou-se só um pico endotérmico na análise calorimétrica do amido de amaranto (*Amaranthus cruentus*), a diferença de relações maiores de água:amido, que registraram dois picos endotérmicos. DONOVAN (1979) e BILIADERIS et al. (1980) relataram que em baixos conteúdos de água, no sistema amido e água, ocorre apenas uma fusão incompleta dos cristalitos mais estáveis, o qual manifesta-se na aparição de um único pico endotérmico.

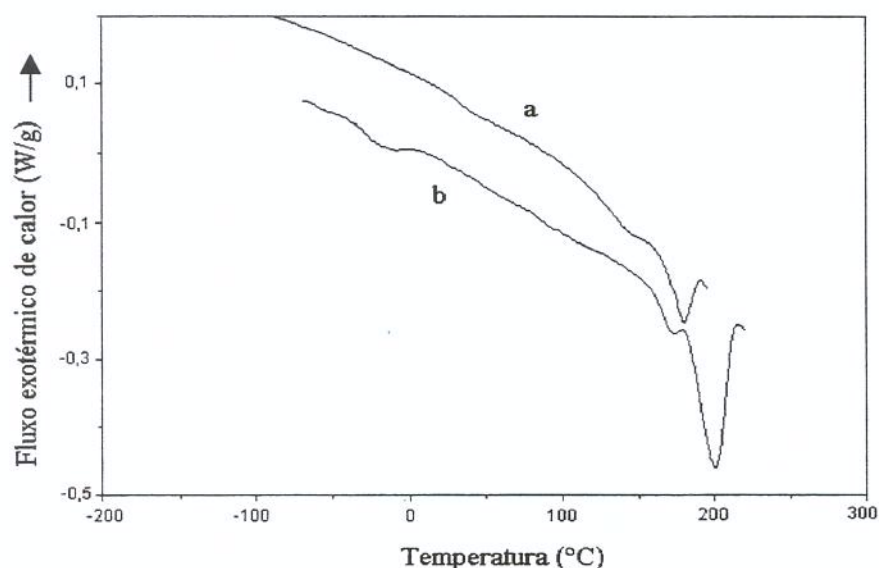


Figura 4.4. Termogramas do amido (a) e da farinha (b) de amaranto (*Amaranthus caudatus*).

No termograma da farinha de amaranto, também pode-se observar a ocorrência da transição vítrea ($T_g = 165,9^\circ\text{C}$) seguida de uma endoterma ($T_m = 200,8^\circ\text{C}$). Os valores de T_g e T_m da farinha são maiores que os do amido, essa diferença poderia ser explicado pelo efeito plasticizante da água, visto que a farinha de amaranto apresentou umidade inferior (7,38%) à umidade do amido (10%).

É relatado na literatura que os complexos de amilose-lipídeo produzem a aparição de um pico endotérmico, cuja temperatura de fusão ou temperatura de pico (T_m) é maior do que a temperatura de pico dos cristalitos de amido. BILIADERIS (1992) não relatou a presença desses picos no amido de milho tipo waxi (50% de água), devido ao baixo conteúdo de amilose; resultados semelhantes foi obtido por PAREDEZ-LÓPEZ & HENÁNDEZ-LÓPEZ (1991) para o amido de *Amaranthus hypochondriacus* com diferentes conteúdos de água (2% de amilose). Com o qual pode-se supor que o segundo pico está relacionado às frações de proteínas albumina-2 e globulina presentes na farinha de amaranto. Seria interessante o estudo das propriedades térmicas por DSC do amido e da farinha de amaranto considerando diferentes conteúdos de água para efeitos de comparação com os trabalhos encontrados na literatura e para avaliar melhor as interações dos polímeros e este solvente.

O valor do ΔH (6,6 J/g) obtido para o amido de amaranto encontra-se dentro da faixa relatada por WU & CORKE (1999) para diferentes espécies de amaranto (6,7 - 14,5 J/g), e é menor que o valor relatado por BELLO-PEREZ & PAREDES-LÓPEZ (1995) que foi de 13,6 J/g. O valor do ΔH (20,9 J/g) correspondente ao pico endotérmico, do termograma da farinha é 3,1 vezes do valor obtido para o amido, isto é, o calor necessário para a fusão completa de 1 g de farinha seca é equivalente ao calor necessário para a fusão completa de 3,1 g de amido seco. Essa diferença poderia estar relacionado à presença das proteínas na farinha de amaranto, visto que o valor da entalpia de desnaturação das frações de albumina-2 e globulina relatados por MARTÍNEZ & AÑÓN (1996), MARTÍNEZ et al. (1997), CASTELLANI et al. (1998) e CASTELLANI et al. (1999) foram de 20 J/g e 18 J/g.

No presente trabalho, não foi possível a realização de uma segunda varredura, porquê o aquecimento das amostras após Tg causava carbonização do material, como pode ser observado na Figura 4.5.



Figura 4.5. Análise calorimétrica de varredura por DSC da farinha de amaranto (*Amaranthus caudatus*)

4.3. Planejamento fracionado

Após a definição da metodologia de elaboração dos biofilmes de farinha de amaranto, e considerando-se que a umidade final do biofilme era um parâmetro importante a ser controlado, foram realizados os ensaios segundo o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$ mostrados na Tabela 3.1.

Observou-se que para cada ensaio, os tempos de secagem foram diferentes, porém considerou-se importante apresentar esses resultados e discuti-los, visto que poucos autores estudaram a etapa de secagem na elaboração do biofilme.

4.3.1. Tempos de secagem dos biofilmes segundo o planejamento fracionado

Na Figura 4.6 apresenta-se os tempos de secagem dos biofilmes de farinha de amaranto que foram elaborados segundo o planejamento fracionado. Como foi fixada a umidade final do biofilme, a fim de facilitar a remoção da placa, foi necessário realizar o controle dessa umidade em todos ensaios, os resultados mostra-se na Figura 4.6, onde

pode-se observar que o limite superior da umidade final é 23,1%, a média é 22% e o limite inferior é 20,9%; estes valores foram obtidos dos testes preliminares.

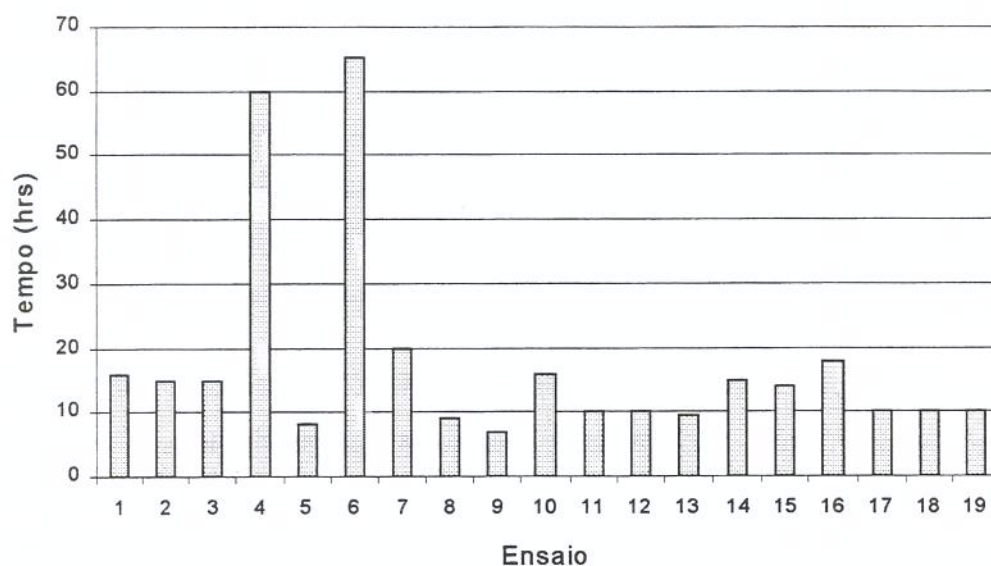


Figura 4.6. Tempos de secagem dos biofilmes de farinha de amaranto elaborados segundo o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$.

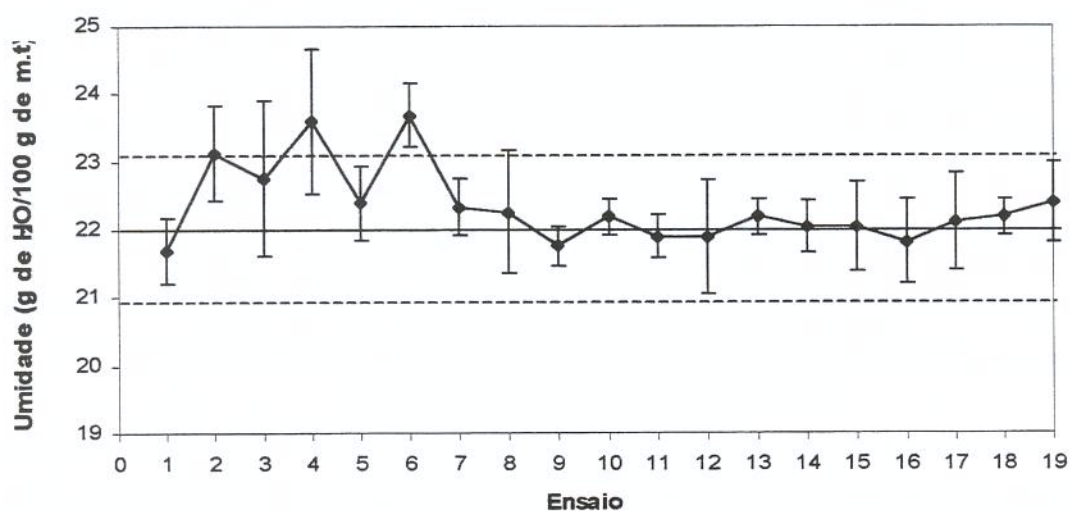


Figura 4.7. Controle da umidade final dos biofilmes de farinha de amaranto depois da secagem no planejamento fracionado.

O menor tempo de secagem e consequentemente a maior taxa de transferência de vapor de água foi obtido no ensaio 9 (Figura 4.6). Este comportamento pode ser explicado pelas condições as quais foram submetidas esses biofilmes (50°C e 40% UR) e a menor concentração de glicerol 30%.

Observa-se, na Figura 4.7, que os valores de umidade final média dos biofilmes correspondentes aos primeiros ensaios, cuja formulação apresentou uma concentração de glicerol de 40%, foram maiores que os correspondentes aos biofilmes que apresentaram uma concentração de glicerol de 30%. Os biofilmes obtidos a 30% foram menos higroscópicos e mais fáceis de se controlar durante o processo de secagem.

Também pode-se observar que nos ensaios 4 e 6, a umidade final média está fora do limite superior fixado. É importante mencionar que precisou-se de maior tempo de secagem para obter esses biofilmes (Figura 4.6), pois a secagem foi realizada em menor temperatura (30°C), umidade relativa alta (70%) e alta concentração de glicerol (40%). Esses biofilmes foram muito higroscópicos e difíceis de manusear. RINDLAV-WESTLING et al. (1998) elaboraram biofilmes de amilose e amilopectina utilizando 40% de glicerol como plastificante, e secos a umidades relativas de 20%, 50%, 70% e 90% a 23°C durante 3 dias. No presente trabalho precisou-se de 60-65 horas para secar os biofilmes de farinha de amaranto a 30°C e 70% de umidade relativa, nas seguintes formulações: 40% de glicerol, pH 11, temperatura de processo de 85°C (correspondente ao ensaio 4) e 40% de glicerol, pH 10 e temperatura de processo de 95°C (correspondente ao ensaio 6). Nas mesmas condições de secagem e concentração de glicerol de 30%, na formulação dos ensaios 10 e 16, precisou-se de menor tempo de secagem (15-18 horas) para obter biofilmes com umidade final desejada; portanto, pode-se dizer que o glicerol apresentou um efeito importante na secagem dos biofilmes de farinha de amaranto.

Um dos poucos estudos que destacaram o efeito do glicerol na elaboração de biofilmes de amilopectina foi o realizado por MYLLÄRINEN et al. (2002a). Esse autor observou que os biofilmes elaborados a base de amilopectina foram menos manuseáveis à medida que a concentração de glicerol aumentava, que não foi observado nos biofilmes de amilose, os quais apresentavam-se mais estáveis na presença do glicerol. Isto explica a

sensibilidade dos biofilmes de farinha de amaranto, ao glicerol porquanto esta matéria prima apresenta um maior conteúdo de amilopectina e só 7,58% de amilose (b.s).

4.3.2. Resultados do Planejamento Experimental Fracionado e Análises Estatísticas

Os resultados dos ensaios do planejamento experimental fracionado estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Resultados do planejamento experimental fracionado.

Ensaio	Cg (X ₁) [*]	pH (X ₂)	Tp (X ₃)	Ts (X ₄)	UR (X ₅)	RUPTURA		TRAÇÃO		
						F (N)	D (%)	T (MPa)	E (%)	MY (MPa)
1	40 (+1)	11 (+1)	95 (+1)	50 (+1)	70 (+1)	0,47	27,3	0,26	110,1	0,76
2	40 (+1)	11 (+1)	95 (+1)	30 (-1)	40 (-1)	0,45	36,4	0,27	87,6	0,58
3	40 (+1)	11 (+1)	85 (-1)	50 (+1)	40 (-1)	0,50	32,0	0,50	156,6	0,52
4	40 (+1)	11 (+1)	85 (-1)	30 (-1)	70 (+1)	0,65	33,8	0,38	127,5	0,78
5	40 (+1)	10 (-1)	95 (+1)	50 (+1)	40 (-1)	0,39	28,5	0,29	130,3	0,70
6	40 (+1)	10 (-1)	95 (+1)	30 (-1)	70 (+1)	0,55	33,0	0,34	126,7	0,72
7	40 (+1)	10 (-1)	85 (-1)	50 (+1)	70 (+1)	0,73	31,1	0,47	144,4	0,91
8	40 (+1)	10 (-1)	85 (-1)	30 (-1)	40 (-1)	0,50	36,0	0,31	108,7	0,63
9	30 (-1)	11 (+1)	95 (+1)	50 (+1)	40 (-1)	1,22	27,3	0,61	122,5	2,46
10	30 (-1)	11 (+1)	95 (+1)	30 (-1)	70 (+1)	1,01	27,6	0,62	158,4	2,66
11	30 (-1)	11 (+1)	85 (-1)	50 (+1)	70 (+1)	1,53	22,2	1,00	113,3	5,46
12	30 (-1)	11 (+1)	85 (-1)	30 (-1)	40 (-1)	1,49	17,7	1,24	104,6	11,33
13	30 (-1)	10 (-1)	95 (+1)	50 (+1)	70 (+1)	0,81	27,6	0,37	128,0	1,07
14	30 (-1)	10 (-1)	95 (+1)	30 (-1)	40 (-1)	1,18	29,3	0,67	113,7	2,68
15	30 (-1)	10 (-1)	85 (-1)	50 (+1)	40 (-1)	1,60	19,5	1,05	84,2	13,24
16	30 (-1)	10 (-1)	85 (-1)	30 (-1)	70 (+1)	1,28	22,4	0,55	121,5	2,10
17	35 (0)	10,5 (0)	90 (0)	40 (0)	55 (0)	0,85	30,1	0,63	117,4	1,65
18	35 (0)	10,5 (0)	90 (0)	40 (0)	55 (0)	0,89	29,7	0,59	114,9	1,45
19	35 (0)	10,5 (0)	90 (0)	40 (0)	55 (0)	0,87	30,0	0,60	111,4	1,48

*Os valores entre parêntesis são os códigos dos níveis das variáveis independentes.

Onde:

F : força na ruptura (N)

D : deformação na perfuração (%)

T : tensão na ruptura (MPa)

E : alongação (%)

Estes resultados foram analisados estatisticamente, utilizando o software Statistica 5.0, a fim de obter o efeito das variáveis independentes (Cg, pH, Tp, Ts e UR) nas propriedades mecânicas dos biofilmes de farinha de amaranço, o qual determinará as variáveis que serão consideradas no planejamento completo.

4.3.2.1. Força de ruptura no teste de perfuração

Na Tabela 4.6 pode-se observar que a 95% de confiança ($p < 0,05$), a concentração de glicerol (Cg) e a temperatura de processo (Tp) influíram significativamente na força de ruptura; entretanto, a 90% de confiança ($p < 0,10$), o pH e a umidade relativa na secagem (UR) também influíram significativamente na força de ruptura, mas sua influência foi muito pequena.

Tabela 4.6. Efeito dos fatores sobre a força de ruptura calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$.

Fator	Efeito (N)	Erro padrão	p
Média	0,89*	0,004	0,00003
Cg	-0,74*	0,010	0,00018
pH	0,03**	0,010	0,07217
Tp	-0,27*	0,010	0,00129
Ts	0,02	0,010	0,20594
UR	-0,04**	0,010	0,06368

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Observa-se que o efeito do glicerol (Cg) é negativo, visto que a uma maior concentração de glicerol no filme origina uma menor força na ruptura. Este comportamento foi o esperado, porquanto o glicerol atuando como plastificante, diminui as forças intermoleculares entre as cadeias de polímeros adjacentes, reduzindo as forças de coesão, e consequentemente, impedindo as atrações intermoleculares entre os polímeros do amido, diminuindo a cristalinidade e conferindo maior flexibilidade aos biofilmes. RINDLAV et al. (1997) observaram que o grau de cristalinidade afeta as propriedades mecânicas dos biofilmes de amilopectina. Biofilmes com maior cristalinidade foram mais resistentes e menos flexíveis e os biofilmes com menor cristalinidade foram menos resistentes e mais flexíveis.

Observa-se que um incremento no valor de temperatura de processo de 85°C para 95°C causou uma diminuição na força de ruptura. O efeito da temperatura de processo está relacionado ao processo de gelatinização do amido, pois neste processo acontece uma perda da birrefringência dos grânulos de amido, e um inchamento por causa da absorção da água, aumentando sua solubilidade com a temperatura. É dizer um aumento de temperatura causou um maior inchamento dos grânulos de amido, e consequentemente maior água absorvida. Parte dessa água foi removida durante a secagem e a outra parte encontrou-se formando interações água-amido. Visto que, a água tem um efeito plastificante nos biofilmes, isto explicaria a diminuição da força de ruptura por efeito da temperatura de processo.

4.3.2.2. Deformação na ruptura

Na Tabela 4.7 pode-se observar que os fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$) foram: a concentração de glicerol (Cg), temperatura de processo (Tp) e a temperatura de secagem (Ts). O pH é estatisticamente significativo a 90% de confiança ($p < 0,10$), mas o efeito foi mínimo.

O efeito do glicerol sobre a deformação que o biofilme sofre até a ruptura foi maior que os efeitos das outras variáveis: Tp e Ts. Ademais, observa-se que ao contrário do obtido na força de ruptura, o glicerol afetou positivamente na deformação, quer dizer a

maior concentração de glicerol obteve-se maior deformação na ruptura. Esse resultado está de acordo com a literatura.

Tabela 4.7. Efeito dos fatores sobre a deformação na ruptura calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$.

Fator	Efeito (N)	Erro padrão	p
Média	28,49*	0,044	0,000002
Cg	8,05*	0,096	0,000143
PH	-0,37**	0,096	0,061685
Tp	2,77*	0,096	0,001209
Ts	-2,62*	0,096	0,001356
UR	-0,04	0,096	0,169872

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Resultados semelhantes foram obtidos por SOUZA (2001) na elaboração de biofilmes de proteínas miofibrilares de bovina utilizando glicerol como plastificante. MALI & GROSSMANN (2001) observaram que ao aumentar a concentração de glicerol nos biofilmes de cará e mandioca, a deformação na ruptura aumentou, no entanto a força na ruptura diminuiu.

Observou-se que, a temperatura de processo apresentou um efeito contrário ao obtido com a força de ruptura. Acredita-se que um aumento na temperatura de processo causou uma maior absorção da água, e consequentemente, maiores interações água-amido. Essa água absorvida pode atuar como plastificante conferindo maior flexibilidade aos biofilmes e, portanto, um maior valor de deformação na ruptura.

A temperatura de secagem (Ts) apresentou um efeito negativo sobre a deformação de ruptura, isto significa que um aumento na Ts de 30°C para 50°C causou uma diminuição no valor de deformação, possivelmente, devido a uma maior remoção da água da solução filmogênica. Pode-se verificar na Figura 4.7 que os biofilmes secos a 50°C apresentaram

um valor de umidade inferior ao valor médio (22%). Segundo MYLLÄRINEN et al. (2002a) a água é melhor plastificante que o glicerol.

4.3.2.3. Tensão de ruptura no teste de tração

Na Tabela 4.8 pode-se observar que a concentração de glicerol (Cg), pH, temperatura de processo (Tp) e umidade relativa (UR) são estatisticamente significativos a 95% de confiança.

Tabela 4.8. Efeito dos fatores sobre a tensão de ruptura calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$.

Fator	Efeito (N)	Erro padrão	p
Média	0,56*	0,005	0,00008
Cg	-0,41*	0,010	0,00070
pH	0,10*	0,010	0,01092
Tp	-0,26*	0,010	0,00178
Ts	0,02	0,010	0,21806
UR	-0,11*	0,010	0,00856

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

A concentração de glicerol teve um efeito negativo na tensão de ruptura, o qual significa que um aumento na concentração de glicerol provocou uma diminuição na tensão. O efeito do glicerol sobre a tensão de ruptura, no teste de tração, foi semelhante ao observado para a força de ruptura, no teste de perfuração. Este resultado é concordante com a literatura. LOURDIN et al. (1995) relatou que o glicerol apresentou um maior efeito nos biofilmes de amilopectina do que nos biofilmes de amilose, diminuindo sua resistência à tração.

Resultados interessantes foram obtidos por KIM et al. (2002) ao avaliar o efeito de diferentes plastificantes: sorbitol, xylitol, manitol e glicerol sobre as propriedades mecânicas dos biofilmes de amido carboximetilado. Esses autores relataram que um

aumento na concentração do plastificante provocou um aumento na tensão e alongação. No caso do glicerol, observaram que o aumento de glicerol de 10% para 20% provocou um aumento na tensão e alongação, mas quando a concentração de glicerol aumentou a 30%, a tensão diminuiu e a alongação aumentou. Portanto, o efeito do glicerol sobre as propriedades mecânicas depende das propriedades dos biopolímeros e da concentração do plastificante a ser utilizado.

O efeito da temperatura de processo sobre a tensão na ruptura foi semelhante ao observado para a força de ruptura, esta concordância é lógica, já que os dois são parâmetros da resistência do filme à ruptura. A plastização sob o efeito da água e do glicerol diminuiu a resistência à tração e aumentou a flexibilidade dos biofilmes de farinha de amaranto.

O pH apresentou um efeito positivo na tensão de ruptura dos biofilmes de farinha de amaranto. Foi relatado na literatura que as proteínas tratadas em meio alcalino apresentaram alterações na sua estabilidade térmica, causando uma diminuição de sua temperatura de desnaturação (T_d) e da entalpia de desnaturação (ΔH). No caso da globulina-P, um aumento do pH de 10 para 11, provocou a aparição de novas estruturas com baixa estabilidade térmica (CASTELLANI et al., 1998). A presença destes compostos poderia aumentar o grau de desnaturação das proteínas presentes no filme, na faixa de temperatura de processo utilizada, melhorando as suas propriedades de tensão na ruptura.

Também pode-se observar que a umidade relativa (UR) teve um efeito negativo sobre a tensão de ruptura, isto é, umidade relativa alta provocou uma diminuição da tensão de ruptura nos biofilmes de farinha de amaranto; este resultado foi contrário ao esperado, pois segundo a literatura tempos longos de secagem facilitam o desenvolvimento da cristalinidade nos biofilmes de amilopectina, o qual melhora as propriedades mecânicas dos biofilmes (RINDLAV- WESTLING et al., 1998). É importante considerar que a matéria prima utilizada apresentou teores de proteína (14,21%), de lipídeos (8,93%), de amilose (7,58%) e de amilopectina (92,42%); pelo qual pode não ter um comportamento semelhante à amilopectina pura.

HEALY et al. (1974) estudou as propriedades de tensão dos biofilmes de amido de milho variando a umidade relativa do ar na secagem, observando que os maiores valores de tensão de ruptura foram obtidos em baixas umidades relativas.

4.3.2.4. Elongação no teste de tração

Na tabela 4.9 apresentaram-se os efeitos de cada uma das variáveis independentes sobre a elongação no teste de tração. Sendo a umidade relativa (UR) a única variável significativa a 95% de confiança; entretanto a concentração de glicerol (Cg) e a temperatura de secagem (Ts) são estatisticamente significativos a 90% de confiança.

Tabela 4.9. Efeito dos fatores sobre a elongação calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$.

Fator	Efeito (N)	Erro padrão	p
Média	120,08*	0,69	0,00003
Cg	5,72**	1,51	0,06348
pH	2,86	1,51	0,19945
Tp	2,05	1,51	0,30837
Ts	5,08**	1,51	0,07837
UR	15,22*	1,51	0,00976

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

A concentração do glicerol apresentou um efeito positivo na elongação, isto é, um aumento na concentração do glicerol provocou um aumento na elongação. Esse resultado está de acordo com a literatura. MYLLÄRINEN et al. (2002a) estudaram o efeito do glicerol nos biofilmes de amilose e amilopectina, observando que a concentrações de glicerol abaixo de 20% os biofilmes apresentaram menor elongação e acima de 20% os valores de elongação aumentaram.

Se compararmos o efeito do glicerol sobre a tensão de ruptura e elongação pode-se observar que um aumento na concentração de glicerol provocou uma diminuição na tensão,

porém um aumento na elongação. Comportamento semelhante foi observado em outros estudos. Por exemplo, em biofilmes elaborados a base de proteína de trigo e zeína utilizando glicerol como plastificante (PARK et al., 1994) e em biofilmes elaborados a base de proteína de soja utilizando sorbitol e glicerol como plastificante (McHUGH & KROCHTA, 1994). O efeito do glicerol sobre a elongação foi semelhante ao observado para a deformação, este resultado é lógico já que estes dois parâmetros são uma medida da flexibilidade do filme.

A umidade relativa teve um efeito positivo na elongação, o qual significa que um aumento na umidade relativa provocou um aumento na elongação, que concorda com o efeito sobre a tensão, sendo a tensão e a elongação duas propriedades mecânicas que tem comportamento invertidos.

RINDLAV-WESTLING et al. (1998) obtiveram os menores valores de elongação em altas umidades relativas de secagem, o qual difere deste estudo, uma vez que a farinha de amaranto não teve um comportamento como da amilopectina pura.

4.3.2.5. Módulo de Young

Todas as variáveis independentes estudadas (Cg, pH, Tp, Ts e UR) apresentaram um efeito estatisticamente significativo sobre o módulo de Young a 95% de confiança, como pode ser observado na Tabela 4.10. O efeito da concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp) será discutido no item 4.4.5.

Tabela 4.10. Efeito dos fatores sobre o módulo de Young calculados para o planejamento fracionado $2^{(5-1)}$.

Fator	Efeito (N)	Erro padrão	p
Média	2,70*	0,02	0,00008
Cg	-4,42*	0,05	0,00015
pH	0,31*	0,05	0,02851
Tp	-2,92*	0,05	0,00034
Ts	0,45*	0,05	0,01376
UR	-2,21*	0,05	0,00059

Valores estatisticamente significativos: *p<0,05, **p<0,10

É interessante destacar o efeito da temperatura e umidade relativa na secagem. Na Tabela 4.10 pode-se observar que um aumento da temperatura de secagem provocou um aumento no módulo de Young e um aumento da umidade relativa provocou uma diminuição no módulo de Young. Isto está relacionado com a velocidade de secagem, já que a temperaturas altas e umidades relativas baixas, a velocidade de secagem é maior que a temperaturas baixas e umidades relativas altas, considerando uma mesma formulação de concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp). Segundo GUILBERT (1986) uma secagem rápida pode causar problemas mecânicos nos biofilmes, como a fragilidade. Entretanto, alguns biofilmes obtidos a altas temperaturas apresentaram melhores resultados do que em condições ambientais, como os biofilmes de proteína de soro de leite elaborados por KAYA & KAYA (2000). Esses autores obtiveram biofilmes ($\epsilon = 70 \mu\text{m}$) mais resistentes utilizando uma secagem rápido, em forno microondas (tensão 2,23 MPa, alongação 36,1% e módulo de elasticidade de 27,08) que aqueles secos a condições ambientais (tensão 1,94 MPa, alongação 20,87% e módulo de elasticidade de 26,1 MPa).

4.3.3. Discussão Final sobre o Planejamento Experimental Fracionado

Depois de analisar os efeitos das variáveis independentes ou fatores de estudo sobre as propriedades mecânicas dos biofilmes de farinha de amaranto, observou-se que a concentração do glicerol (Cg), o pH, a temperatura de processo (Tp), a temperatura de secagem (Ts) e a umidade relativa (UR) apresentaram um efeito estatisticamente significativo sobre as propriedades mecânicas a 95% de confiança.

Devido ao pouco tempo disponível para a realização deste estudo, teve-se que postergar as duas variáveis que influenciaram na velocidade de secagem, isto é, a temperatura (Ts) e a umidade relativa (UR), as quais serão consideradas em estudos posteriores. Como nesta fase pretendeu-se definir a formulação do filme de farinha de amaranto, os fatores a serem estudados no planejamento experimental completo foram a concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp).

As faixas das variáveis a serem estudadas foram definidas com base nos resultados obtidos no planejamento experimental fracionado e segundo a literatura revisada. A temperatura e umidade relativa na secagem foi fixada a 40°C e 55% UR.

4.4. Planejamento Experimental Completo

4.4.1. Tempos de secagem dos biofilmes segundo o planejamento fatorial completo

Nesta etapa, os biofilmes foram elaborados segundo o planejamento completo 2^3 , cujas variáveis independentes ou fatores de estudo foram obtidos a partir do planejamento fracionado. As condições de temperatura e umidade relativa na secagem foram fixadas em 40°C e 55% UR, respectivamente.

Apesar das condições de secagem terem sido as mesmas para todos os ensaios, observou-se diferenças nos tempos de secagem, o qual dependeu, principalmente, da concentração de glicerol. É assim que, à medida que a concentração do glicerol aumentou, o tempo de secagem também aumentou, isto pode ser observado na Figura 4.8. A solução filmogênica, cuja formulação correspondeu ao ensaio 9 (21,59% de glicerol, pH 11 e temperatura de processo 85°C) precisou de menor tempo de secagem para se obter a umidade final desejada, enquanto que a correspondente ao ensaio 10 (38,41% de glicerol, pH 11 e temperatura de processo 85°C) precisou de maior tempo de secagem (12 horas) apresentando o maior valor médio de umidade (23%), como mostra-se na Figura 4.9. Esses biofilmes foram mais higroscópicos, instáveis a altas umidades relativas do ambiente, tornando-se difíceis de manusear e pegajosos. Nos demais ensaios, os valores médios de umidade final dos biofilmes localizaram-se próximos ao valor médio ótimo (22%) e dentro da faixa estabelecida.

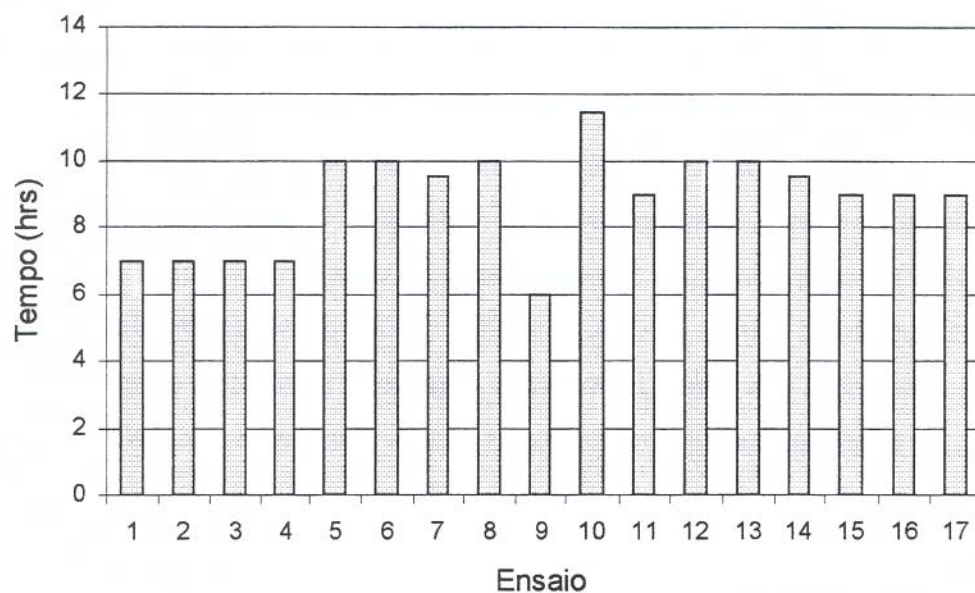


Figura 4.8. Tempos de secagem dos biofilmes de farinha de amaranto elaborados segundo o planejamento completo.

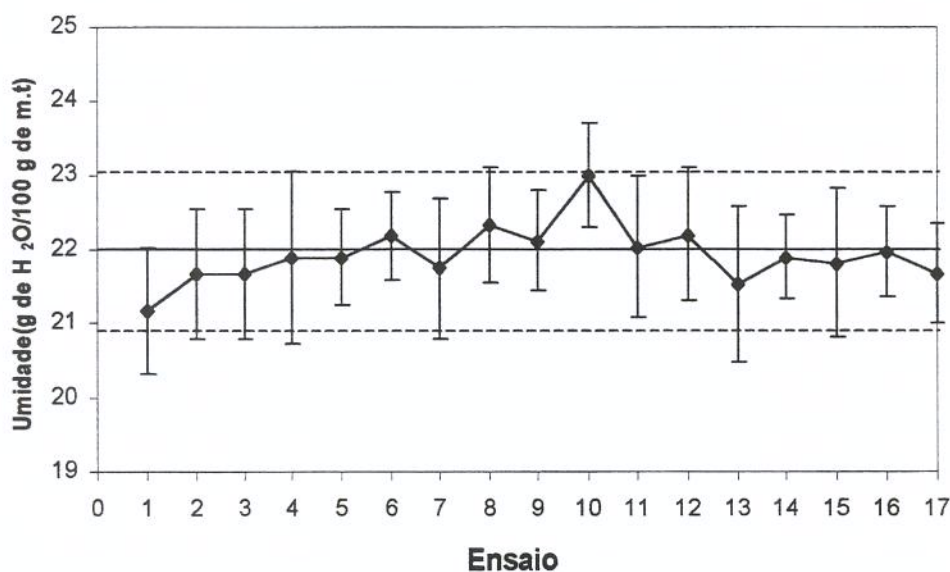


Figura 4.9. Controle da umidade final do filme de farinha de amaranto depois da secagem no planejamento completo.

Em função do efeito da composição, sobretudo da concentração do plastificante, encontraram-se na literatura, várias condições de secagem, com tempo distinto. Biofilmes de amido de cará (30% de amilose) e mandioca (17% de amilose) foram obtidos secando a solução filmogênica a 65°C durante 3 horas (MALI et al., 2002). Biofilmes mistos de amido de milho e zeína foram secos a 35°C durante 15 horas (PARRIS et al., 1997). CUQ et al. (1997) secaram soluções filmogênicas de proteínas miofibrilares de peixe a 25°C e UR 50% durante 15 horas. KAYA & KAYA (2000) obtiveram biofilmes de proteínas de soro de leite secos em forno microondas durante 5 minutos e a temperatura ambiente durante 18 horas, utilizando 50% de glicerol como plastificante. GONTARD et al. (1992) elaboraram biofilmes de glúten de trigo utilizando glicerol como plastificante e os parâmetros de secagem foram: temperatura de 30°C durante 12 horas, até peso constante. SOUZA (2001) elaborou biofilmes de proteínas miofibrilares de bovina utilizando glicerol como plastificante e parâmetros de secagem de: temperatura 37°C/18 horas. CARVALHO (1997) obteve biofilmes de gelatina secos a 35°C durante 24 horas. SARMENTO (1999) obteve biofilmes de gelatina reticulada secos a 32°C durante 24 horas (peso constante). Todos estes autores fixaram as condições de secagem e variaram as formulações dos biofilmes: concentração da matéria prima, concentração do plastificante (glicerol ou sorbitol) e pH.

É importante fazer menção, que neste estudo não foi possível fixar o tempo de secagem porque os biofilmes elaborados com diferentes formulações apresentaram diferentes conteúdos de umidades quando foram secos nas mesmas condições de temperatura, tempo e umidade relativa, o que foi observado nos testes preliminares. Nestas condições não teria sido possível obter biofilmes utilizando baixas concentrações de glicerol (<30%), os quais apresentaram-se quebradiços na superfície das placas, sendo difíceis de serem retirados das mesmas para a realização dos testes mecânicos, sem os quais não teria alcançado os objetivos deste trabalho.

MYLLÄRINEN et al. (2002a) elaboraram biofilmes de amilopectina e amilose pura a 70°C durante 3-4 horas e observaram que os biofilmes de amilopectina elaborados com 10% de glicerol foram quebradiços e aqueles que foram elaborados com concentrações de glicerol maiores que 30% foram pegajosos, em ambos os casos os biofilmes foram difíceis

de se manusear. Esses autores consideram que os biofilmes de amilopectina podem ser obtidos em faixas menores de concentração de glicerol (30-40%), pois a amilopectina é sensível ao glicerol, enquanto a amilose é menos sensível, podendo-se obter biofilmes nessas condições de secagem e variando a concentração de glicerol, sem afetar as suas características.

4.4.2. Resultados do Planejamento Experimental Completo

Na Tabela 4.11 apresenta-se os resultados dos testes mecânicos de perfuração (força e deformação) e de tração (tensão, alongação e módulo de Young), assim como do teste de solubilidade dos biofilmes de farinha de amaranto. Os ensaios foram realizados segundo o planejamento experimental completo apresentado na Tabela 3.2.

Tabela 4.11. Resultados do planejamento experimental completo 2³.

Ensaio	Cg (X1)*	pH (X2)	Tp (X3)	RUPTURA		TRAÇÃO			Solubilidade (%)
				Força (N)	Deformação (%)	Tensão (MPa)	Elongação (%)	Módulo de Young (MPa)	
1	25 (-1)	10,5 (-1)	80 (-1)	3,0	8,5	1,6	77,8	24,3	42,1
2	25(-1)	10,5 (-1)	90 (+1)	3,0	9,2	1,1	79,7	16,8	47,2
3	25(-1)	11,5 (+1)	80 (-1)	2,1	14,0	1,6	60,4	37,2	44,8
4	25(-1)	11,5 (+1)	90 (+1)	2,5	13,3	0,6	107,4	3,1	56,1
5	35 (+1)	10,5 (-1)	80 (-1)	0,8	34,0	0,4	129,4	1,7	53,5
6	35 (+1)	10,5 (-1)	90 (+1)	0,9	30,4	0,4	116,0	0,3	55,0
7	35 (+1)	11,5 (+1)	80 (-1)	1,1	31,8	0,4	152,4	1,4	57,0
8	35 (+1)	11,5 (+1)	90 (+1)	0,9	32,0	0,7	137,8	2,3	54,0
9	21,59(-1,68)	11 (0)	85 (0)	4,3	3,4	2,7	11,7	93,8	51,8
10	38,41 (+1,68)	11 (0)	85 (0)	0,5	37,2	0,3	167,8	1,4	61,7
11	30 (0)	10,16 (-1,68)	85 (0)	0,9	28,4	0,8	113,6	4,7	59,2
12	30 (0)	11,84 (+1,68)	85 (0)	1,1	27,8	0,4	110,4	1,5	62,7
13	30 (0)	11 (0)	76,6 (-1,68)	1,2	28,4	0,6	121,0	3,3	53,2
14	30 (0)	11 (0)	93,4 (+1,68)	1,3	23,7	0,6	104,8	3,4	55,3
15 (C)	30 (0)	11 (0)	85 (0)	1,4	23,3	0,7	124,0	2,6	40,7
16 (C)	30 (0)	11 (0)	85 (0)	1,4	23,3	0,7	124,7	2,8	40,6
17 (C)	30 (0)	11 (0)	85 (0)	1,4	21,5	0,7	120,2	2,8	39,8

*Os valores entre parêntesis são os códigos dos níveis das variáveis independentes.

4.4.3. Força e Deformação de Ruptura em Teste de Perfuração

4.4.3.1. Força de Ruptura

Na Tabela 4.12 estão apresentados os efeitos da concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp) sobre a força de ruptura no teste de perfuração. Nesta tabela pode-se observar que todos os fatores e suas interações apresentaram um efeito estatisticamente significativo sobre a variável resposta a 95% de confiança.

Tabela 4.12. Efeito dos fatores calculados para a força de ruptura no planejamento completo 2^3 .

	Fator	Efeito (N)	Erro Padrão	p
Linear	Média	1,681*	0,004	0,000005
	Cg	-1,743*	0,008	0,000024
	pH	-0,104*	0,008	0,001139
	Tp	-0,052*	0,008	0,026250
Interações	Cg x pH	0,425*	0,008	0,000413
	Cg x Tp	-0,112*	0,008	0,005559
	pH x Tp	0,061*	0,008	0,018079

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Realizando a comparação dos efeitos dos fatores e suas interações, como mostrado na Figura 4.10, observa-se que a concentração de glicerol apresentou um maior efeito sobre a força de ruptura que o pH e a temperatura de processo (Tp). A elevação de 25 a 35 g de glicerol/100 g de farinha de amaranto, causou uma diminuição, em média, de 1,74 N. Resultado semelhante foi relatado por SARMENTO (1999) na elaboração de biofilmes a base de gelatina reticulada utilizando sorbitol como plastificante.

Com relação ao efeito da interação, verifica-se que o efeito da concentração de glicerol e pH apresentaram maior significância. CARVALHO (1997) relatou que o efeito

da interação da concentração de sorbitol e pH foi o mais significativo na elaboração de biofilmes de gelatina

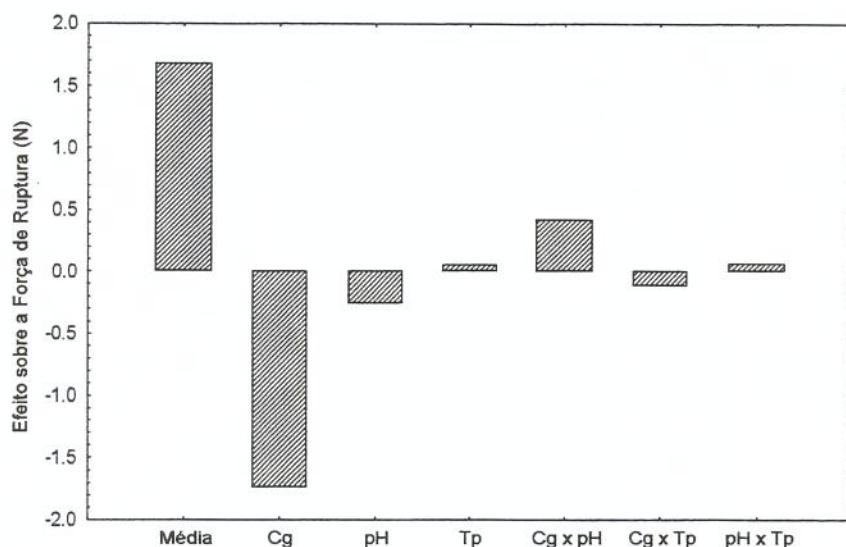


Figura 4.10. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a força de ruptura para o planejamento completo 2^3 .

Após análise dos efeitos principais e da interação, foram obtidos os coeficientes de regressão do modelo de 2ª ordem que relaciona a força de ruptura com os parâmetros estudados, como verificados na Tabela 4.13. Pode-se observar que todos os fatores: lineares e suas interações, assim como os quadráticos e suas interações apresentaram coeficientes estatisticamente significativos ($p < 0,05$). A partir destes resultados foi obtido o modelo que relaciona a força de ruptura com as variáveis codificadas estudadas (X) (Equação 4.1).

Tabela 4.13. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a força de ruptura.

	Fator	Coeficiente (N)	Erro Padrão	p
Linear	Média	1,346*	0,007	0,00003
	Cg	-0,985*	0,003	0,00001
	PH	-0,052*	0,003	0,00394
	Tp	0,027*	0,003	0,01403
Interações	Cg x pH	0,210*	0,004	0,00041
	Cg x Tp	-0,057*	0,004	0,00556
	pH x Tp	0,031*	0,004	0,01808
Quadrático	Cg x Cg	-0,417*	0,003	0,00007
	pH x pH	-0,070*	0,003	0,00260
	Tp x Tp	0,017*	0,003	0,04028

Modelo Codificado:

$$F = 1,346 - 0,985X_1 + 0,417X_1^2 - 0,052X_2 - 0,070X_2^2 + 0,027X_3 + 0,017X_3^2 + 0,210X_1X_2 - 0,057X_1X_3 + 0,031X_2X_3 \quad [4.1]$$

A Tabela 4.14 apresenta a análise de variância (ANOVA) da Equação 4.1. Pode-se observar que o modelo obtido apresentou um bom coeficiente de correlação (0,97). Comparando o valor de F calculado com o F tabelado, verificou-se que o primeiro é 6,09 vezes maior que o segundo, sendo portanto que o modelo é estatisticamente preditivo e significativo, com o qual pode-se obter as superfícies de respostas, as quais são apresentadas no item 4.5.3.3.

Tabela 4.14. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a força de ruptura.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	16,1700	9	1,7970	22,42	3,68	0,97
Resíduos	0,5608	7	0,0801			
Falta de ajuste	0,5605	5	0,1121			
Erro puro	0,0003	2	0,0001			
Total	16,7308	16				

4.4.3.2. Deformação de Ruptura

Apresenta-se, na Tabela 4.15, os valores dos efeitos principais e das interações na deformação de ruptura, os quais correspondem a média dos efeitos na resposta devido a mudança da variável do nível -1 para o +1 referentes às variáveis: concentração do glicerol (Cg), pH da solução filmogênica e temperatura de processo (Tp).

Observa-se que a 95% de confiança, só a concentração de glicerol apresentou um efeito estatisticamente significativo sobre a deformação de ruptura. Aumentando o intervalo de confiança ($p > 0,10$) obteve-se que o pH da solução filmogênica e a interação da concentração de glicerol (Cg) e o pH também foram estatisticamente significativos.

Da Tabela 4.15 percebe-se que ao elevar a concentração de glicerol de 25 a 35 g de glicerol/100 g de farinha de amaranto, causou um aumento na deformação, em média, de 20,8%. O aumento do pH da solução filmogênica de 10,5 até 11,5 provocou um aumento na deformação de 2,2%, em média. O efeito da interação entre a concentração de glicerol e pH diminuíram a deformação de ruptura em 2,5%, em média.

Tabela 4.15. Efeito dos fatores calculados para a deformação de ruptura no planejamento completo 2^3 .

	Fator	Efeito (%)	Erro Padrão	p
Linear	Média	21,9*	0,3	0,0002
	Cg	20,8*	0,7	0,0011
	PH	2,2**	0,7	0,0889
	Tp	-0,9	0,7	0,3489
Interações	Cg x pH	-2,5**	0,7	0,0695
	Cg x Tp	-0,8	0,7	0,3605
	pH x Tp	0,6	0,7	0,4719

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

CARVALHO (1997) observou que um aumento da concentração de sorbitol causou um aumento na deformação de ruptura, enquanto que, um aumento do pH provocou uma diminuição na deformação de ruptura em biofilmes de gelatina. SARMENTO (1999) observou que um aumento da concentração de glicerol provocou um aumento na deformação em biofilmes de gelatina reticulada.

Observa-se, na Figura 4.11, que a concentração de glicerol apresentou o efeito mais significativo sobre a deformação de ruptura quando comparado com os efeitos dos outros fatores.

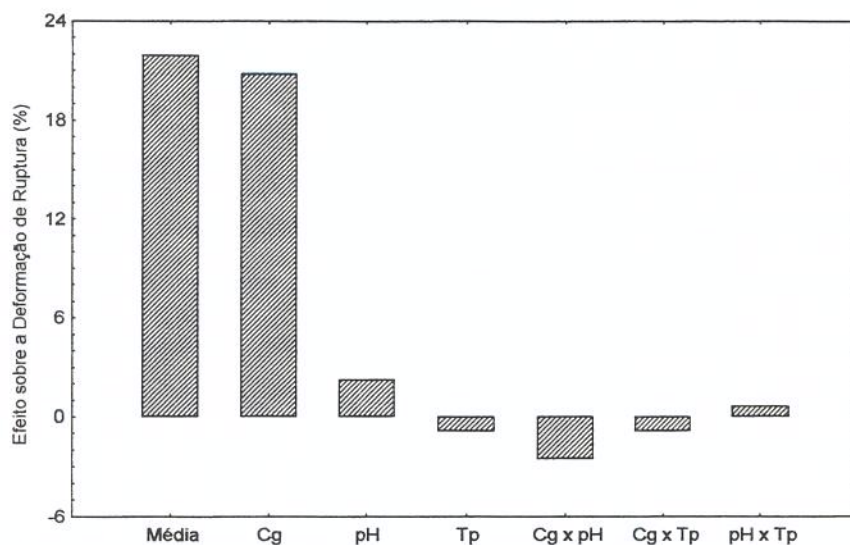


Figura 4.11. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a deformação de ruptura para o planejamento completo 2^3 .

Na Tabela 4.16, mostra-se os coeficientes de regressão das variáveis que são estatisticamente significativas a 90 e 95% de confiança, a partir dos quais obteve-se o modelo para a deformação de ruptura (D) em função das variáveis estudadas (Equação 4.2).

Tabela 4.16. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a deformação de ruptura.

	Fator	Coeficiente(%)	Erro Padrão	p
Linear	Média	23,50*	0,43	0,0003
	Cg	10,26*	0,27	0,0007
	Tp	-0,83**	0,27	0,0919
Interações	Cg x pH	-1,27**	0,35	0,0695
Quadrático	Cg x Cg	-1,72*	0,28	0,0266
	pH x pH	1,04**	0,28	0,0675

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Modelo codificado:

$$D = 23,50 + 10,26X_1 - 1,72X_1^2 + 1,04X_2^2 - 0,83X_3 - 1,27X_1X_2 \quad [4.2]$$

A Tabela 4.17 apresenta a análise de variância (ANOVA) da Equação 4.2. Observa-se que o modelo apresentou um bom coeficiente de correlação (0,96). Comparando o valor de F calculado com o F tabelado, verificou-se que o primeiro é 23,2 vezes maior que o segundo, sendo portanto concluímos que o modelo é estatisticamente preditivo e significativo, com o qual pode-se obter as superfícies de respostas, as quais são apresentadas no item 4.5.3.3.

Tabela 4.17. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a deformação de ruptura.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	1523,10	5	304,63	56,93	2,45	0,96
Resíduos	58,86	11	5,35			
Falta de ajuste	56,85	9	7,72			
Erro puro	2,01	2	1,00			
Total	1582,01	16				

4.4.3.3. Superfícies de Resposta

Nas Figuras 4.12 e 4.13, observa-se que a concentração de glicerol (Cg) apresentou um maior efeito sobre a força e a deformação, tendo as duas curvas a mesma inclinação, mas em sentidos diferentes em função à concentração de glicerol. Então, pode-se verificar que um aumento da concentração de glicerol de 21,59 a 38,41 g/100 g de farinha de amaranto, provocou uma diminuição da força de ruptura de 4,5 a 0,5 N. Entretanto, a deformação aumentou de, aproximadamente, 3,9 a 40% à medida que a concentração de glicerol (Cg) foi incrementada.

O comportamento da força e deformação em função da variação da concentração de glicerol observado neste estudo é concordante com o relatado por alguns autores. Por exemplo, CUQ et al. (1997), trabalhando com biofilmes à base de proteínas miofibrilares de sardinhas do Atlântico, observaram que a força na ruptura diminuiu e a deformação aumentou, com o aumento da concentração de plastificante; esse comportamento foi mais acentuado nos biofilmes elaborados com glicerol que os elaborados com sorbitol e sacarose.

SOBRAL (2000) observou que, em biofilmes de proteína miofibrilar de carne bovina acidificados com ácido acético, um aumento na concentração de glicerina de 30 a 100%, provocou uma diminuição na força de ruptura de 8,7 N para 2,9 N, enquanto a deformação na ruptura aumentou de 1,8 a 8,5%.

GONTARD et al. (1993) observaram uma redução linear da força de ruptura, em teste de perfuração, de 1,9 para 0,3 N; e um aumento na deformação de 6 para 20%, devido a um incremento na concentração de glicerol de 16 para 33 g/100 de proteína de glúten (m.seca).

O pH apresentou um ligeiro efeito na força de ruptura e na deformação. Na Figura 4.12 observa-se que os maiores valores de força de ruptura (4,3 N) são obtidos na região entre valores de pH 10,2 a 11,3 e para concentrações de glicerol entre 21,6 a 23 (g/100 g de F.A). No entanto, nessa região obteve-se os menores valores de deformação (3,9%). Os biofilmes apresentaram-se mais resistentes e menos elásticos nessa faixa. O maior valor de deformação (38,8%), obteve-se na região entre valores de pH 10,2 e 11,3, e para concentrações de glicerol entre 34,0 e 38,4 g/100 g de farinha de amaranto (Figura 4.13). Nessa faixa, os biofilmes expostos a altas umidade relativas do ambiente tornavam-se pegajosos.

GONTARD et al. (1992) trabalhando com biofilmes de proteína de glúten (espessura 50 μ m), obteve valores de força e deformação semelhantes aos obtidos neste estudo. Esses autores concluíram que a altas concentrações de glúten e pH 5 obtêm-se biofilmes mais resistentes.

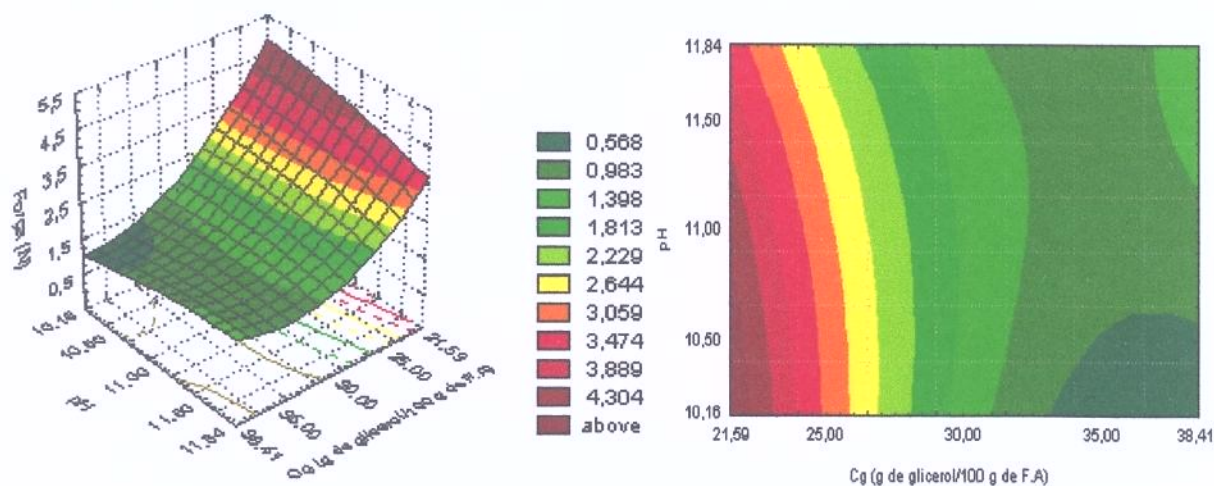


Figura 4.12. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da força de ruptura em função da concentração de glicerol (C_g) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (T_p) em 85°C.

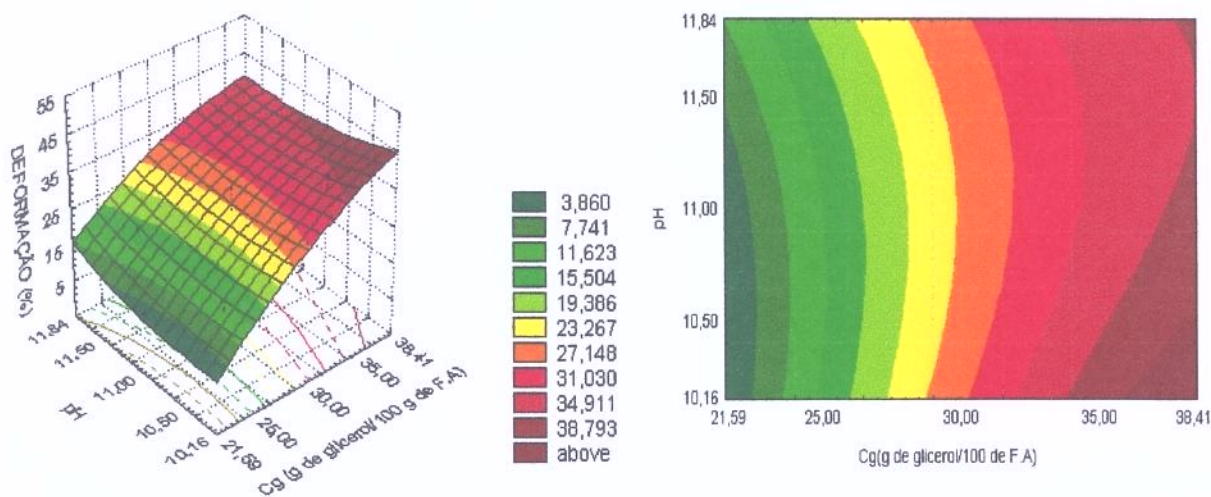


Figura 4.13. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da deformação de ruptura em função da concentração de glicerol (C_g) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (T_p) em 85°C.

Analisando as Figuras 4.14 e 4.15, verifica-se que o efeito da concentração de glicerol é mais pronunciado tanto na força quanto a deformação na ruptura quando comparado com o efeito da temperatura de processo (Tp). A força de ruptura é maior, consequentemente a deformação é menor, em concentrações baixas de glicerol (21,6 a 23 g/100 g de F.A) e em toda a faixa de temperatura de processo estudada. Obteve-se maiores deformações e menores forças de ruptura, em toda a faixa de temperatura analisada e em concentrações de glicerol entre 33 a 38 g/100 g de F.A. MYLLÄRINEN et al. (2002a) relataram que os biofilmes de amilopectina são mais sensíveis ao glicerol que os biofilmes de amilose, já que os biofilmes elaborados a base de amilopectina foram menos manuseáveis à medida que a concentração de glicerol aumentava.

Na Figura 4.16 e 4.17 pode-se observar o efeito do pH e da temperatura de processo na força e deformação na ruptura dos biofilmes; estes dois fatores estão relacionados ao processo de desnaturação da proteína, contida na farinha de amaranto, por isso foi importante analisar sua interação. A maioria de estudos sobre biofilmes de proteínas, encontrados na literatura, não utilizaram temperaturas altas para a elaboração de biofilmes, as temperaturas oscilaram entre 30° e 60°C, que permitiram solubilizar a proteína (CARVALHO, 1997; GONTARD et al., 1992; SARMENTO, 1999; SOUZA, 2001; YOSHIDA, 2002), não atingindo à desnaturação da proteína devido a que este processo tem lugar a temperaturas acima de 65°C (GRAAF, 2000). McHUGH et al. (1994) elaboraram biofilmes de proteínas de soro de leite, aquecendo as soluções a temperaturas entre 75° e 100°C, o qual permitiu a formação de pontes dissulfetos. No presente trabalho, a faixa de temperatura estudada foi de 76,6° a 93,4°C, a qual permitiu a gelatinização do amido de amaranto e a desnaturação das proteínas. PAMPA (2003) observou que na faixa de temperatura de 67° a 75°C ocorreu a gelatinização do amido de amaranto (*Amaranthus cruentus*). MARTINEZ & AÑÓN (1996) observaram que as temperaturas de desnaturação da albumina-1 e da albumina-2 foram 64°C e 94°C, respectivamente, entretanto a globulina apresentou duas temperaturas de desnaturação: 64°C e 94°C; assim como a glutelina (70°C e 96°C).

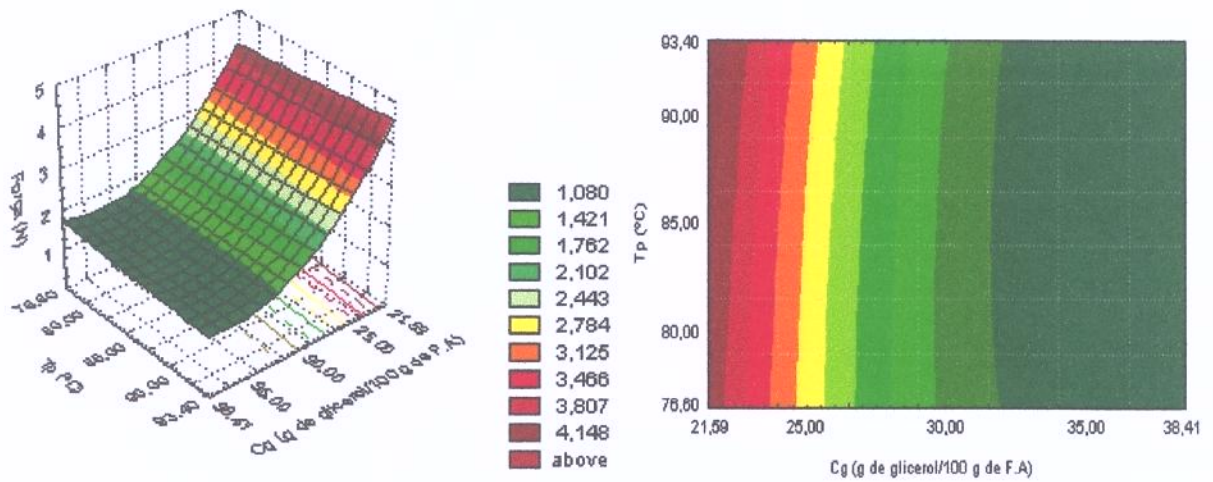


Figura 4.14. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da força de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.

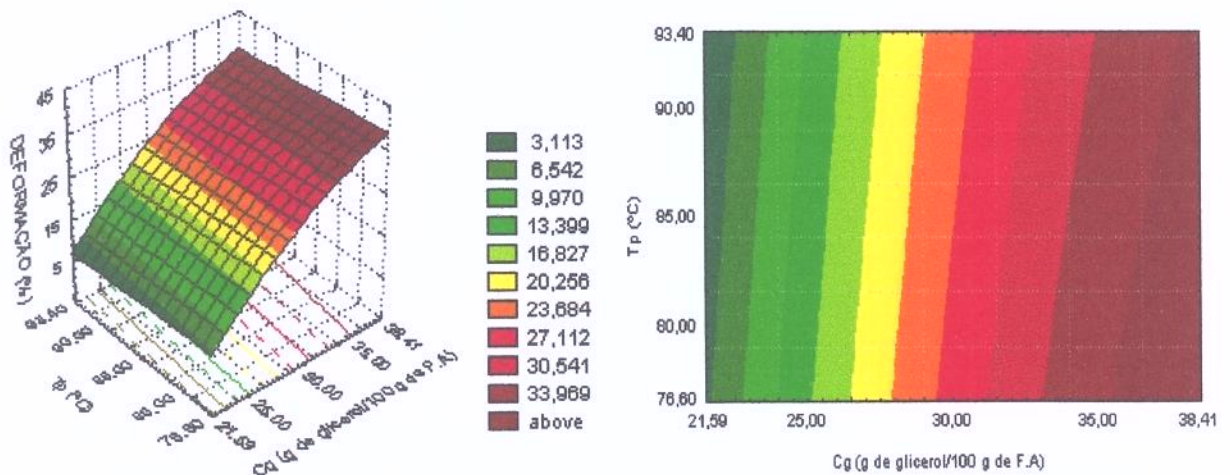


Figura 4.15. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da deformação de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.

TIEN et al. (2000) estudaram o efeito do tipo de tratamento térmico: aquecimento a 80°C/30 minutos e a γ -irradiação; nas propriedades mecânicas e de barreira dos biofilmes de proteína de soro reticuladas incluídas em uma matriz celulósica. Esses autores observaram que os biofilmes, obtidos por γ -irradiação e por aquecimento, apresentaram melhores propriedades mecânicas (força e deformação na ruptura) que os que não sofreram tratamento térmico.

Segundo MANGINO (1984), o aquecimento pode afetar a velocidade de desnaturação e a velocidade de interação proteína-proteína. Se a velocidade de agregação protéica é rápida comparada com a velocidade de desdobramento da proteína, a estrutura do gel será afetada adversamente (HERMANSSON, 1979). A temperatura para a formação de gel deve ser selecionada de tal maneira que haja um balanço entre a velocidade de desdobramento da proteína e a agregação.

Na Figura 4.16 observa-se que a região de maior valor da força de ruptura localiza-se na faixa de pH 10,3 a 11,0 e valores de temperatura de 76° a 82°C, também pode-se observar outra região que compreende valores de pH 10,7 a 11,3 e temperaturas de 91 a 93°C. Observa-se que nessas regiões, os valores de deformações oscilam entre 22,6 a 27,4% (Figura 4.17).

A melhor formulação para a resposta força de ruptura nas condições e intervalos estudados foi encontrada para a concentração de glicerol de 21,59 g/100 g de F.A, pH entre 10,2 e 11,3 e temperatura de processo entre 76° e 82°C. Entretanto a melhor deformação foi obtida para a maior concentração de glicerol (38,41 g/100 g de F.A).

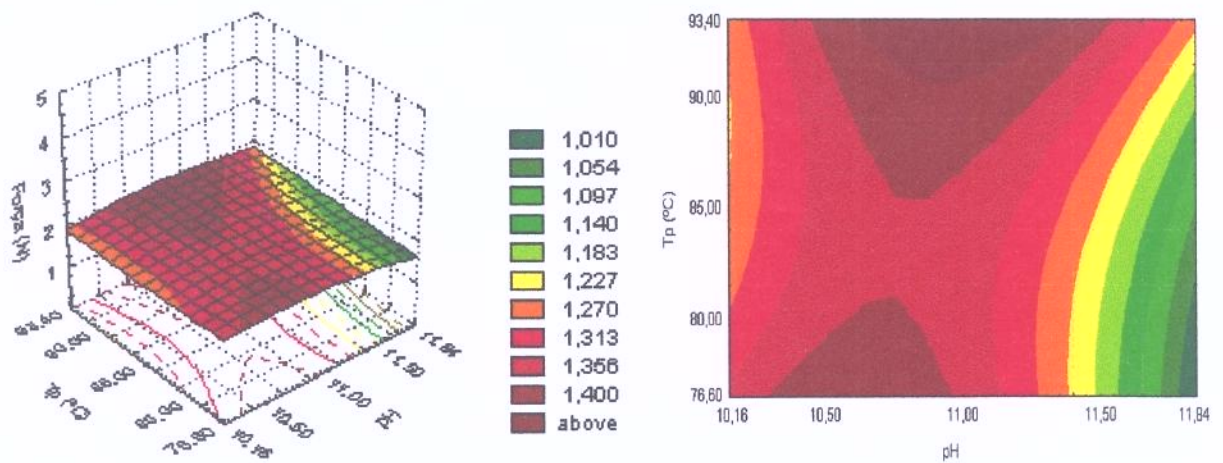


Figura 4.16. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da força na ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.

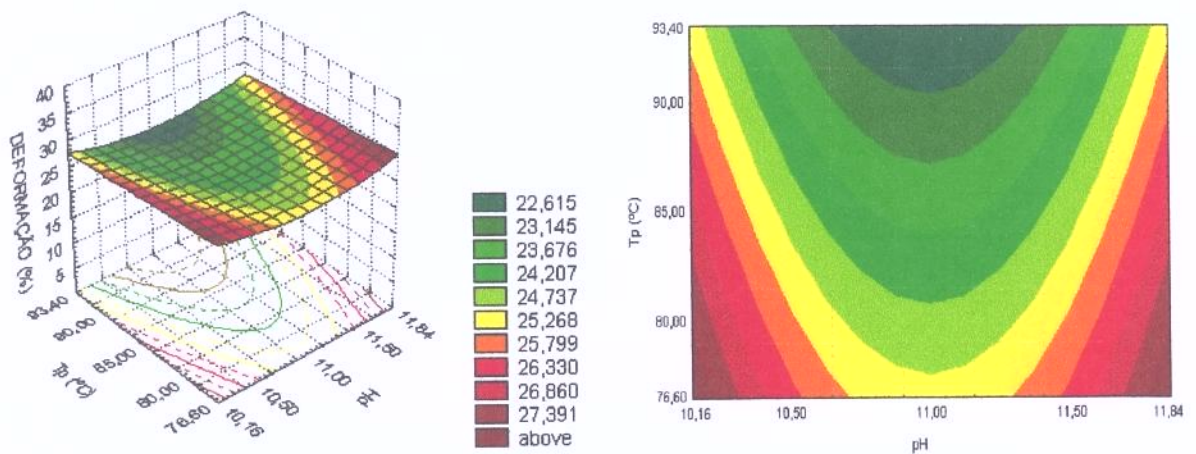


Figura 4.17. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da deformação de ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.

4.4.4. Tensão, Elongação de ruptura e Módulo de Young no Teste de Tração

4.4.4.1. Tensão de Ruptura

Os efeitos da concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp) sobre a tensão de ruptura no teste de tração estão apresentados na Tabela 4.18. Nota-se que todos os fatores e suas interações são estatisticamente significativos a 95% de confiança.

Tabela 4.18. Efeito dos fatores calculados para a tensão de ruptura no planejamento completo 2^3 .

Fator		Efeito (MPa)	Erro Padrão	p
Linear	Média	0,80*	0,007	0,00007
	Cg	-0,74*	0,016	0,00050
	pH	-0,08*	0,016	0,03769
	Tp	-0,33*	0,016	0,00255
Interações	Cg x pH	0,21*	0,016	0,00607
	Cg x Tp	0,41*	0,016	0,00162
	pH x Tp	-0,08*	0,016	0,03948

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Na Figura 4.18 pode-se observar que a concentração de glicerol apresentou o maior efeito sobre a tensão de ruptura. A elevação de 25 até 35 g de glicerol/100 g de farinha de amaranto provocou uma diminuição na tensão de ruptura, em média, de 0,74 MPa, valor este significativo, como pode ser observado na Tabela 4.11. O segundo efeito mais significativo foi o provocado pela temperatura de processo (Tp), sendo que uma elevação desta variável de 80° para 90°C causou uma diminuição na tensão de ruptura, em média, de 0,33 MPa.

O efeito da interação entre a concentração de glicerol e a temperatura de processo (T_p) aumentou a tensão de ruptura em 0,41 MPa, em média, enquanto que o efeito da interação entre a concentração de glicerol e pH aumentou a tensão de ruptura em 0,21 MPa.

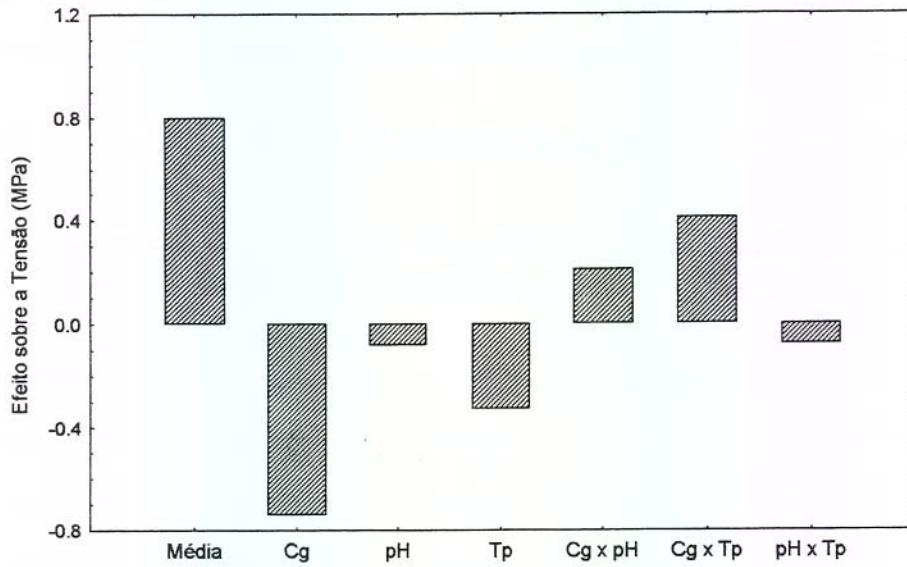


Figura 4.18. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a tensão de ruptura para o planejamento completo 2^3 .

Na Tabela 4.19 estão apresentados os coeficientes de regressão significativos ($p < 0,05$) a 95% de confiança do modelo estatístico adotado. A Equação 4.3 mostra o modelo da tensão de ruptura em função dos parâmetros estudados Cg, pH e T_p .

Tabela 4.19. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a tensão de ruptura.

	Fator	Coeficiente (MPa)	Erro Padrão	p
Linear	Média	0,673*	0,014	0,0004
	Cg	-0,517*	0,006	0,0002
	pH	-0,069*	0,006	0,0083
	Tp	-0,094*	0,006	0,0045
Interações	Cg x pH	0,105*	0,008	0,0060
	Cg x Tp	0,205*	0,008	0,0016
	pH x Tp	-0,040*	0,008	0,0395
Quadrático	Cg x Cg	0,272*	0,007	0,0006
	pH x pH	-0,036*	0,007	0,0349
	Tp x Tp	-0,038*	0,007	0,0319

Valores estatisticamente significativos: *p<0,05, **p<0,10

Modelo codificado:

$$T = 0,673 - 0,517X_1 + 0,272X_1^2 - 0,069X_2 - 0,036X_2^2 - 0,094X_3 - 0,038X_3^2 + 0,105X_1X_2 + 0,205X_1X_3 - 0,040X_2X_3 \quad [4.3]$$

A análise de variância (ANOVA) obtida pelo ajuste dos dados ao modelo da Equação 4.3 estão apresentados na Tabela 4.20, na qual percebe-se que o modelo obtido se ajustou satisfatoriamente aos pontos experimentais ($R^2 = 0,90$). O valor de F calculado é quase 3 vezes maior do que o F tabulado, indicando que o modelo é preditivo. A partir do modelo obtido pode-se gerar as superfícies de respostas em função das variáveis significativas, as quais estão apresentadas no item 4.4.4.4.

Tabela 4.20. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a tensão de ruptura.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	5,384	9	0,5982	6,63	2,72	0,90
Resíduos	0,631	7	0,0902			
Falta de ajuste	0,630	5	0,1260			
Erro puro	0,001	2	0,0005			
Total	6,015	16				

4.4.4.2. Elongação de Ruptura no teste de Tração

Na Tabela 4.21, apresenta-se os efeitos calculados pelo programa Statistica 5.0 da concentração de glicerol (Cg), pH da solução filmogênica e temperatura de processo (Tp) sobre a elongação de ruptura no teste de tração. Observa-se que o efeito da temperatura de processo (Tp) é estatisticamente significativo a 90% de confiança; entretanto os demais fatores e suas interações apresentaram um efeito estatisticamente significativo a 95% de confiança.

Tabela 4.21. Efeito dos fatores calculados para a elongação de ruptura para o planejamento completo 2³.

	Fator	Efeito (%)	Erro Padrão	p
Linear	Média	111,8*	0,7	0,00004
	Cg	52,6*	1,7	0,00103
	pH	13,8*	1,7	0,01475
	Tp	5,2**	1,7	0,09000
Interações	Cg x pH	8,6*	1,7	0,03612
	Cg x Tp	-19,2*	1,7	0,00766
	pH x Tp	10,9*	1,7	0,02297

Valores estatisticamente significativos: *p<0,05, **p<0,10

Ao elevar a concentração do glicerol de 25 para 35 g/100 g de farinha de amaranto, o biofilme sofreu um aumento na elongação até o ponto de ruptura de 52,6%, em média. A elevação do pH de 10,5 para 11,5 provocou um aumento de 13,8%, em média, na elongação. Aumentando a temperatura de processo (Tp) de 80°C até 90°C, a elongação de ruptura do biofilme sofreu um aumento de 5,24%.

Os efeitos da interação entre a concentrações de glicerol e o pH aumentaram a elongação de ruptura em 8,6%, em média; e o efeito da interação entre o pH e a temperatura de processo (Tp) aumentou a elongação em 10,9%, em média. Entretanto, a interação entre a concentração de glicerol e a temperatura de processo (Tp) causou uma diminuição, em média, de 19,2% na elongação.

Comparando os efeitos de cada um dos fatores e de suas interações, percebe-se que a concentração de glicerol apresentou um efeito mais significativo, seguido pela interação da concentração de glicerol e a temperatura de processo, tal como verifica-se na Figura 4.19.

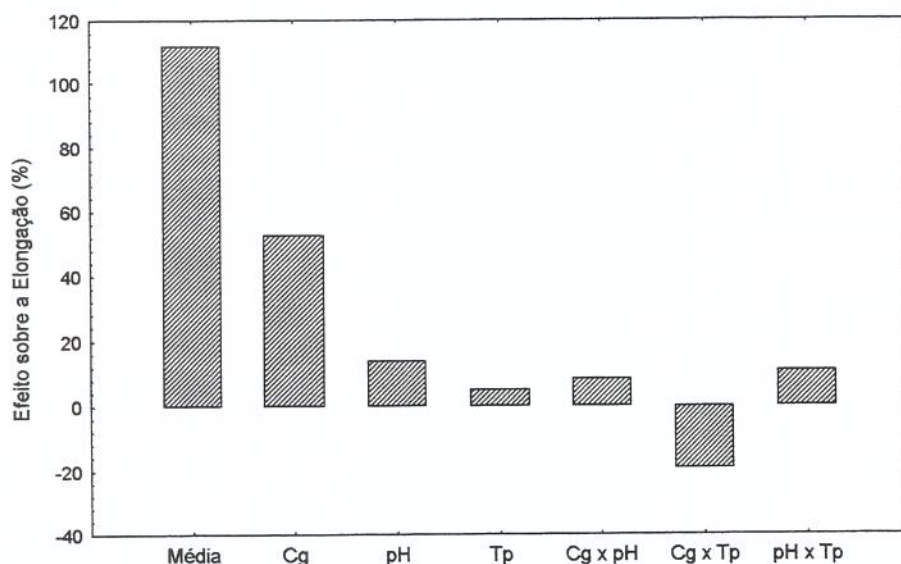


Figura 4.19. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a elongação de ruptura para o planejamento completo 2^3 .

Na Tabela 4.22 estão apresentados os coeficientes de regressão significativos ($p < 0,05$) modelo estatístico adotado. A Equação 4.4 mostra o modelo da elongação de ruptura em função dos parâmetros estudados Cg, pH e Tp.

Tabela 4.22. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a elongação de ruptura.

	Fator	Coeficiente (%)	Erro Padrão	p
	Média	117,07*	0,79	0,00013
Linear	Cg	34,62*	0,65	0,00035
	pH	3,63*	0,65	0,03033
	Cg x pH	4,32*	0,84	0,03612
Interações	Cg x Tp	-9,60*	0,84	0,00766
	pH x Tp	5,48*	0,84	0,02297
	Cg x Cg	-9,58*	0,71	0,00425
Quadrático	pH x pH	-3,02**	0,71	0,05117
	Tp x Tp	-2,70**	0,71	0,06288

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Modelo codificado:

$$E = 117,07 + 34,62X_1 - 9,58X_1^2 + 3,63X_2 + 4,32X_1X_2 - 9,60X_1X_3 + 5,48X_2X_3 - 3,02X_2^2 - 2,70X_3^2 \quad [4.4]$$

A análise de variância obtida pelo ajuste dos dados ao modelo da Equação 4.4 estão apresentados na Tabela 4.23, na qual observa-se que o modelo obtido apresentou um bom coeficiente de correlação ($R^2 = 0,90$). Também observa-se que o F calculado foi 4,4 vezes superior que o F tabelado; indicando que o modelo é estatisticamente significativo. A partir do modelo obtido pode-se gerar as superfícies de respostas em função das variáveis significativas, tal como está apresentado no item 4.4.4.4.

Tabela 4.23. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a elongação de ruptura.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	18873,76	6	3145,60	14,28	3,22	0,90
Resíduos	2202,74	10	220,27			
Falta de ajuste	2191,31	8	273,91			
Erro puro	11,43	2	5,72			
Total	21076,50	16				

4.4.4.3. Módulo de Young

Os efeitos dos fatores estudados e de suas interações estão apresentados na Tabela 4.24. Observa-se que os efeitos da concentração de glicerol (Cg), pH da solução filmogênica e a temperatura de processo (Tp) sobre o Módulo de Young são estatisticamente significativos no intervalo de confiança ($p < 0,05$).

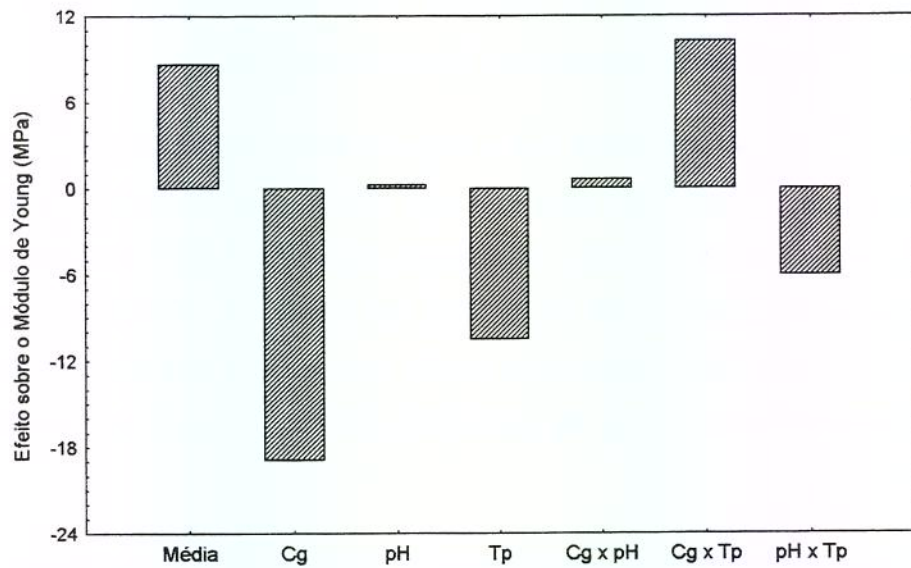
Da Tabela 4.24, percebe-se que o aumento do conteúdo de glicerol de 25 até 35 g/100 g de farinha de amaranto provocou uma diminuição, em média, de 18,9 MPa, no módulo de Young. Assim também, um aumento da temperatura de processo de 80°C para 90°C causou uma diminuição de 10,50 MPa, em média, no módulo de Young. O pH apresentou um menor efeito do que o Cg e o Tp, uma vez que uma elevação do pH de 10,5 para 11,5 provocou um aumento, em média de 0,3 MPa. Isto pode ser visualizado melhor na Figura 4.20.

O efeito de interação da concentração de glicerol (Cg) e a temperatura de processo (Tp) causa um aumento no módulo de Young de 10,25 MPa, em média. Entretanto, o efeito de interação da concentração do pH e a temperatura de processo (Tp) provoca uma diminuição de 6,05 MPa, em média. Um efeito menor é o causado pela interação da concentração do glicerol e o pH (0,64 MPa).

Tabela 4.24. Efeito dos fatores calculados para o módulo de Young no planejamento completo 2^3 .

	Fator	Efeito (MPa)	Erro Padrão	p
Linear	Média	8,7*	0,03	0,000009
	Cg	-18,9*	0,06	0,000010
	pH	0,3*	0,06	0,049418
	Tp	-10,5*	0,06	0,000035
Interações	Cg x pH	0,6*	0,06	0,009261
	Cg x Tp	10,2*	0,06	0,000036
	pH x Tp	-6,1*	0,06	0,000104

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

**Figura 4.20.** Comparação entre os efeitos dos fatores sobre o módulo de Young para o planejamento completo 2^3 .

Os coeficientes de regressão obtidos utilizando o programa Statistica 5.0 estão apresentados na Tabela 4.25. Os coeficientes significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$) foram considerados para a obtenção do modelo estatístico, o qual está apresentado na Equação 4.5.

Tabela 4.25. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para o módulo de Young.

	Fator	Coeficiente (MPa)	Erro Padrão	p
Linear	Média	3,26*	0,050	0,000239
	Cg	-16,92*	0,024	0,000002
	pH	-0,32*	0,024	0,005561
	Tp	-3,06*	0,024	0,000059
Interações	Cg x pH	0,32*	0,031	0,009261
	Cg x Tp	5,12*	0,031	0,000036
	pH x Tp	-3,03*	0,031	0,000104
Quadrático	Cg x Cg	14,07*	0,026	0,000003
	pH x pH	-1,67*	0,026	0,000243
	Tp x Tp	-1,57*	0,026	0,000276

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Modelo codificado:

$$\text{Módulo de Young} = 3,26 - 16,92X_1 + 14,07X_1^2 - 0,32X_2 - 1,67X_2^2 - 3,06X_3 - 1,57X_3^2 + 0,32X_1X_2 + 5,12X_1X_3 - 3,03X_2X_3 \quad [4.5]$$

O análise de variância obtida pelo ajuste dos dados ao modelo da Equação 4.5 estão apresentados na Tabela 4.26. Verifica-se um coeficiente de correlação de 0,83 e o F (3,79) calculado foi superior 1,39 vezes que o F tabelado, sendo então um modelo significativo, mas não preditivo nas condições de processo estipuladas, segundo NETO et al. (2001). A

partir do modelo obtido (Equação 4.5) pode-se gerar as superfícies de respostas em função das variáveis significativas.

Tabela 4.26. ANOVA do ajuste do modelo obtido para o módulo de Young.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	7223,76	9	802,634	3,79	2,72	0,83
Resíduos	1482,62	7	211,803			
Falta de ajuste	1482,61	5	296,522			
Erro puro	0,01	2	0,007			
Total	8706,33	16				

4.4.4.4. Superfícies de Resposta

A influência da concentração de glicerol e o pH nas propriedades mecânicas obtidas no teste de tração: tensão de ruptura, elongação e módulo de Young, pode ser analisada nas Figuras 4.21, 4.22 e 4.23, onde pode-se observar que a tensão de ruptura e o módulo de Young foram maiores em baixas concentrações de glicerol (21,59 g/100 g de F.A), entretanto, a elongação foi menor. Maiores valores de elongação foram obtidas em altas concentrações de glicerol (38,41 g/100 g de F.A).

Os plastificantes atuam diminuindo as forças intermoleculares entre as cadeias de macromoléculas adjacentes, provocando redução da temperatura de transição vítrea (JASTRZEBSKI, 1987). Consequentemente, ocorre um aumento da flexibilidade e uma diminuição da resistência do material.

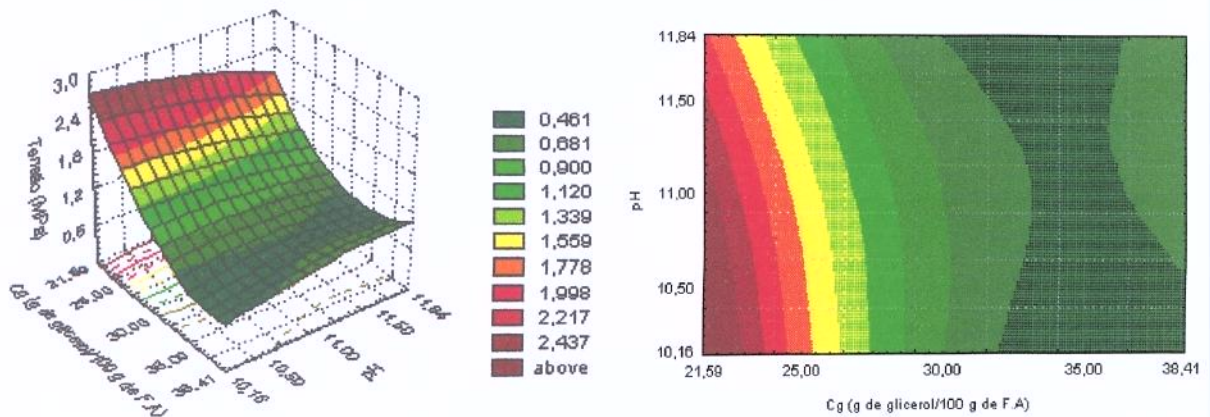


Figura 4.21. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da tensão de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.

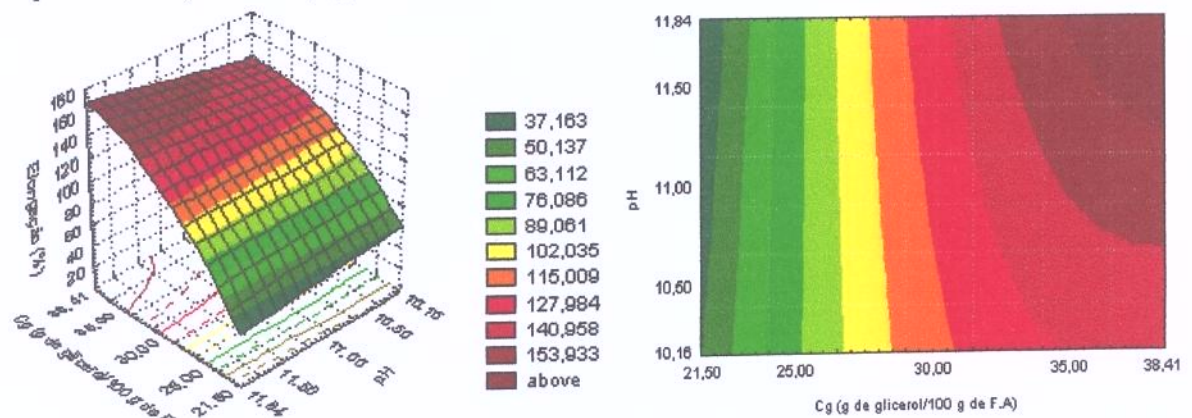


Figura 4.22. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da elongação na ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.

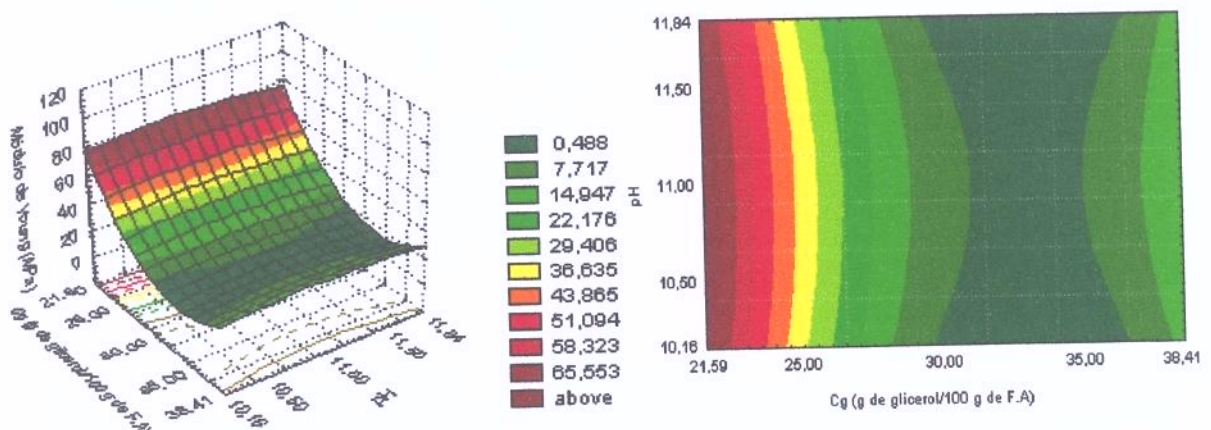


Figura 4.23. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação do módulo de Young em função da concentração de glicerol (Cg) e do pH fixando o valor da temperatura de processo (Tp) em 85°C.

FAIRLEY et al. (1996) constataram que em diferentes tipos de biofilmes comestíveis, ao aumentar a concentração de plastificante, ocorreu uma diminuição significativa na tensão na ruptura, no módulo de Young e um aumento na porcentagem de alongação. O mesmo foi observado em biofilmes de isolado protéico de soro de leite (McHUGH & KROCHTA, 1994; KAYA & KAYA, 2000; FANG et al., 2002); em biofilmes de caseína (CHICK & USTUNOL, 1998); em biofilmes de isolado protéico de semente de girassol (AHYLLON-MEIXUEIRO et al., 2000); em biofilmes de gelana (YANG & PAULSON, 2000); em biofilmes combinados de caseinato de sódio e amido (ARVANITOYANNIS & BILIADERIS, 1998); em biofilmes de proteína de ervilha (CHOI & HAN, 2001) e em biofilmes de amilose e amilopectina (MYLLÄRINEN et al., 2002a).

Os biofilmes de amilopectina, amilose e amido sem adição de plastificante apresentaram maior tensão na ruptura e menor alongação do que os biofilmes com plastificante. Maior concentração de amilose aumentou a tensão na ruptura e a alongação, até valores máximos de 60 MPa e 6% de alongação (amilose pura). Em biofilmes de amilopectina pura obteve-se valores máximos de tensão e alongação de 38 MPa e 4%. O efeito do plastificante nos biofilmes de amilopectina pura foi maior quando comparado com os biofilmes de amilose pura, obtendo-se um menor valor de tensão na ruptura (5 MPa) e um maior valor de alongação (LOURDIN et al., 1995).

Observa-se que os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram maior tensão na ruptura, na região entre valores de pH 10,2 e 11,2 e concentrações baixas de glicerol (21,59 g/100 g de F.A). O maior valor de alongação foi obtido, na região entre valores de pH 10,6 e 11,8 e concentrações de glicerol de 34 e 38,41 g/100 g de F.A. Também observa-se que o maior valor do módulo de Young foi obtido em concentrações baixas de glicerol (21,59 a 22,50 g/100 g de F.A) e em toda a faixa de pH estudada.

ANKER et al. (2000) estudou o efeito do tipo de plastificante (glicerol e sorbitol) e do pH nas propriedades mecânicas (tensão e alongação) dos biofilmes de proteína de soro de leite, concluindo que esses dois fatores influenciaram na microestrutura dos biofilmes. Um incremento de pH 7 a 9 provocou a formação de uma estrutura densa da proteína, aumentou a tensão e a alongação e a permeabilidade ao oxigênio diminuiu nos biofilmes com glicerol.

YOSHIDA (2002) estudou os efeitos da concentração de proteína, glicerol e pH nas propriedades de tensão e alongação dos biofilmes de soro de leite bovino, obtendo valores de tensão e alongação na ordem de 2,95 MPa , 6,72 MPa e alongações de 7,49% a 59,04%. A melhor formulação encontrada foi: concentração de proteína 6,5%; concentração de plastificante 3% e pH 7.

A relação entre a concentração de glicerol (Cg) e a temperatura de processo pode ser observada nas Figuras 4.24, 4.25 e 4.26, para a tensão, alongação e módulo de Young, respectivamente. Observa-se que o efeito do glicerol é mais pronunciado do que o efeito da temperatura de processo.

A maior tensão e módulo de Young foi encontrada em menores concentrações de glicerol e valores de temperatura de processo (Tp) na faixa entre 77° e 84°C. Não obstante, essa região correspondeu aos menores valores de alongação. Um aumento da concentração de glicerol provocou um aumento da alongação, portanto, a região de maior valor de alongação localiza-se entre valores de concentração de glicerol de 33 a 38,41 g/100 g de F.A, e na mesma faixa de temperatura de processo.

SCHMIDT et al. (1978) concluíram que soluções de soro aquecidas de 90 a 100°C resultam na formação de géis fortes, enquanto que soluções aquecidas a 80°C resultaram em géis de força média. A coesividade dos géis de proteína do soro formados a 80°C foi maior do que a coesividade de géis aquecidos a 90°C (RIZVI, 1986).

GRAAF (2000) que as propriedades mecânicas de tensão e alongação dos biofilmes a base de glúten de trigo não melhoraram quando foram submetidos a tratamentos térmicos durante 30 minutos, mas observou-se um aumento na tensão e alongação, nos biofilmes submetidos a tempos maiores de tratamento térmico (10 horas). Isto pode ser o resultado de dois processos: a formação de cadeias adicionais por reticulação e o arranjo de moléculas resultando em uma mais complexa.

CHOI & HAN (2001) obtiveram biofilmes a partir de uma solução de proteína de ervilha desnaturada a 90°C por 25 minutos. Os biofilmes de proteína desnaturada apresentaram melhores propriedades mecânicas de tensão, alongação e módulo de Young do que os elaborados com proteína não desnaturada.

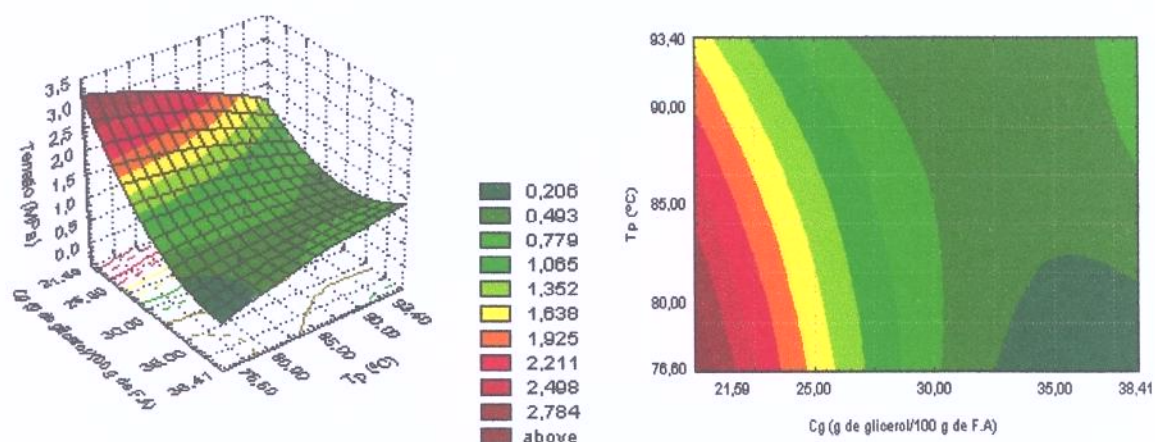


Figura 4.24. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da tensão de ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.

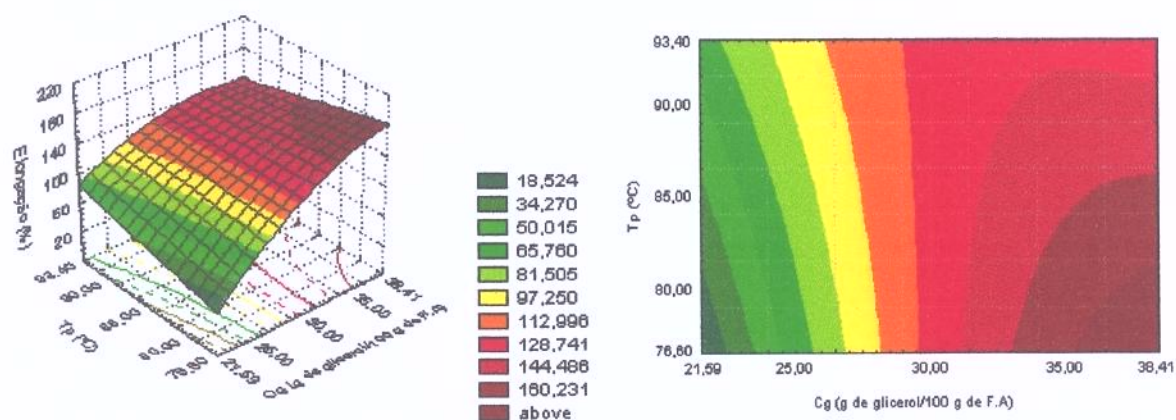


Figura 4.25. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da elongação na ruptura em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.

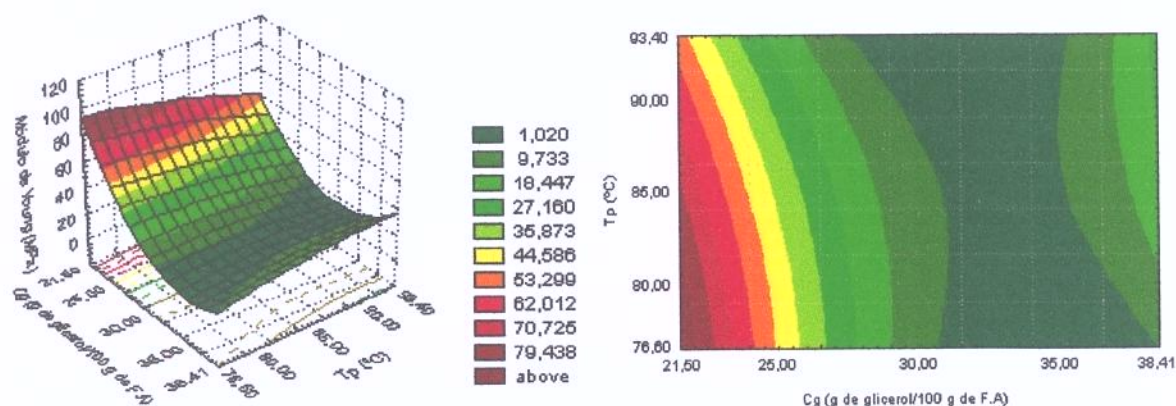


Figura 4.26. Superfície de resposta e respectivas curvas de contorno da variação do módulo de Young em função da concentração de glicerol (Cg) e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor de pH em 11.

A influência do pH e a temperatura de processo (T_p) na tensão, elongação e módulo de Young pode ser analisada nas Figuras 4.27, 4.28 e 4.29, respectivamente. Observa-se que para a tensão, a região entre valores de temperatura 77° e 86°C e na faixa de pH 10,5 e 11,5 definiu uma maior tensão na ruptura, cujos valores não são muito altos porque correspondem aos biofilmes elaborados com 30% de glicerol.

No caso da elongação, nota-se que a região de máximo valor correspondeu à região de mínimo valor da tensão; a qual está localizada entre altos valores de pH e altos valores de temperatura de processo (90° a 93°C), mas também observa-se que mantendo a concentração de glicerol em 30 g/100 g de F.A e variando a temperatura e pH, na faixa estudada, os biofilmes apresentaram boa flexibilidade, portanto valores de elongação em média, mais altos, quando comparado aos biofilmes de amido ou de proteína citados na literatura.

A região de maior valor do módulo de Young apresentou-se entre valores de pH 10,7 e 11,8 e entre valores de temperatura de processo de 77° e 85°C , observa-se que essa região está dentro da região de maiores valores de tensão na ruptura.

Na literatura, não se encontrou estudos que analisem o efeito da interação do pH e temperatura, nas faixas estudadas, sobre as propriedades mecânicas. Os valores de temperatura utilizados correspondem a temperaturas de desnaturação da proteína. Esta área de estudo está sendo desenvolvida pois se apresenta como uma alternativa tecnológica, para elaborar recobrimentos, surfactantes, adesivos e biofilmes.

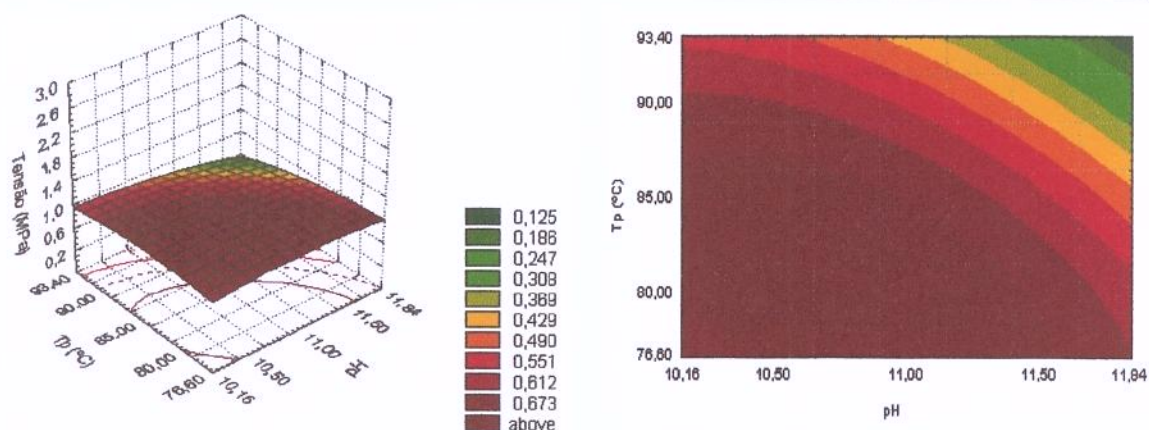


Figura 4.27. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da tensão de ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.

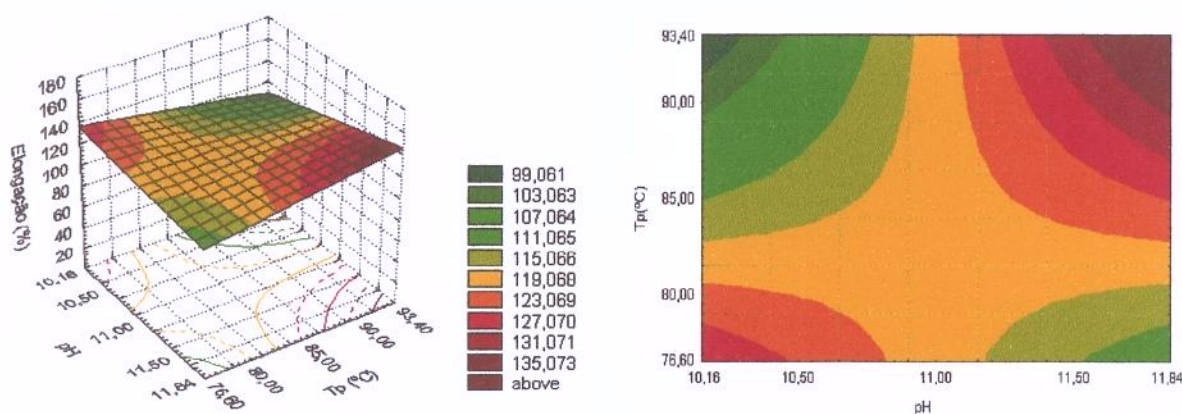


Figura 4.28. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da elongação na ruptura em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.

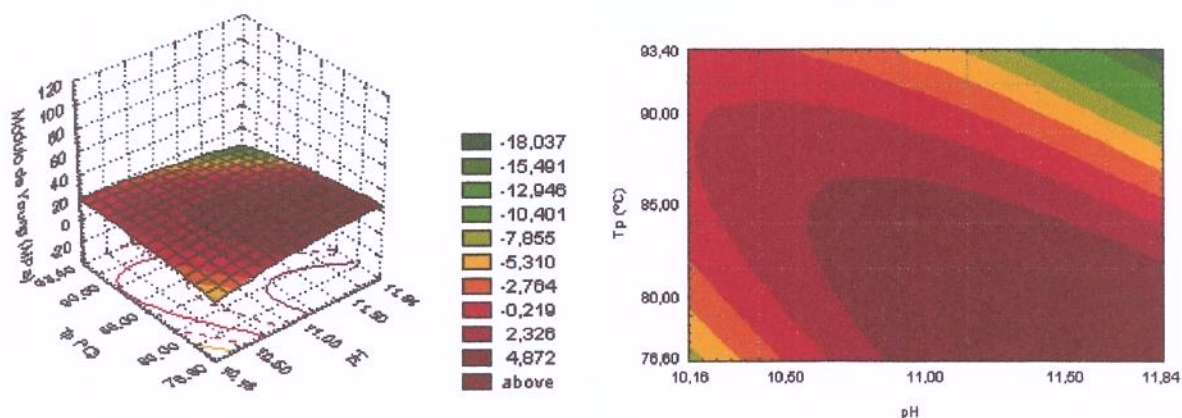


Figura 4.29. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação do módulo de Young em função do pH e da temperatura de processo (Tp) fixando o valor da concentração de glicerol (Cg) em 30%.

A desnaturação térmica conduz à dissociação da proteína em subunidades, ao desdobramento de sua estrutura e à exposição de seus grupos hidrofóbicos. A desnaturação de suas frações depende de diversas condições, tais como , pH, força iônica (μ), presença de grupamentos sulfidrílicos ou dissulfídicos, tempo de aquecimento e taxa de aquecimento e resfriamento (PETRUCCELLI & AÑÓN, 1994).

Segundo SCHMIDT et al. (1978), a desnaturação de proteínas é altamente dependente do pH e a razão de desdobramento pode ser influenciada pelo pH de aquecimento. O ajuste de pH permite encontrar um balanço entre a razão de desnaturação e a razão de agregação, bem como entre forças de atração e forças de repulsão entre as proteínas (MANGINO, 1984).

Segundo MORR & HÁ (1993), soluções de concentrado proteico de soro de leite com pH entre 6,0 e 7,5 produziram géis transparentes, elásticos e com altos valores de dureza. Géis formados em valores de pH 6,0 ou menores são descritos como mais coagulados e menos elásticos do que géis formados em valores de pH 7,0 a 9,0.

Depois de analisadas todas as relações dos fatores estudados e seus efeitos sobre as propriedades mecânicas obtidas no teste de tração, observou-se que a melhor formulação para a tensão e o módulo de Young consistiu na menor concentração de glicerol (21,59 g/100 g de F.A), pH na faixa de 10,2 e 11,5 e temperatura de processo na faixa de 77° e 86°C. No caso da elongação, a melhor formulação consistiu na maior concentração de glicerol, altos valores de pH ($>10,7$) e temperatura de processo na faixa de 77° e 90°C.

4.4.5. Solubilidade

Na Tabela 4.27 estão apresentados os efeitos da concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp) sobre a solubilidade e as suas respectivas interações. Nesta tabela pode-se observar que a concentração de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp) apresentam um efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) sobre a solubilidade. No entanto o efeito de interação do pH e a temperatura de processo (Tp) não foi significativo nos intervalos de confiança analisados.

Tabela 4.27. Efeito dos fatores calculados para a solubilidade no planejamento completo 2^3 .

Fator		Efeito (%)	Erro Padrão	p
Linear	Média	48,2*	0,1	0,000008
	Cg	7,3*	0,3	0,001880
	pH	3,5*	0,3	0,008034
	Tp	3,7*	0,3	0,007186
Interações	Cg x pH	-2,3*	0,3	0,018912
	Cg x Tp	-4,4*	0,3	0,005115
	pH x Tp	0,4	0,3	0,305627

Valores estatisticamente significativos: * $p < 0,05$, ** $p < 0,10$

Da Tabela 4.27, observa-se que o aumento na concentração de glicerol de 25 até 35 g/100 g de F.A provocou um aumento, em média, de 7,3%, na solubilidade. Um aumento do pH de 10,5 até 11,5 provocou um aumento, em média, de 3,5%; um efeito semelhante apresentou a temperatura de processo, cujo aumento de 80°C até 90°C causou um aumento de 3,7%, em média, na solubilidade.

O efeito da interação da concentração de glicerol (Cg) e a temperatura de processo (Tp) causou uma diminuição, em média, de 4,4% na solubilidade. Assim mesmo, o efeito

da interação da concentração do glicerol (Cg) e o pH provocou uma diminuição de 2,3% na solubilidade.

Apresenta-se, na Figura 4.30, uma comparação entre os efeitos dos fatores estudados sobre a solubilidade dos biofilmes de farinha de amaranto.

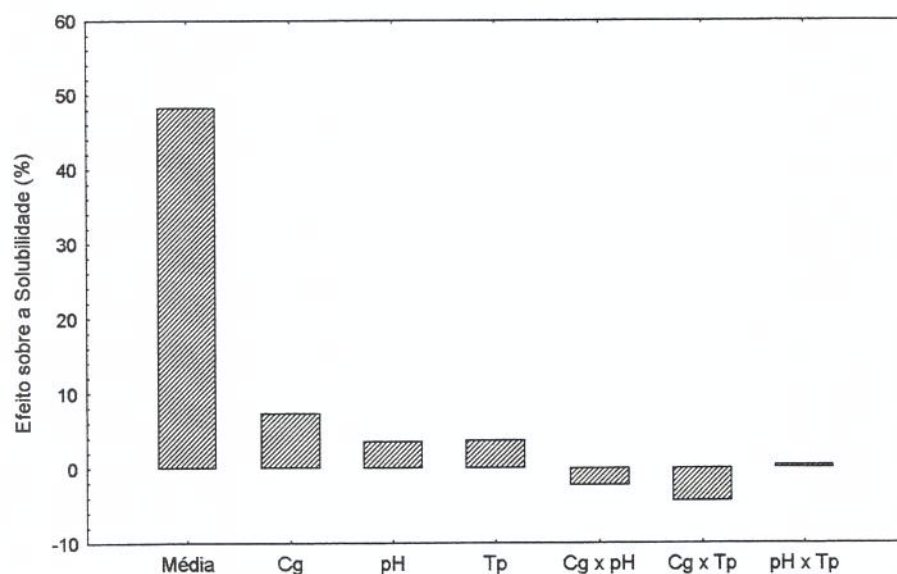


Figura 4.30. Comparação entre os efeitos dos fatores sobre a solubilidade no planejamento completo 2^3 .

Os coeficientes de regressão obtidos utilizando o programa Statistica 5.0 estão apresentados na Tabela 4.28. Os coeficientes significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$) foram considerados para a obtenção do modelo estatístico, o qual está apresentado na Equação 4.6.

Tabela 4.28. Coeficientes de regressão do modelo quadrático multivariável para a solubilidade

	Fator	Coeficiente (%)	Erro Padrão	p
Linear	Média	40,82*	0,26	0,00004
	Cg	3,36*	0,12	0,00131
	pH	1,46*	0,12	0,00688
	Tp	1,36*	0,12	0,00798
Interações	Cg x pH	-1,14*	0,16	0,01891
	Cg x Tp	-2,22*	0,16	0,00511
Quadrático	Cg x Cg	4,20*	0,13	0,00102
	pH x pH	5,70*	0,13	0,00055
	Tp x Tp	3,32*	0,13	0,00163

Valores estatisticamente significativos: *p>0,05, **p>0,10

$$\text{Solubilidade} = 40,82 + 3,36X_1 + 4,20X_1^2 + 1,46X_2 + 5,70X_2^2 + 1,36X_3 + 3,32X_3^2 - 1,14X_1X_2 - 2,22X_1X_3 \quad [4.6]$$

A análise de variância obtida pelo ajuste dos dados ao modelo da Equação 4.6 estão apresentados na Tabela 4.29. Verifica-se um coeficiente de correlação de 0,80, e através do teste F, conferiu-se a significância estatística do modelo para a solubilidade, onde comparando o F calculado igual a 3,88 com o F tabelado igual a 2,59, a um nível de 90% de confiança, obtém-se um modelo estatisticamente significativo, uma vez que o F calculado é 1,5 vezes maior que o F tabelado, mas não preditivo, segundo NETO et al. (2001).

Tabela 4.29. ANOVA do ajuste do modelo obtido para a solubilidade.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	719,09	8	89,89	3,88	2,59	0,80
Resíduos	185,03	8	23,13			
Falta de ajuste	184,62	6	30,77			
Erro puro	0,40	2	0,20			
Total	904,12	16				

4.4.5.1. Superfícies de Resposta

As análises das superfícies de resposta e curvas de contorno, obtidas a partir do modelo estatístico, estão apresentados na Figura 4.31, permitindo uma melhor visualização de uma formulação para a obtenção da menor solubilidade, uma vez que a resistência à água é uma característica desejável nos biofilmes.

Nas Figuras 4.31a e 4.31b, observa-se que na região entre os valores da concentração de glicerol de 23 e 30 g/100 g de F.A, valores de pH 10,6 e 11,3 e valores de temperatura de 77° e 86°C, uma menor solubilidade dos biofilmes foi encontrada. Observa-se também que quanto maior a concentração de glicerol, maior foi a solubilidade dos biofilmes, devido à sua característica hidrofílica que alonga, dilui e afrouxa a estrutura dos biofilmes, resultando no aumento da capacidade de ligar-se a água. O mesmo resultado foi verificado por YOSHIDA (2002) e MAHMOUD & SAVELLO (1993) em biofilmes de proteína de soro de leite, STUCHELL & KROCHTA (1995) em biofilmes de proteína de soja e SARMENTO (1999) em biofilmes de gelatina reticulada.

KIM et al. (2002) relataram um efeito diferente do glicerol na solubilidade. Esses autores observaram que um incremento da concentração de plastificante provocou uma diminuição na solubilidade, em biofilmes de amido altamente carboximetilado. O valor

mínimo de solubilidade obtido foi de 59,08%, utilizando glicerol como plastificante. Maiores valores de solubilidade foram obtidos quando foi usado sorbitol.

A relação entre o pH e a temperatura de processo pode ser observada na Figura 4.31c, onde a região entre valores de pH 10,7 e 11,3 e para temperaturas entre 80° e 87°C, definiu a menor solubilidade. Devido ao efeito do pH alcalino sobre a estabilidade térmica das proteínas do amaranto (MARTÍNEZ & AÑÓN, 1996), pode-se supor que nessa faixa de temperatura utilizada, as proteínas foram desnaturadas (albumina-1, albumina-2 globulina, gliadinas).

Segundo PETRUCCELLI & AÑÓN (1994), tratamentos térmicos intensos (98°C/30') e alta concentração de proteína de soja (10%) em pH 7 ou 9 resultaram em agregação e perda da solubilidade. Segundo as autoras, nestes isolados, as globulinas 7S e 11S foram totalmente desnaturadas, formando agregados da subunidade AB-11S ligados por pontes dissulfídicas e formação de agregados entre β -7S e B-11S. Todavia, tratamentos térmicos menos intensos (80°C/6 min) em pH 7 e 4% de concentração protéica, resultaram em aumento da solubilidade e da hidrofobicidade superficial, o que foi atribuído à desnaturação total da 7S e parcial da fração 11S.

TIEN et al. (2000) estudaram o efeito do tratamento térmico sobre a solubilidade, em biofilmes a base de proteína de soro de leite reticuladas e incluídas em uma matriz celulósica, concluindo que os dois tipos de tratamento térmico (irradiação e aquecimento 80°C/30min) diminuíram a solubilidade dos biofilmes quando comparados com os que não sofreram tratamento térmico.

YOSHIDA (2002) trabalhando com biofilmes de proteína de soro de leite bovino obteve a menor solubilidade da proteína a baixas concentrações de glicerol e pH básico (7,9).

Neste estudo, a melhor formulação para a resposta solubilidade, consistiu na concentração de glicerol de 22,5 g/100 g de F.A, pH 10,7 e temperatura 82°C.

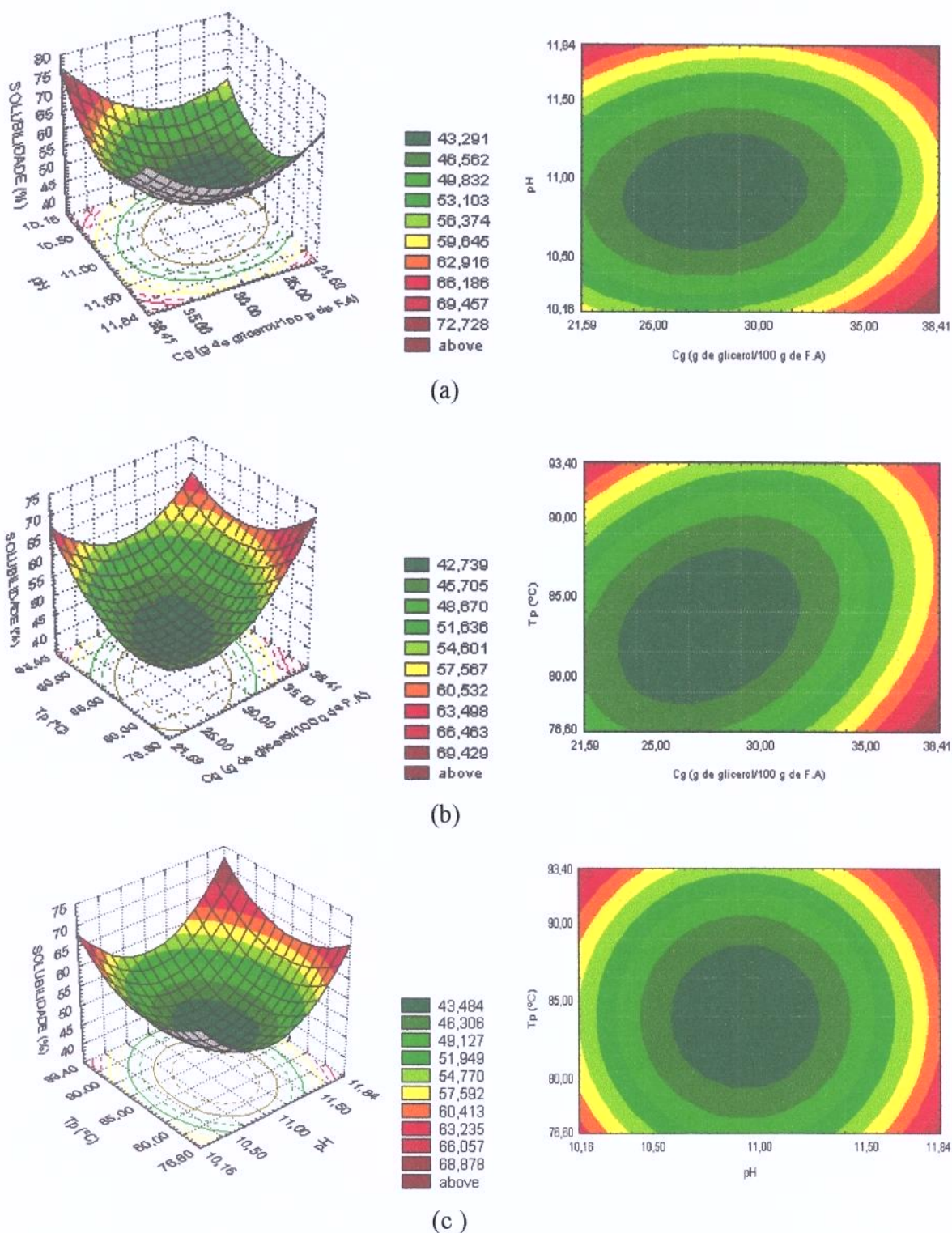


Figura 4.31. Superfícies de resposta e respectivas curvas de contorno da variação da solubilidade em função: (a) Cg e pH, fixando o valor de Tp em 85°C (b) Cg e Tp, fixando o valor de pH em 11 e (c) pH e Tp, fixando o valor de Cg em 30%.

4.5. Caracterização do biofilme a base de farinha de amaranto

Após as análises das superfícies de respostas, obtidas no planejamento completo, foi escolhida a formulação ótima, a fim de obter um filme com baixa solubilidade, resistência mecânica aceitável (força e tensão na ruptura), dentro da faixa de valores obtidos nos dois planejamentos, e boa flexibilidade. Essa formulação consistiu em: 22,5 g glicerol/100 g de farinha, pH 10,7 e temperatura de aquecimento 82°C. Os biofilmes de farinha de amaranto foram elaborados, baseado nessa formulação, para sua caracterização de acordo às propriedades mais importantes como são: solubilidade, mecânicas e de barreira ao vapor de água. Os resultados destas medições e seus respectivos desvios padrão estão apresentados na Tabela 4.30.

Segundo os resultados mostrados na Tabela 4.30, os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram uma excelente propriedade de barreira ao vapor de água, já que o valor de permeabilidade obtido neste trabalho foi menor que o relatado por alguns autores para biofilmes de amido e de proteína. Visto que, os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram um maior conteúdo de amido, o qual têm uma maior porcentagem de amilopectina (92,42%) pensou-se que este filme apresentaria uma pobre permeabilidade ao vapor de água, isto é, um valor semelhante ao obtido por RINDLAV-WESTLING et al. (1997) para os biofilmes de amilopectina ($5 \text{ gmmh}^{-1}\text{m}^{-2}\text{kPa}^{-1}$), mas a presença de lipídeos no filme, mudou este comportamento e permitiu melhorar a permeabilidade ao vapor de água. Os lipídeos podem formar interações com o amido e a proteína presentes no filme de farinha de amaranto criando regiões hidrofóbicas que impediriam a difusão da água, através do filme. Portanto, a característica hidrofóbica do lipídeo permitiu obter um filme com menor permeabilidade ao vapor de água do que outros biofilmes de amido relatados na literatura. O efeito do lipídeo sobre a permeabilidade ao vapor de água também foi observado por GARCÍA et al. (2000). Esses autores obtiveram valores de permeabilidade para biofilmes de amido de milho, com conteúdos de amilose de 25 e 65%, em torno de $0,691 \text{ g.mm.h}^{-1}\text{m}^{-2}\text{kPa}$ e $0,6336 \text{ g.mm.h}^{-1}\text{m}^{-2}\text{kPa}$, respectivamente, utilizando óleo de girassol. Entretanto, esses biofilmes, elaborados sem adição de lipídeos, apresentaram valores em torno de $0,925 \text{ g.mm.h}^{-1}\text{m}^{-2}\text{kPa}$ e $0,6732 \text{ g.mm.h}^{-1}\text{m}^{-2}\text{kPa}$, respectivamente.

Tabela 4.30. Caracterização do biofilme de farinha de amaranto segundo a formulação ótima.

Propriedades	Valores obtidos
Solubilidade	$42,25 \pm 1,82\%$
Mecânicas ^a	
<u>Teste de perfuração:</u>	
▪ Força na ruptura	$2,34 \pm 0,09 \text{ N}$
▪ Deformação na ruptura	$15,62 \pm 0,65\%$
<u>Teste de tração:</u>	
▪ Tensão na ruptura	$1,45 \pm 0,04 \text{ MPa}$
▪ Elongação na ruptura	$83,74 \pm 5,11\%$
▪ Módulo de Young	$215,0 \pm 1,4 \text{ MPa}$
<u>De barreira</u>	
▪ Permeabilidade ao vapor de água	$0,0093 \pm 0,0008 \text{ g.mm.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{kPa}^{-1}$
Espessura média	$0,083 \pm 0,005$

^a Biofilmes condicionados a 25°C em 58% de UR (NaBr) por 48 horas.

Visualiza-se o biofilme de farinha de amaranto como um sistema complexo que é o resultado das interações dos dois polímeros: amido e proteína que formam a matriz principal; com o lipídeo, glicerol e a água, tal como observa-se na Figura 4.32.

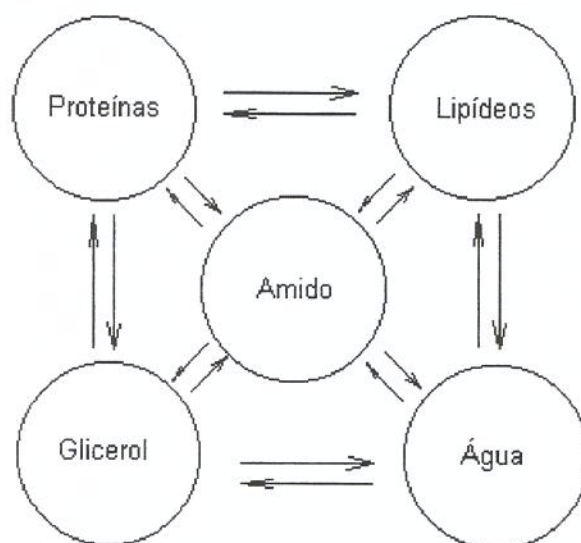


Figura 4.32. Esquema das possíveis interações entre os cinco principais componentes dos biofilmes de farinha de amaranto: amido, proteína, lipídeo, glicerol e água.

Devido à não ter sido encontrado na literatura estudos sobre biofilmes a base de amido e proteína com adição de lipídeos, semelhantes ao estudado, decidiu-se por fazer biofilmes de amido de amaranto segundo a formulação ótima encontrada para os biofilmes de farinha de amaranto; com o objetivo de comparar e determinar o efeito da proteína e do lipídeo na solubilidade e nas propriedades e mecânicas dos biofilmes de farinha de amaranto. Também, foi elaborado biofilmes de amido de amaranto sem variar o pH, com a mesma concentração de glicerol (22,5%) e com o mesmo tratamento térmico (82°C). Os resultados dos testes mecânicos e da solubilidade desses biofilmes estão apresentados na Tabela 4.31.

Tabela 4.31. Solubilidade e propriedades mecânicas dos biofilmes de farinha e amido de amaranto.

Propriedades	Biofilme de farinha	Biofilme de amido ^a	Biofilme de amido ^b
▪ Solubilidade	42,2±1,8	62,5±2,5	93,3±5,3
▪ <u>Teste de perfuração:</u>			
Força na ruptura (N)			
58% UR	2,3±0,1	4,5±0,2	2,9±0,1
75% UR	0,44±0,03	0,43±0,02	0,32±0,03
Deformação (%)			
58% UR	15,6±0,6	3,7±0,3	8,4±0,66
75% UR	33,5±1,6	41,5±2,2	59,8±7,2
▪ <u>Teste de tração:</u>			
Tensão na ruptura (MPa)			
58%	1,45±0,04	6,5±0,2	3,4±0,2
75%	0,58±0,02	0,63±0,05	0,44±0,03
Elongação (%)			
58% UR	83,7±5,1	2,27±0,09	4,2±0,5
75% UR	114,8±14,6	150,3±1,0	141,0±13,0
Módulo de Young (MPa)			
58% UR	215,0±1,4	296,9±6,3	125,5±3,1
75% UR	0,90±0,15	1,78±0,06	0,35±0,02

^a Filme elaborado segundo a formulação ótima^b Filme elaborado sem variar o pH (pH neutro)

Nota-se que os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram menor solubilidade do que os biofilmes de amido. Essa diferença de solubilidade entre os biofilmes de farinha e os biofilmes de amido está relacionada à desnaturação das proteínas presentes na farinha

de amaranto. A solubilidade dos biofilmes de farinha de amaranto foi maior do que o relatado para biofilmes de proteína de soja (PEREZ-GAGO et al., 1999) e para biofilmes mistos de zeína e amido (14,18%) (PARRIS et al., 1997), mas também, foi semelhante à solubilidade dos biofilmes de proteína de ervilha desnaturada (CHOI & HAN, 2001) e dos biofilmes de proteína de leite de soro desnaturadas por processos térmicos (80°C/ 10 min) relatado por PEREZ-GAGO & KROCHTA (2001). Por outro lado, quando comparado com o valor de solubilidade dos biofilmes de amido, verifica-se que a solubilidade dos biofilmes de farinha de amaranto foi menor do que o relatado por KIM & PARK (2002) para biofilmes de amido carboximetilado (60,38 a 72,59%).

A desnaturação das proteínas devido à temperatura de aquecimento e o pH permitiu obter biofilmes de farinha de amaranto com menor solubilidade quando comparado com os biofilmes de amido. A temperatura de aquecimento de 82°C, poderia causar a desnaturação da maior parte das proteínas: albumina-1, glutelina e globulina. MARTÍNEZ & AÑÓN (1996) observaram que a temperatura de desnaturação da albumina-1 foi de 64°C, entretanto a glutelina e a globulina apresentaram uma fração protéica de baixa estabilidade térmica, cujas temperaturas de desnaturação foram de 64°C e 70°C e outra de alta estabilidade térmica ($T_D=94^\circ\text{C}$).

Além disso, nota-se que os biofilmes de amido elaborados sem variar o pH apresentaram maior valor de solubilidade que os biofilmes elaborados a pH 10,7. Estes resultados poderiam estar relacionados à cristalinidade, já que é sabido que nas áreas cristalinas os grânulos de amido são insolúveis, daí pode-se pensar que os biofilmes de amido elaborados a pH 10,7 desenvolveram maior cristalinidade durante a formação e armazenamento do filme que os elaborados a pH 7. O preparo da solução filmogênica de amido, em meio alcalino e altas temperaturas, poderia ter causado a quebra das cadeias poliméricas da amilopectina, em maior proporção que a amilose, devido ao alto conteúdo deste polímero no amido de amaranto, e consequentemente, o desdobramento das hélices lineares curtas da amilopectina (enlaces α 1,6). A aproximação destas hélices lineares curtas, durante a formação do filme, permitiria a formação de cristais, dando ao filme maior cristalinidade melhorando suas propriedades mecânicas como pode-se observar na Tabela 4.31.

O filme de amido elaborado a pH 10,7 apresentou maiores valores de força e de tensão na ruptura, mas apresentou menores valores de deformação e alongação. Além disso, observou-se que as soluções filmogênicas do amido a pH 10,7 foram mais viscosas que as soluções filmogênicas do amido a pH 7,0; o filme foi mais estável às condições ambientais, isto é, menos higroscópico em valores de umidade relativa em torno de 58%. LOURDIN et al. (1995) elaboraram biofilmes de amilopectina pura, utilizando glicerol como plastificante, reportando valores de tensão de 5 MPa e alongação de 25%.

Os biofilmes de amido e farinha de amaranto, condicionados a 58% de UR, apresentaram uma diferença entre os valores de força de ruptura e de deformação, sendo os biofilmes de farinha de amaranto os menos resistentes (1,45 MPa tensão), mas também, os mais flexíveis (83,74% alongação); já que apresentaram menores valores de força de ruptura e tensão na ruptura e maiores valores de deformação e de alongação quando comparados aos biofilmes de amido. O teor de proteínas e de lipídeos, presentes na farinha de amaranto, deu características mecânicas diferentes aos biofilmes obtidos a partir dessa matéria prima, conferindo maior flexibilidade aos biofilmes e diminuindo, portanto, a resistência (força e tração na ruptura). Os biofilmes ricos em amilose apresentaram uma boa resistência (25 MPa), mas pouca flexibilidade (5%); entretanto os biofilmes de amilopectina são menos resistentes (5 MPa) e mais flexíveis (25%), nas mesmas concentrações de plastificante (LOURDIN et al., 1995). Os valores de alongação obtidos neste estudo são maiores que os relatados para biofilmes de amido (amilose e amilopectina) e proteína, na mesma concentração de glicerol. Por exemplo, KIM et al. (2002) encontraram valores de tensão de 20 MPa e alongação de 4,2% em biofilmes de amido carboximetilado com espessura de 0,087 mm. ARVANITOYANNIS et al. (1996) observaram valores de 37,6 MPa e 6,4% para biofilmes de amido de milho com espessura de 0,1 mm. Biofilmes de proteína de ervilha desnaturadas por tratamento térmico (10 min) apresentaram valores de tensão e alongação de 20 MPa e 5%, respectivamente (CHOI & HAN, 2002). Em biofilmes de glúten de trigo foram obtidos valores de 2,6 MPa (tensão) e 22% (alongação) (IRISSIN-MANGATA et al., 2001) e em biofilmes de proteína de soro de leite foram verificados valores de 1,9 MPa e 26,1% (espessura 0,10 mm) para a tensão e alongação, respectivamente (KAYA & KAYA, 2000).

Após a comparação dos valores das propriedades mecânicas com os observados na literatura, verifica-se que os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram uma alta plasticidade, além do efeito do glicerol na plastificação do filme; desta forma, pensa-se que, os lipídeos poderiam também exercer um efeito plastificante no filme, aumentando os valores de alongação. O efeito do lipídeo sobre a alongação também foi observado por FANG et al. (2002) e por SHELLHAMMER & KROCHTA (1997), que estudaram o efeito do lipídeo nos biofilmes de proteína de soro de leite.

Os biofilmes de farinha e amido de amaranto elaborados segundo a formulação ótima e condicionados a 75% de UR por um período de 48 horas não apresentaram diferenças entre os valores das propriedades mecânicas (força, deformação, tensão, alongação e módulo de Young). Esse resultado indica que os biofilmes de amido são menos sensíveis em umidades relativas de 58% que os biofilmes de farinha de amaranto, sendo que em umidades relativas altas todos os biofilmes apresentaram o mesmo comportamento.

4.5.1. Cor

Os valores medidos dos parâmetros de cor e da opacidade dos biofilmes de farinha de amaranto e amido de amaranto, elaborados segundo a formulação ótima, e os biofilmes de amido de amaranto elaborados sem variar o pH, estão apresentados na seguinte tabela:

Tabela 4.32. Valores dos parâmetros de cor (a^* , b^* , L^* e ΔE^*) e opacidade para biofilmes de farinha e amido de amaranto.

	Biofilme de farinha de amaranto	Biofilme de amido ^a	Biofilme de amido ^b
a^*	$-1,16 \pm 0,01$	$-0,84 \pm 0,01$	$-0,82 \pm 0,02$
b^*	$8,09 \pm 0,49$	$1,99 \pm 0,04$	$1,85 \pm 0,02$
L^*	$89,97 \pm 0,28$	$92,36 \pm 0,21$	$92,20 \pm 0,01$
ΔE^*	$8,89 \pm 0,62$	$2,52 \pm 0,12$	$2,63 \pm 0,03$
Opacidade	$6,45 \pm 0,90$	$1,06 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,13$

Padrão de calibração: $a_o^* = -0,8$, $b_o^* = 1,44$, $L_o^* = 94,83$

^a Filme elaborado segundo a formulação ótima

^b Filme elaborado sem variar o pH (pH neutro)

Na Tabela 4.32 observa-se que a diferença de cor (ΔE^*) foi menor para os biofilmes de amido produzidos em ambas condições (pH 10,7 e pH 7,0) quando comparado com os biofilmes de farinha de amaranto, os quais apresentaram uma coloração meio amarelada ($b^*=8,09$), como verifica-se na Figura 4.33 e 4.34. Os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram valores de ΔE^* semelhantes aos obtidos para biofilmes de proteína de soja (KUNTE et al., 1997) e biofilmes de proteína miofibrilar de carne bovina (SOBRAL 2000); mas apresentaram maior coloração que os biofilmes de gelatina de pele suína ($\Delta E^*=3$) e de gelatina de couro bovino ($\Delta E^*=4$) elaborados por SOBRAL (2000), e do que os produzidos por GENNADIOS et al. (1996) à base de ovoalbuminas ($\Delta E^*=1,70$). SARMENTO (1999) e SAKANAKA (2002), trabalhando com biofilmes de gelatina reticulada, obtiveram valores de ΔE^* (~15 em média) mais altos do que os obtidos neste estudo. SAKANAKA (2002) observou que nos biofilmes condicionados a 75% de UR, a diferença de cor aumentou de maneira exponencial, atingindo valores da ordem de 28 ao final de três meses de estocagem, devido à continuação da reação de reticulação durante o armazenamento.

Os valores do croma a^* (Δa^*) são negativos e próximos a zero, tanto para os biofilmes de farinha de amaranto como para os biofilmes de amido, o qual indica que esses biofilmes não apresentaram coloração avermelhada.

Os biofilmes de farinha de amaranto apresentaram-se um tanto opacos quando comparado com os biofilmes de amido de amaranto (Figura 4.34). SOBRAL (2000) reportou valores de opacidade para os biofilmes de proteína miofibrilar de couro bovino semelhantes aos obtidos para os biofilmes de farinha de amaranto, na mesma espessura ($\epsilon = 0,085$ mm). No entanto, SARMENTO (1999) reportou valores de opacidade, mais baixos, para os biofilmes de gelatina reticulada.

Pelo exposto anteriormente, pode-se supor que as proteínas presentes na farinha de amaranto afetam o aspecto visual dos biofilmes obtidos, porquanto eles apresentaram valores de diferença de cor (ΔE^*) e opacidade diferentes aos biofilmes de amido e semelhantes a alguns biofilmes protéicos.

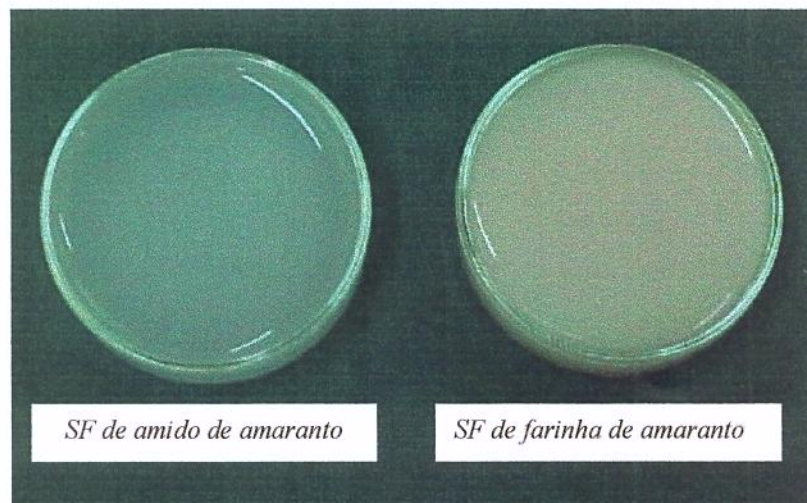


Figura 4.33. Aspecto visual da solução formadora do biofilme de amido e de farinha de amaranto (*Amaranthus caudatus*).

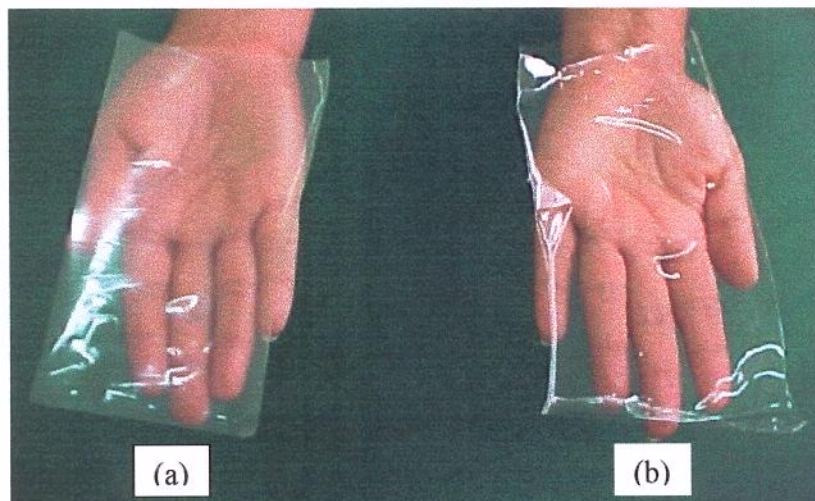


Figura 4.34. Aspecto visual dos biofilmes de (a) farinha de amaranto e (b) amido de amaranto elaborados segundo a formulação ótima.

4.5.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Os termogramas obtidos nas análises calorimétricas de varredura dos biofilmes de farinha e amido de amaranto condicionados em sílica gel durante 2 semanas estão apresentados na Figura 4.35. Os termogramas mostram uma transição vítrea e uma típica endoterma correspondente a um sistema parcialmente cristalino.

Pode-se observar a presença de três temperaturas de transição vítrea, nos termogramas, o qual foi mais notório no termograma correspondente ao filme de farinha de amaranto. Notou-se uma transição vítrea em baixíssimas temperaturas, outra em temperatura intermediária, e uma terceira, em temperaturas altas. MYLLÄRINEN et al (2002b) reportaram a presença de duas temperaturas de transição vítrea (uma baixa e outra alta), nos termogramas de biofilmes de amilose e amilopectina elaborados com glicerol como plastificante, e consideraram que essas duas temperaturas são uma propriedade dos amidos plastificados com glicerol e são independentes do processo. Essas temperaturas corresponderiam à primeira e terceira Tg obtidas neste estudo (Tabela 4.33), já que para biofilmes de amilopectina elaborados com 21% de glicerol, esses autores obtiveram valores de -45°C (T_{g1}) e de 93°C (T_{g2}) para biofilmes com 0% de umidade, os quais são semelhantes aos valores de T_{g1} ($-35,4^{\circ}\text{C}$) e T_{g3} ($80,8^{\circ}\text{C}$) obtidos para os biofilmes de amido, no entanto diferem mais do valor obtido para os biofilmes de farinha de amaranto ($T_{g1} = -26,0^{\circ}\text{C}$ e $T_{g3} = 147,9^{\circ}\text{C}$). A diferença entre os valores de Tg do biofilme de farinha e de amido de amaranto, também, foi observado na farinha e no amido de amaranto em pó (Figura 4.4).

O maior valor de T_{g3} foi observado nos biofilmes de farinha de amaranto, o qual poderia ser explicado pelo menor efeito plasticizante da água nesses biofilmes, na condição estudada (0% de UR), devido às áreas hidrofóbicas na superfície do filme formadas pelas interações amido-lípido, lípido-lípido e lípido-proteína. A presença de lipídeos nos biofilmes de farinha de amaranto, confere uma característica hidrofóbica ao biofilme, diminuindo a difusão da água e sua interação com o amido.

Os valores de Tg menores que zero, estão relacionados com a transição da fração rica em plastificante. Os valores da segunda temperatura de transição vítrea foram

semelhantes para os três biofilmes e estão na faixa de 55 - 58°C. Estes valores de T_{g2} indicariam a transição de uma fração menos rica em amido e de maiores interações água-amido; esta dedução foi feita baseada no trabalho de MYLLÄRINEN et al. (2002b), que reportaram uma temperatura de transição vítrea em torno de 50°C para biofilmes de amilopectina com um conteúdo de umidade ao redor de 10%. ARVANITOYANNIS et al. (1996), também verificaram uma temperatura de transição vítrea, em torno de 56,4 °C para biofilmes elaborados a base de amido de trigo (78%), água (17%) e caseinato de sódio (2%).

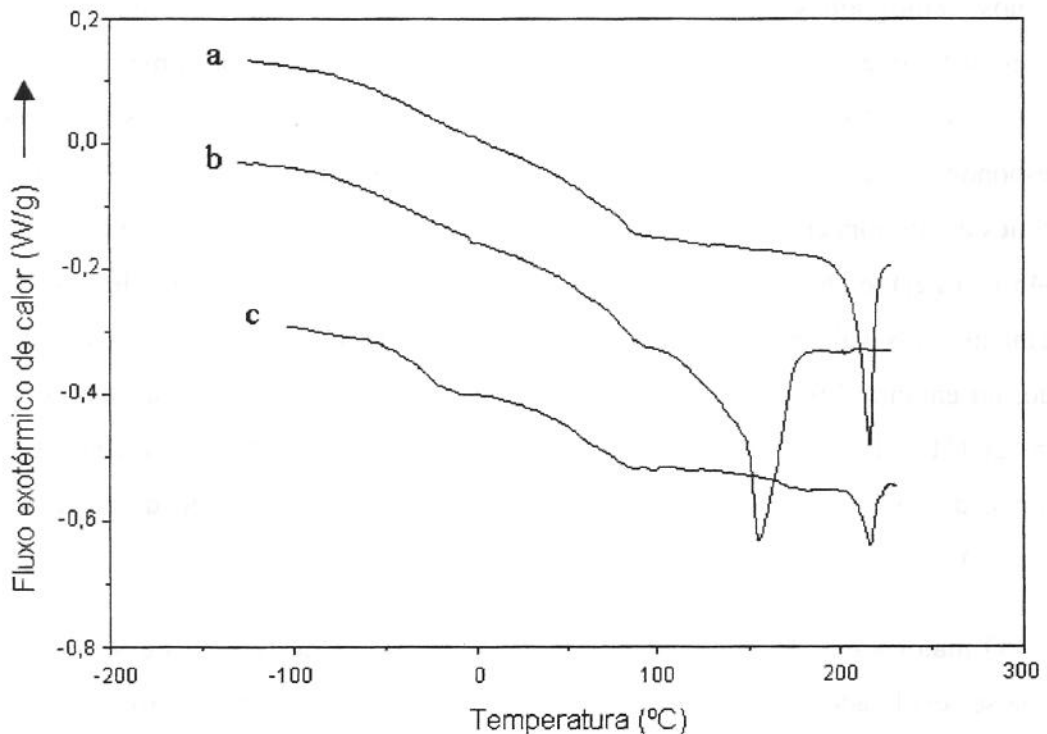


Figura 4.35. Termogramas de (a) Biofilme de amido pH 10,7; (b) Biofilme de amido pH 7,00; (c) Biofilme de farinha de amaranto pH 10,7 condicionadas a 25°C e em sílica gel por 2 semanas.

Tabela 4.33. Valores de temperatura de fusão (T_m) e temperatura de transição vítrea (T_g) para biofilmes de farinha e amido de amaranto (*Amaranthus caudatus*) condicionados a 25°C e em sílica gel por 2 semanas.

Parâmetros	Biofilme de farinha de amaranto	Biofilme de amido ^a	Biofilme de amido ^b
T_m (°C)	216,5±1,7	216,1±1,18	156,1±1,7
ΔH_m (J/g)	5,8±0,9	11,0±2,9	45,9±0,7
T_{g1} (°C)	-25,9±0,8	-35,4±3,4	-43,0±4,4
T_{g2} (°C)	57,5±2,4	58,1±1,0	55,7±2,6
T_{g3} (°C)	147,9±10,8	80,8±1,2	79,8±2,1

^a Filme elaborado segundo a formulação ótima (pH 10,7)

^b Filme elaborado sem variar o pH (pH neutro)

O valor de ΔH foi maior no filme de amido, elaborado sem variar o pH do que para os outros biofilmes. Isto indica a presença de maior quantidade de cristais não gelatinizados, nesse biofilme, o qual significa que a adição de NaOH (1N) provocou uma maior gelatinização nos biofilmes de amido pH 10,7 e de farinha de amaranto.

Também, nota-se que o valor de ΔH obtido para o filme de farinha de amaranto foi menor do que o observado para o filme de amido (pH 10,7). Essa diferença pode estar relacionada à presença de lipídeos no filme de farinha de amaranto, já que segundo GARCIA et al. (2000) a cristalinidade dos biofilmes elaborado a base de amido com adição de óleo diminui provavelmente pela interferência do lipídeo na associação das cadeias poliméricas. Além disso, o valor de ΔH , também pode estar relacionado com a desnaturação das proteínas; assim o baixo valor obtido indicaria que as proteínas presentes na farinha de amaranto e, conseqüentemente, no filme foram desnaturadas pelo processo térmico e em meio alcalino. Estes valores são menores que o valor de ΔH no termograma da farinha de amaranto em pó (20,97 J/g).

Os resultados referentes às análises térmicas dos biofilmes de farinha e amido de amaranto condicionados em umidades relativas de 58% e 75% estão apresentados na Figura 4.36.

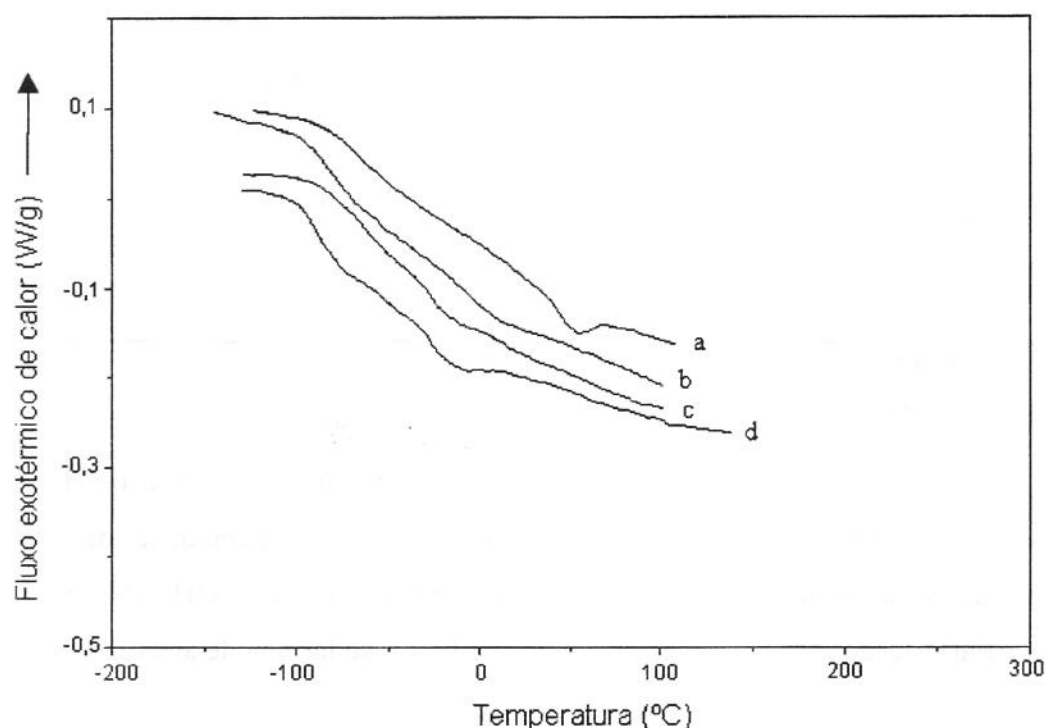


Figura 4.36. Termogramas de biofilme de amido condicionados a (a) 58% de UR e (b) 75% de UR, e biofilme de farinha de amaranto (c) 58% de UR e (d) 75% de UR; elaborados segundo a formulação ótima.

Pode-se observar que nenhum dos biofilmes mostraram um pico endotérmico, portanto não foram registrados valores de T_m e ΔH , o qual indicou a não formação de cristais nesses biofilmes, durante o período de condicionamento (15 dias), podendo ser justificado pelo alto conteúdo de amilopectina dos biofilmes. Sendo o amido, o maior composto presente nos biofilmes de farinha de amaranto, é lógico que este tenha maior influência nas suas características. A característica da amilopectina de menor tendência à

formação de cristais durante períodos curtos de armazenamento foi reportado por RING et al. (1987); DURRANI & DONALD (1995) e RINDLAV-WESTLING et al. (1997). Esses autores manifestaram que os biofilmes de amilopectina precisaram de maior tempo de armazenamento para desenvolver a cristalinidade. Em polímeros sintéticos também foi observado que os polímeros lineares cristalizam mais facilmente do que os polímeros ramificados (RINDLAV-WESTLING et al., 1997); este comportamento pode estar relacionado com o maior grau de cristalinidade que apresentam os biofilmes de amilose quando comparados aos biofilmes de amilopectina.

O glicerol e os lipídeos também teriam influência na formação de cristais no biofilme de farinha de amaranto, já que os dois atuam como plastificantes. O glicerol limita o crescimento dos cristais porque interage com as cadeias poliméricas impedindo suas coligações. Os lipídeos têm um efeito semelhante, impedindo a aproximação das cadeias e, conseqüentemente, a formação de cristais (GARCÍA et al. 2000).

Os valores de Tg mostrados na Tabela 4.34 são mais baixos daqueles observados na Tabela 4.33. CHANG et al. (2000) observaram um comportamento semelhante nos biofilmes de amido de tapioca, isto é, à medida que se aumentou a umidade nos biofilmes a temperatura de transição vítrea diminuiu.

O valor da primeira temperatura de transição vítrea foi semelhante nos biofilmes de amido e de farinha de amaranto. A presença desta Tg, cujo valor é menor que zero, também foi observado no termograma da Figura 4.34. Quando os biofilmes foram condicionados em umidades relativas de 58% e 75%, observa-se uma diminuição desta temperatura quando comparado com o valor obtido nos biofilmes condicionados em sílica gel. O valor do Tg₁ dos biofilmes condicionados a 75% (~-78,94°C) de UR foi menor do que a 58% de UR (~-65 °C). Segundo BILIADERIS (1992) um aumento no conteúdo de água do polímero produz uma diminuição do valor do Tg em forma notória, particularmente em regimes de baixo conteúdo de água. Isto explica o efeito da umidade relativa de condicionamento no valor de Tg dos biofilmes. Por outro lado, visto que os biofilmes de amido e de farinha de amaranto apresentaram valores semelhantes de Tg₁, poderia se pensar que a primeira temperatura de transição vítrea (Tg₁), nos três biofilmes, estaria relacionada com a transição da fração rica em glicerol.

Os valores da segunda Tg dos biofilmes de amido estão de acordo com a literatura. Analisando o valor de Tg₂ dos biofilmes de amido, observa-se que o biofilmes elaborados a pH 10,7 apresentou um valor de Tg₂=44,0°C, em média, sendo maior do valor obtido para os biofilmes de amido de pH 7 (Tg₂=26,9°C); o qual indicaria que nessa condição de umidade relativa esse biofilme desenvolveu uma maior cristalinidade que o filme de amido (pH 7) devido ao seu maior valor de Tg apresentado, já que segundo STANDING et al. (2001) o Tg aumenta com o incremento da cristalinidade. Isto justificaria a maior estabilidade ou menor sensibilidade, observada nesse filme, nas condições de umidade relativa do ambiente. A maior cristalinidade desse biofilme também verifica-se nas propriedades mecânicas apresentados na Tabela 4.31, já que foi obtido uma maior força de ruptura e tensão de ruptura quando comparada com os biofilmes de farinha de amaranto e os biofilmes de amido (pH 7), sendo concordante com o relatado por RINDLAV-WESTLING et al. (1997). Esses autores observaram que um aumento na cristalinidade dos biofilmes de amilopectina produzia biofilmes mais quebradiços, devido ao aumento da tensão e do módulo de Young e um menor valor de elongação, no teste de tração.

Tabela 4.34. Valores de temperatura de transição vítrea (Tg) para biofilmes de farinha e amido de amaranto (*Amaranthus caudatus*) condicionados a 25°C em 58% e 75% de UR.

Biofilme	Tg ₁ (°C)	Tg ₂ (°C)
Farinha de amaranto		
UR 58%	-64,8±2,5	-26,3±1,1
UR 75%	-84,8±4,5	-26,4±1,1
Amido de amaranto ^a		
UR 58%	-66,3±2,8	44,0±0,9
UR 75%	-78,9±3,6	-19,2±0,8
Amido de amaranto ^b		
UR 58%	-66,7±3,2	26,9±1,8
UR 75%	-78,8±2,5	-11,1±0,7

^a Filme elaborado segundo a formulação ótima (pH 10,7)

^b Filme elaborado sem variar o pH (pH neutro)

É interessante destacar que o valor da segunda Tg dos biofilmes de farinha de amaranto foi menor que zero ($-26,5^{\circ}\text{C}$), portanto este valor difere do obtido para os biofilmes de amido. Esse valor indica uma alta plasticização da área amorfa por efeito da água, o qual estaria relacionado com as interações deste composto com os grupos hidrofílicos presentes no filme, isto é, interações dos grupos hidroxil do amido (amido-água) e interações proteína-água. Devido ao teor de lipídeos presentes na farinha de amaranto e conseqüentemente, no biofilme, pensa-se que o filme poderia apresentar áreas hidrofílicas e hidrofóbicas. As áreas hidrofóbicas impedem a difusão da água através do filme e dificultam a mobilidade dos polímeros, o qual explicaria a baixa permeabilidade ao vapor de água e a baixa cristalinidade (alta plasticidade) destes biofilmes, quando comparados aos biofilmes de amido (GARCÍA et al. 2000). Os biofilmes de farinha de amaranto condicionados em umidades relativas de 58% e 75% apresentaram baixa cristalinidade, portanto maior característica de compostos amorfos, apresentando uma maior plasticidade e menor resistência mecânica do que os biofilmes de amido de amaranto. Isto poderia explicar os resultados obtidos nos testes mecânicos, isto é, o baixo valor da força de ruptura e o alto valor na deformação no teste de perfuração, assim como, o baixo valor da tensão de ruptura e o módulo de Young e o alto valor de elongação; quando comparado aos biofilmes de amido, como é mostrado na Tabela 4.31.

5. CONCLUSÕES

- 5.1. A moagem úmida em meio alcalino proporcionou um maior rendimento na produção de farinha de amaranto do que a moagem seca realizada por MARCÍLIO (2002), obtendo-se farinhas com iguais teores de proteínas em ambos os casos.
- 5.2. A farinha de amaranto obtida é composta principalmente de amido (68,17% dos quais 7,58% é amilose), de proteínas (14,21%) e de lipídeos (8,93%). A presença das proteínas e dos lipídeos conferiram à farinha uma coloração amarelada.
- 5.3. A concentração de glicerol influenciou no tempo de secagem dos biofilmes de farinha de amaranto. Foi verificado que existe uma umidade final ótima (22% b.u) para a remoção dos biofilmes das placas sem danificá-los. O tempo de secagem foi controlado de maneira a obter essa umidade.
- 5.4. Os principais fatores que influenciaram nas propriedades mecânicas dos biofilmes obtidos, foram as concentrações de glicerol (Cg), pH e temperatura de processo (Tp), de acordo com as faixas estudadas no planejamento experimental fracionado.
- 5.5. A concentração de glicerol foi a variável que mais influenciou nas propriedades mecânicas do filme. Um aumento na concentração provocou menor força na ruptura e maior deformação no teste de perfuração, menor tensão e maior elongação no teste de tração.
- 5.6. A formulação considerada ótima, em termos de obter biofilmes com baixa solubilidade e boa flexibilidade foi obtida em uma concentração de glicerol de 22,5%, pH 10,7 e temperatura de processo igual a 82°C, para uma concentração de farinha de 4%.
- 5.7. Os biofilmes apresentaram uma coloração amarelada, moderada opacidade, alta flexibilidade, baixa resistência mecânica, solubilidade intermediária (42,25%) e excelente propriedade de barreira ao vapor de água. Esta última propriedade pode ser devida à desnaturação da proteína e a presença de lipídeos. Isto permitiu obter uma baixa permeabilidade ao vapor de água nos biofilmes quando comparado aos filmes

de proteína ou de amido, citados na literatura. Além disso, permitiu obter uma menor solubilidade quando comparado aos filmes de amido.

- 5.8. Os valores de T_g e ΔH dos biofilmes de farinha de amaranto, obtidos na análise calorimétrica, diferem dos obtidos em filmes de amido de amaranto e dos citados na literatura para filmes elaborados a partir de um único polímero (amido ou proteína).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 1995.
- ANKER, C.A.; FOSTER, G.A.; LOADER, M.A. Wheat gluten films. U.S. patent, 3,653,925, April 4, 1972.
- ANKER, M.; STANDING, M.; HERMANSSON, A.M. Relationship between the Microstructure and the Mechanical and Barrier Properties of Whey Protein Films. **Journal of Agricultural Food Chemical**, v.48, p.3806-3816, 2000.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC International. 16^a Edição. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 16^a Edição. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1997.
- ARVANITOYANNIS, I.; KALICHEVSKY, M.T.; BLANSHARD, J.H.; PSOMIADOU, E. Study of diffusion and permeation of gases in undrawn and uniaxially drawn films made from potato and rice starch conditioned at different relative humidities. **Carbohydrate Polymer**, v.24, p.1-15, 1994.
- ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C.G. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. **Food Chemistry**, Oxford, v.62, n.3, p.333-342, 1998.
- ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starch, sugars or glycerol. Part. 1. **Carbohydrate Polymer**, v.31, p.179-192, 1996.
- ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A.; YAMAMOTO, N. Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols, Part. 3. **Food Chemistry**, v.60, p.593-604, 1997.

- AYHLLON-MEIXUEIRO, F.; VACA-GARCIA, C.; SILVESTRE, F. Biodegradable films from isolate of sunflower (*Helianthus annuus*) proteins. **Journal of Agricultural and Food Science**, Chicago, v.58, n.4, p.904-907, 1993.
- BADER, H. G.; GORITZ, D. Investigations on high amylose corn starch films. Part. 1: Wide-angle X-ray scattering (WAXS). **Starch/Stärke**, v.46, p.229-232, 1994.
- BECKER, R.; WHEELER, E.L; LORENZ, K.; STARFFORD, A.E.; GROSJEAN, O.K.; BETSCHART, A.A.; SAUNDERS, R. M. A compositional study of Amaranth grain. **Journal of Food Science**, v.46, p.1175-1180, 1981.
- BELITZ, H.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1988. 813p.
- BELLO-PÉREZ, L.A.; PAREDES-LÓPEZ, O. Effects of solutes on retrogradation of stored starches and amylopectins: A Calorimetric Study. **Starch/Stärke**, v.47, n.3, p.83-86, 1995.
- BILIADERIS, C.G. **Physicochemical and functional aspects of starch and its derivatives**. Short Course, Irapuato, Mexico, 1992. 67p .
- BOBBIO, O.F.; BOBBIO, A.P. **Introdução à química de alimentos**. Campinas: Fundação Cargill, 1985. 306p.
- BRENE, W. M. Food uses of grain amaranth. **Cereal Food World**, St. Paul, v.36, n.5, p.426-429, 1991.
- BRESSANI, R.; GONZÁLES, J.M.; ZÚÑIGA, J.; BREUNER, M.; ELÍAS, G. Yield, Selected Chemical Composition and Nutritive Value of 14 Selections of Amaranth Grain Representing Four Species. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.38, n.4, p.347-356, 1987.
- CALZETTA, R. A.; AGUERRE, R.J; SUAREZ, C. Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. **Journal of Food Engineering**, v.42, n.1, p.51-57, 1999.

- CALZETTA, R. A. **Almidón de amaranto: Obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas**. Buenos Aires, 1999. 127 p. Dissertação (Magister en Bromatología e Tecnología de Industrialización de alimentos) – Universidad de Buenos Aires.
- CARLSSON, R. Quantity and quality of amaranth grain from plants in temperate, cold and hot, and subtropical climates- A review. In **Proceedings of the second Amaranth Conference**. Rodale press, 1980. p.48.
- CARVALHO, R. M. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes a base de gelatina**. Campinas (SP), 1997. 128p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- CASTELLANI, O.; MARTÍNEZ, N.; AÑÓN, C. Structural modifications of an Amaranth globulin induced by pH and NaCl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington**, v.46, p.4846-4853, 1998.
- CASTELLANI, O.; MARTÍNEZ, N.; AÑÓN, C. Role of disulfide bonds upon the structural stability of an Amaranth globulin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington**, v.47, p.3001-3008, 1999.
- CHANG, Y.P.; CHEAH, P.B.; SEOW, C.C. Plasticizing-Antiplasticizing Effects of Water on Physical Properties of Tapioca Starch Films in the Glassy State. **Food Engineering and Physical Properties**, v.65, n.3, p.445-451, 2000.
- CHÁVEZ-JÁUREGUI, R.N.; SILVA, M.E.M.P.; ARÊAS, J.A.G. Extrusion Cooking Process for Amaranth (*Amaranthus caudatus* L.). **Food Engineering and Physical Properties**, v.65, n.6, 2000.
- CHICK, J.; USTUNOL, Z. Mechanical and barrier properties of latic acid and rennet precipitated casein-based edible films. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, n.6, p.1024-1027, 1998.
- CHOI, W.S.; HAN, J.H. Physical and Mechanical Properties of Pea-Protein-based Edible Films. **Food Engineering and Physical Properties**, v.66, n.2, p.319-322, 2001

- CHOI, W.S.; HAN, J.H. Film-forming Mechanism an Heat Denaturation Effects on the Physical and Chemical Properties of Pea-Protein-Isolate Edible Films. **Food Engineering and Physical Properties**, v.67, n.4, p.1399-1406, 2002.
- CORREA, A. D.; JOKL, L.; CARLSSON, R. Amino acid composition of some *Amaranthus sp.* grain proteins and of its fractions. **Archivo Latinoamericano de Nutrición**, v.36, p.466, 1986.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Thermoplastic properties of fish myofibrillar protein: application to biopackaging fabrication. **Polymer**, v.38, n.10, p.2399-2405, 1997.
- DAMODARAN, S.; KINSELLA, J. Effects of ions on protein conformation and functionality. In CHERRY, J. **Food Proteins Deteriotation**. American Chemical Society: Washington, DC, 1982. p.301-357.
- DAMODARAN, S. Influence of protein conformation on its adaptability under chaotropic conditions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.11, p.2-8, 1989a.
- DAMODARAN, S. Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins. In KISELLA, J.; SOUCIE, W. **Food Proteins**. American Oil Chemists' Society: Champaign, IL, 1989b. p.21-51.
- DOANE, W.M. USDA research on starch-based biodegradable plastics. **Starch/Stärke**, v.44, p.293-303, 1992.
- DONOVAN, J.W. Phase transitions of the starch-water system. **Biopolymers**, v.18, p.263-275, 1979.
- DURRANI, C.M.; DONALD, A.M. Physical Characterization of Amylopectin gels. **Polymer Gels and Networks**, v.3, n.1, p.1-27, 1995.

- FANG, Y.; TUNG, M.A; BRITT, I.J.; YADA, S.; DALGLEISH, D.G. Tensile and Barrier Properties of Edible Films made from Whey Proteins. **Food Engineering and Physical Properties**, v.67, n.1, p.188-193, 2002.
- FAIRLEY, 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**, Washington, v.44, n.12, p.3789-3792, 1996.
- FARFÁN, J.A. **Química de proteínas aplicada a ciência e tecnologia dos alimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1990. 134p.
- GARCÍA, M.A; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N. Edible Starch Films and Coatings Characterization: Scanning Electron Microscopy, Water Vapor, and Gas Permeabilities. **Scanning**, v.21, p.348-353, 1999.
- GARCÍA, M.A; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. **Food Chemistry and Toxicology**, v.65, n.6, p.941-947, 2000.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, v.61, n.3, p.585-589, 1996.
- GHORPADE, V.M.; GENNADIOS, A.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Soy protein isolate/poly(ethylene oxide) films. **Cereal Chemistry**, v.72, n.6, p.559-563, 1995.
- 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, 1992.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S., CUQ, J.L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v.58, n.1, p.206-211, 1993.

- GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids-water-vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.29, n.1, p.39-50, 1994.
- GONTARD, N. Edible and Biodegradable Films: Study of Wheat Gluten Film-Forming Properties. **C. R. Acad. Agric. Eng.**, v.80, p.109-117, 1994.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim do SBCTA**, v.30, n.1, p.3-15, 1996.
- GORINSTEIN, S. et al. Computation analysis of amino acid residue sequences of amaranth and some other proteins. **Bioscience Biotechnology and Biochemical**, v.62, n.10, p.1845-1851, 1998.
- GRAAF DE, L.A. Denaturation of Proteins from a non-food perspective. **Journal of Biotechnology**, v.79, p.299-306, 2000.
- GUÉGUEN, J.; CHEVALIER, M.; BARBOT, J.; SCHAEFFER, F. Dissociation and aggregation of pea legumin induced by pH and ionic strength. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.44, p.167-182, 1988.
- GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In MATHLOUTHI, M. **Food packaging and Preservation: Theory and Practice**. Elsevier Applied Science: London, England, 1986. p.371-394.
- HEALY, J. N. C.; RUBINSTEIN, M. H.; WALTERS, V. The mechanical properties of some binders used in tableting. **Journal of Pharmacy Pharmacology**, v.26, p.41-46, 1974.
- HALLEY, P. et al. Developing Biodegradable Mulch films from starch-Based polymers. **Starch/Stärke**, v.53, p.362-367, 2001.

- HERMANSSON, A.M. Aspects of protein structure rheology and texturization. In SHERMAN, P. **Food texture and rheology**. Academic Press: London, 1979, p.265-282.
- HIGGINS, T.J.V. Synthesis and regulation of major proteins in seeds. **Annual Review of Plant Physiology**, v.35, p.191-221, 1984.
- HUNTERLAB. Universal Software Versions 3.2 and Above. User's Manual. Manual Version 1.5. Hunter Associates Laboratory. Reston, Virginia, 1997.
- IMERI, A.; FLORES, R.; ELIAS, L. G.; BRESSANI, R. Effect of processing and of amino acid supplementation on the protein quality of amaranth (*Amaranthus caudatus*). **Archivo Latinoamericano de Nutrición**, v.37, p.160, 1987.
- IRISSIN-MANGATA, J.; BAUDUIN, G.; BOUTEVIN, B.; GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. **European Polymer Journal**, v.37, p.1533-1541, 2001.
- IRVING, D. W. et al. Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. **Journal of Food Science**, v.46, p.1170-1174, 1981.
- JASTRZEBSKI, Z.D. **The Nature and Properties of Engineering Materials**. 3 ed. John Wiley & Sons, New York, 1987. 636p.
- JULIANO, B.O. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Science Today**, v.16, p.334-340, 1971.
- KAYA, S.; KAYA, A. Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. **Journal of Food Engineering**, v.43, p.91-96, 2000.
- KIM, K.W.; PARK, H.J. Mechanical Properties, Water vapor Permeabilities and Solubilities of Highly Carboxymethylated Starch-Based Edible Films. **Food Engineering and Physical Properties**, v.67, n.1, p.218-222, 2002.

- KINSELLA, J.; PHILLIPS, L. Structure: function relationships in food proteins, films and foaming behaviour. In KINSELLA, J.; SOUCIE, W. **Food Proteins**. American Oil Chemists' Society: Champaign, IL, 1989. p.52-77.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, L. C. Biodegradable polymers from agriculture products, in: **agricultural materials as renewable resources** (Eds.G.Fuller, T.A. Mc Keon, D.D. Bills) American Chemical Society, Washington, 1996.
- KHURI, A. I.; CORNELL, J.A Response Surface: Designs and Analyses. Series: Statistics Textbooks and Monographs, v. 152, D.B. Eds. Owen e WR. Schucany, Marcel Dekker, Inc, New York, p.510, 1987.
- KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Cast films from soy protein isolates and fractions. **Cereal Chemistry**, v.74, n.2, p.115-118, 1997.
- LEHMANN, J. W.; BREENE, W. M.; GUANELLA, T.; PUTNAM, D. H.; ROSE, G. Amaranth Feasibility study Parts I and II: A Final Report to the Minnesota State Legislature and Department of Agriculture. Available from the Institute for the Development of Amaranth Products, Inc., Bricelyn, MN 56014, 1990.
- LORENZ, K. *Amaranthus hypochondriacus*-Characteristics of the starch and baking potential of the flour. **Starch/Stärke**, v.33, p.149-153, 1981.
- LOURDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydrate Polymers**, v.27, p.261-270, 1995.
- LLOYD, N. E.; KIRST, L. C. Some factors affecting the tensile strength of starch films. **Cereal Chemistry**, v. 40, p.154-161, 1963.
- MAHMOUD, R.; SAVELLO, P.A. Solubility and hydrolyzability of films produced by transglutaminase catalytic cross-linking of whey protein. **Journal of Dairy Science**, v. 6, n.1, p.29-35, 1993.

- MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E. Emprego dos amidos de cará e de mandioca para a obtenção de filmes plásticos biodegradáveis. In **SIMPOSIO LATINO-AMERICANO DE CIENCIA DE ALIMENTOS**, 2001, Campinas. Livro de Resumo. Campinas: UNICAMP, 2001, p.215-216.
- 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, n.4, p.379-386, 2002.
- MANGINO, M.E.. Physicochemical aspects of whey protein functionality. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.11, p.2711-2722, 1984.
- MARCÍLIO, R. **Uso do grão de amaranto no desenvolvimento de produto tipo "cookie" isento de glúten. Características nutricionais e sensoriais**. Campinas, 2001. 149 p. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- MARCONE, M.F. Evidence confirming the existence of a 7S globulin-like storage protein in *Amaranthus hypochondriacus* seed. **Food Chemistry**, v.65, p.533-542, 1999.
- MARTÍNEZ, N.; AÑÓN, C. Composition and structural characterization of Amaranth Protein Isolates. An electrophoretic and calorimetric study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.44, p.2523-2530, 1996.
- MARTÍNEZ, E.; CASTELLANI, O.; AÑÓN, M.C. Common molecular features among Amaranth storage proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.3832-3839, 1997.
- MARTÍNEZ, C.; CUEVAS, F. Evaluación de la calidad culinaria y molinaria del arroz. **Guia de estudo**. Cali, CIAT, 75 p., 1989.
- MATE, J. I.; KROCHTA, J. M. Comparison of oxygen and water vapor permeabilities of whey isolate and β -lactoglobulin edible films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, n.10, p.3001-3004, 1996.

- McHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841-845, 1994.
- McHUGH, T.H.; AUJARD, J.F.; KROCHTA, J.M. Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. **Journal of Food Science**, v.59, n.2, p.416-419, 1994.
- MILLER, K. S.; KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. **Food Science and Technology**, v.8, p.228-237, 1997.
- MYERS, C.D. Study of thermodynamics and kinetics of protein stability by thermal analysis. In **Thermal Analysis of Foods**, Cap 2, Elsevier Science Publishing: New York, 1990, p.16-50.
- MYLLÄRINEN, P.; PARTANEN, R.; SEPPÄLÄ, J.; FORSSELL, P. Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v.50, n.4, p.355-361, 2002a.
- MYLLÄRINEN, P.; BULEON, A.; LAHTINEN, R.; FORSSELL, P. The crystallinity of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v.48, p.41-48, 2002b.
- MONTERREY-Q, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.179-190, 2000.
- MORR, C. V.; HÁ, Y.W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.33, n.6, p.431-476, 1993.
- NETO, BB.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Ed. Unicamp, 2001. 401p.

- OLLET, A. L.; PARKER, R.; SMITH, A. C. Deformation and fracture behavior of wheat starch plasticized with glucose and water. **Journal of Materials Science**, v.26, p.1351-1356, 1991.
- OTTEY, F.; WESTOFF, R. P.; DOANE, W. M. Starch based blown films. **Industrial Engineering Chemistry**, v.19, p.592-598, 1980.
- PAMPA, N. **Estudo do comportamento reológico com cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto (*Amaranthus cruentus*)**. Campinas, 2003. 149 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- PAREDES-LÓPEZ, O.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, D. Application of differential scanning calorimetry to amaranth starch gelatinization-Influence of water, solutes and annealing. **Starch/Stärke**, v.43, p.57-61, 1991.
- PARK, H.J.; BUNN, J.M.; WELLER, C.L.; VERGANO, P.J.; TESTIN, R.F. Water vapor permeability and mechanical properties of grain protein-based films as affected by mixtures of polyethylene glycol and glycerin plasticizers. **Trans ASAE**, v.37, n.4, p.1281-1285, 1994.
- PARRIS, N.; DICKEY, L.; KURANTZ, M. J; MOTEN, R.O.; CRAIG, J. C. Water vapor permeability and solubility of Zein/Starch hydrophilic films prepared from dry milled corn extract. **Journal of Food Engineering**, v.32, p.199-207, 1997.
- PENG, I.C.; QUASS, D.W.; DAYTON, W.R.; ALLEN, C.E. The physicochemical and functional properties of Soybean 11S globulin-A review. **Cereal Chemistry**, v.61, n.6, p.480-490, 1984.
- PEREZ, E.; BAHNASSEY, Y.A.; BREENE, W.M. A simple laboratory scale method for isolation of amaranth starch. **Starch/Stärke**, v.45, p.211-214, 1993.
- PEREZ-GAGO, M.B.; KROCHTA, J.M. Denaturation Time and Temperature Effects on Solubility, Tensile Properties, and Oxygen Permeability of Whey Protein Edible Films. **Food Engineering and Physical Properties**, v.66, n.5, p.705-710, 2001.

- PEREZ, M.; KROCHTA, J. M. Drying temperature effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein-lipid emulsion films. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v.48, p.2687-2692, 2000.
- PETRUCCELLI, S.; AÑON, MC. Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates. 1. Structural and hydration properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.42, n.10, p.2161-2169, 1994.
- RANKIN, J.I.; WOLFF, I.A.; DAVIS, I.A.; RIST, C.E. Permeability of amylose film to moisture vapor, selected organic vapors, and the common gases. **Industrial Engineering Chemistry**, v.3, p.120-123, 1958.
- RINDLAV-WETSLING, A.; HULLEMAN, S.H.D.; GATENHOLM, P. Formation of starch films with varying crystallinity. **Carbohydrate Polymer**, v.34, p.25-30, 1997.
- RINDLAV-WETSLING, A.; STANDING, M.; HERMANSSON, A.; GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v.36, p.217-224, 1998.
- RING, S.G.; COLONNA, P.; L'ANSON, K.J.; KALICHEVSKY, M.T.; MILES, M.J.; MORRIS, V.J. The gelation and crystallization of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v.162, p.277-293, 1987.
- RIVERO, J.L.L. Genética y Mejoramiento de cultivos alto andinos. PIWA, Puno, Peru. 459p. 1994.
- RIZVI, S.S.H. Thermodynamic properties of foods in dehydration. In: RAO, M.A.; RIZVI, S.S.H. **Engineering properties of foods**. Marcel Dekker Inc.: New York, 1986. p.133-214.
- ROY, S.; WELLER, C.L.; ZEECE, M.G.; TESTIN, R.F. Effect of heat on the physical and molecular properties of wheat gluten films [abstract]. In: **IFT Annual Meeting Book of Abstracts**, June 3-7; Anaheim, Calif.: Institute of Food Technologists, Abstract, n. 12E-14, 1995. p.41.

- SARMENTO, A. **Elaboração e caracterização de biofilmes a partir de gelatina reticulada**. Campinas, 1999. 149 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- SAKANAKA, L. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. Campinas, 2002. 175 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- SAUNDERS, R.M.; BECKER, R. *Amaranthus*: a potential food and feed resource. **Advances Cereal Science and Technology**, St. Paul, v.6, p.357-396, 1984.
- SAUER, J.D. Amaranths as dye plants among the Pueblo peoples. **Southwestern Journal of Anthropology**, v.6, p.412, 1950.
- SCHMIDT, R. H.; ILLINGWIRTH, B.L.; AHMED, E.M. Heat-induced gelation of peanut protein/whey protein blends. **Journal of Food Science, Chicago**, v.43, n.2, p.613-614, 1978.
- SEGURA-NIETO, M.; BARBA DE LA ROSA, A.P.; PAREDES-LÓPEZ, O. Biochemistry of amaranth proteins. In PAREDES-LÓPEZ, O. *Amaranth: Biology, Chemistry and Technology*. Boca Raton: CRC Press, Cap 5, 1994. p.75-106.
- SHAW, N.B.; MONAHAN, F.J., O'RIORDAN, E.D.; O'SULLIVAN, M. Physical Properties of WPI Films Plasticized with Glycerol, Xylitol, or Sorbitol. **Food Engineering and Physical Properties**, v.67, n.1, p.164-167, 2002.
- SHELLHAMMER T.H.; KROCHTA J.M. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. **Journal Food of Science**, v.62, p.390-394, 1997.
- SHOGREN, R.L. Effect of moisture on the melting and subsequent physical aging of corn starch. **Carbohydrate Polymer**, v.19, p.83-90, 1992.
- SPEHAR, C. R.; TEIXEIRA, D. L. Seleção de amaranto para o plantio direto nos Cerrados, Apostila, Planaltina, Df. Embrapa-CPAC, 1998.

- STADING, M.; RINDLAV-WESTLING, A.; GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymer**, v.45, p.209-217, 2001.
- STUCHELL, Y.M.; KROCHTA, J.M. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. **Journal Food of Science**, v.59, n.6, p.1332-1337, 1994.
- SOBRAL, P.J.A. **Proteínas de Origem Animal na Tecnologia de Biofilmes**. Livre Docência, Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2000.
- SOUZA, S.M.A. **Elaboração e caracterização de Filmes comestíveis biodegradáveis a base de proteínas miofibrilares bovina**. Campinas, 2001. 207 p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- SRIPAD, G.; NARASINGA RAO, M.S. Effect of acid pH on the 11S protein of sunflower seed. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v.35, p.668-672, 1987.
- SUMAR-KALINOWSKI, L. *Amaranthus sp.* **El pequeño gigante**. Trabalho apresentado ao III Congreso Internacional de Cultivos Andinos, La Paz-Bolivia, 1982.
- TEJADA, O. **Substitución parcial de amido por harinas de quinua (*Chenopodium quinoa willd*) e kiwicha (*Amaranthus caudatus*) na elaboración de hot-dog e mortadela**. Lima-Peru, 1994. Dissertação (Mestre em Tecnología de Alimenos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidad Nacional Agraria la Molina.
- TEUTONICO, R.A.; KNORR, D. Amaranth: Composition, properties and applications of a rediscovered food crop. **Food Technology**, v.39, n.4, p.49-60, 1985.
- TIEN, C.L.; LETENDRE, M.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M.A.; DELMAS-PATTERSON, 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**, v.48, n.11, p.5566-5575, 2000.

- TOMITA, Y.; SUGIMOTO, Y.; SAKAMOTO, S.; FUWA, H. Some properties of starches of grain amaranths and several millets. **Journal of Nutritional Science and vitaminology**, v.27, p.471, 1981.
- TOMKA, I. Thermoplastic Starch. **Advances Experimental Medicine Biological**, n.302, p.627, 1991.
- VAN SOEST, J.J.G.; BENES, K.; DE WIT, D.; VLIEGENTHART, J.F.G. The influence of starch molecular mass on the properties of extruded thermoplastic starch. **Polymer**, v.37, p.3543-3552, 1996.
- VAN SOEST, J. J. G.; HULLEMAN, S. H. D.; WIT, D. de; VLIEGENTHART, J. F. G. Cristallintiy in starch bioplastics. **Ind. Crop. Prod.**, v.5, p.11-22, 1996.
- WAGNER, J.R.; GUÉGUEN, J. Effects of dissociation, deamidation, and reducing treatment on structural and surface active properties of soy glycinin. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v.43, p.1993-2000, 1995.
- WALL, J.S.; BECKWITH, A.C. Relationship between structure + rheological properties of gluten proteins. **Cereal Science Today**, v.14, n.1, p.16-17, 1969.
- WOLFF, I.; DAVIS, H. A.; CLUSKEY, J. I.; GUNDRUM, L. J.; RIST, C. E. Preparation of films from amylose. **Industrial Engineering Chemistry**, v.43, p.915-919, 1951.
- WU, H.; CORKE, H. Genetic diversity in physical properties of starch from a world Collection of Amaranthus. **Cereal Chemistry**, v.76, n.6, 1999.
- YANG, L.; PAULSON, A.T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible. **Food Research International**, v.33, n.7, 2000.
- YAÑEZ, E.; ZACARIAS, I.; GRANGER, D.; VASQUEZ, M.; ESTEVE, A.M. Chemical and nutritional characterization of Amaranthus (*Amaranthus cruentus*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.44, n.1, p.57-62, 1994.

- YOSHIDA, C.M. **Aplicação de concentrado protéico de soro de leite bovino na elaboração de filmes comestíveis**. Campinas, 2002. 227 p. Tese (Doutor em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- ZIRBEL, F.; KINSELLA, J.E. Factors affecting the reological properties of gels made from whey protein isolate. **Milchwissenschaft-Milk Science International**, Munich, v.43, n.11, p. 691-694, 1988.

ANEXO I**Determinação de Amilose****1) Preparação de reativos**

1.1) Solução de iodo: em um Becker, pesam-se 0,2 g de iodo metálico mais 2 g de iodeto de potássio (KI), adiciona-se água destilada, cobre-se com papel laminado ou com uma película escura e deixa-se em repouso durante três horas, em ambiente protegido da luz.

Transfere-se para um balão volumétrico e se completa o volume de 100 ml com água destilada, seguindo-se agitação até a uniformização. Esta solução deve ser usado no mesmo dia do preparo

1.2) Ácido acético 1N: diluem-se 6 ml de ácido acético glacial em água destilada e se completa 100 ml de solução.

1.3) Hidróxido de sódio 1N: diluem-se 40 g de hidróxido de sódio em água destilada e se completa o volume de 1000 ml.

1.4) Etanol absoluto-etanol a 96%.

2) Preparo da Amostra

2.1) Moem-se as amostras, que passam em peneira de 250 micras ou 60 mesh.

2.2) Desengorduram-se as amostras em extrator Soxhlet.

2.3) Pesam-se em duplicata, 0,2 g de farinha, que é colocada em balões volumétricos de 100 ml.

2.4) Adiciona-se, lentamente, para evitar a formação de grumos, 1 ml de etanol (96%), agitando-se o balão para dissolver toda a farinha e juntam-se 9 ml de hidróxido de sódio 1N.

2.5) Aquece-se em banho-maria a 100 °C, durante 9 minutos, para gelatinizar o amido.

2.6) Deixa-se esfriar por 30 minutos, lavam-se as paredes do balão e completa-se com água destilada, o volume de 100 ml.

2.7) Agita-se o conteúdo do balão até uniformizar.

2.8) Pipetam-se 5 ml da solução obtida para um balão volumétrico, adiciona-se 1 ml do ácido acético e agita-se. Logo, colocam-se 2 ml da solução de iodo, completando o volume de 100 ml com água destilada.

2.9) Deixa-se em repouso por 30 minutos.

3) Preparo da Curva Padrão

A curva padrão deve ser feita antes de se efetuar a leitura da absorbância das amostras.

3.1) Pesam-se 40 mg de amilose pura de batata, que são colocadas em balão volumétrico de 100 ml.

3.2) Adicionam-se 1 ml de etanol (96%) e 9 ml de hidróxido de sódio 1N.

3.3) Aquece-se em banho-maria por 9 minutos, para gelatinizar o amido, deixando-se esfriar por 30 minutos.

3.4) Lavam-se as paredes do balão e completa-se o volume com água destilada, seguindo-se suave agitação.

3.5) Tomam-se 5 balões volumétricos de 100 ml e adicionam-se os reativos conforme consta na Tabela II.1.

3.6) Completa-se o volume com água destilada.

3.7) Agita-se e deixa-se em repouso por 30 minutos.

3.8) Para a prova em branco, toma-se um balão de 100 ml e adicionam-se 1 ml de etanol (96%) e 9 ml de NaOH 1N.

3.9) Completa-se o volume com água destilada e deixa-se repousar por 30 minutos.

Tabela I.1. Parâmetros para a preparação da curva padrão de amilose

Balão	Sol. de amilose 0,04% (ml)	Acido acético 1N (ml)	Sol. de iodo 0,0001N (ml)
1	1	0,2	0,4
2	2	0,4	0,8
3	3	0,6	1,2
4	4	0,8	1,6
5	5	1,0	2,0

4) Leitura em espectrofotômetro, seguindo-se os seguintes passos:

4.1) ajusta-se o comprimento de onda em 610 nm;

4.2) zera-se o aparelho, repetindo-se esta operação cada vez que substituir as amostras;

4.3) com a solução do balão número 1 de “prova em branco”, ajusta-se o aparelho em 0 de absorbância.

4.4) substitui-se a solução pela do balão número 1 de “amilose pura” e lê-se a absorbância.

4.5) repete-se o procedimento com a solução dos balões 2, 3, 4 e 5.

O fator de conversão (FC) é igual à concentração de amilose pura (C) multiplicada por 20, que é o fator de diluição (D) e dividido pela absorbância (A). O fator de conversão é calculado para cada diluição e seu valor médio é utilizado para calcular o teor de amilose das amostras.

$$FC = (C \times D) / A$$

O teor de amilose (%A) é o resultado da multiplicação da leitura dos valores de absorbância das amostras, pelo fator de conversão (FC) obtido pela curva padrão.

$$A(\%) = A \times FC$$

A cada determinação são utilizadas testemunhas com teor de amilose conhecido.

ANEXO II

Tabela II.1. Valores de a_w das soluções salinas saturadas a diferentes temperaturas

Temp. (°C)	NaOH	CLi	Acet.de potássio	Cloreto de Mg	CO ₃ K ₂	(NO ₃) ₂ Mg	NO ₂ Na	NaCl	ClK	BaCl ₂	CuSO ₄
25	0,069	0,112	0,234	0,327	0,442	0,536	0,645	0,756	0,843	0,904	0,972
30	0,069	0,112	0,223	0,324	0,439	0,526	0,635	0,756	0,835	0,900	0,970
35	0,068	0,111	0,213	0,321	0,436	0,516	0,625	0,755	0,827	0,897	0,966
40	0,066	0,111	0,204	0,319	0,432	0,506	0,616	0,752	0,820	0,893	0,961
45	0,063	0,111	0,195	0,316	0,429	0,497	0,607	0,749	0,814	0,888	0,956
50	0,059	0,110	0,187	0,314	0,426	0,489	0,600	0,745	0,809	0,884	0,949
55	0,053	0,110	0,180	0,310	0,423	0,480	0,594	0,742	0,804	0,880	0,943
60	0,045	0,110	0,173	0,306	0,420	0,473	0,590	0,740	0,800	0,876	0,937
65	0,034	0,110	0,166	0,301	0,418	0,465	0,589	0,739	0,797	0,872	0,930
70	0,020	0,110	0,160	0,294	0,415	0,458	0,590	0,739	0,794	0,869	0,925

ANEXO III

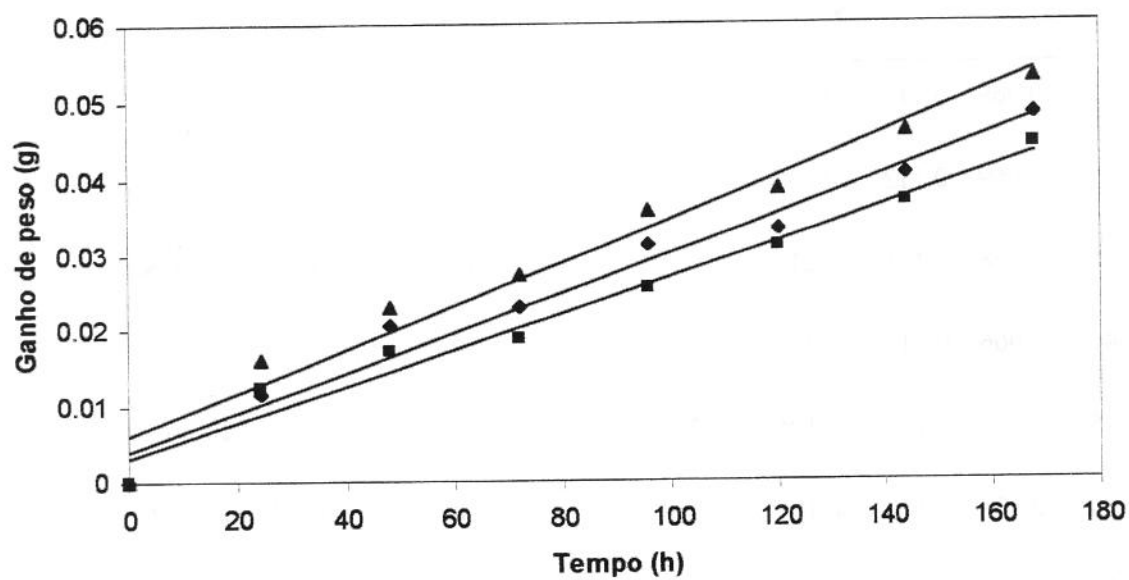


Figura III.1. Curvas de ganho de peso de biofilmes de farinha de amaranto elaborados segundo a formulação ótima (triplicata).