

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**TESE**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPLÁSTICOS DE  
AMIDOS POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA E  
TERMOPRENSAGEM**

**JUAN ANTONIO RUANO ORTIZ**

**2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPLÁSTICOS DE  
AMIDOS POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA E  
TERMOPRENSAGEM**

**JUAN ANTONIO RUANO ORTIZ**

*Sob a Orientação do Professor Doutor*  
**Carlos Wanderlei Piler Carvalho**

*e Co-orientação do Professor Doutor*  
**José Luis Ramírez Ascheri**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

**Seropédica, RJ  
Setembro de 2013**

547.8

R894d

T

Ruano Ortiz, Juan Antonio, 1983-  
Desenvolvimento e caracterização  
de bioplásticos de amidos por  
extrusão termoplástica e  
termoprensagem / Juan Antonio Ruano  
Ortiz - 2013.

198 f. : il.

Orientador: Carlos Wanderlei  
Piler Carvalho.

Tese (doutorado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro,  
Curso de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos.

Inclui bibliografia.

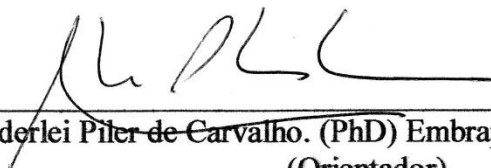
1. Biopolímeros - Teses. 2.  
Biopolímeros - Processamento -  
Teses. 3. Nanotecnologia - Teses.  
4. Alimentos - Teses. I. Carvalho,  
Carlos Wanderlei Piler, 1966-. II.  
Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação  
em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

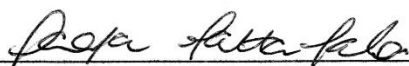
**JUAN ANTONIO RUANO ORTIZ**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

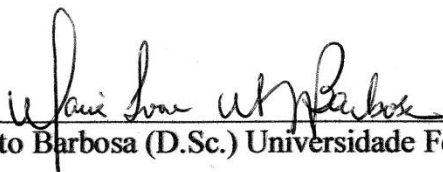
TESE APROVADA EM 03/09/2013



Carlos Wanderlei Piler de Carvalho. (PhD) Embrapa Agroindústria de Alimentos  
(Orientador)



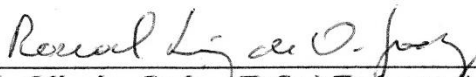
Farayde Matta Fakhouri (D.Sc.) Universidade Federal da Grande Dourados



Maria Ivone Jacinto Barbosa (D.Sc.) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



Antonio Gomes (D.Sc.) Embrapa Agroindústria de Alimentos



Ronoel Luiz de Oliveira Godoy (D.Sc.) Embrapa Agroindústria de Alimentos

## **DEDICATORIA**

A minha mãe, meu pai, meus irmãos e meus sobrinhos... a melhor parte de mim!

## AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as bênçãos recebidas, por me fortalecer com seu amor todos os dias para conquistar todos os objetivos que tenho nesta vida.

À minha mãe, pelo seu amor incondicional, paciência, amizade, parceria, alegria e carinho de todos os dias, seu exemplo de luta e dedicação são minha fortaleza para tudo que faço, um dos meus principais motivos para ser grato com Deus e para ser feliz todos os dias.

Ao meu pai, pelas boas lembranças e conselhos que apesar da sua ausência ainda se encontram inabaláveis no meu coração, pois não importa quanto anos passem, você sempre será parte fundamental na minha vida.

À minha vó Doris, a pessoa mais doce que conheço, pelo seu exemplo de trabalho, humildade e sua dedicação para sua família, se tiver que escolher alguém para imitar com certeza essa pessoa seria você.

À minha vó “mamita Edna”, sempre cheia de amor, palavras bonitas, conselhos, sabedoria e força sem dúvidas esta caminhada se tornou muito mais leve por que eu tenho ela na minha vida, nunca me faltou seu amor em nenhum momento.

Ao meu avô, “El Tata”, exemplo de força, alegria, amizade, impossível não sentir felicidade e orgulho quando penso nele, com certeza ele é uma das maiores alegrias na minha vida.

À minha irmã e comadre Luza, pela amizade e carinho durante toda minha vida e principalmente por me dar a honra de ser o tio mais feliz do mundo, Luis Antonio e Santiago.

Ao meu irmão, Rodrigo, pelo seu carinho e amizade, saber que esta bem e feliz sempre foi um incentivo, meu orgulho muito de tuas conquistas e sei que ainda viram muitas outras.

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup> Dr Carlos W. Piler de Carvalho, pelo conhecimento proporcionado durante todo o tempo na Embrapa, pelos ensinamentos, pela disponibilidade, paciência, pelos conselhos... Enfim, todos os gestos e palavras que contribuíram para a minha formação.

Ao meu segundo orientador, conselheiro de vida o Prof<sup>o</sup> Dr Ascheri por todos os conselhos, conhecimentos e tempo dedicados a este projeto, que também contribuíram imensamente a minha formação, é por você que eu cheguei aqui, sem dúvida as oportunidades que você me deu mudaram minha vida.

A minha irmã e amiga amada Thaisa, por ter me acompanhado e incentivado durante toda esta etapa, longe dos meus familiares, Deus foi muito bom quando pensou em me dar o presente da sua companhia! Sua alegria, parceria e carinho eu vou guardar por sempre para mim!! Obrigado!

A minha amiga Carla Teba, por seus conselhos e carinho desde minha chegada na UFRRJ, sempre terei saudades de trabalhar no mesmo laboratório com ela!

À minha querida e admirada família todos e cada um de eles foram transcendentais nesta etapa da minha vida!

Aos funcionários e amigos da Embrapa: Dra. Cristina, Francisco, David, David Campos, Adriana, Mariana, Vanessa, Tatiana, Carmani e Edla pela orientação e apoio, sempre presentes.

Aos meus amigos queridos: Anita, Sueli, Patricia, Junior, Emerson, Clitor, Allan, Jan, Janaína, Mari, Jefinho, Kelita, Dani, Geisa, Joana, Camila, Andressa, Jorge, Raimundo, Arturo, Pablo Trigo, Andrey e Jhony por sempre estarem dispostos a ajudar, em todos os momentos, pelo apoio em todas as horas.

Á os amigos do futebol na Embrapa por fazerem esses anos mais alegres na Embrapa.

Á os meus queridos amigos de sempre Luis Fernando Dubon e Luis Carias que mesmo longe formam para sempre parte fundamental da minha vida!

Á Poli, que com seu amor, força e incentivo diário faz dos meus dias uma completa alegria, obrigado por sempre me ajudar e incentivar o melhor de mim mesmo, sou muito grato com Deus por cruzar nossos caminhos neste mundo!!

E as demais amigos que torceram por mim e me ajudaram de alguma forma a concluir mais uma fase em minha vida.

"É melhor tentar e falhar,  
que se preocupar e ver a vida passar;  
é melhor tentar, ainda que em vão,  
do que se sentar fazendo nada até o final.  
Eu prefiro na chuva caminhar,  
que em dias tristes em casa me esconder.  
Prefiro ser feliz, embora louco,  
que em conformidade viver."

(Martin Luther King)



## RESUMO

RUANO ORTIZ, J.A. **Desenvolvimento e caracterização de bioplásticos de amidos por extrusão termoplástica e termoprensagem**. 2013. 175p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2013.

Filmes biodegradáveis podem ser usados na elaboração de embalagens ou como material de revestimento e têm sido apontados como tendo grande potencial para melhoria da qualidade e redução de perdas de produtos vegetais na pós-colheita, além de contribuir para a redução de lixo, devido a sua rápida e total degradação no meio ambiente. O objetivo deste trabalho foi elaborar filmes de amido termoplásticos obtidos a partir de misturas de materiais biodegradáveis, adicionados de nano cargas de argila e fibras pela técnica de extrusão termoplástica. Em seguida, estes filmes foram aplicados em embalagens de morango *in natura*. Estes filmes foram avaliados quanto à sua composição centesimal e suas propriedades físicas, com a utilização de técnicas de calorimetria exploratória diferencial, reologia, propriedades mecânicas, cor, permeabilidade ao vapor da água e microestrutura. Além disto, também foram realizadas análises toxicológicas dos tratamentos *in vitro* (cultura de células). Após avaliação toxicológica, os biocompósitos adicionados com zeolita modificada foram selecionados pelo seu potencial tecnológico para serem utilizados na indústria de embalagens flexíveis. Desta forma, este trabalho contempla quatro capítulos: o primeiro refere-se ao processo de obtenção de bioplásticos através de extrusão termoplástica e termo-prensagem; o segundo refere-se a otimização do processo e obtenção da matriz adequada para adição de nanocargas; o terceiro apresenta a obtenção dos bioplásticos nanoestruturados e o quarto apresenta aspectos de segurança e biodegradabilidade dos materiais estudados. Espera-se que este projeto, possa contribuir para a geração de novos conhecimentos científicos e tecnológicos na conservação pós-colheita de frutos, no desenvolvimento de filmes biodegradáveis nanoestruturados que venham a substituir as resinas de petróleo atualmente utilizadas como embalagens, bem como na possibilidade de oferecer alternativas aos produtores agrícolas do Rio de Janeiro e para as indústrias de plásticos fabricantes de embalagens.

**Palavras-chave:** plastificante, nanotecnologia, filmes biodegradáveis, termoprensagem.

## ABSTRACT

RUANO ORTIZ, J.A. **Development and characterization of starch bioplastics by thermoplastic extrusion and thermopressing.** 2013. 175p Thesis (Programa em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Biodegradable films can be used in the preparation of packages or as a coating material and have been pointed out as having great potential for improving quality and reducing losses of plant products after harvest, besides contributing to the reduction of waste, due to its rapid and complete degradation in the environment. The aim of this study was to develop thermoplastic starch films obtained from blends of biodegradable materials, added loads of clay and fibers by thermoplastic extrusion technique. These films were evaluated according to its centesimal composition and its physical properties with the use of differential scanning calorimetry techniques, rheology, mechanical properties, color, water vapor permeability and microstructure. Furthermore, toxicological analyzes of the treatments were also performed *in vitro* (cell culture). After toxicological evaluation, the bio composites added with modified zeolite were selected for their technological potential for use in flexible industrial packaging. Thus, this work contains four chapters: the first refers to the process of obtaining bioplastics by thermoplastic extrusion and thermo-pressing; the second refers to the optimization process and obtaining the appropriate matrix for adding nanofiller; the third presents the synthesis of nanostructured and bioplastics and the fourth chapter presents aspects of safety and biodegradability of the materials studied. It is hoped that this project will contribute to the generation of new scientific and technological knowledge in post-harvest fruit in the development of nanostructured biodegradable films that will replace petroleum resins currently used as packaging, as well as the possibility of offer alternatives to farmers of Rio de Janeiro and for the plastics packaging manufacturers.

**Keywords:** plasticizer, nanotechnology, biodegradable films, thermopressing.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Variáveis e valores dos níveis do planejamento fatorial fracionário $2^{6-2}$ para elaboração de bioplásticos de amido. ....	25
<b>Tabela 2.</b> Matriz para o delineamento $2^{6-2}$ sendo $X_i$ ( $i = 1$ a $6$ ) as variáveis estudadas para a obtenção de bioplásticos de amido.....	26
<b>Tabela 3.</b> Matriz do planejamento e resultados experimentais para as variáveis respostas analisadas do planejamento fatorial fracionário $2^{6-2}$ para bioplásticos de amido. ....	34
<b>Tabela 4.</b> Níveis codificados das variáveis independentes do experimento.....	58
<b>Tabela 5.</b> Delineamento completo do desenho experimental.....	59
<b>Tabela 6.</b> Resultados experimentais para as variáveis dependentes analisadas do planejamento fatorial completo $2^3$ .....	64
<b>Tabela 7.</b> Cargas utilizadas no reforço de biocompósitos de amidos e glicerol.....	99
<b>Tabela 8.</b> Densidade absoluta e porosidade de cargas utilizadas como reforço em bioplásticos de amido e glicerol. ....	108
<b>Tabela 9.</b> Valores de solubilidade em água dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.....	113
<b>Tabela 10.</b> Valores de permeabilidade ao vapor d'água dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.....	114
<b>Tabela 11.</b> Valores de ângulo de contato dos biocompósitos adicionados de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão de diferentes cargas e concentrações.....	116
<b>Tabela 12.</b> Valores de força e deformação na perfuração dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.....	118
<b>Tabela 13.</b> Valores de tensão e deformação na tração e módulo de Young dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.....	119
<b>Tabela 14.</b> Valores de índice de consistências (K), Índice de comportamento de fluido (n), e fator de correlação ( $R^2$ ).....	123
<b>Tabela 15.</b> Distribuição das cargas nos biocompósitos.....	127
<b>Tabela 16.</b> Dados referente as leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos - Técnica <i>Allium cepa</i> .....	158
<b>Tabela 17.</b> Dados referente leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com Linter - Técnica <i>Allium cepa</i> .....	160
<b>Tabela 18.</b> Dados referente às leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos - Ensaio Cometa.....	162

<b>Tabela 19.</b> Dados referente leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com Linter - Ensaio Cometa. ....	163
<b>Tabela 20.</b> Dados referente análise por Tali das células tratadas com os materiais. ....	167
<b>Tabela 21.</b> Dados referente análise por Tali das células tratadas com diferentes concentrações de Linter .....	168

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b) (ROUILLY et al., 2000).....	11
<b>Figura 2.</b> Modelo semicristalino da amilopectina (Fonte: Carvalho, 2012). ....	12
<b>Figura 3.</b> Agrupação em blocos esféricos de amilopectina (Fonte: Bornet, 1992).....	13
<b>Figura 4.</b> Influência do tratamento hidrotérmico com excesso de água sobre o estado do amido (Fonte: Bornet, 1992).....	14
<b>Figura 5.</b> (a) Possíveis sítios de associação (linhas pontilhadas) entre as moléculas de amilose (AM) e amilopectina (AP) do amido de batata. (b) Possível mecanismo de retrogradação do amido de batata. Linhas pontilhadas representam as pontes de hidrogênio. A e B são as ramificações laterais da amilopectina (Fonte: Tako e Hizukuri, 2002).....	15
<b>Figura 6.</b> Extrusora de rosca dupla Clextral Evolun HT25 (Firminy, França). ....	25
<b>Figura 7.</b> Distribuição granulométrica, em volume, das partículas de amido de mandioca.....	29
<b>Figura 8.</b> Distribuição granulométrica, em volume, das partículas de amido de milho.....	29
<b>Figura 9.</b> Difratogramas de raios X de amido de mandioca e amido de milho.....	30
<b>Figura 10.</b> Termogramas de amido de mandioca (A) e amido de milho (B) em calorímetro exploratório diferencial (DSC).....	31
<b>Figura 11.</b> Microscopia eletrônica de varredura de amido de mandioca e amido de milho.....	32
<b>Figura 12.</b> Efeito das seis variáveis quantitativas escolhidas na espessura dos bioplásticos. ....	35
<b>Figura 13.</b> Efeito das seis variáveis quantitativas escolhidas, na deformação na ruptura dos bioplásticos.....	37
<b>Figura 14.</b> Efeito das variáveis do processo, na resistência a tração dos bioplásticos de amido. ....	38
<b>Figura 15.</b> Efeito das variáveis do processo na força na perfuração dos bioplásticos de amido. ....	39
<b>Figura 16.</b> Efeito das seis variáveis quantitativas escolhidas, na deformação dos bioplásticos. ....	40
<b>Figura 17.</b> Efeito das seis variáveis do processo, no módulo de elasticidade dos bioplásticos. ....	41
<b>Figura 18.</b> Molécula dos plastificantes glicerol e água respectivamente (Fonte: LIU et al., 2006).....	54
<b>Figura 19.</b> Montagem do perfil do parafuso numa extrusora dupla rosca marca Clextral.....	55
<b>Figura 20.</b> Aparelhamento e orientação dos elementos do parafuso para sistemas de extrusão de dupla rosca.....	55

<b>Figura 21.</b> Diferentes combinações de configuração de parafuso para sistemas de extrusão dupla rosca, destacando as zona com maior EME (Fonte: Ionashiro, 2008).....	57
<b>Figura 22.</b> a) Elemento (C1F) presente na configuração do parafuso. b) Elemento reverso CF1C adicionado com o intuito de utilizar eficientemente a energia no sistema. (referencia).....	61
<b>Figura 23.</b> Efeito das variáveis quantitativa *teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm), na energia mecânica específica (Wh/kg). .....	65
<b>Figura 24.</b> Desenho esquemático de medidas de ângulo de contato em dois exemplos de tipos de material diferentes: com característica hidrofóbica (A) e hidrofílica (B). Fonte: AL-HASSAN; NORZIAH, 2012. Fotografias da incidência da gota d'água no momento zero segundo dos tratamentos 8 (C) e 19 (D) do delineamento, que correspondem ao maior e menor valor encontrado respectivamente.....	66
<b>Figura 25.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) e adição de amido de milho (%), no ângulo de contato ( $^{\circ}$ ), dos bioplásticos de amido. ....	67
<b>Figura 26.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) e Adição de amido de milho (%), na opacidade (%) dos bioplásticos de amido.....	68
<b>Figura 27.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) e adição de amido de milho (%) na espessura (mm)dos bioplásticos de amido.....	70
<b>Figura 28.</b> Efeito das variáveis quantitativas * teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) no módulo de Young (MPa) dos bioplásticos de amido. ....	72
<b>Figura 29.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) na deformação na ruptura (%)dos bioplásticos de amido. ....	73
<b>Figura 30.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) resistência a tração (MPa), dos bioplásticos de amido.....	74
<b>Figura 31.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de plastificante na fração líquida (%), percentual de amido de milho (%) e velocidade de parafuso (rpm) na Força (N), dos bioplásticos de amido. ....	76
<b>Figura 32.</b> Efeito das variáveis quantitativas *teor de glicerol na fração líquida (%), percentual de amido de milho (%) e velocidade de parafuso (rpm) na deformação (%), dos bioplásticos de amido. ....	77
<b>Figura 33.</b> Comparação dos bioplásticos de amidos extrudados e termoprensados (a) VS extrudados (b).....	78
<b>Figura 34.</b> Efeito das variáveis quantitativas *Teor de Plastificante na fração líquida (%), Percentual de amido de milho (%) e Velocidade de parafuso (rpm) na Entalpia A (J/g), dos bioplásticos de amido. ....	79

<b>Figura 35.</b> Efeito das variáveis quantitativas *Teor de Plastificante na fração líquida (%) e percentual de amido de milho (%) na Entalpia B (J/g), dos bioplásticos amido. ....	80
<b>Figura 36.</b> Efeito da configuração do parafuso na EME. ....	81
<b>Figura 37.</b> Função utilidade para processamento de bioplásticos de amido de milho e mandioca extrudados e termoprensados otimizados. ....	82
<b>Figura 38.</b> Dispersão da argila numa matriz polimérica. (Fonte: MBEY et al., 2012). ....	96
<b>Figura 39.</b> Morfologia da argila nos nanocompósitos (Fonte: SCRINIS e LYONS, 2007). ....	97
<b>Figura 40.</b> Representação esquemática da configuração do parafuso no processo de obtenção de pellets dos biocompósitos (Fonte: VARGAS-SOLÓRZANO, 2013). ....	100
<b>Figura 41.</b> Representação esquemática da matriz laminar utilizada no extrusor para a obtenção de pellets dos biocompósitos (Fonte: VARGAS-SOLÓRZANO, 2013). ....	101
<b>Figura 42.</b> Copos gravimétricos de dimensões conhecidas (I) e desenho esquemático de auxílio para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água (II). ....	103
<b>Figura 43.</b> Parâmetros avaliados na curva viscoamilográfica dos biocompósitos extrudados e moídos. ....	104
<b>Figura 44.</b> Corte e molde das lamínulas de vidro para compor o substrato suporte do bioplástico na porta-amostra (Fonte: LIMA et al., 2013). ....	106
<b>Figura 45.</b> Sequência de montagem do Método 1 (Fonte: LIMA et al., 2013). ....	106
<b>Figura 46.</b> Sequência de montagem do Método 2 (Fonte: LIMA et al., 2013). ....	106
<b>Figura 47.</b> Comparação entre os difratogramas de Raios-X do suporte (porta amostra+lamínula+fita dupla fase): perfil na parte inferior, e os da análise do bioplástico de amido com zeólita usando o método 1 (cinza) e método 2 (preto) (Fonte: LIMA et al., 2013). ....	107
<b>Figura 48.</b> Comparação opacidade e espessura entre os biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações. ....	110
<b>Figura 49.</b> Comparação da cor dos pellets dos biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações. ....	112
<b>Figura 50.</b> Desenho esquemático de medidas de ângulo de contato em dois exemplos de tipos de material diferentes: com característica hidrofóbica (A) e hidrofílica (B). Fonte: Bastos, 2010. Fotografias da incidência da gota d'água no momento zero para os biocompósitos adicionados de (C) 3% vermiculita e (D) bioplástico controle sem adição de carga. ....	116
<b>Figura 51.</b> Comparação dos perfis de viscosidade dos biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações. ....	121
<b>Figura 52.</b> Reogramas obtidos das misturas de amido e cargas (A. Controle, B. Bentonita, C. Cloisite 15A, D. Novaclay, E. Nanolinter de algodão, F. Zeólita cubana, G. Zeólita modificada em diferentes concentrações. ....	122

<b>Figura 53.</b> Comparação da estabilidade térmica dos biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações. ....	124
<b>Figura 54.</b> Difrátogramas de raios-X de biocompositos de amidos e glicerol e bioplásticos de amido (controle).....	126
<b>Figura 55.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV da zeolita modificada pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 600 x. E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 1000 x.....	128
<b>Figura 56.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV da zeolita modificada pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 1000 x.....	129
<b>Figura 57.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Bentonita com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de bentonita pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Bentonita com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Bentonita com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% Bentonita com aumento de 1000 x.....	131
<b>Figura 58.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de bentonita pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 1000 x.....	132
<b>Figura 59.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita cubana com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de zeolita cubana pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita cubana com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita cubana com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% Zeolita cubana com aumento de 1000 x.....	134



<b>Figura 60.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV da zeolita cubana pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 1000 x.....	135
<b>Figura 61.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV do nanolinter de algodão C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 1000 x.....	137
<b>Figura 62.</b> A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 100 x. C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 600 x D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 1000 x.....	138
<b>Figura 63.</b> Gráfico de significância do índice mitótico das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos.....	159
<b>Figura 64.</b> Gráfico de significância do índice de alterações das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos.....	159
<b>Figura 65.</b> Gráfico de significância do índice mitótico das células submetidas aos tratamentos nas diversas concentrações de Linter.....	161
<b>Figura 66.</b> Gráfico de significância do índice de alterações das células submetidas aos tratamentos nas diversas concentrações de Linter.....	161
<b>Figura 67.</b> Gráfico de Significância dos Índices de Danos apresentados pelos diversos tratamentos com os materiais do Projeto Bioplástico.....	163
<b>Figura 68.</b> Gráfico de significância dos índices de danos apresentados pelos diversos tratamentos com Linter.....	164
<b>Figura 69.</b> Microfotografias das células que ficaram em contato com os Pellets.....	165
<b>Figura 70.</b> Microfotografias das células que ficaram em contato com as membranas.....	166

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS .....</b>	<b>2</b>
Objetivo geral .....	3
Objetivos específicos .....	3
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>5</b>
<b>EFEITO DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICOS DE AMIDO DE MILHO E MANDIOCA POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA E TERMOPRENSAGEM .....</b>	<b>6</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
1.1 Objetivo geral .....	9
1.2 Objetivos específicos .....	9
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
2.1 Matérias-primas para elaboração de bioplásticos .....	11
2.1.1 Amido .....	11
2.1.2 Processamento do Amido .....	15
2.1.3 Plastificantes .....	16
2.2 Extrusão .....	16
2.2.1 Sistema de Extrusão.....	17
2.2.2 Descrição do processo de extrusão termoplástica .....	18
2.2.3 Parâmetros e configuração do extrusor termoplástico.....	19
2.2.4 Pré-condicionamento dos extrudados .....	19
2.2.5 Configuração do parafuso.....	19
2.2.6 Velocidade do parafuso .....	19
2.2.7 Temperatura do cilindro .....	19
2.2.8 Configuração da matriz.....	20
2.2.9 Fatores que interferem na qualidade dos produtos extrudados.....	20
2.2.10 Influência dos componentes do amido e as interações moleculares do amido durante o processo de extrusão .....	21
2.3 Caracterização do amido.....	22
2.3.1 Tamanho de partícula .....	22
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 Materiais .....	23
3.1.1 Matérias-primas .....	23

3.2 Métodos .....	23
3.2.1 Tamanho das partículas .....	23
3.2.2 Cristalinidade .....	23
3.2.3 Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	23
3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	24
3.2.5 Preparo dos filmes por extrusão termoplástica e delineamento experimental.....	24
3.2.6 Obtenção dos filmes por termo-prensagem .....	27
3.2.7 Determinação da espessura .....	27
3.2.8 Propriedades mecânicas .....	27
3.2.8.1 Teste de perfuração .....	27
3.2.8.2 Teste de tração .....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
4.1 Caracterização das matérias primas .....	29
4.1.1 Determinação do tamanho de partícula .....	29
4.1.2 Cristalinidade .....	30
4.1.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	30
4.1.4 Microestrutura.....	31
4.2 Influência dos parâmetros de extrusão termoplástica no aspecto visual, características mecânicas e tecnológicas dos filmes prensados.....	32
4.2.1 Espessura .....	35
4.2.2 Deformação na ruptura .....	36
4.2.3 Resistência à tração.....	37
4.2.4 Força na perfuração .....	38
4.2.5 Deformação na ruptura .....	39
4.2.6 Módulo de Young .....	40
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>42</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>49</b>
<b>OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA PARA A PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICOS A PARTIR DE MISTURAS DE AMIDO DE MILHO E DE MANDIOCA .....</b>	<b>50</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>50</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>51</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>52</b>
1.1 Objetivo geral .....	52
1.2 Objetivos específicos .....	52
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>53</b>

2.1	Interação do amido com os plastificante.....	53
2.2	Energia mecânica específica (EME).....	54
2.2.1	Aspectos da extrusão termoplástica relacionados com a energia mecânica .....	54
2.3	Efeito da mistura de amidos no processo de extrusão termoplástica.....	57
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>58</b>
3.1	Matérias-primas .....	58
3.2	Métodos .....	58
3.2.1	Preparo dos pellets por extrusão termoplástica e delineamento experimental ....	58
3.2.2	Termo-prensagem dos extrudados .....	59
3.2.3	Energia mecânica específica (EME).....	60
3.2.4	Ângulo de contato.....	60
3.2.5	Opacidade .....	60
3.2.6	Espessura .....	60
3.2.7	Propriedades mecânicas.....	61
3.2.8	Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	61
3.2.9	Análise da configuração de parafuso.....	61
3.2.10	Análise estatística dos resultados.....	61
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
4.1	Energia mecânica específica (EME).....	65
4.2	Ângulo de Contato .....	65
4.3	Opacidade .....	67
4.4	Espessura dos filmes .....	69
4.5	Módulo de Young .....	71
4.6	Deformação na Ruptura .....	72
4.7	Resistência a tração.....	74
4.8	Força na perfuração .....	75
4.9	Deformação.....	77
4.10	Temperatura de gelatinização .....	78
4.11	Aging (DSC).....	80
4.12	Efeito da configuração do parafuso na EME .....	81
4.13	Otimização do processo de extrusão.....	81
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>83</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>84</b>
	<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>88</b>
	<b>ADIÇÃO DE ARGILOMINERAIS E NANOLINTER DE ALGODÃO EM BIOPLÁSTICOS DE AMIDO DE MILHO E MANDIOCA EXTRUDADOS E TERMOPRENSADOS.....</b>	<b>89</b>

<b>RESUMO .....</b>	<b>89</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>90</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>91</b>
1.1 Objetivo geral .....	91
1.2 Objetivos específicos .....	91
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>93</b>
2.1 Nanotecnologia .....	93
2.2 Nanotecnologia no setor alimentício .....	94
2.3 Nanocompósitos.....	95
2.4 Cargas .....	95
2.3 Nanocompósitos de fibras naturais .....	97
2.4 Nanocompósitos com organominerais (argilas) .....	97
2.5 Nanocompósitos de Amido e Argilas .....	98
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>99</b>
3.1 Matéria-prima .....	99
3.2 Métodos .....	100
3.2.1 Determinação de densidade absoluta das argilas .....	100
3.2.2 Preparo dos pellets por extrusão termoplástica.....	100
3.2.3 Obtenção dos filmes por termo-prensagem .....	101
3.2.4 Determinação da espessura.....	101
3.2.5 Solubilidade em água.....	101
3.2.6 Medida de opacidade e cor .....	102
3.2.7 Permeabilidade ao vapor de água .....	102
3.2.8 Medida de ângulo de contato .....	103
3.2.9 Caracterização Mecânica dos biocompósitos .....	104
3.2.10 Propriedades viscoamilográficas .....	104
3.2.11 Reometria: Rampa de cisalhamento .....	105
3.2.12 Termogravimetria .....	105
3.2.13 Difração de raios X.....	105
3.2.14 Microscopia Eletrônica de Varredura e Análise química pontual .....	107
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>108</b>
4.1 Densidade absoluta .....	108
4.2 Espessura dos bioplásticos e opacidade.....	108
4.2 Imagens e análise instrumental de cor .....	111
4.3 Solubilidade em água.....	113
4.4 Permeabilidade ao vapor da água .....	114

4.5	Ângulo de contato .....	115
4.6	Propriedades mecânicas .....	117
4.6.1	Ensaio de Perfuração .....	117
4.6.2	Ensaio de Tração .....	118
4.7	Propriedades viscoamilográficas .....	119
4.8	Propriedades reológicas .....	121
4.9	Análise termogravimétrica (TGA) .....	123
4.10	Análise de cristalinidade (DRX) .....	125
4.11	Análise de Microestrutura .....	127
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>139</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>141</b>
	<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>146</b>
	<b>BIOPLÁSTICOS COM ADIÇÃO DE ARGILOMINERAIS E NANOLINTER: ASPECTOS DE SEGURANÇA .....</b>	<b>147</b>
	<b>RESUMO .....</b>	<b>147</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>148</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>149</b>
1.1	Objetivo geral .....	149
1.2	Objetivos específicos .....	149
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>150</b>
2.1	Riscos da manipulação de nanomateriais .....	150
2.2	Mecanismos de transporte de material particulado e nanoparticulados .....	150
2.3	Interação das nanopartículas com os sistemas biológicos .....	150
2.3	Genotoxicidade, Citotoxicidade e Biologia Molecular.....	151
2.4.1	Teste <i>Allium cepa</i> .....	151
2.4.2	Ensaio Cometa .....	152
2.4.3	Citogenética .....	152
2.4.4	Manutenção de Culturas Celulares .....	153
2.4.4.1	Ensaio de Viabilidade Celular.....	153
2.4.4.2	Tali .....	153
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>154</b>
3.1	Local de realização das análises .....	154
3.2	Teste de Aberração cromossômica em <i>Allium cepa</i> .....	154
3.3	Ensaio Cometa .....	154
3.4	Citogenética utilizando Cultura células com Sangue Total .....	155
3.5	Manutenção de Culturas Celulares .....	156

3.5.1 Ensaio de Viabilidade Celular .....	156
3.5.2 Tali .....	157
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>158</b>
4.1 Allium cepa.....	158
4.1.1 Leituras nas laminas ou Bioplásticos.....	158
4.1.2 Linter.....	160
4.2 Ensaio Cometa .....	161
4.2.1 Leituras obtidas nas lâminas ou Bioplásticos .....	161
4.2.2 Linter.....	163
4.3 Citogenética .....	164
4.4 Viabilidade Celular .....	164
4.5 Tali .....	166
4.5.1 Leituras obtidas nas lâminas ou Bioplásticos .....	166
4.5.2 Linter.....	167
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>169</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>170</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>172</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>173</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

Os maiores desafios para produção de filmes totalmente biodegradáveis à base de amido são melhorar suas características mecânicas e de permeabilidade durante a produção em escala piloto e industrial. Atualmente as indústrias produzem filmes plásticos utilizando extrusores alimentados com resina termoplástica em forma de grânulos. Entretanto, para que os filmes biodegradáveis sejam viáveis economicamente, estes devem ser produzidos utilizando-se os equipamentos já implantados na indústria e, ainda, apresentar boas características para posterior aplicação.

Grande parte das pesquisas com filmes biodegradáveis à base de amido utiliza a técnica de “casting” (desidratação de uma solução filmogênica aplicada sobre um suporte inerte) para a sua produção. Em menor proporção encontramos pesquisas utilizando técnicas de formação dos filmes por extrusão e termo-prensagem.

Atualmente as indústrias veem buscando diferentes tipos de embalagens que protejam os alimentos da forma mais natural possível sem prejudicar o meio ambiente. Uma das alternativas propostas para esse objetivo é a substituição dos materiais obtidos do petróleo por novas fontes renováveis, como o amido, e o glicerol com cargas de fibras e argilas, ou seja bioplásticos. Baseado neste contexto, o presente trabalho elaborou e caracterizou filmes por extrusão e termo-prensagem utilizando amido de mandioca e de milho como matrizes principais, pois são polímeros naturais de relativo baixo custo de produção e abundantes.

A grande vantagem do biopolímero desenvolvido é a obtenção de produtos finais biodegradáveis, produzidos a partir do amido de mandioca e de milho, uma vez que, as indústrias podem implementar essa tecnologia nas mesmas máquinas utilizadas para a fabricação de plásticos de polietileno, sendo necessário apenas algumas pequenas alterações no processo.



## JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A questão do impacto ambiental associado ao alto custo de reciclagem das embalagens plásticas têm favorecido as pesquisas sobre filmes biodegradáveis, que são filmes flexíveis elaborados com polímeros biológicos, capazes de formar adequadamente uma matriz coesa e contínua (PERESSINI et al., 2003; GONTARD e GUILBERT, 1996). Além de desempenharem funções de conservação semelhantes aos polímeros sintéticos, os filmes biodegradáveis apresentam como grande vantagem, o fato de não gerarem resíduos sólidos, pois podem ser consumidos junto com os alimentos ou serem facilmente degradados pela ação de micro-organismos de ocorrência natural no meio ambiente (DURANGO et al., 2006).

Na indústria de embalagens, nano compósitos biológicos são considerados materiais que promovem propriedades mecânicas, térmicas e barreira a gases diferenciados (ALEXANDRE et al., 2001; DARDER et al., 2007). A utilização dos mesmos na indústria de polímeros biodegradáveis não só protege e prolonga a vida de prateleira dos alimentos, como também fornece propriedades diferenciadas nas matrizes poliméricas biodegradáveis que regularmente apresentam algumas deficiências quando comparados com os polímeros sintéticos não biodegradáveis.

A nanociência e nanotecnologia veem sendo aplicadas em várias linhas de pesquisa, desde computadores, aparelhos de comunicação, de medicina até alimentos, foco principal deste projeto. Dados estatísticos mostram que no mundo as vendas de produtos na área de alimentos e embalagens com nanotecnologia no mercado internacional somou US\$ 383 bilhões em 2010. O mercado total de produtos que incorporam nanotecnologias atingiu US\$ 693 bilhões até o final de 2012, e com projeção de cerca de US\$ 2,95 trilhões em 2015. (FIRJAN, 2013).

Um exemplo da implementação da nanotecnologia é o enriquecimento deste tipo de polímeros com a adição de partículas inorgânicas, como as argilas, que dentro da matriz dos biopolímeros apresentam múltiplas funcionalidades melhorando as propriedades mecânicas, modificando a resistência térmica e diminuindo consideravelmente a permeabilidade ao vapor de água, além de ser barato e relativamente fácil de processar (ALEXANDRE e DUBOIS, 2001; KAWASUMI, 2004; SORRETINO et al., 2007).

Outro aspecto importante dentro das características das embalagens biodegradáveis é sua capacidade de barreira na transferência de alguns gases em alimentos. Os polissacarídeos e lipídeos são componentes usualmente responsáveis pela permeabilidade destes polímeros, mesmo assim, poucos são os estudos realizados com a adição de argilas com o intuito de modificar e avaliar as propriedades mecânicas destes filmes (SOZER e KOKINI, 2009).

O amido tem merecido a atenção como matéria-prima para a obtenção de bioplásticos (AVÉROUS, 2004). O amido e seus derivados constituem um dos polímeros naturais mais freqüentemente utilizados como matriz dentro da adição de nano compostos. Depois de extrudado, é transformado em um material termoplástico (amido termoplástico ou TPS) com baixa resistência mecânica e alta permeabilidade ao oxigênio e umidade (SOZER e KOKINI, 2009), podendo ser processado por métodos usados para os demais polímeros. Desta forma, métodos de deposição, extrusão, moldagem por sopro ou por injeção e termo-formatação têm sido estudados no processamento de amidos.

Para ser usado como um componente termoplástico, a forma granular do amido necessita ser desestruturada e transformada em matriz polimérica homogênea, essencialmente amorfa. Para que isto ocorra, faz-se necessária a aplicação de processos de transformação que utilizem temperatura e cisalhamento, bem como a adição de um ou mais plastificantes, em

geral substâncias polihidroxiladas. Tanto os plastificantes, como a própria matriz amorfa de amido são hidrofílicos, e absorvem água durante o armazenamento e uso. Esta água juntamente com o plastificante reduz a temperatura de transição vítrea (Tg), resultando em aumento da mobilidade molecular e com tendência à retrogradação (VAN SOEST et al., 1997; HULLEMAN et al., 1999; ROCHA, 2009). O que é indesejável, pois resulta em variações nas propriedades mecânicas, acarretando a ruptura ou quebra do material.

Os polímeros biodegradáveis com adição de plastificantes podem ser aplicados para controlar e modificar as propriedades mecânicas e de permeabilidade gases, reduzindo algumas das reações deteriorantes ou não desejáveis em alimentos embalados. Por isso que neste estudo utilizou-se água e glicerol.

Embora as nano partículas utilizadas na elaboração de polímeros biodegradáveis não sejam normalmente ingeridas ou inaladas pelos consumidores, pesquisas detalhadas devem ser feitas para avaliar seu efeito na flora microbológica e no sistema digestivo (SOZER e KOKINI, 2009). Estudos toxicológicos do uso de nano partículas ou nano cargas permitem estabelecer os limites seguros de aplicação. Na atualidade, não existe nenhum regulamento que delimite a utilização destas nano partículas, pois pouco se sabe dos riscos do uso destes materiais na saúde humana (SOZER e KOKINI, 2009).

Aplicações potenciais e propriedades de filmes e coberturas biodegradáveis, bem como seus efeitos sobre a extensão da vida útil de frutos e vegetais foram estudados por BAI et al., 2003; THARANATHAN, 2003, TOGRUL e ARSLAN, 2004). Algumas vantagens do uso destes filmes comestíveis incluem a redução da perda de água, atraso no amadurecimento de frutos climatéricos redução do chilling e injúria mecânica, redução da deterioração e aumento do brilho, além do seu uso como carreadores de ingredientes úteis como compostos antimicrobianos, aditivos de cor e aroma, compostos anti-oxidantes ou anti-amadurecimento (CHEN e NUSSINOVITCH, 2001). As coberturas e filmes ainda promovem uma barreira semipermeável contra o O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, umidade, difusão de solutos; assim reduzem a respiração de vegetais, pela redução do metabolismo e as taxas de reações oxidativas (AYRANCI e TUNC, 2003; TUNC et al., 2006).

## **Objetivo geral**

Desenvolvimento e caracterização física, química e toxicológica de filmes biodegradáveis a base de amido de milho e mandioca com cargas minerais e nanofibrilas produzidos por extrusão termoplástica e respectiva avaliação do potencial de aplicação em embalagens para alimentos.

## **Objetivos específicos**

- Elaborar e processar através da extrusão termoplástica e termoprensagem formulações para bioplásticos contendo amidos de mandioca, milho e glicerol e consequente caracterização física e química;
- Avaliar as condições de produção de bioplásticos, utilizando extrusão termoplástica e termoprensagem;
- Caracterizar o efeito dos plastificantes nas propriedades óticas, térmicas e mecânicas dos filmes;
- Ponderar o efeito da adição de nano cargas de argilas e nanofibrilas de celulose nos filmes de amidos obtidos por extrusão termoplástica em suas propriedades óticas, térmicas e mecânicas;

- Estudar a permeabilidade ao vapor de água e a molhabilidade dos filmes;
- Avaliar a citotoxicidade e genotoxicidade dos polímeros biodegradáveis desenvolvidos através de testes *in vitro* (cultura de células).

# CAPÍTULO I

# EFEITO DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICOS DE AMIDO DE MILHO E MANDIOCA POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA E TERMOPRENSAGEM

## RESUMO

As preocupações ambientais associadas a grande disposição de materiais plásticos têm influenciado estudos que promovem alternativas para a substituição ao uso de plásticos comuns ou sintéticos. Em função disto, este capítulo apresenta o estudo que trata da elaboração de formulações para bioplásticos contendo amidos de mandioca, milho e glicerol e conseqüente caracterização física, química e processamento através da extrusão termoplástica e termoprensagem. As variáveis foram consideradas num delineamento estatístico fatorial fracionário  $2^{6-2}$ : teor de plastificante na fração líquida (TPFL), percentual de amido de milho em relação ao amido de mandioca, temperatura nas últimas duas zona de aquecimento ( $^{\circ}\text{C}$ ), fluxo de água (L/h), taxa de alimentação (Kg/h) e velocidade dos parafusos (rpm). As variáveis de resposta consideradas foram: espessura dos bioplásticos (mm), módulo de Young (MPa), deformação na ruptura (%), resistência a tração (MPa), força ruptura (N) e deformação na tração (%). As matérias-primas foram caracterizadas quanto ao tamanho de partículas, composição centesimal e propriedades termofísicas. Pode-se concluir que foram três, dentre as seis estudadas, as variáveis independentes mais importantes: o teor de glicerol (70 a 90 % na fração líquida), a velocidade do parafuso (128 a 162 rpm) e a proporção de amidos de milho e mandioca (13 a 47 %) na formação dos bioplásticos. Na ordem descrita, estas exerceram o maior impacto nas propriedades de elasticidade dos filmes desenvolvidos. Foi evidenciada também uma clara importância não só do teor de glicerol (tanto na fração líquida como na sua taxa de fluxo L/h) na matriz, mas também do tipo de amido e sua interação com a velocidade dos parafusos durante o processo nas características do bioplástico.

**Palavras-chave:** Calorimetria exploratória diferencial (DSC), Delineamento fatorial fracionado, Difração de raios X.

## ABSTRACT

Environmental concerns associated with large array of plastic materials have influenced studies that promote alternatives to replace the use of common plastics or synthetics. Because of this, this chapter presents a study that addresses the preparation of formulations for bioplastics containing cassava starches, corn and glycerol, and subsequent physical characterization and processing chemistry by thermoplastic extrusion thermopressing. The variables considered as a  $2^{6-2}$  fractional factorial statistical design were: content of plasticizer in the liquid fraction (TPFL) percentage of cornstarch compared to cassava starch, temperature in the last two heating zone ( $^{\circ}$  C), flow water (L / h) feed rate (kg / hr) and the screw speed (rpm). The response variables considered were: thickness of bioplastics (mm), Young's modulus (MPa), elongation at break (%), tensile strength (MPa), breaking strength (N) and the tensile deformation (%). The raw materials were characterized by particle size, composition and thermophysical properties. It can be concluded that there were three among the thesis studied, the most important independent variables: the concentration of glycerol (70 to 90% in liquid fraction), the screw speed (128-162 rpm) and the proportion of corn flour and cassava (13-47%) in the formation of bioplastics. In order described, these exerted the greatest impact on the elastic properties of the films developed. It was also demonstrated a clear importance not only from the glycerol content (both in its liquid fraction and flow rate L / hr) in the matrix, but also on the type of starch and its interaction with the speed of the screws in the process durante specifications of the bioplastic.

**Keywords:** Differential scanning calorimetry (DSC), Fractional factorial design, Ray diffraction X.

# 1 INTRODUÇÃO

A indústria de plásticos sintéticos (derivados de petróleo) é uma das mais importantes na atualidade. Esses materiais são utilizados praticamente em todas as áreas produtivas e sua produção está intimamente ligada ao uso da tecnologia de extrusão (AREVALO et al., 2009).

A crescente preocupação com as condições ambientais e ecológicas em relação à deposição desordenada de materiais plásticos sintéticos têm resultado em altos investimentos em alternativas para substituição deste material comum por outros materiais considerados “amigos do ambiente”. Ainda assim o mundo consome 100 milhões de toneladas de plásticos derivados do petróleo e esse número vem aumentando de 3 a 4 % a cada ano. No Brasil, cerca de 240 mil toneladas de plástico são descartadas por dia, constituindo um sério problema sanitário (ECOD, 2010).

A forma mais comum e mundialmente utilizada para a produção de plástico é a extrusão, este é um processo de tratamento térmico do tipo *High Temperature In Short Time* (H.T.S.T.) que por uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico modifica profundamente matérias primas outorgando novas formas e estruturas com novas características funcionais (BERRIOS, et al., 2013; FELLOWS, 2006). As principais vantagens desta operação unitária é a versatilidade, pois variando as condições de operação, ingredientes e suas proporções, pode-se obter bioplásticos sem a geração de resíduos.

O processo de obtenção deste tipo de produto é extremamente flexível e dificilmente pode-se obter numa forma industrializada por outros métodos. Em relação ao custo, a extrusão é um processo relativamente de baixo custo e produtivo quando comparado a outros processos que utilizam calor, pois é um processo automático com grande capacidade de produção (Kalambur et al., 2006).

Bioplásticos de amido, usados na elaboração de embalagens ou como material de revestimento, têm sido de grande potencial tecnológico para a elaboração de produtos biodegradáveis, além de contribuírem para a redução de lixo, devido a sua rápida e total degradação no meio ambiente. O amido é um produto biodegradável diferenciado dos outros pela sua abundância na natureza e pelo baixo custo. Entretanto, seu uso como biopolímero pode ser prejudicado por algumas características tecnológicas, entre elas as propriedades mecânicas. Uma das soluções para tentar corrigir estas dificuldades técnicas é tornar o amido mais plástico. Pois o amido não é um verdadeiro termoplástico, mas, na presença de um plastificante e do cisalhamento, como ocorre no extrusor, ele funde e flui, permitindo seu uso em equipamentos de injeção, extrusão e sopro (Mościcki et al., 2012).

Quimicamente para obter um amido termoplástico é necessário que o amido perca sua estrutura granular semicristalina e adquira comportamento similar ao de um plástico derivado de petróleo derretido. Para isso é necessária a adição de um plastificante e de água, uma vez que a água adicionada a formulação tem a função de desestruturar o grânulo de amido nativo, rompendo as ligações de hidrogênio entre as cadeias de amilose e amilopectina, originando um produto plástico (Mościcki et al., 2012).

A transformação do material durante o processo de extrusão ocorre em três etapas: a plastificação, onde o material sólido no estado nativo (grânulo ou pó) torna-se um líquido homogêneo pela fusão, como processo físico principal; a modelagem do material em estado fundido pela passagem através da matriz; e por fim, o cozimento e a texturização do produto (WILHELM et al., 2003).

O objetivo deste capítulo foi estudar os fatores ligados à matéria-prima, ou seja, o amido de milho e de mandioca, seus teores de umidade e proporção de amilose e amilopectina

utilizando diferentes fontes de amido (milho e mandioca); e plastificantes (glicerol e água) em função de diferentes parâmetros de processamento (temperatura, velocidade de parafuso, fluxo de plastificante, taxa de alimentação, etc.) e o efeito que estas interações exercem no produto acabado. Na extrusão, também foram estudadas as variáveis percentual de plastificante glicerol na água do processo, tempo e temperatura de condicionamento.

### **1.1 Objetivo geral**

Estudar as variáveis do processo de extrusão na elaboração de bioplásticos de amido de mandioca, amido de milho e glicerol como plastificante.

### **1.2 Objetivos específicos**

- Determinar, ponderar e adequar as matérias primas e os parâmetros de extrusão na produção de bioplásticos extrudados, produzidos a partir da mistura de amido de mandioca, amido de milho e glicerol;
- Estudar através de diferentes testes a extrusabilidade o efeito da adição de glicerol e seu fluxo (L/h) na mistura de amidos;
- Determinar e avaliar os parâmetros tecnológicos, espessura (mm), módulo de Young (MPa), deformação na ruptura (%), resistência a tração (MPa) Força (N) e deformação (%) dos bioplásticos extrudados e termoprensados desenvolvidos;
- Determinar as principais condições de processo a serem estudadas para adicionar nanocargas dos bioplásticos reforçados.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A tecnologia de extrusão termoplástica combina a ação do trabalho mecânico com a ação do calor e pressão, modificando a estrutura do material, gerando novas formas e texturas. Além disso, é um processo tecnológico não poluente e uma tecnologia recomendada na elaboração de bioplásticos pela alta capacidade produtiva e pela semelhança que tem com a indústria de polímeros sintéticos (SHEN et al., 2010; BERRIOS, et al., 2013)

O extrusor é composto de cinco partes principais: um mecanismo de alimentação, que pode ser vertical ou horizontal; uma ou duas roscas ou parafusos sem fim, que transporta a matéria-prima; um cilindro ou canhão, sistema de controle de temperatura; a matriz, que modela o produto na forma desejada, e um mecanismo de corte, essencial para a formação do produto extrudado (EL-DASH, 1981). Historicamente, este é o mecanismo utilizado pela indústria para produzir plástico sintético. Porém é importante reconhecer que o estudo deste mecanismo com materiais renováveis se torna imprescindível, pois facilita sua adequação a sistemas produtivos já existentes.

Na atualidade, muitos são os trabalhos que foram apresentados na forma de artigos científicos, resumos, dissertações, teses e patentes utilizando os bioplásticos extrudados como materiais potenciais para aumentar a vida de prateleira e melhorar a qualidade de alimentos frescos e processados considerando a parte ambiental. Uma variedade de matérias-primas e técnicas já foram utilizadas de forma singular ou combinadas para produzir filmes compostos (WANG et al., 2010; SHEN et al., 2010; FARIAS et al., 2012).

Para a elaboração de bioplásticos, são necessários alguns componentes com finalidade específica, sendo os principais um biopolímero capaz de formar o filme e um plastificante capaz de formar uma matriz contínua e de alta coesão (CUQ et al., 1997; SHEN et al., 2010). As macromoléculas mais utilizadas pelo baixo custo e alta disponibilidade são polissacarídeos como alginato, pectina, amido e celulose (WANG et al., 2010; SHEN et al., 2010). Bioplásticos obtidos a partir do amido, apesar de apresentarem características tecnológicas promissoras como boas barreiras a alguns gases ( $O_2$  e  $CO_2$ ), também apresentam alta permeabilidade ao vapor de água (altamente solúveis) e propriedades mecânicas indesejáveis (PARK et al., 2005).

O mercado dos biopolímeros no ano de 2010 foi na ordem de 60.000 toneladas, com preço de comercialização de US\$ 4/kg. Os dados estatísticos indicam que este mercado apresenta uma taxa de crescimento acima de 20% ao ano e custos de produção decrescentes (para US\$ 2/kg), com um consumo estimado para o ano de 2015 na ordem 1.000.000 toneladas/ano, fazendo um mercado anual de US\$ 2 bilhões. É consenso entre as fontes consultadas que o preço de venda do produto é o obstáculo principal para sua entrada no mercado, apontando-se um preço teto de cerca de US\$ 2/kg, ou seja, cerca de até 50 % superior aos preços de comercialização das resinas sintéticas mais comuns (PE, PP, PET, etc). Não obstante, entre os anos 2008 e 2010 houve duplicação da demanda de bioplásticos a cada dois anos (BORSCHIVER; ALMEIDA; ROITMAN, 2008; FARIAS et al., 2012).

Uma análise da evolução do preço destes biopolímeros, levando-se em conta a curva de evolução tecnológica e do preço do petróleo em diversos cenários, demonstrou que os preços de polietileno tereftalato (PET) e bioplásticos convergiriam para cerca de US\$ 1/kg no ano de 2020, caso o petróleo subisse de US\$ 25 a US\$ 130/barril, cenário bastante provável na atual conjuntura (PLANK, 2004).

Os bioplásticos à base de amido podem ser utilizados para confecção de itens descartáveis, tais como sacos de lixo, vasos para plantas, cobertura temporária de mudas,

talheres, pratos, embalagens de frutas, entre outras aplicações (SUTHERLAND, 2001). Além disso, apresentam grande potencial para aplicação em matrizes de liberação controlada de medicamentos e de pesticidas (MARTINS et al., 1997). O foco deste trabalho visa sua utilização para embalagens flexíveis biodegradáveis.

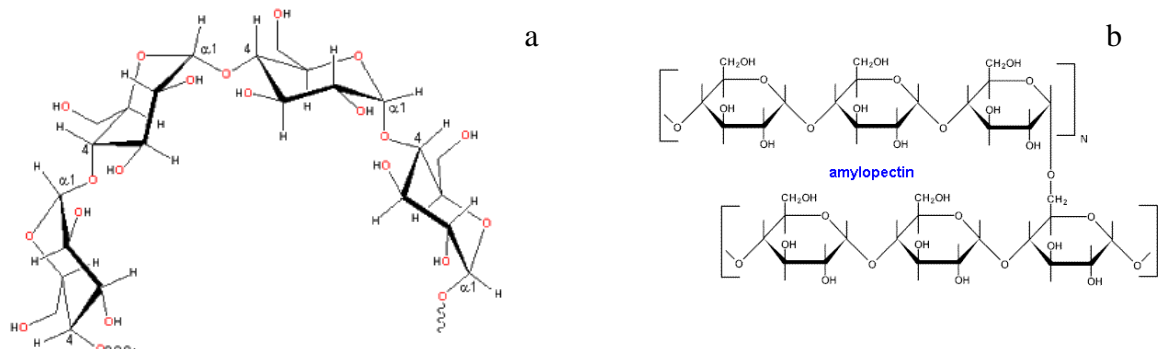
## 2.1 Matérias-primas para elaboração de bioplásticos

Os materiais que constituem normalmente os bioplásticos podem ser divididos em três grupos: os hidrocolóides, os lipídeos e compostos formados por ambos. Neste capítulo foi estudado a utilização do amido como o principal hidrocolóide. Este tipo de material pode ser utilizado em aplicações onde o objetivo principal é controlar a permeabilidade ao oxigênio, dióxido de carbono e migração lipídica em um sistema alimentício. A solubilidade de filmes de polissacarídeos é vantajosa em situações em que o filme é consumido com o produto, provocando poucas alterações nas propriedades sensoriais do alimento. A baixa resistência à permeabilidade ao vapor de água de coberturas hidrocolóides está relacionada à natureza hidrofílica desses materiais (PHAN THE et al., 2009, DONHOWE e FENNEMA, 1994; ORTIZ, 2009).

### 2.1.1 Amido

O amido é a principal substância de reserva nas plantas superiores, fornecendo de 70 a 80 % das calorias consumidas pelo homem. Os depósitos permanentes de amido nas plantas ocorrem tanto nos órgãos de reserva quanto em grãos de cereais (milho, arroz, trigo) e em tubérculos e raízes (batata, mandioca). No seu estado nativo, o amido é composto de grânulos semi-cristalinos insolúveis em água. Estes são constituídas de polímeros lineares (amilose) e de polímeros ramificados (amilopectina) de  $\alpha$ -D-glicose (ROUILLY; RIGAL, 2002), com estruturas e funcionalidade diferentes. A amilose é um polímero linear com unidades de D-glicose ligadas por ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4), como se apresenta na Figura 1a, com grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da fonte do amido (CARVALHO e MITCHEL, 2001).

A amilopectina é um polímero altamente ramificado, com unidades de D glicose ligadas através de ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) e as ramificações em  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) (Figura 1b) (ROUILLY et al., 2000). Além destes dois compostos, outros componentes também são encontrados no amido em menor proporção sendo eles lipídeos, proteínas, fósforo e outros minerais.



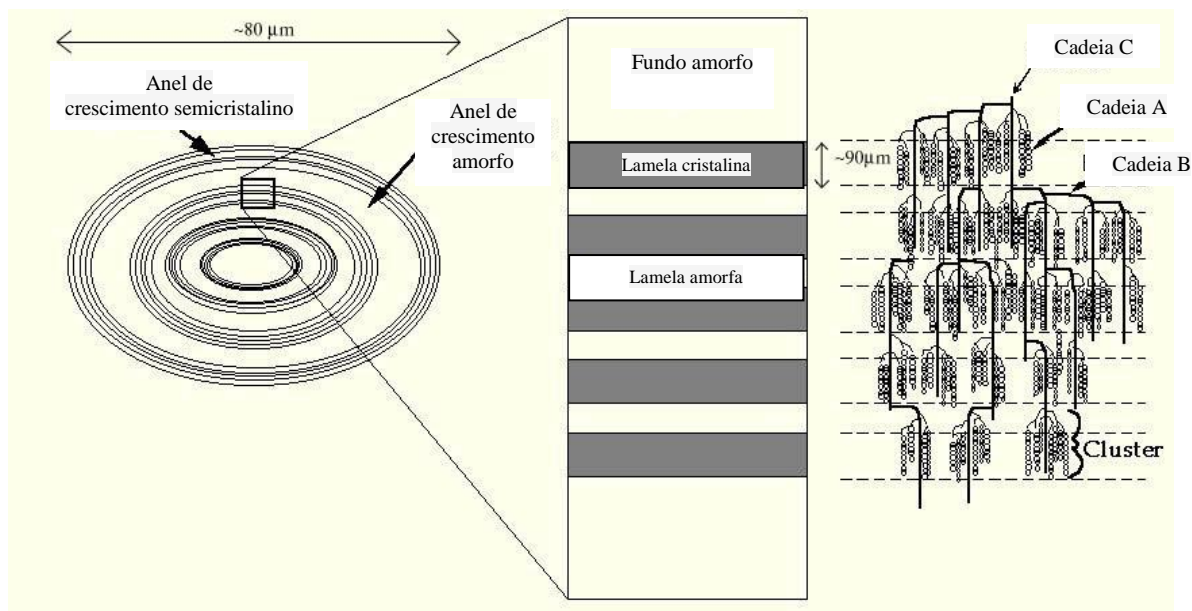
**Figura 1.** Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b) (ROUILLY et al., 2000).

Por apresentarem estruturas cristalinas, os grânulos de amido proporcionam padrões específicos de cristalinidade. O padrão A é característico do amido de cereais, o padrão B do amido de tubérculos, de frutas, de milho com alto teor de amilose e dos amidos retrogradados, e ainda o padrão C, uma mistura de A e B, característico do amido de leguminosas (CARVALHO e MITCHEL, 2001). As cadeias ramificadas constituídas da amilopectina são arranjadas em pequenos pacotes denominados “clusters”, cadeias ramificadas longas que variam com a espécie e origem genética do amido. As cadeias ramificadas apresentam dupla hélice e estruturas cristalinas (CARVALHO e MITCHEL, 2001).

Embora existam inúmeras controvérsias, hoje é estabelecido que algumas moléculas de amilose podem apresentar 0,3 a 0,5 % do total das ligações ramificadas unidas através de ligações  $\alpha$ -1,6. Com tendência a formar hélices e girar, mesmo através das várias camadas de amilopectina (WOLF, 2007).

De acordo com Zhang et al. (2007), cadeias extensas lineares conferem a amilose propriedades únicas tais como: capacidade de formar complexos com iodo, álcoois ou ácidos orgânicos; formação de precipitados em solução de amido (com adição de NaOH ou DMSO – dimetilsulfóxido) e ainda associar-se consigo mesma e desta forma, precipitar na solução.

A amilopectina consiste em uma cadeia principal, chamada cadeia C (ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6) a qual estão ligadas extremidades redutoras e numerosas ramificações, chamadas cadeia B. associadas a essas cadeias B, estão as chamadas cadeias A (ligações  $\alpha$ -1,4). As ramificações da amilopectina apresentam dupla hélice e o comprimento das cadeias, variam com a espécie e origem genética do amido. Devido ao vasto número de cadeias na estrutura da amilopectina, tem-se definido vários pontos de ramificações e, portanto, torna-se difícil determinar ao certo a representação estrutural exata da amilopectina (ZHANG et al., 2007). Pesquisadores têm proposto diferentes modelos, entre estes: cluster, duplas hélices e comprimentos de cadeias irregulares (Figura 2) (Costa, 2008).

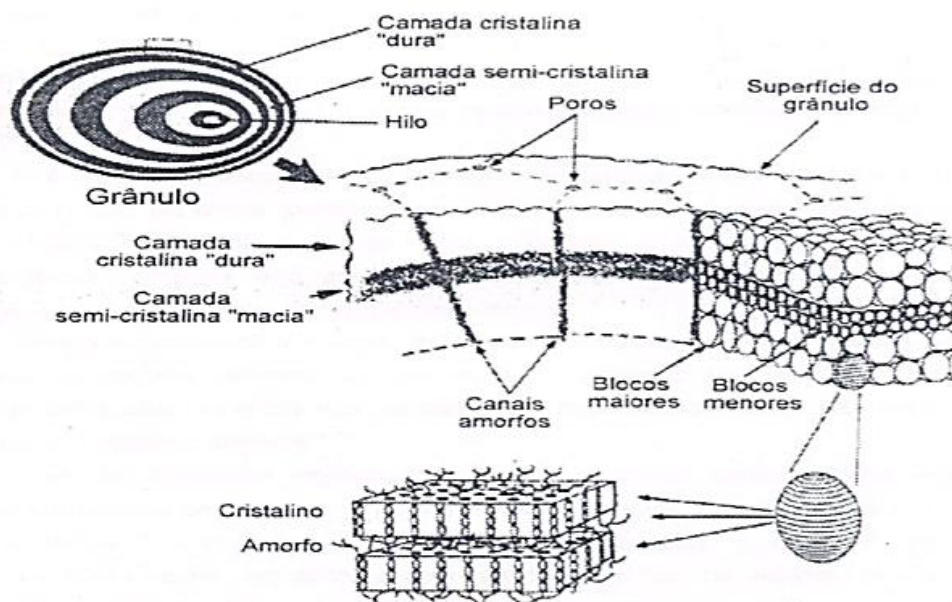


**Figura 2.** Modelo semicristalino da amilopectina (Fonte: Carvalho, 2012).

No grânulo de amido, uma região de moléculas ordenadas cresce na direção radial a partir do centro (hilo). Grânulos completos, com moléculas arranjadas na direção radial, contêm regiões cristalinas (dura) e não cristalinas ou semicristalinas, 15 a 45 % associadas à amilopectina, em camadas alternadas (Figura 3) (COSTA, 2008).

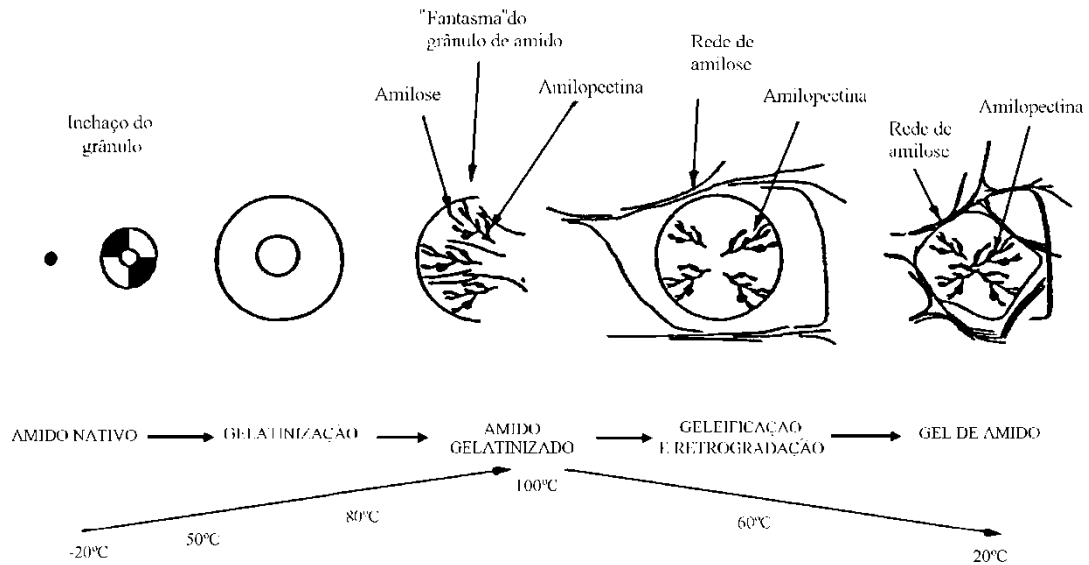
Consideráveis evidências através de estudos de microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e mais recentemente microscopia de força atômica, indicam que as lamelas cristalinas e amorfas de amilopectina estão organizadas em estruturas grandes mais ou menos esféricas que foram denominadas blocos (Figura 3) (DEMIATE et al., 2000).

Os amidos são empregados industrialmente, devido às suas propriedades funcionais, que se resumem, principalmente, na habilidade de formação de géis, a qual depende de diferentes características particulares dos grânulos. Características ideais para produzir bioplásticos uma vez que o amido é submetido a energia termomecânica em presença de água.



**Figura 3.** Agrupação em blocos esféricos de amilopectina (Fonte: Bornet, 1992).

Neste estudo, o amido representa a grande maioria da matéria prima utilizada, quando o grânulo de amido é aquecido em presença de água, as ligações de hidrogênio presentes nas áreas amorfas são quebradas, permitindo o entumescimento do grânulo. As ligações mais fortes, presentes na área micelar, possibilitam que o grânulo permaneça intacto até que estas se rompam em algum ponto. Nessa condição, a expansão dos grânulos torna-se irreversível e a ordem estrutural desaparece, podendo ser caracterizada por uma endoterma obtida através de calorimetria diferencial de varredura (DSC), pela perda da birrefringência, observada usando-se microscopia de luz polarizada (perda da cruz de malta) e pelo desaparecimento da cristalinidade evidenciada pela difração de raios X (Costa, 2008). Caso os grânulos continuem a se expandir, a amilose é lixiviada para a fase aquosa entre os grânulos, iniciando assim o processo de gelatinização (Biliaderis, 1991) (Figura 4).

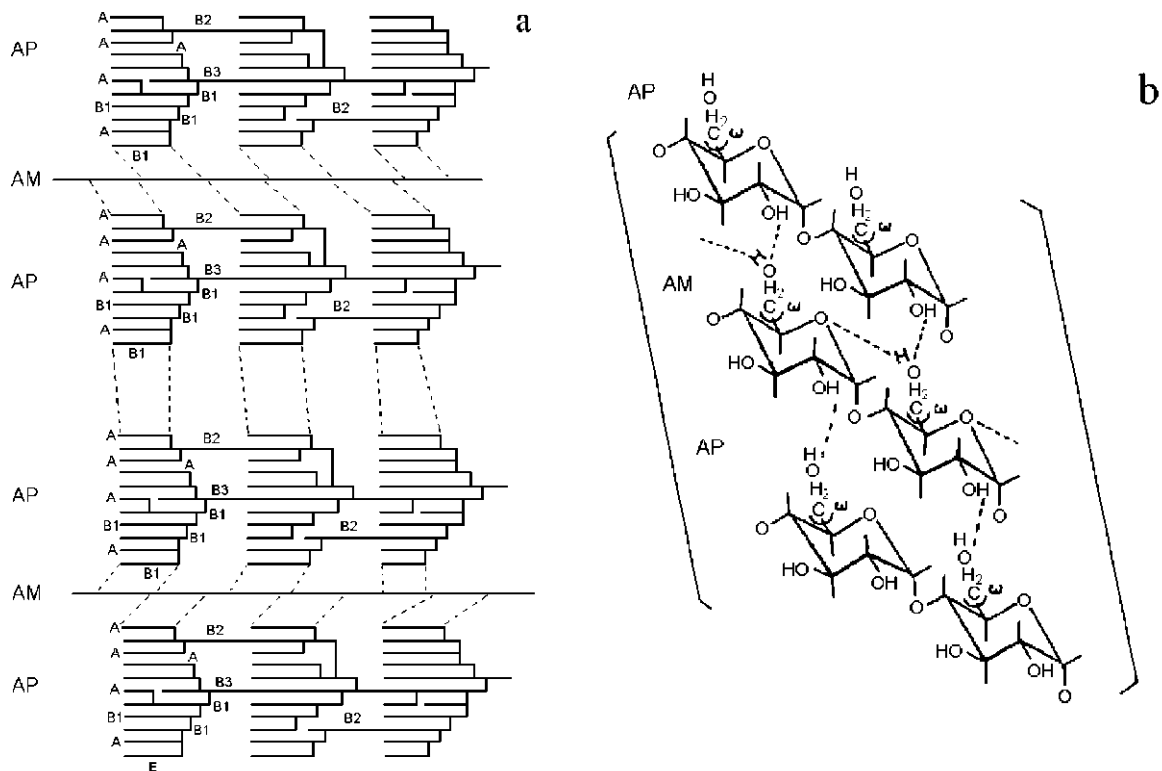


**Figura 4.** Influência do tratamento hidrotérmico com excesso de água sobre o estado do amido (Fonte: Bornet, 1992).

Um dos fenômenos mais importantes na produção de bioplásticos utilizando esta tecnologia acontece após a gelatinização, às moléculas de amilose, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes (retrogradação). Com isso há diminuição de volume e a afinidade do polímero pela água é reduzida, podendo o amido gelatinizado formar filmes estáveis e flexíveis (WURZBURG, 1986; BOBBIO e BOBBIO, 1995).

Sendo assim, a formação dos filmes de amido pode ser explicada através do modelo proposto por Tako e Hizukuri (2002) para retrogradação do amido de batata. De acordo com estes autores, a retrogradação ocorre entre as moléculas de amilose e as ramificações laterais (A ou B1) das moléculas de amilopectina, através de ligações de hidrogênio (Figura 5a). As ligações intermoleculares devem ocorrer entre o oxigênio do carbono 6 (O-6) do resíduo de glicose da amilose e o grupo hidroxila do carbono 2 (OH-2) da molécula de glicose das cadeias laterais da amilopectina. Como duas ou mais cadeias laterais da molécula de amilopectina podem estar ligadas à molécula de amilose, pode ocorrer outra ligação entre o OH-2 da amilose e o O-6 da amilopectina (Figura 5b). As moléculas de amilose apresentam ainda ligações intramoleculares entre o OH-6 e o átomo de oxigênio hemiacetal do resíduo de glicose adjacente (Figura 5b).

Após a saturação das ligações de hidrogênio intermoleculares entre as moléculas de amilose e amilopectina, pode ocorrer a associação entre o oxigênio do carbono 3 e o grupo hidroxila do carbono 3 dos resíduos de glicose de diferentes moléculas de amilopectina através de ligações de hidrogênio (Figura 5a). No caso do amido de batata as soluções acima de 2 % apresentam saturação de ligações entre amilose e amilopectina (Tako e Hizukuri, 2002).



**Figura 5.** (a) Possíveis sítios de associação (linhas pontilhadas) entre as moléculas de amilose (AM) e amilopectina (AP) do amido de batata. (b) Possível mecanismo de retrogradação do amido de batata. Linhas pontilhadas representam as pontes de hidrogênio. A e B são as ramificações laterais da amilopectina (Fonte: Tako e Hizukuri, 2002).

### 2.1.2 Processamento do Amido

O amido processado por extrusão é também conhecido como amido termoplástico (TPS). Ele é uma das principais matrizes que vêm sendo estudadas na indústria de polímeros em demanda do crescente mercado de produtos biodegradáveis. Quando o amido se encontra cru, ele não é considerado um termoplástico verdadeiro, pois a presença das ligações de hidrogênio entre as cadeias de amido impede o movimento das macromoléculas, dificultando dessa forma seu processamento, quando comparado com polímeros sintéticos (HERNANDEZ e KROCHTA, 2008).

Para a produção de, TPS além do processamento, o amido deve estar associado a algum plastificante, pois quando combinado a energia térmica e mecânica do processo de extrusão e termoprensagem produz um material amorfo capaz de escoar, obtendo assim o amido TPS ou amido desestruturado (HERNANDEZ e KROCHTA, 2008).

O amido TPS não depende exclusivamente da origem dos grânulos, eles estão intimamente ligados as condições do processamento como são a temperatura, tamanho da partícula, configuração dos parafusos, tipo de canhão na extrusora, taxa de alimentação do material, tipo de matriz, quantidade de água no sistema e teor de plastificante (CARVALHO e MITCHEL, 2001).

### 2.1.3 Plastificantes

De acordo com Liu et al., (2006), plastificante é uma substância não volátil, com um ponto de ebulição alto, miscível e que quando adicionado a outro material altera suas propriedades físicas e/ou mecânicas. Além disto, evitam rachaduras do filme durante o manuseamento e armazenagem (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993) e afetam as permeabilidades a gás, vapor de água e a solutos (BENGTSSON et al.,2003).

Os plastificantes são incorporados durante o processamento de plásticos visando aumentar sua flexibilidade ou capacidade de alongamento. Eles reduzem a viscosidade do material fundido, diminuem a temperatura de transição vítrea, bem como a rigidez do material (BENGTSSON et al.,2003). Os plastificantes são geralmente líquidos, inodoros, incolores e de baixa volatilidade. Podem ser classificados em monoméricos, quando apresentarem massa molar de até 500 g/mol e poliméricos, se apresentarem massa molar superior a 500 g/mol, como os poliésteres, ésteres complexos e óleos epoxidados. As características essenciais de um bom plastificante são baixa volatilidade e pouca ou nenhuma migração para a superfície, alta resistência à extração por água, óleos e solventes, compatibilidade com o polímero, baixa toxicidade e resistência térmica (KESTER e FENNEMA, 1986).

Outro efeito do plastificante é o aumento da hidrofiliidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes plastificados, já que a maioria dos plastificantes empregados em filmes de amido tem caráter hidrofílico (LIU et al., 2006). Segundo Cuq e Guilbert, (1996), a adição de plastificante aos biopolímeros modifica a organização tridimensional da rede polimérica, diminuindo as forças de atração intermolecular, aumentando o volume livre do sistema e deixando menos densa a matriz dos filmes, com isto ocorre um aumento da sua flexibilidade e extensibilidade. No entanto, seu aumento pode resultar em redução nas propriedades mecânicas de tração dos filmes, e em alguns casos, também na redução da barreira ao vapor de água (LIU et al., 2006). Água também é considerada um plastificante em filmes hidrofílicos, resultando em produtos com alto brilho (LIU et al., 2006).

Vários trabalhos produziram filmes por espalhamento empregando amido de mandioca e diferentes concentrações de glicerol ou sorbitol e verificaram que glicerol e sorbitol apresentaram efeito antiplastificante quando empregados em baixas concentrações ( $\leq 15$  g/100 g amido) e sob baixos valores de atividade de água ( $\leq 0,58$ ) (Vicentini, 2003). O efeito antiplastificante pode ser demonstrado pelo decréscimo da hidrofiliidade e da flexibilidade dos filmes nestas condições. Em concentrações mais elevadas de plastificante e sob maiores atividades de água, os plastificantes empregados exerceram o efeito esperado de plastificação. Comparando-se glicerol e sorbitol, pode-se observar que o glicerol exerceu plastificação mais efetiva, tornando os filmes mais hidrofílicos (por aumentar a sua capacidade de interação com a água) e mais flexíveis.

## 2.2 Extrusão

A extrusão de bioplásticos é um processo que promove a gelatinização do amido, a desnaturação e reorientação das proteínas, a inativação enzimática, a destruição de substâncias tóxicas tais como os inibidores das proteases e a diminuição da contagem microbiana para formar um produto de características físicas e geométricas pré-determinadas (SEBIO, 1996). Além disso, proporciona a hidratação de amidos e proteínas, homogeneização, cisalhamento, fusão de gorduras, plastificação e expansão da estrutura (BERRIOS; ASCHERI e LOSSO, 2013).

As principais vantagens do processo de extrusão são: i) a versatilidade, pois pode alterar poucos ingredientes e suas proporções, podemos obter uma grande variedade de

produtos, tornando o processo é extremamente flexível; ii) obaixo custo, a extrusão é um processo relativamente barato e produtivo comparado a outros processos que utilizam calor. Por exemplo, a extrusão de cereais matinais comparados com o processo tradicional de elaboração, utiliza 19 % da matéria-prima, 40 % da mão-de-obra e 44 % com gastos de instalação; iii) o processo é automático com grande capacidade de produção, pois é capaz de produzir 315 kg/h de produto final, 1.200 kg de cereais de baixa densidade e 9.000 kg para rações animais (BERRIOS; ASCHERI e LOSSO, 2013).

Os fatores ligados a matéria-prima tais como teor de umidade, proporção de amilose e amilopectina (FAUBION e HOSENEY, 1982), conteúdo de proteína, lipídios e fibra, fontes de amido utilizadas, exercem grande influência no produto acabado. Porém na extrusão, parâmetros como temperatura, umidade, rotação do parafuso, velocidade de alimentação, diâmetros da matriz, tempo e temperatura de secagem, entre outros fatores são aspectos importantes que devem ser monitorados cuidadosamente para a obtenção de produtos de alta qualidade (ASCHERI et al., 1995).

A transformação do material durante o processo de extrusão ocorre em três etapas: a plastificação, onde o material sólido em qualquer estado nativo (grânulo ou pó), torna-se um líquido homogêneo pela fusão, a modelagem do material em estado fundido pela passagem através da matriz; e por fim, o cozimento e a texturização do produto (COLONNA et al., 1987).

### **2.2.1 Sistema de Extrusão**

O extrusor consiste de um ou dois parafusos de Arquimedes que giram dentro de um cilindro estacionário. Em condições de alta temperatura, pressão e de forças de cisalhamento, o material quando submetido ao sistema de extrusão é forçado a passar através de um molde o que dará forma para o mesmo (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998). Segundo Guy e Horne (1988), o extrusor é constituído basicamente pelo alimentador, parafuso ou rosca, cilindro encamisado, matriz e mecanismo de corte. Ou seja, o extrusor é constituído por um ou dois parafusos ou roscas, que podem ser mono ou dupla rosca, giratórios, firmemente encaixados dentro de um cilindro para alimentar, coccionar e pressionar o material. O cilindro encamisado envolve os parafusos e é dividido em seções para permitir a circulação de vapor, óleo, água ou ar, itens que colaboram para o ajuste perfeito de temperatura entre as várias zonas do extrusor (BERRIOS et al., 2013; ORTIZ, 2009).

As roscas podem ser divididas em três zonas: a zona de alimentação, zona tribológica (transição), e zona reológica (HARPER, 1992). A zona de alimentação recebe e transporta a massa para as zonas seguintes. Na zona tribológica o material começa a ser compactado pelo aumento da compressão e grande parte da energia mecânica é dissipada, causando aumento rápido da temperatura e a transformação da massa da forma granular para uma forma plástica contínua. As relações tribológicas regem o comportamento da massa nesta seção. Por fim, na zona reológica, as variáveis: temperatura, pressão e taxa de cisalhamento atingem o máximo e o comportamento da massa é ditado pelas relações reológicas. Em roscas de perfil afilado-reto, estas três zonas são facilmente identificáveis pela geometria da rosca, apesar da transição das características da massa não ser assim tão abrupta.

O parafuso ou rosca, considerado a parte mais importante do extrusor, ajuda a regular o grau de gelatinização e a qualidade final do produto. Este mistura continuamente o material e o conduz pelo cilindro, gerando fricção mecânica e calor, que ajudam a fundir o produto (GUY e HORNE, 1988).

Ao girar, o parafuso conduz o material em direção à matriz. A matriz apresenta configurações variadas e, além de moldar o produto na forma desejada, funciona como um



restritor de fluxo, mantendo a pressão na zona de cocção (GUY e HORNE, 1988). O parafuso revira e pressiona o material contra as paredes do cilindro, promovendo o cisalhamento e transformação em uma massa uniforme. A mistura dentro do canhão absorve calor por dissipação de energia mecânica aplicada ao parafuso. O calor pode ser adicionado também através de uma camisa de vapor ao redor do cilindro ou por aquecimento elétrico. O cilindro de um extrusor pode ser constituído de seções, afim de que a desmontagem seja facilitada, ou de uma única peça. O controle da temperatura em cada uma das zonas do extrusor pode ser feito por meio de serpentinas de ar comprimido ou camisas de água fria. Muitos cilindros são equipados com sensores de pressão e temperatura para controle do processo. Logo na matriz, aumenta a pressão na zona de cozimento do extrusor (BORSCHIVER et al., 2008).

O mecanismo de corte está acoplado à porção final do extrusor, sendo constituído por lâminas horizontais ou verticais que, de acordo com a velocidade de giro, determinam o comprimento do pellet quando este é cilíndrico. Uma maior velocidade vai originar produtos mais curtos e vice-versa. O mecanismo deve prover corte do produto em comprimento uniforme e com superfícies perfeitas para facilitar a presagem ou extrusão (GUY e HORNE, 1988).

Segundo Padua e Wang (2008) os extrusores são classificados em termodinâmicos ou operados com pressão. Termodinamicamente os extrusores dividem-se em três grupos, ou seja, autógenos, isotérmicos e politrópicos. Os extrusores autógenos (adiabáticos) são aqueles em que o calor total que entra no extrusor resulta da dissipação viscosa da energia mecânica e pouco ou nenhum calor deve ser adicionado ou removido do cilindro. Os extrusores isotérmicos são aqueles onde a temperatura do processo é mantida constante por camisas de água que removem o calor produzido. Os extrusores politrópicos são aqueles onde o calor é adicionado ou retirado do extrusor. Os extrusores podem ser ainda agrupados em cinco categorias de acordo com as suas características operatórias:

- extrusores para amidos frescos, que consistem de um cilindro liso e parafuso operando em baixa velocidade. Isto favorece o trabalho da farinha que deve passar através do molde sem sofrer forte cozimento;
- extrusores de alta pressão, que possuem capacidade de alta compressão, resultando em altas pressões na saída da matriz;
- extrusores cozedores sob baixo cisalhamento, usados para materiais de baixa viscosidade. O calor pode ser adicionado ao extrusor;
- extrusores *collet*, que possuem parafuso pequeno com poucas aletas. A dissipação do calor ocorre rapidamente. São usados na extrusão de materiais secos;
- extrusores cozedores de alto cisalhamento, projetados para operar em altas taxas de compressão e com capacidade de aquecer e resfriar o cilindro. Estes extrusores têm grande versatilidade, podendo trabalhar em condições variáveis e aceitar ingredientes com teor variável de umidade.

## **2.2.2 Descrição do processo de extrusão termoplástica**

Segundo EL-Dash (1982) o processo de extrusão compreende as etapas de pré-extrusão, extrusão e pós-extrusão. A pré-extrusão inclui a preparação dos ingredientes e sua mistura em proporção adequada. Após a mistura, o material é transportado para ser condicionado a um conteúdo apropriado de umidade. Na etapa de extrusão, a matéria-prima é introduzida no equipamento através do alimentador, sendo impulsionada pelo(s) parafuso(s) em direção à matriz. À medida que o produto atravessa as diferentes zonas de extrusão (de alimentação, de transição e de alta pressão), ocorre aumento gradativo do atrito mecânico,

provocado por modificações da geometria do parafuso e abertura da matriz. Em consequência, aumentam também a pressão e a temperatura, ocorrendo o cozimento do produto.

### **2.2.3 Parâmetros e configuração do extrusor termoplástico**

O critério mais importante para extrusar uma grande variedade de matérias-primas é a seleção apropriada da configuração do extrusor. Alguns itens são importantes para avaliar o tipo de configuração. São eles: o pré-condicionamento, configuração dos parafusos, velocidade dos parafusos, temperatura do cilindro, adição de água, configuração da matriz e secagem (YU et al., 2006).

### **2.2.4 Pré-condicionamento dos extrudados**

Pré-condicionamento pode ser definido como um requerimento do processo que permite a adição de um material em determinada condição (MA et al., 2004). Durante o pré-condicionamento, ocorre mistura, hidratação, pré-aquecimento dos materiais componentes da formulação. Em alguns casos, pode ser necessária a adição de vapor durante o condicionamento da matéria-prima a ser extrusada. Dependendo das características do produto final, o vapor pode ser adicionado até 50 % do total de água de condicionamento, o qual depende da quantidade de material amiláceo da formulação, desde que se considere que uma excessiva quantidade de vapor pode provocar pré-gelatinização no material.

### **2.2.5 Configuração do parafuso**

Segundo Yu et al., (2006), na configuração de um extrusor, os elementos do parafuso, restritores de fluxo, podem ser considerados para otimizar o grau de cozimento do material. Cada máquina possui suas próprias características, porém o barril e o parafuso requerem específica configuração para um determinado produto. Uma inadequada configuração diminui as possibilidades de controle de alguns parâmetros como velocidade do parafuso e temperatura do canhão.

### **2.2.6 Velocidade do parafuso**

A uma maior velocidade no parafuso, observa-se maior taxa de cisalhamento. Isto implica em um maior grau de cozimento do material, sendo que, como consequência de uma maior velocidade, o tempo de resistência diminui devendo-se observar os níveis ótimos destes parâmetros a fim de se conseguir qualidade no produto final (ASCHERI, 2011).

### **2.2.7 Temperatura do cilindro**

O excesso de calor juntamente com outros fatores de processamento, degradam a matéria-prima a compostos de menor massa molar, como os polímeros livres, amido dextrinizado, oligossacarídeos e açúcares simples. O uso de temperaturas muito altas provoca alto grau de cozimento e o produto na saída da matriz pode mostrar sinais de expansão, ao aparecer bolhas de ar nas peças de pellet que saem da matriz. Neste caso, cada zona do barril

deve ser monitorada de tal forma que ao atingir a temperatura requerida, e por efeito da fricção produzir mais calor, as zonas deverão ser resfriadas até controlar o excesso de calor, mantendo a homogeneidade da temperatura e do processo e conseqüentemente do produto final (ASCHERI et al., 1995).

### **2.2.8 Configuração da matriz**

A configuração e desenho da matriz são fundamentais na qualidade do produto final (ORTIZ, 2009). As taxas de cisalhamento podem ser alteradas dramaticamente pela mudança de uma simples matriz. Ao mudar uma matriz simples por outra múltipla se observa que o fluxo de material aumenta, em função das mudanças. Obviamente a pressão de descarga de produtos foi maior quanto menor é o número e diâmetros de abertura da matriz.

### **2.2.9 Fatores que interferem na qualidade dos produtos extrudados**

As propriedades reológicas da matéria-prima e as condições de operação do extrusor são os dois fatores que mais influenciam a natureza dos produtos extrudados (BERRIOS; ASCHERI e LOSSO, 2013). As propriedades reológicas da matéria-prima têm importante influência nas propriedades mecânicas e coloração do produto. Os fatores mais importantes são: tipo, teor de umidade, estado físico e composição química, particularmente a quantidade e tipo de amido, proteínas, gorduras, açúcares e o pH do material umidificado (BERRIOS; ASCHERI e LOSSO, 2013).

A umidade tem um efeito pronunciado nas características dos extrudados. Segundo Onwulata et al. (2001), a umidade exerce grande influência na qualidade do extrudado por afetar a estrutura celular e a fragilidade dos produtos extrudados. O aumento da umidade diminui o grau de degradação do amido durante o aquecimento e cisalhamento devido a redução do estresse, que promove redução da viscosidade (VAN DEN HEUVEL et al., 1990).

A composição da matéria-prima, seu teor de umidade e tamanho de suas partículas influenciam a viscosidade do produto no extrusor. A viscosidade é um fator crucial, que determina as condições de operação do extrusor, e por tanto, a qualidade do produto final. Diferentes tipos de matérias-primas geram produtos completamente diferentes quando algumas condições de operações do extrusor são usadas. Isto decorre dos diferentes tipos e teores de amido e de proteínas, teores de umidade e outros ingredientes adicionados, por exemplo, óleo e emulsificantes o que resulta em diferentes viscosidades e características de fluxo. Semelhantemente, a adição de ácidos para ajuste do pH causa mudanças na gelatinização do amido e no desdobramento de moléculas de proteínas. Diferenças no conteúdo de açúcares e no pH também produzem variação de cor devido a Reação de Maillard (FELLOWS, 2006).

A gelatinização do amido normalmente causa aumento na viscosidade, mas em extrusão- cocção, o intenso cisalhamento também pode quebrar as macromoléculas em unidades menores, resultando na redução da viscosidade (FELLOWS, 2006).

A intensidade de pressão dentro do cilindro depende, em parte, do tamanho da matriz. Se o cilindro for completamente aberto na matriz final, não haverá pressão e o extrusor simplesmente agirá como um parafuso transportador. Inversamente, se a matriz final for completamente fechada, a pressão aumentará. Entre estes dois extremos, o tamanho da matriz afeta grandemente o desempenho do extrusor (BERRIOS; ASCHERI e LOSSO, 2013).

O cisalhamento é influenciado pelo desenho do cilindro, o comprimento, a velocidade e a geometria dos parafusos (FELLOWS, 2006). A função, a eficiência e a capacidade de um

extrusor dependem, em larga extensão, do desenho do parafuso e de seu revestimento, os quais governam o mecanismo de fluxo. O parafuso é provavelmente a parte mais importante do extrusor, pois este governa não somente o grau de cocção e a gelatinização, mas também a característica de qualidade do produto final. Alguns valores de temperatura do extrusor e umidade do produto requerem um tempo mínimo de retenção no extrusor para obter um grau específico de gelatinização (EL-DASH, 1982).

O tempo de residência do produto no extrusor é uma função do modelo do parafuso e de sua velocidade de rotação. Normalmente, o tempo de residência varia de 60 a 270 segundos (HARPER, 1992).

### **2.2.10 Influência dos componentes do amido e as interações moleculares do amido durante o processo de extrusão**

Durante a extrusão-cocção, o amido que inicialmente se encontra na forma granular, é progressivamente comprimido, se transformado em um material denso, sólido, compacto e a estrutura granular cristalina desaparece (COLONNA et al., 1987). As modificações físicas de amido envolvem ação simultânea de temperatura, pressão, cisalhamento e umidade. Segundo Colonna et al. (1987) o efeito destes processos em vários amidos (como cereais e tubérculos) induz dois tipos de transformação, a modificação da estrutura física com a conservação ou completa desorganização do grânulo e a modificação em nível molecular envolvendo degradação das macromoléculas ou de monômeros. Na extrusão, a gelatinização do amido acontece muito rapidamente, já que o material é aquecido em condições adiabáticas e submetido a tensões de cisalhamento que, com a combinação de tipos de amido, umidade, temperatura e pressão, além de outros fatores intrínsecos do extrusor, propiciam, entre outras mudanças, a obtenção de um produto final com características específicas de textura e densidade (ASCHERI, 1994).

O teor de amilose é normalmente responsável pela resistência física da mistura. Aumentar o teor de amilose na formulação torna as moléculas mais resistentes à degradação pelo cisalhamento durante a extrusão e pode contribuir com a melhoria do corte e da retenção da forma durante a secagem ou durante o processamento final, como o cozimento ou fritura (THOMAS e ATWELL, 1997). Segundo Della Valle et al. (1997) os produtos amiláceos podem gelatinizar diferentemente de acordo com o seu conteúdo de amilose, sendo que esta diferença pode ser atribuída as propriedades viscoelásticas da molécula.

O componente amilose melhora a leveza, elasticidade, regularidade da superfície e textura. Em contraste, a amilopectina acarreta dureza (COLONNA et al., 1987). De acordo com Rocha (2009), aparentemente, o inchamento que ocorre no grânulo de amido é uma propriedade da amilopectina. As áreas cristalinas estabelecidas pelas moléculas de amilopectina determinam o início do inchamento e da gelatinização do amido. A amilopectina no amido gelatinizado forma uma rede que aumenta a viscosidade do produto. Por ser um polímero ramificado, a amilopectina é susceptível à degradação no cisalhamento durante a extrusão, resultando em dextrinas e polímeros de cadeias curtas, o que dificulta a operação de corte após a extrusão (THOMA e ATWELL, 1997).

A amilose e a amilopectina são quebradas em materiais de baixa massa molar pela extrusão-cocção. A dimensão da quebra macromolecular ocorre em função de parâmetros da extrusão como a temperatura e a velocidade do parafuso (COLONNA et al., 1987).

Dentre as interações de importância do amido no processo de extrusão estão as interações eletrostáticas do tipo ligação de hidrogênio que ocorrem entre as hidroxilas geralmente expostas na parte externas das estruturas em hélice formada pelas macromoléculas de amilose e amilopectina. Essas interações são responsáveis pela formação da rede

tridimensional que confere estrutura ao produto. A regularidade e a frequência com que ocorrem permitem uma alta expansão do produto na saída do equipamento (ARÊAS, 1996).

O amido pode também interagir durante a extrusão com lipídios ou outras espécies apolares, capazes de ocupar a região interior das hélices formadas pelas macromoléculas de amilose e amilopectina. Os lipídios que melhor interagem com o amido são os monoglicerídeos e a sua presença é benéfica ao produto quando sua concentração ainda não atingiu o limite de saturação das hélices. Quando os lipídios estão presentes em concentrações além da capacidade de interação das hélices, a sua presença modifica o processo e diminui a expansão do produto, sendo em certa forma desejável na produção de bioplásticos (ARÊAS, 1996). Segundo Colonna et al., (1987) onde os lipídeos estão presentes, as modificações são menores, sugerindo que estes podem agir como lubrificantes na extrusão, sendo que cada tipo de lipídio tem um efeito distinto.

## **2.3 Caracterização do amido**

Após conhecer um pouco das matérias primas e do processo ao qual vão ser submetidas é importante ressaltar algumas técnicas que permitem caracterizar e quantificar as propriedades físicas e químicas desses materiais.

### **2.3.1 Tamanho de partícula**

O tamanho de partícula das matérias-primas pode afetar notavelmente a textura e a uniformidade do produto final. É desejável que as partículas tenham tamanho e densidade uniforme, para prevenir a segregação durante a mistura e o transporte antes do processo de extrusão. A importância da uniformidade das partículas também está relacionada com a uniformidade no condicionamento das mesmas, isto baseado no princípio da difusividade da água, em que as partículas de menor tamanho serão as que mais rapidamente absorverão água em detrimento das outras (ASCHELI, 2011). Portanto, a uniformidade no tamanho das partículas dos amidos processados permite um cozimento adequado e uniforme, prevenindo dureza ou cozimento parcial no produto final. Se o tamanho das partículas da matéria-prima variar de forma significativa, o produto final poderá conter partículas indesejáveis com diferentes graus de cocção, o qual diminui a qualidade tanto na aparência como nos aspectos reológicos do material desenvolvido (CARVALHO e ASCHELI, 1999).

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado nos laboratórios de Moagem, Reologia e na planta de Extrusão, da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Agroindústria de Alimentos localizada em Guaratiba no Município do Rio de Janeiro/ RJ.

### **3.1 Materiais**

#### **3.1.1 Matérias-primas**

Os amidos de mandioca (polvilho doce) e milho foram obtidos do comércio local no Estado do Rio de Janeiro. Glicerol grau analítico e água destilada foram usados como plastificantes. Cada matéria-prima utilizada foi caracterizada antes do processo com algumas das técnicas descritas a seguir.

### **3.2 Métodos**

#### **3.2.1 Tamanho das partículas**

A análise da distribuição do tamanho das partículas dos amidos de milho e mandioca seguiu os procedimentos descritos por Ascheri et al., (2011). A determinação foi realizada na unidade de dispersão líquida no analisador de tamanho de partícula Analysette 22 (Fritsch, Idar-Oberstein, Alemanha), o qual utiliza o princípio da difração a laser, produzindo laser hélio-neon no comprimento de onda de 632 nm. As frações granulométricas foram adicionadas lentamente sobre álcool isopropílico (agente dispersor), sob agitação constante e ultrassom, até que cerca de 7 % de obscuridade do feixe de laser seja alcançada para início da leitura em duplicata.

#### **3.2.2 Cristalinidade**

Para a determinação da cristalinidade dos amidos foi utilizado um difrator de raios X D2-Phaser (Bruker, Karlsruhe, Alemanha), operando com radiação Cu (comprimento de onda de 1,506 Å) a um tempo de varredura de 8 s, um passo de 0,02, sendo alimentado com voltagem de 30 kV e corrente elétrica de 10 mA. Cada material foi colocado em uma porta-amostra de acrílico (aproximadamente 1 g) e a região de varredura do ângulo de difração foi de 2-32° (2-theta).

#### **3.2.3 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)**

Para avaliar as propriedades térmicas dos amidos foi utilizado um DSC Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA). As amostras foram pesadas em cápsulas de alumínio herméticas em excesso de água destilada e mantidas em repouso até o dia seguinte. A amostra foi aquecida a 10 °C/min na faixa de 5 a 110 °C. Posteriormente foi resfriada a 20 °C e

novamente aquecida até 110 °C com o intuito de verificar a fusão dos cristais de amido (IONASHIRO, 2008). A entalpia foi determinada por meio da integral da área sob a curva e expressa em J/g.

### **3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura**

A análise da microestrutura do amido de milho e do amido de mandioca foi realizada no microscópio eletrônico de varredura (MEV) modelo TM 3000 Hitachi (Tóquio, Japão). As amostras analisadas foram previamente secas em estufa, a uma temperatura de 60 °C por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em suporte apropriado para a análise no MEV.

### **3.2.5 Preparo dos filmes por extrusão termoplástica e delineamento experimental**

As misturas previamente homogeneizadas de amidos e plastificantes foram processadas em uma extrusora de rosca dupla Clextral Evolun HT25 (Firminy, França) (Figura 6) equipada com uma matriz laminar de 3 mm de largura por 1 mm de espessura obtendo-se pellets em formato de fita. A extrusora foi alimentada de forma contínua por meio de alimentador automático que definiu a vazão de alimentação variável de 5 a 7 kg/h. O teor de plastificantes a ser adicionado ao material foi controlado por bomba de pistão de líquidos automática (1,5 a 2,5 L/h), sendo que variado teor de plastificante (mistura de água e glicerol) foi bombeado para o interior da extrusora na primeira zona de alimentação. O teor de plastificante foi também considerado uma variável independente, o teor de glicerol testado oscilou entre 70 e 90 % na fração líquida. As temperaturas das oito primeiras zonas de aquecimento foram: 40, 50, 60, 80, 100, 120, 100 e 90 °C variando as duas últimas duas zonas de 70 a 90 °C. A rotação dos parafusos variou de acordo com o modelo experimental de 145 a 155 rpm, onde os efeitos destas variáveis junto com outras variáveis independentes foram identificados a partir de um delineamento fatorial fracionado  $2^{6-2}$  como pode ser observado nas tabelas 1 e 2 (19 ensaios). A partir do cálculo de seus efeitos foi determinado desta forma, as variáveis independentes que deverão ser submetidas em determinada faixa em um delineamento ortogonal composto rotacional de segunda ordem  $2^3$  (segundo capítulo) visando maximizar o processo em função dos resultados da análise das propriedades mecânicas (variável dependente principal) para potencialmente produzir pelo menos um bioplástico com características diferenciadas para a adição das micro ou nanoargilas e nanofibras (terceiro capítulo), podendo-se estabelecer modelos matemáticos preditivos utilizando-se um modelo matemático de superfície de resposta.



**Figura 6.** Extrusora de rosca dupla Cleextral Evolun HT25 (Firminy, França).

**Tabela 1.** Variáveis e valores dos níveis do planejamento fatorial fracionário  $2^{6-2}$  para elaboração de bioplásticos de amido.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
(X <sub>1</sub> ) Teor de plastificante na fração líquida (%)	70	80	90
(X <sub>2</sub> ) Proporção amido de milho/amido de mandioca (%)	20	30	40
(X <sub>3</sub> ) Temperatura nas últimas duas zonas de aquecimento (°C)	70	80	90
(X <sub>4</sub> ) Fluxo de água (L/h)	1,5	2	2,5
(X <sub>5</sub> ) Taxa de alimentação (kg/h)	5	6	7
(X <sub>6</sub> ) Velocidade do parafuso (rpm)	145	150	155



**Tabela 2.** Matriz para o delineamento  $2^{6-2}$  sendo  $X_i$  ( $i = 1$  a  $6$ ) as variáveis estudadas para a obtenção de bioplásticos de amido.

Tratamentos	Níveis codificados das variáveis						Níveis decodificados das variáveis					
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$	$x_6$	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	70	20	70	1,5	5	145
2	1	-1	-1	-1	1	-1	90	20	70	1,5	7	145
3	-1	1	-1	-1	1	1	70	40	70	1,5	7	155
4	1	1	-1	-1	-1	1	90	40	70	1,5	5	155
5	-1	-1	1	-1	1	1	70	20	90	1,5	7	155
6	1	-1	1	-1	-1	1	90	20	90	1,5	5	155
7	-1	1	1	-1	-1	-1	70	40	90	1,5	5	145
8	1	1	1	-1	1	-1	90	40	90	1,5	7	145
9	-1	-1	-1	1	-1	1	70	20	70	2,5	5	155
10	1	-1	-1	1	1	1	90	20	70	2,5	7	155
11	-1	1	-1	1	1	-1	70	40	70	2,5	7	145
12	1	1	-1	1	-1	-1	90	40	70	2,5	5	145
13	-1	-1	1	1	1	-1	70	20	90	2,5	7	145
14	1	-1	1	1	-1	-1	90	20	90	2,5	5	145
15	-1	1	1	1	-1	1	70	40	90	2,5	5	155
16	1	1	1	1	1	1	90	40	90	2,5	7	155
17	0	0	0	0	0	0	80	30	80	2,0	6	150
18	0	0	0	0	0	0	80	30	80	2,0	6	150
19	0	0	0	0	0	0	80	30	80	2,0	6	150

$X_1$ = Teor de plastificante na fração líquida (%);  $X_2$ = Proporção amido de milho/amido de mandioca (%);  $X_3$ = Temperatura nas últimas duas zonas de aquecimento (°C)  $X_4$ = Fluxo de água (L/h)  $X_5$ = Taxa de alimentação (kg/h)  $X_6$ = Velocidade do parafuso (rpm).

### 3.2.6 Obtenção dos filmes por termo-prensagem

Os extrudados na forma de fita foram cortados no comprimento médio de 40 cm, embalados em sacos de polipropileno e acondicionados em freezer (-18 °C) para posterior análise. As fitas foram deixadas a temperatura ambiente até total descongelamento em sua embalagem original. Após o descongelamento, as fitas foram cortadas manualmente em pequenos pedaços com peso de 5 g. Cada pedaço de 5 g foi disposto no centro de uma prensa termo-hidráulica manual Skay Máquinas e Equipamentos Hidráulicos (São José do Rio Preto, SP) de 30 ton, dotada de placas de aquecimento e resfriamento inferior e superior, revestidas de Teflon®, onde se aplicou a pressão de 5 ton por 1 min. A temperatura das placas foi mantida constante a 95 °C. De forma a facilitar a remoção do filme prensado do revestimento, este foi levado ao interior do freezer (-18 °C) por 1 min e deixado à temperatura ambiente por mais 30 min antes da sua completa retirada do substrato. Os filmes apresentaram-se em formato circular com diâmetro aproximado de 30 cm.

### 3.2.7 Determinação da espessura

A espessura dos filmes foi medida em micrômetro digital modelo Fowler IP 54 (Fowler, Newon, EUA), com sensibilidade de  $\pm 0,001$  mm, em cinco pontos aleatórios para cada filme, a partir do qual a média foi obtida.

### 3.2.8 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas avaliadas neste estudo foram as de tração e de perfuração utilizando um analisador de textura TA XT Plus (Stable Microsystem, Surrey, Inglaterra). A força para penetração e ruptura foi denominada força na ruptura (N) e a distância na qual ocorreu a ruptura foi denominada deformação ou deslocamento na ruptura (mm).

Os filmes foram analisados quanto ao desempenho no teste de tração e penetração em um analisador de textura. O módulo de Young, a tensão e o alongamento máximos na ruptura foram determinados.

#### 3.2.8.1 Teste de perfuração

A força e a deformação na ruptura foram determinadas em testes de perfuração, após 30 replicatas, segundo metodologia difundida na literatura (Gontard, 1991; Cuq et al., 1996). Os corpos de prova (20 mm largura X 20 mm comprimento) acondicionados a 53 % de Umidade Relativa (UR) por 48 h, foram fixados numa célula com 10 mm abertura e perfurados por uma sonda esférica de 5 mm de diâmetro, deslocando-se a 1 mm/s. A força (F) na perfuração e o deslocamento da sonda (D) na perfuração foram determinados diretamente através das curvas de força x deformação, com o emprego do programa Texture Expert V. 1.15. A deformação na ruptura por perfuração ( $\Delta l/l_0$ ) será calculada através da Equação 1 (GONTARD et al., 1992).

$$\Delta l/l_0 = \sqrt{(D^2 + l_0^2 - l_0)} / l_0 \text{ (equação 1)}$$

Onde  $l_0$  é o comprimento inicial do filme, igual a metade da abertura célula de medida (5mm).

### 3.2.8.2 Teste de tração

A tensão e deformação na ruptura e o módulo de elasticidade foram determinados baseando-se no método padrão D 828-95a da *American Society for Testing and Materials* (ASTM, 1995). Os filmes foram cortados em corpos de prova com 50 mm de comprimento e 15 mm de largura e foram fixados no instrumento. A distância inicial ( $l_0$ ) entre as garras foi de 40 mm e a velocidade de tração 1 mm/s. A tensão na ruptura foi calculada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme, e a deformação na ruptura, considerada como deformação linear  $[(l - l_0)/ l_0]$ , foi determinada através da curva de tensão x deformação (após 30 replicatas). O módulo da elasticidade foi calculado como sendo inclinação da região linear da curva de tensão em função da deformação.

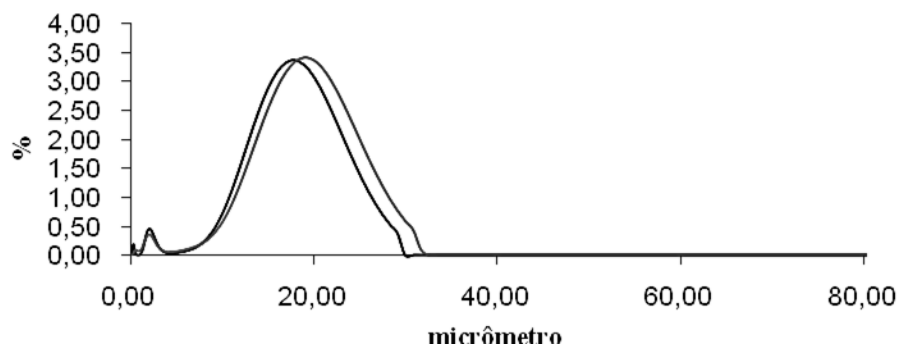
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização das matérias primas

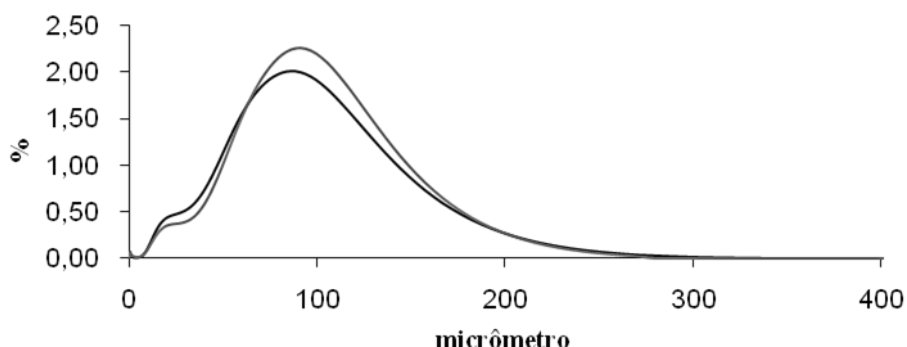
#### 4.1.1 Determinação do tamanho de partícula

A determinação do tamanho das partículas foi realizada para as matérias-primas com intuito de servir de orientação no processo de mistura e processamento na extrusão. Esta característica está diretamente relacionada com a energia mecânica específica obtida no sistema e hipoteticamente com sua composição química (teor de amilose e amilopectina), pois em testes preliminares se observou aumento do torque no processo de extrusão quando se aumentou o teor de amido de milho no sistema.

Nas Figuras 7 e 8, estão representados os resultados em duplicata da distribuição do tamanho da partícula da farinha de mandioca e da farinha de milho. Pode-se observar que os amidos apresentam distribuição entre 10 a 260  $\mu\text{m}$ , com maior volume de partículas em 20  $\mu\text{m}$  no amido de mandioca utilizado e 100  $\mu\text{m}$  no amido de milho.



**Figura 7.** Distribuição granulométrica, em volume, das partículas de amido de mandioca.



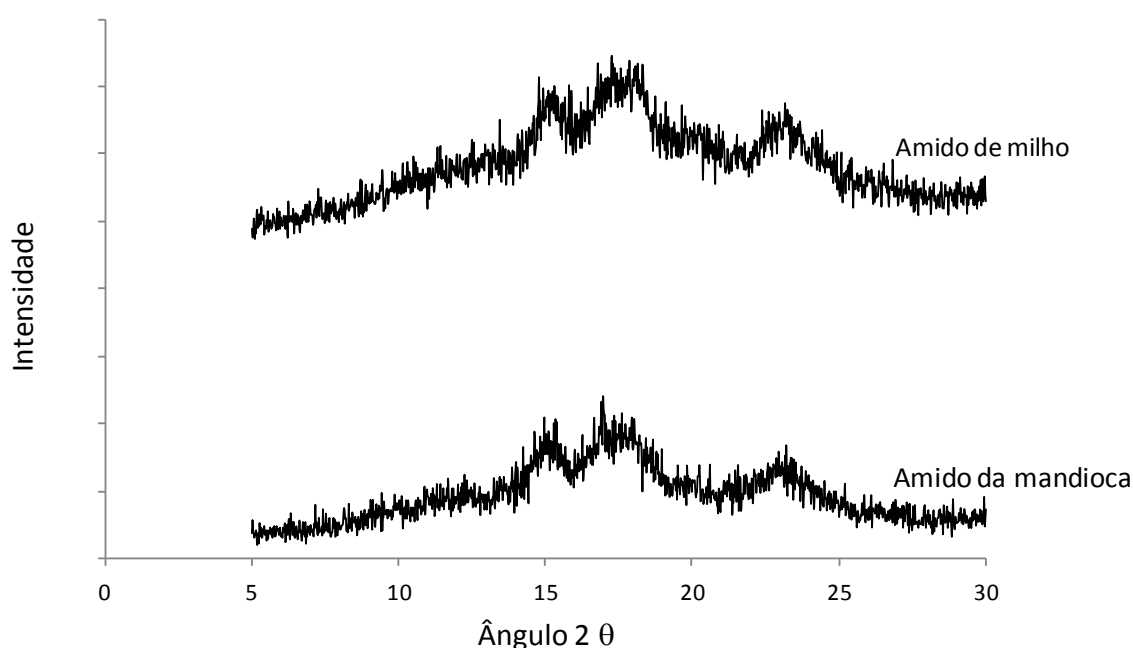
**Figura 8.** Distribuição granulométrica, em volume, das partículas de amido de milho.

As características físicas dos grânulos de amido de milho e mandioca encontrados na literatura mostram que com respeito ao tamanho, os amidos diferem de acordo com a fonte

botânica. Grânulos de amido de milho apresentam tamanhos e diâmetros na faixa de 3,0 a 23,0 $\mu\text{m}$  (SAHAI e JACKSON, 1996). Os grânulos de mandioca tamanho na faixa de 4,0 a 35,0 $\mu\text{m}$  (Cereda, 2001), no presente estudo o tamanho do grânulo de amido de milho foi bem maior, podendo justificar este resultado a problemas no equipamento, pois apesar de ter sido efetuada a duplicata com similar comportamento, a formação de grumos ou a insuficiente dispersão provocada pelo ultrassom, poderiam ter ocasionado este resultado discrepante.

#### 4.1.2 Cristalinidade

A Figura 9 apresenta o difratograma dos amidos de milho e de mandioca.



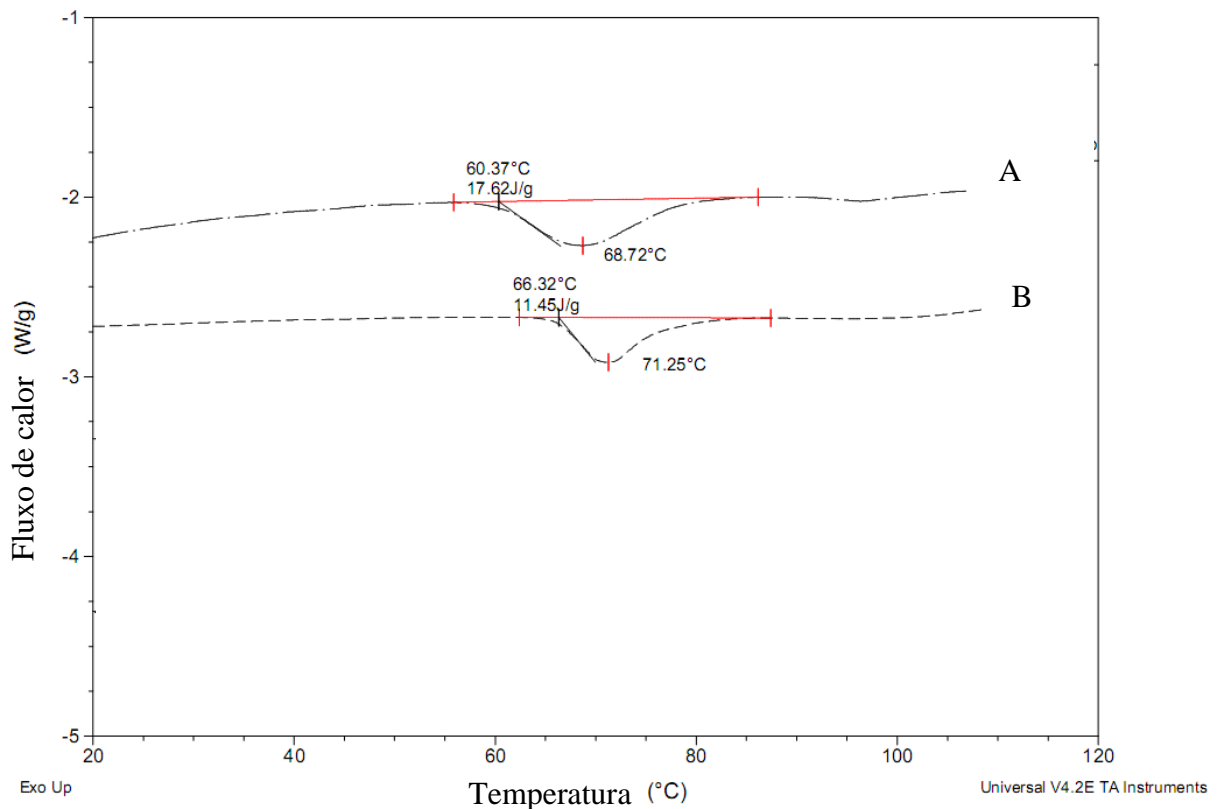
**Figura 9.** Difratogramas de raios X de amido de mandioca e amido de milho.

De acordo com a literatura Tako e Hizuruki (2002), o grânulo de amido normalmente consiste de camadas concêntricas que contêm micelas cristalinas agrupadas. Os grânulos, por serem parcialmente cristalinos, fornecem resultados particulares de difração de raios X. Esta análise permite a identificação da natureza botânica de amidos. Sendo assim, na Figura 9 observa-se difratogramas característicos de amido de mandioca e milho, que apresentam um perfil difratográfico similar ao cristal do tipo “A”, embora a mandioca seja uma raiz. Os picos característicos são localizados em ângulo  $2\theta$  iguais a 15; 17,9 e 22°.

#### 4.1.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Na Figura 10, observa-se a diferença que existe entre as fontes de amido de mandioca e de milho com as temperaturas de transições do amido, com suas respectivas variações de entalpia, determinadas a partir das áreas dos picos correspondentes à gelatinização e a

vaporização da água (umidade), que foram analisadas no calorímetro exploratório diferencial. A temperatura de gelatinização (T1) está dentro do intervalo citado na literatura (FAN et al., 2013; XU et al., 2013) Pode-se observar na Figura 10, que o pico da gelatinização aparece nas duas amostras cruas perto dos 70 °C, o que quer dizer que a metodologia utilizada para realizar esta análise, não alterou a estrutura do amido. A temperatura inicial de gelatinização (Tg) do amido de mandioca correu em 60,37 °C enquanto o Tg do amido de milho em 66,32 °C, estes resultados indicam de que o amido de mandioca tem uma menor demanda energética para romper a sua região cristalina do que o amido de milho (CARVALHO e MITCHEL, 2001)

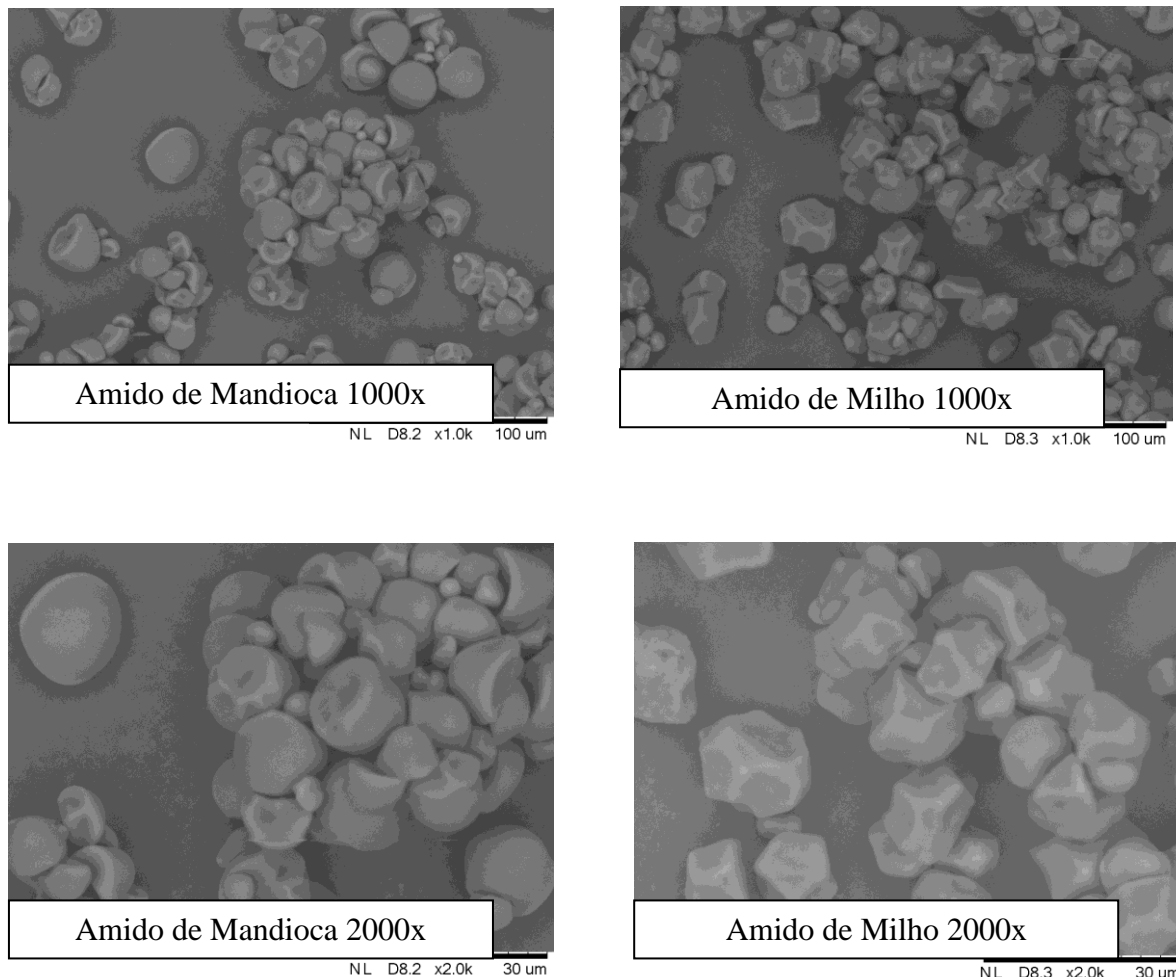


**Figura 10.** Termogramas de amido de mandioca (A) e amido de milho (B) em calorímetro exploratório diferencial (DSC).

#### 4.1.4 Microestrutura

As imagens dos grânulos de amido de milho e mandioca estão dispostas na Figura 11, em dois aumentos diferentes (1000x e 2000x) com o objetivo de melhor caracterizar suas estruturas. Levando em consideração o tamanho destas partículas, é possível considerar que hipoteticamente quanto menor o grânulo de amido, maior será o atrito produzido durante a fricção, e com isso, aumenta a energia mecânica no sistema (Shiraiet al., 2013). Entre os grânulos dos amidos estudados predominaram formas lisas, ovais e tamanhos diferenciados para o grânulo de amido de mandioca e formas poliédricas, polimorfismo e tamanhos diferenciados para o amido de milho. Formas similares foram reportadas por Wang e Copeland (2012). As micrografias em MEV não mostraram diferenciação superficial entre os tamanhos dos amidos naturais de ambas. Porém, observa-se que associando os resultados com

o tamanho de partícula algum tipo de problema com o ultrassom do analisador do tamanho de partículas poderia não ter sido eficiente em desassociar os grânulos de amido de milho, ocasionando algumas divergências com os resultados expostos neste estudo.



**Figura 11.** Microscopia eletrônica de varredura de amido de mandioca e amido de milho.

#### **4.2 Influência dos parâmetros de extrusão termoplástica no aspecto visual, características mecânicas e tecnológicas dos filmes prensados**

Os extrudados com aproximadamente 1,00 mm de espessura foram identificados do número 1 até 19 nesta primeira etapa, conforme as combinações dos 19 ensaios do delineamento experimental considerando a variação no processo das 6 variáveis independentes propostas para ponderar seu efeito nas propriedades mecânicas dos bioplásticos. Os filmes obtidos por prensagem dos extrudados apresentaram-se com uma boa aparência, lisos, de fácil manuseio, com flexibilidade variável de acordo a formulação.

Os resultados do processamento das formulações e das propriedades mecânicas dos filmes estão dispostos na Tabela 3. Os efeitos de cada uma das variáveis independentes sobre as propriedades mecânicas dos bioplásticos serão discutidos nas subseções seguintes. Em todas as análises, considerou-se 5 % para o nível de significância. Apenas a interpretação dos resultados mecânicos (especialmente o Módulo de Young) foi considerada na presente

discussão. Uma maior caracterização tecnológica foi realizada para as seguintes etapas do projeto, os resultados deste capítulo foram indispensáveis para serem utilizados como base nos capítulos seguintes constituindo o início do delineamento exposto no capítulo 2.



**Tabela 3.** Matriz do planejamento e resultados experimentais para as variáveis respostas analisadas do planejamento fatorial fracionário  $2^{6-2}$  para bioplásticos de amido.

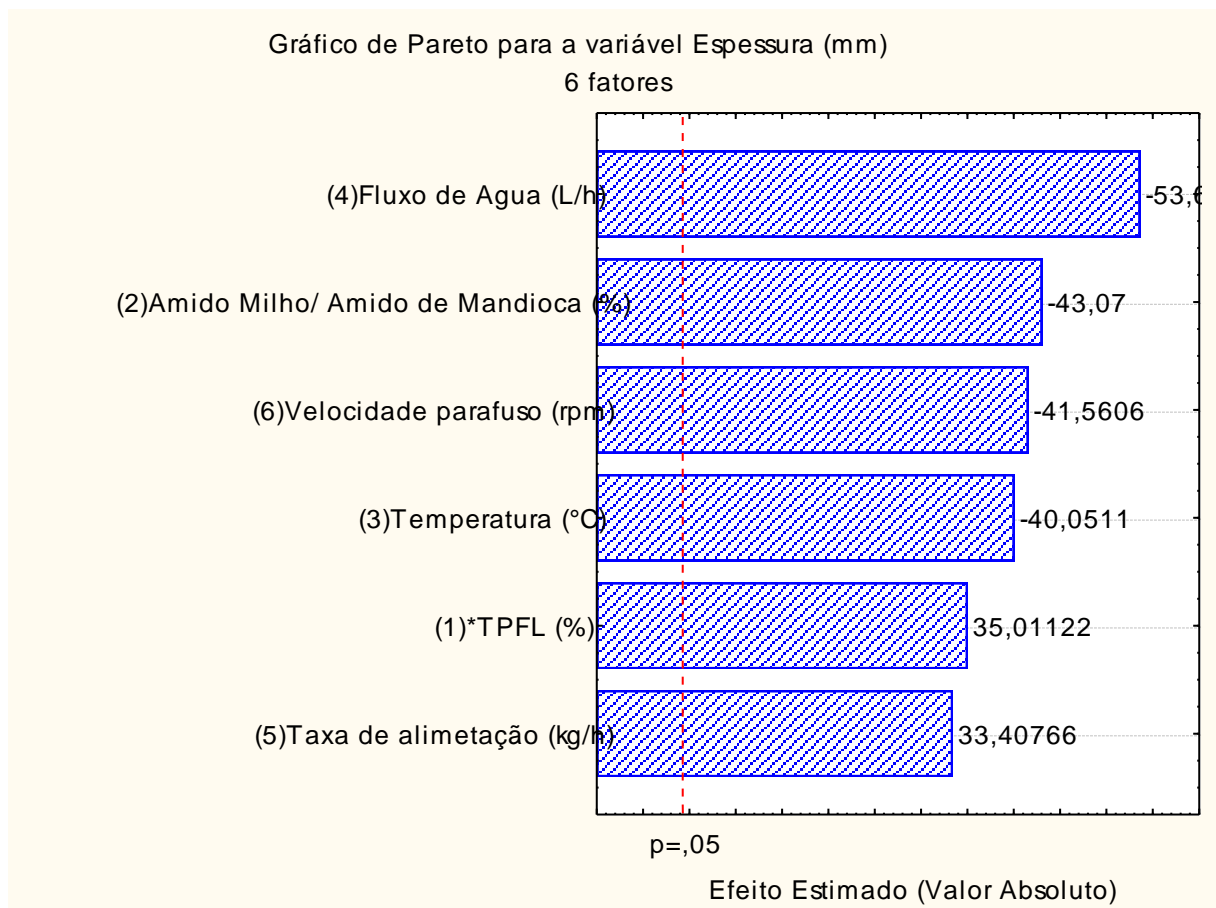
Tratamentos	*TPFL (%)	**Amido Milho/Amido Mandioca (%)	Temperatura ( $^{\circ}$ C)	Fluxo de líquidos (L/h)	Taxa de Alimentação (kg/h)	Velocidade do parafuso (rpm)	Espessura (mm)	Módulo de Young (MPa)	Deformação na ruptura (%)	Resistência à tração (MPa)	Força perfuração (N)	Deformação (%)
1	70	20	70	1,5	5	145	0,31	14,12	66,3	9,37	27,38	6,47
2	90	20	70	1,5	7	145	0,89	71,45	300,0	21,44	100,4	6,52
3	70	40	70	1,5	7	155	0,30	63,40	65,32	9,14	57,58	5,98
4	90	40	70	1,5	5	155	0,29	88,65	12,30	6,75	33,12	5,45
5	70	20	90	1,5	7	155	0,32	59,24	60,27	7,05	0	6,12
6	90	20	90	1,5	5	155	0,34	55,80	62,19	6,75	54,62	6,32
7	70	40	90	1,5	5	145	0,28	23,85	93,00	22,18	35,32	6,41
8	90	40	90	1,5	7	145	0,33	52,80	95,30	5,00	7,54	6,03
9	70	20	70	2,5	5	155	0,26	55,30	59,90	3,31	23,11	7,12
10	90	20	70	2,5	7	155	0,27	28,90	98,30	2,84	16,52	6,25
11	70	40	70	2,5	7	145	0,25	63,13	79,70	5,03	25,40	6,45
12	90	40	70	2,5	5	145	0,31	57,75	42,00	2,40	3,77	6,22
13	70	20	90	2,5	7	145	0,29	58,08	79,70	4,63	22,96	6,45
14	90	20	90	2,5	5	145	0,24	71,90	30,00	22,00	6,41	6,32
15	70	30	90	2,5	5	155	0,28	98,90	27,97	2,77	10,27	6,42
16	90	30	90	2,5	7	155	0,34	65,57	15,30	10,05	28,44	6,32
17	80	30	80	2,0	6	150	0,36	82,55	53,00	4,38	31,80	6,12
18	80	30	80	2,0	6	150	0,36	77,73	55,20	4,02	36,92	6,38
19	80	30	80	2,0	6	150	0,37	83,66	58,32	3,08	42,32	6,35

\* Teor de glicerol na fração líquida (concentração de glicerol com água).

\*\* Concentração de amido de milho com respeito ao amido de mandioca nas misturas.

### 4.2.1 Espessura

O controle da espessura dos filmes produzidos por extrusão e termoprensagem é uma etapa que exige atenção e é, ainda, um parâmetro pouco ou nada estudado pelo difícil controle que se tem deste parâmetro. De acordo com Shiari et al., 2013, este parâmetro influencia largamente as propriedades mecânicas, principalmente a força na perfuração e a permeabilidade ao vapor de água de filmes hidrofílicos. Quanto maiores as espessuras, mais resistentes à perfuração são os filmes e maior a sua permeabilidade ao vapor de água. Teoricamente, segundo a lei de difusão de Fick e a lei de sorção de Henry, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) de um filme plástico sintético varia com o inverso da sua espessura, enquanto que a permeabilidade ao vapor de água (PVA) deve ser constante (CUQ et al., 1996). Porém, segundo Schwartzberg (1986), a transmissão de água através de materiais hidrofílicos é muito mais complexa devido à não linearidade das suas isotermas de sorção. Observando o efeito das variáveis estudadas neste trabalho (Figura 12), podemos observar que todas elas foram significativas ( $p > 0,05$ ) ressaltando que esta relação é inversamente proporcional para o fluxo de água, ao de teor de milho, velocidade do parafuso e temperatura. Para o teor de plastificante glicerol na fração de líquidos e para a taxa de alimentação seu incremento esta associado na faixa estudada ao aumento da espessura.



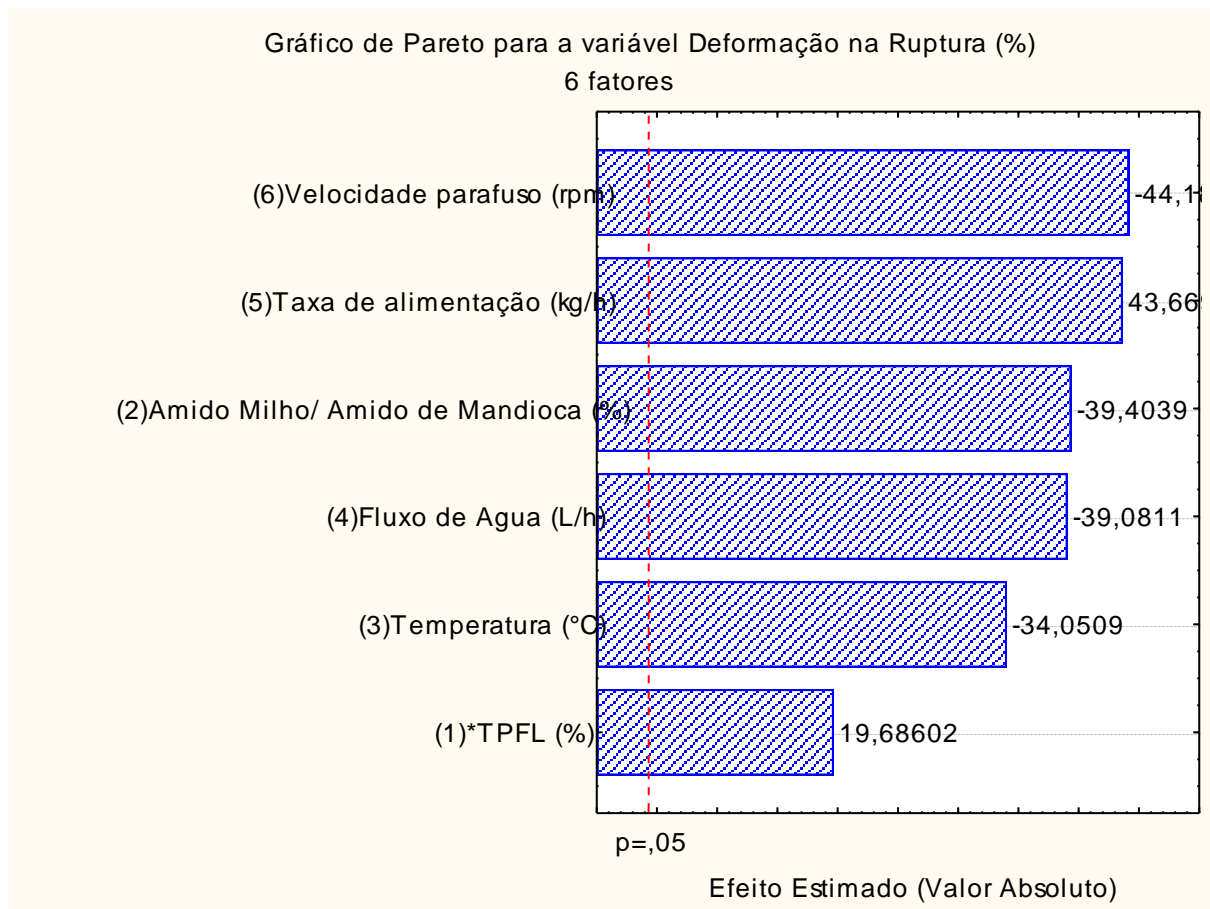
\*Teor de plastificante na fração líquida

**Figura 12.** Efeito das seis variáveis quantitativas escolhidas na espessura dos bioplásticos.

#### 4.2.2 Deformação na ruptura

Na Figura. 13 pode-se observar que todas as condições do processo na deformação na ruptura são relevantes para a obtenção de resultados representativos, destacando que a maioria deles tem efeito negativo, diminuindo a deformação na ruptura. Com exceção do teor de plastificante na fração líquida e da taxa de alimentação o que indica que na faixa de formulação estudada incrementar o glicerol e principalmente a quantidade de amido no processo aumentou a força necessária para o rompimento do filme. A interação entre as variáveis estudadas influencia de forma significativa este resultado. As menores velocidades de parafusos, maiores taxas de alimentação de sólidos (kg/h), menores teores de amido de milho, menor fluxo de água (L/h), temperaturas e teor de glicerol nas condições estudadas maximizam a deformação dos bioplásticos processados, diretamente relacionados com as mudanças físicas produzidas no amido no processo de extrusão e a formação do bioplástico de amido analisado após termoprensagem.

Ortiz (2009) em estudos com filmes extrudados de farinha de mandioca adicionados de farinha de soja, relatou que houve redução de deformação da ruptura com o aumento do teor de glicerol. De acordo com Rocha (2009), a deformação na ruptura na tração nos filmes de amido de mandioca aumentou linearmente com o incremento da concentração de plastificantes de 10 para 25 % respectivamente. No levantamento efetuado no estudo de Vicentini (2003), filmes de glúten de trigo com diferentes teores de etanol e glicerol a diferentes pH ocasionou aumento da deformação na tração com a elevação da concentração de glicerol, enquanto o aumento da concentração de glúten a reduziu. O conteúdo de água atua como plastificante coadjuvante, pois em combinação com o glicerol, é possível observar uma significância sinérgica positiva, como observado por Vicentini (2003). Sendo assim os resultados deste estudo relatam que o incremento relativo do teor de glicerol e amido é capaz de formar uma matriz mais coesa, porém este processo sinérgico precisa ser aprimorado para sua melhor avaliação.



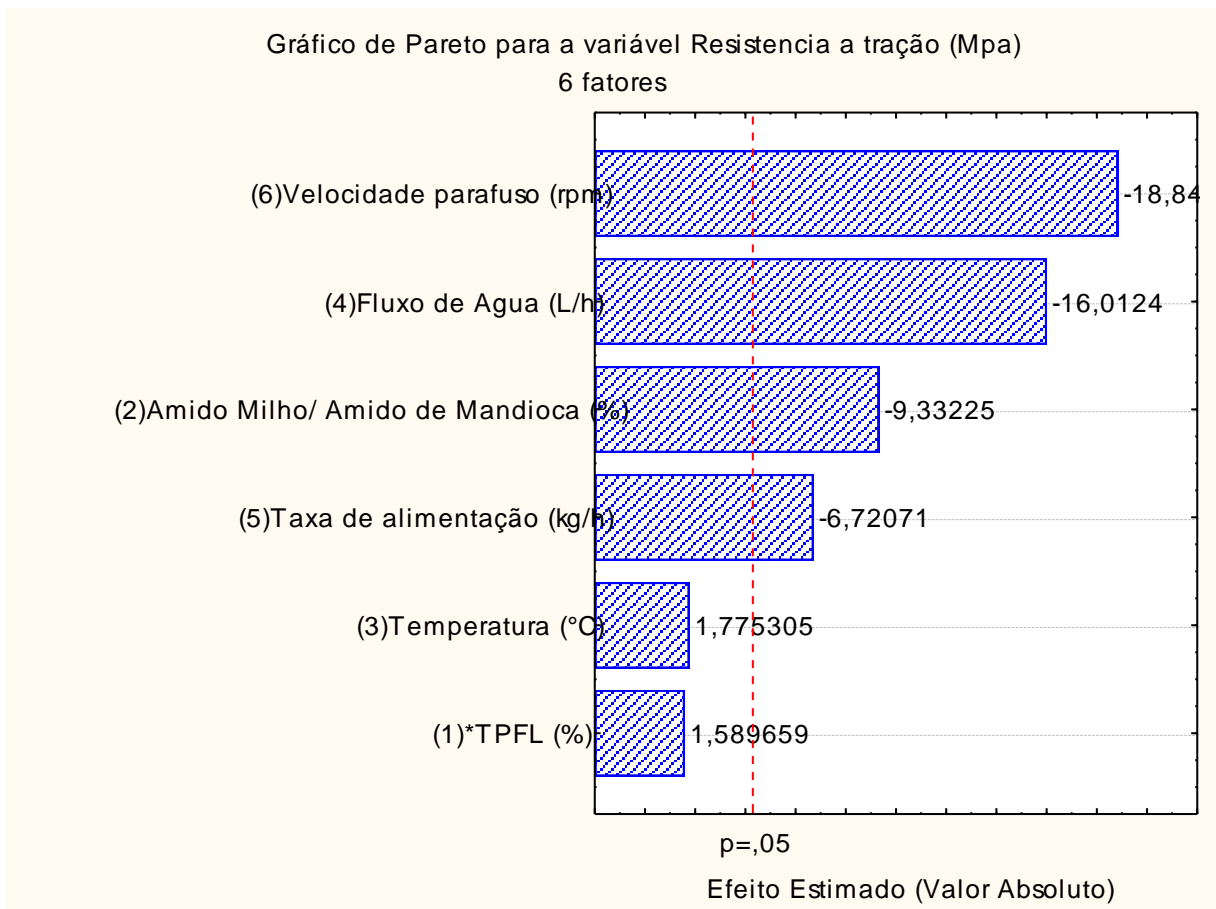
\*Teor de plastificante na fração líquida

**Figura 13.** Efeito das seis variáveis quantitativas escolhidas, na deformação na ruptura dos bioplásticos.

#### 4.2.3 Resistência à tração

Quanto á resistência a tração, pode-se observar na Figura 14 que algumas das variáveis influenciam negativamente esta propriedade. Segundo Vicentini (2003), a tensão na tração diminui com um aumento em concentração de plastificantes, fato também encontrado no presente estudo se for considerado que o fluxo de água (glicerol/água) tem efeito inversamente proporcional, diminuindo ou aumentando o teor de plastificante nos bioplásticos desenvolvidos. O mesmo comportamento foi observado por Batista; Tanada-Palmu e Grosso (2005) que ao trabalharem com filmes que ao se triplicar as doses de material utilizado para sua formulação a resistência mecânica à tração diminuiu 9,81%. Segundo Chen (1995), ao trabalhar com filmes formados a partir de proteínas do leite e lipídios, percebeu que à medida que se adicionou este último em doses crescentes, a resistência mecânica à tração decresce linearmente. O mesmo fenômeno também foi ressaltado por Yang e Paulson (2000) que no experimento de filmes formados a partir de proteína gelana plastificado com uma mistura dos ácidos graxos palmítico e esteárico, notaram que à medida que o teor de lipídeo era adicionado à formulação a resistência mecânica à tração aumentava e atribuíram o acontecimento pela possível troca do polímero gelana pelo dos ácidos graxos na matriz

formadora do filme, em resposta à diferença de polaridade entre o componente lipídico e o protéico. Este fenômeno pode ser atribuído à dispersão e inserção dos amidos e plastificantes na matriz polimérica que com menor tempo de residência na extrusora e incremento nas suas concentrações modificou sua organização e a distribuição de energia envolvida na formação da estrutura polimérica tridimensional do filme. No presente estudo as variáveis estudadas influencia de forma significativa este resultado menores velocidades de parafusos, menores taxas de alimentação de sólidos (kg/h), teores de amido de milho, taxa de alimentação (kg/h) e fluxo de água (L/h), 1 nas condições estudadas maximizam a resistência dos bioplásticos processados.



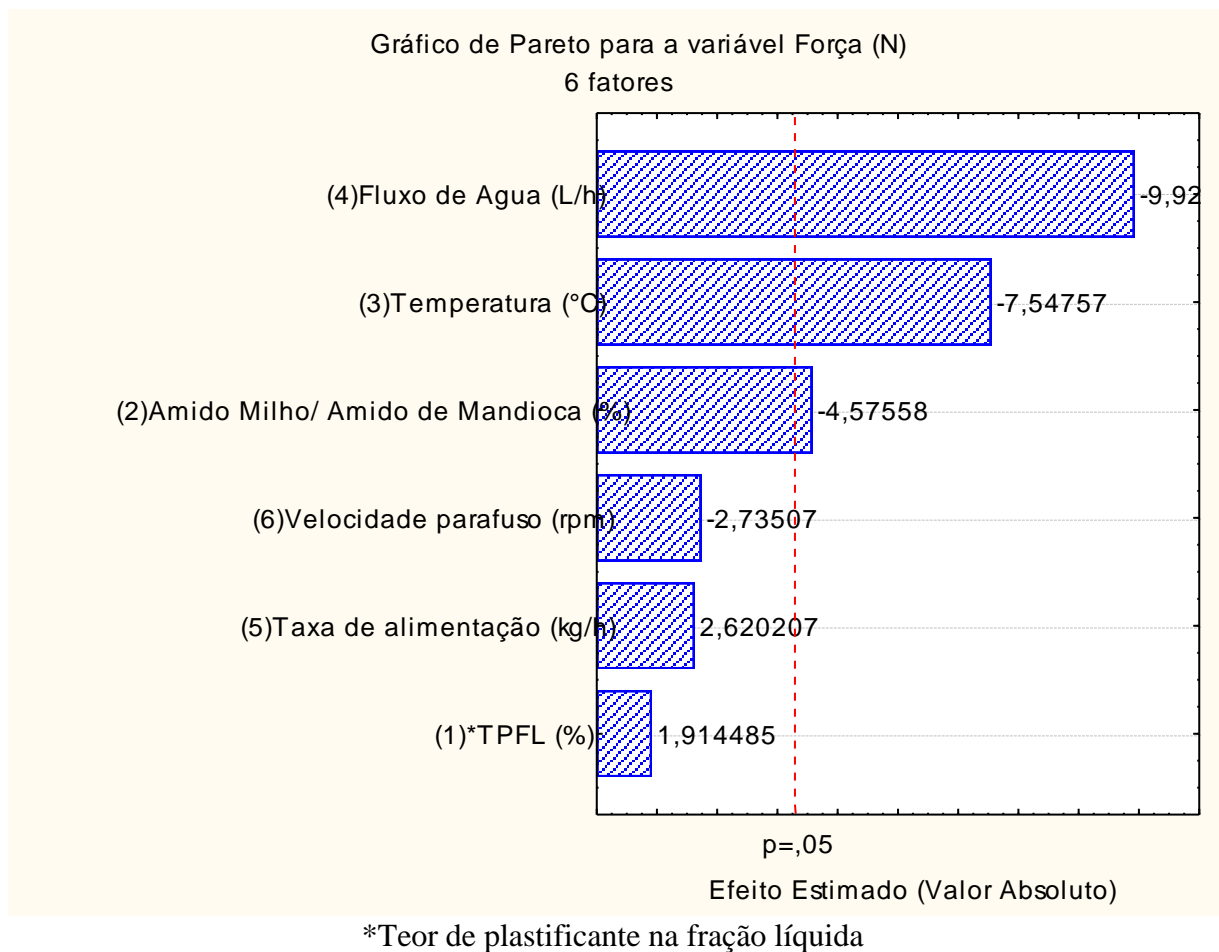
\*Teor de plastificante na fração líquida

**Figura 14.** Efeito das variáveis do processo, na resistência a tração dos bioplásticos de amido.

#### 4.2.4 Força na perfuração

Uma relação com efeito inversamente proporcional foi encontrada para o incremento na força de perfuração, considerando os resultados expostos na Figura 15. Pode-se observar que o aumento do fluxo de água e do teor de amido de milho, nas maiores temperaturas de processo, dificultam a interação das matérias-primas utilizadas no modelo e nas condições utilizadas neste capítulo para a produção de bioplásticos extrudados e termoprensados. A

adição de plastificante em excesso e as diferenças químicas e físicas existente entre os amidos tornaram o bioplástico mais frágil ao teste de perfuração, particularmente notável com a adição maior fluxo de água no sistema. Provavelmente este aumento nos teores de plastificante tenha favorecido a redução das interações intermoleculares e da proximidade das ligações entre os amidos aumentando a mobilidade entre as cadeias do polímero e consequentemente reduzindo esta propriedade mecânica. Isto coincide com os resultados encontrados por outros autores na literatura (SHIARI et al., 2013; SCHLEMMER et al., 2010; ROCHA, 2009; VICENTINI, 2003). O mesmo efeito mais com menor significância ( $p > 0,05$ ) foi observado com o incremento das temperaturas e o aumento do teor de amido de milho no processamento.



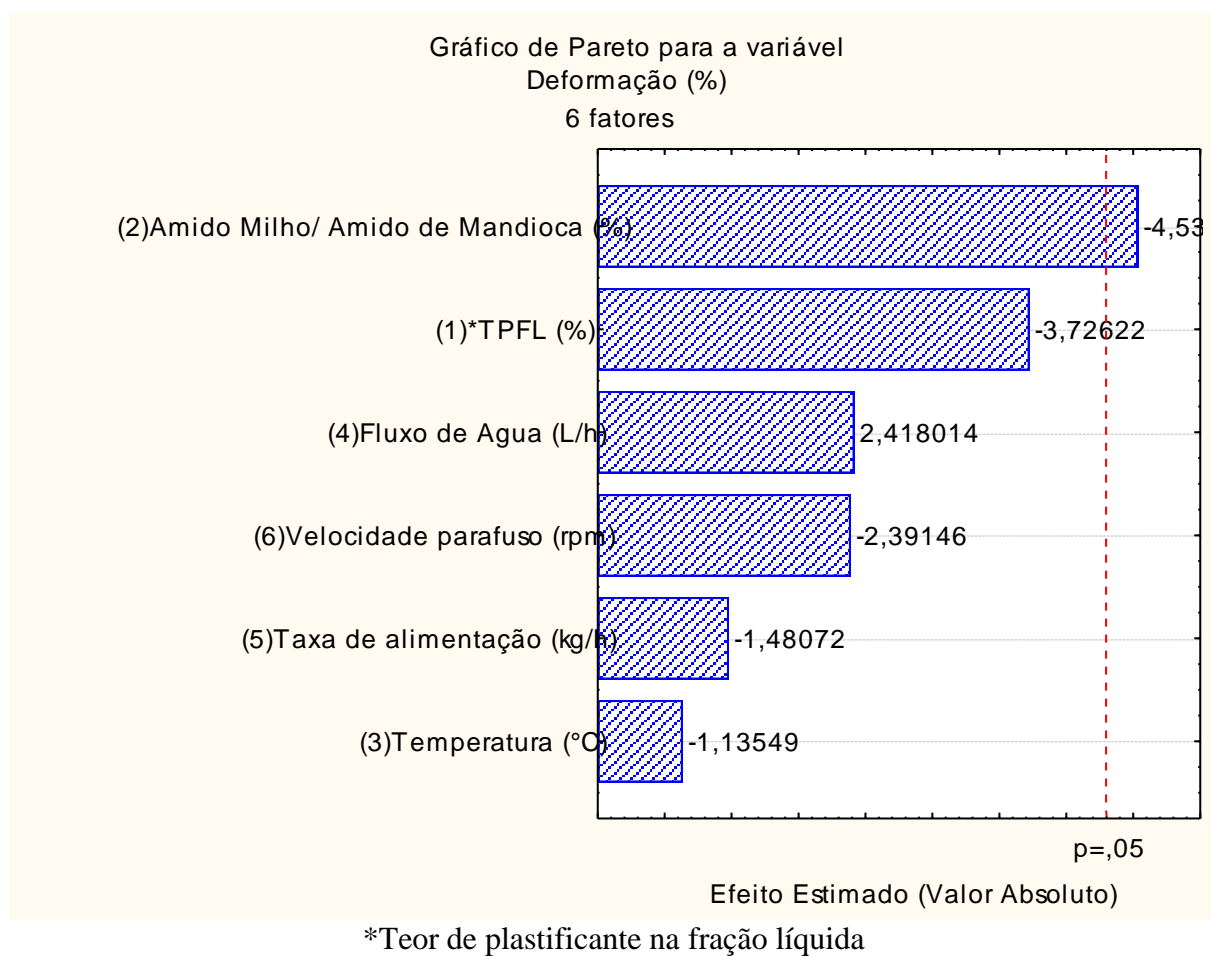
**Figura 15.** Efeito das variáveis do processo na força na perfuração dos bioplásticos de amido.

#### 4.2.5 Deformação na ruptura

A análise de deformação na ruptura é um parâmetro que permite correlacionar a capacidade do filme de ceder sem se romper aplicando determinada força. Os resultados demonstram que unicamente o incremento do teor de milho teve uma relação inversa a esta deformação (Figura 16). Os valores inferiores de deformação podem ser atribuídos a composição química do grânulo de amido que quando se incorporara na matriz do bioplástico que tem maior conteúdo de amilose, forma uma rede menos forte em virtude das suas

diferenças estruturais, quando comparado com a rede de clusters da amilopectina (presente em maior proporção no amido de mandioca) tornando-os mais fracos e suscetíveis à quebra.

Segundo estudo de Stagner et al., (2012), filmes de amido termoplástico e PBAT (polibutileno adipato co-tereftalato) com 10, 20, 30, 40 e 50 % da resina sintética, considerada uma resina de reforço, apresenta baixa maleabilidade e o aumento da incorporação desta reduziu a capacidade de deformação do polímero em aproximadamente 16 %. Ao considerar a elevada taxa de substituição (50 %), pode-se afirmar que essa redução representa uma alteração no polímero que quando comparada com o material proposto neste estudo poderia ter o mesmo comportamento, não havendo uma mistura harmoniosa entre o incremento de amido de milho no amido de mandioca nas condições de processo propostas. Pode-se concluir também que a deformação dos filmes elaborados com maior teor de amido de milho poderia não ter sido tão reduzida caso houvesse uma mistura mais harmoniosa entre os amidos.

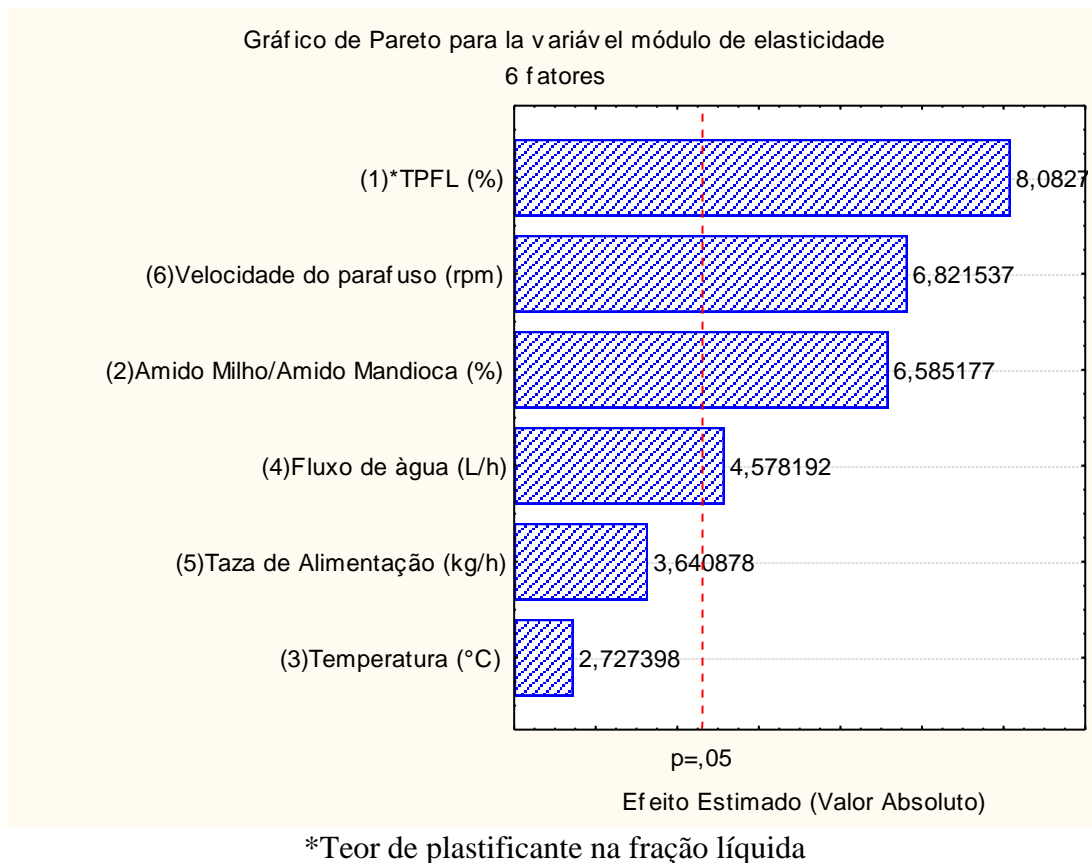


**Figura 16.** Efeito das seis variáveis quantitativas escolhidas, na deformação dos bioplásticos.

#### 4.2.6 Módulo de Young

O módulo de Young ( $E$ ) corresponde à razão entre a tensão de tração e a deformação correspondente, determinando a rigidez dos polímeros desenvolvidos, sendo determinada na região linear do gráfico: tensão x deformação, na região elástica. Por representar duas

propriedades: tensão e deformação, é a medida mais utilizada e empregada para a seleção de materiais com propriedades mecânicas superiores (GALICIA-GARCIA et al., 2012). No presente estudo quatro variáveis apresentaram um efeito estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) (Figura 17). Sendo assim somente três delas (teor de plastificante, velocidade de parafuso e concentração de amido de milho e mandioca) apresentaram um efeito positivo sobre a resposta, considerando que o fluxo de água está diretamente relacionado como o teor de plastificante. Assim, com o intuito de simplificar e entender melhor a interação de variáveis independentes significativas durante o processo, estas três variáveis foram escolhidas para formulação da segunda etapa deste estudo (capítulo 2), onde serão apresentados os modelos matemáticos preditivos para otimizar a produção de bioplásticos de amido. Para o módulo de elasticidade, os bioplásticos que continham 10 e 20 partes de glicerol, o módulo de elasticidade foi alto e quando o conteúdo de glicerol aumentou para 30 partes, o módulo de elasticidade reduziu e tornou-se semi-rígido (GALICIA-GARCIA et al., 2012 e ROCHA, 2009). Desta forma, pode-se observar que a quantidade de glicerol utilizada no presente estudo proporcionou um aumento no módulo de elasticidade sendo considerada a variante mais significativa.



**Figura 17.** Efeito das seis variáveis do processo, no módulo de elasticidade dos bioplásticos.

No presente estudo, a interação entre o aumento das variáveis estudadas: teor de plastificante, velocidade dos parafusos, teores de amido de milho e fluxo de água (L/h), influenciou de forma significativa este resultado aumentando o módulo de elasticidade dos bioplásticos processados.



## 5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que foram três, dentre as seis estudadas, as variáveis independentes mais importantes: o teor de glicerol (70 a 90 % na fração líquida), a velocidade do parafuso (128 a 162 rpm) e a proporção de amidos de milho e mandioca (13 a 47 %) na formação dos bioplásticos. Na ordem descrita estas exerceram, o maior impacto nas propriedades de elasticidade dos filmes desenvolvidos. Foi evidenciada também uma clara importância não só do teor de glicerol (tanto na fração líquida como na sua taxa de fluxo L/h) na matriz, mas também do tipo de amido e sua interação com a velocidade dos parafusos durante o processo nas características do bioplástico.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-80) In: **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, p. 730 – 739, 1989.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International, 17a. ed. Arlington, Virginia. USA. 2005.

ARÊAS, J. A. G. Interações moleculares do amido durante o processo de extrusão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p.28-30, 1996.

AREVALO, K., ALEMAN, E., ROJAS, G., MORALES, L., GALAN, L. J. (2009). Properties and biodegradability of cast films based on agroindustrial residues, pectin and polivinilic alcohol (PVA). **New Biotechnology**, 25, 287-288.

ASCHERI, J. L. R. Efeito das variáveis de Extrusão nas características físicas e químicas de produtos intermediários (half-products). **Tese (Doutorado)- Campinas, SP 1994. Universidade estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.**

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos da Tecnologia de Alimentos**. Atheneu:São Paulo, v.3, 1998.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v.25, n. 4, p. 781-788, 2005.

BENGTSSON, M.; KOCH, K.; GATENHOLM, P. Surface octanoylation of high-amylose potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 1-11, 2003. Disponível em: <<http://Elsevier.com/carbpol>>. Acesso em: 8 jan. 2009. modification and characterization of solution cast starch PVA blended films. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 23, p. 17-27, 2003.

BERRIOS, J. J.; ASCHERI, J. L. R.; LOSSO, J. N. Extrusion processing of dry beans and pulses. In: M. Siddiq e M. A. Uebersax (Ed.). **Dry beans and pulses**. Iowa: John Wiley & Sons, 2013. Extrusion processing of dry beans and pulses, p.185–203

BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food. **Can. Physiol. Pharmacol.**, v. 69, p. 60-78, 1991.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2ed., 1. Reimpr. São Paulo: Livraria Varela, 1995. 151p.

BORNET, F., 1992. Technologie des amidons, digestibilité et effets métaboliques. **Cah. Nutr. Diet.**, 27: 170-178.

BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L. F. M.; ROITMAN, T. Monitoramento tecnológico e Mercadológico de biopolímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.18, p. 256-261, 2008.

CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R. Effect of dry-milling on physicochemical characteristics of white corn extrudates. **Alimentaria**, v.305, p.115–119. 1999.

CEREDA MP. (Coord.). **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas: propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill; 2001. 221p.

COLONNA, P., GARCIA, V., BOUCHET, B., GALLANT, D.J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. **Starch/Stärke**, v.49, n.5, p. 171-179, 1987.

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

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GULBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. **Journal of Food Science**.v.60, n.6, p.1369-1374. 1997

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GULBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. **J. Food Sci.** v.60, n.6, p.1369-1374. 1996

CHEN, S. e NUSSINOVITCH, A. Permeability and roughness determinations of wax-hydrocolloid coatings, and their limitations in determining citrus fruit overall quality. **Food Hydrocolloids**, v.15, p.127-137, 2001.

D. PHAN THE, F. DEBEAUFORT, A. VOILLEY, D. LUU. Influence of hydrocolloid nature on the structure and functional properties of emulsified edible films. **Food Hydrocolloids**, Volume 23, Issue 3, May 2009, Pages 691-699.

DELLA VALLE, G.; VERGES, B; COLONNA, P.; PATRIA, A. Relations between rheological properties of molten starches and their expansion behavior in extrusion. **Journal of Food Engineering**, v.31, p.277-296, 1997.

DEMIATE, I.M.; DUPUY, N.; HUVENNE, J.P.; CEREDA, M.P.; WOSIACKI, G.Relationship between banking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**.V.42, p.149-158. 2000.

DONHOWE, I. G., FENNEMA, O. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions and testing methods. In: *Edible coating and films to improve food quality*, 1-21. Technomic Pub. Co., Lancaster, PA, 1994

ECOD. EcoD Básico: Lixão, Aterro controlado e Aterro sanitário. 2010. disponível em <http://www.rumosustentavel.com.br/ecod-basico-lixao-aterro-controlado-e-aterro-sanitario/>

EL-DASH, A.A. Application and control of thermoplastic extrusion of cereals for food and industrial uses. In: **Cereals a renewable resource: theory and practice**. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, p.165-216, 1982.

FAN, D.; WANG, L.; MA, S.; MA, W.; LIU, X.; HUANG, J.; ZHAO, J.; ZHANG H.; CHEN, W. Structural variation of rice starch in response to temperature during microwave

heating before gelatinisation. **Carbohydrate Polymers**, Volume 92, Issue 2, 15 February 2013, Pages 1249-1255.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M., CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI J. L. R. Caracterização Físico-Química de Filmes Comestíveis de Amido Adicionado de Acerola. **Química Nova**, Vol. 35, No. 3, 546-552, 2012.

FAUBION, J. M.; HOSENEY, R. C. High temperature and short time. Extrusion-cooking of wheat starch and flour. Effect of moisture and flour type on extrudate properties. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.59, n.6, p. 529-533, 1982.

FELLOWS, P. Extrusion. In: FELLOWS, P **Food processing technology: principles and practice**. Cambridge. Woodhead Publishing, 2002. Cap 14, p.294-308.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2a ed., Porto Alegre:Artmed, 2006, 602p.

GALICIA GARCIA T.G.; MARTINEZ-BUSTOS, F.; JIMENEZ-AREVALO, A.O.; ARENCON, D.; GAMES-PEREZ, J.; MARTINEZ, A.B. Films of Native and Modified Starch Reinforced with Fiber: Influence of Some Extrusion Variables Using Response Surface Methodology. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 126, p. E326–E335, 2012.

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.

GUY, R.C.E., HORNE, A.W. Extrusion and co-extrusion of cereals. In: **Food Structure-its creation and evaluation**. Ed. Blanshard, J.M.V. e Mitchel, J.R., Butter-worths p.p. 1-349, 1988.

HARPER, J.M. Extrusion processing of food. **Food Technology**, v.32, n.7, p.67-72, Jul. 1992.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V.M.; KROCHTA, J.M. Thermoplastic processing of proteins for film formation - A review. **Journal of Food Science**, 73(2): R30-R39 (2008).

IONASHIRO, E. Y.; BANNACH, G.; SIQUEIRA, A. B.; CARVALHO, C. T.; RODRIGUES, E. C.; IONASHIRO, M. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** vol. 92 issue 3 June 2008. p. 953 – 959.

KALAMBUR, SATHYA, AND SYED SH RIZVI. "An overview of starch-based plastic blends from reactive extrusion." **Journal of plastic film and sheeting** 22.1 (2006): 39-58.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, 40: 47-59, 1986.

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

MARTINS, L.O.; FIALHO, A.M.; RODRIGUES, P.L.; SÁ-CORREIA, I. Gellan gum

production and activity of biosynthetic enzymes in *Sphingomonas paucimobilis* mucoid and non-mucoid variants. **Biotechnol. Appl. Biochem.**, 24: 47-54, 1997.

MOŚCICK et al. Application of extrusion-cooking for processing of thermoplastic starch (TPS) **Food Research International** 47 (2012) 291–299.

ONWULATA, C. I.; SMITH, P. W.; KONSTANCE, R. P.; HOLSINGER, V.H. Incorporation of whey products in extruded corn, potato or rice snacks. **Food research International**, v.34, p.679, 2001.

ORTIZ, J. A. R. (2009). Caracterização Físico-Química de Filmes Biodegradáveis de Farinha de Mandioca e Proteína de Soja por Extrusão. M. Sc. **Dissertação**, Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

PADUA, G. W., WANG, Y., Tensile properties of extruded zein sheets and extrusion blown films. **Macromol. Mater. Eng.** , 288, 886-893 , 2003.

PARK, W.P.; WHITESITE, W.S.; CHO, S.Y. Mechanical and water vapor barrier properties of extruded and heat-pressed gelatin films. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 41(4): 692–700, 2008.

PLANK, J. Applications of biopolymers and other biotechnological products in building materials. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 66; 1-9, 2004.

ROCHA, G. O. (2009). Obtenção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis a partir de Misturas de Amido de Mandioca e Extrato Protéico de Soja. M. SC. **Dissertação**, Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

ROUILLY, A., RIGAL, L., 2002. Agro-Materials: A Bibliographic Review. **Journal of Macromolecular Science**, Part C-Polymer Reviews, 42 (4), 441-479.

ROUILLY, A., SILVESTRE, F., RIGAL, L., CARUEL, H., PAUX, E., SILVESTRE, J., MORARD, P. (2000):Utilisation de tourteau de tournesol pour la fabrication de pots de repiquage biodégradables. **15th International Sunflower Conference**, pp. B-59.

SAHAI D, JACKSON DS. Structural and chemical properties of native corn starch granules. **Starch/Starke**, 1996;48 (7/8):249-55.

SCHLEMMER, D.; SALES, M.J.A.; RESCK, I.S. Preparação, Caracterização e Degradação de Blendas PS/TPS Usando Glicerol e Óleo de Buriti como Plastificantes. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 6-13, 2010.

SCHWARTZBERG, H. G. (1986). Modeling of gas and vapour transport through hydrophilic films. In M. Mathlouthi (Ed.), *Food packaging and preservation: theory and practice*. Elsevier, London. pp.115.

SEBIO, L. Efeito de alguns Parâmetros Operacionais de Extrusão nas Propriedades Físico-químicas da farinha de inhame (*Dioscorea rotundata*). **Dissertação** (Mestrado) Campinas, SP. 1996. 106p.– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas., 1996.

SHEN, X. L.; WU, J. M.; CHEN, Y.; ZHAO, G.; J. **Food Hydrocolloids** 2010, 24, 285.

SHIRAI, M.A.; GROSSMANN, M.V.E.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; GARCIA, P.S.; MÜLLER C.M.O. Development of biodegradable flexible films of starch and poly(lactic acid) plasticized with adipate or citrate esters. **Carbohydrate Polymers**, Volume 92, Issue 1, 30 January 2013, Pages 19-22.

STAGNER, J.A.; ALVES, V.D.; NARAYAN, R. Application and Performance of Maleated Thermoplastic Starch-Poly (butylenes adipate – co- terephthalate) Blends for Films. **Journal of applied Polymer Science**, v. 126, p. 1135-1142, 2012.

SUTHERLAND, I.W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. **International Dairy Journal**, 11: 663-674, 2001.

TAKO, M.; HIZUKURI, S. Gelatinization mechanism of potato starch. **Carbohydrate Polym.** V.48, 397-401, 2002.

THOMAS, D.J.; ATWELL, W.A. Starches. Saint Paul: Zagan Press, 1997. 93p. (Zagan Press Handbook Series).

VAN DEN HEUVEL, M. J.; CLARK, D. G.; FIELDER, R. J.; KOUNDAKJIAN, P. P.; OLIVER, G. J. A.; PELLING, D.; TOMLINSON, N. J.; WALKER, A. P. The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD50 test. **Food and Chemical Toxicology**. v. 28, p. 469-482, 1990.

VICENTINI, N. M. (2003). **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. D. Sc. Tese. Botucatu: Universidade Estadual Paulista.

WANG, S., e COPELAND, L. (2012). Effect of alkali treatment on structure and function of pea starch granules. **Food chemistry**, 135(3), 1635–42. doi:10.1016/j.foodchem.2012.06.003

WANG, X.; SUN, X.; LIU, H.; LI, M.; MA, Z.; **Food Bioproducts Processing** 2010, 147.

WILHELM, H. M., SIERAKOWSKI, M. R., SOUZA, G. P., WYPYCH, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. **Carbohydrate Polymers**, 52, 101-110.

WOLF, K. L. (2007). Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno. M. Sc. **Dissertação**, São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista.

WURZBURG, O. B. Modified starches: properties and uses. Boca Raton: CRC Press Inc., 1986. 277p.

XU, J., FAN, X., NING, Y., WANG P., JIN, Z., LV, H., XU, B., XU, X. Effect of spring dextrin on retrogradation of wheat and corn starch gels. **Food Hydrocolloids**, Volume 33, Issue 2, December 2013, Pages 361-367.

XU, J., FAN, X., NING, Y., WANG P., JIN, Z., LV, H., XU, B., XU, X. Effect of spring dextrin on retrogradation of wheat and corn starch gels. **Food Hydrocolloids**, Volume 33, Issue 2, December 2013, Pages 361-367.

YANG, L.; PAULSON, A.T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 571-578, 2000.

YU, L.; CRISTIE, G. *J Mater Sci* 2006, 40, 111.

ZHANG, Q-X., YU, Z-Z., XIE, X-L., NAITO, K., KAGAWA, Y. (2007). Preparation and crystalline morphology of biodegradable starch/clay nanocomposites. **Polymer**, 48, 7193 - 7200.

## **CAPÍTULO II**



# OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA PARA A PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICOS A PARTIR DE MISTURAS DE AMIDO DE MILHO E DE MANDIOCA

## RESUMO

O objetivo deste capítulo foi otimizar os parâmetros da produção de bioplásticos extrudados e termoprensados de amido de milho e amido de mandioca elaborados no Capítulo I. Os parâmetros selecionados foram estabelecidos, usando um delineamento experimental composto rotacional de segunda ordem,  $2^3$ , com pontos centrais utilizando 20 ensaios onde as variáveis respostas foram energia mecânica específica (EME), ângulo de contato( $\theta$ ), opacidade (%), espessura do bioplásticos (mm), módulo de Young (MPa), deformação na ruptura (%), resistência a tração (MPa), força na perfuração (N) deformação (%) propriedades térmicas e reológicas das misturas. Os produtos aqui selecionados como melhores tratamentos, priorizando as propriedades mecânicas, serão considerados no Capítulo III para a aplicação de nanocargas de argilas e nano fibras. Neste Capítulo, as variáveis estudadas para a otimização no processamento por extrusão termoplástica, de dupla rosca, foram: teor de glicerol na fração líquida, velocidade dos parafusos e teor de amido de milho em relação ao amido de mandioca. Após a caracterização tecnológica realizada foi possível concluir que processando o material com 70 % de glicerol na fração líquida, 139 rpm na velocidade dos parafusos e 46,82 % de percentual de amido de milho com respeito ao amido de mandioca obtemos uma matriz mais adequada para sua utilização na adição de cargas e produção de biocompósitos com argila e fibras.

**Palavras-chave:** Calorimetria exploratória diferencial (DSC), Glicerol, Propriedades mecânicas, Reologia.

## ABSTRACT

The purpose of this chapter was to develop and extruded thermo pressed bioplastics using corn and cassava starches after evaluating the variables in the extrusion process with greater influence on the mechanical properties of the products obtained. The selected parameters were established using an experimental composite second order rotational  $2^3$ , where the variables were specific mechanical energy (EME), contact angle ( $\theta$ ), opacity (%), thickness of bioplastics (mm) Module Young (MPa), strain at rupture (%), tensile strength (MPa), drilling force (N), strain (%) and thermal and rheological properties of the mixtures. Products selected to the best treatments, prioritizing the mechanical properties, were subjected to complete technical evaluation of adding nanofiller clays and nano fibers. The studied variables in the thermoplastic extrusion processing with twin screw were: glycerol concentration in the liquid fraction, the screw speed and the maize and cassava starches ratio. Conducted after the technological characterization, it was concluded que processing the materials with 70% glycerol in the liquid fraction, at screw speed of 139 rpm and 46.82% of corn starch produced a more suitable matrix for use in adding charges and production of biocomposites with clay and fibers.

**Keywords:** Differential scanning calorimetry (DSC), Glycerol, Mechanical properties, Rheology.

# 1 INTRODUÇÃO

Existem diferentes técnicas para produzir bioplásticos, elas diferem notavelmente umas das outras, sendo importante conhecer cada um dos componentes que fazem parte do processo, assim como o efeito que eles têm na qualidade do produto final.

No capítulo 1 foi possível estudar cada um destes parâmetros na produção de bioplásticos, utilizando a tecnologia de extrusão termoplástica. Após análises estatísticas três parâmetros foram escolhidas a partir de um planejamento fracionado  $2^{6-2}$  para dar origem a este capítulo, onde além das características mecânicas outros fatores foram avaliados, obtendo regressões matemáticas capazes de prever ou indicar tendências destas características tecnológicas utilizando a metodologia proposta, nas condições estudadas.

Na atualidade, a poluição ambiental por polímeros sintéticos tem provocado uma série de danos ambientais. Como resultado, esforços têm sido feitos para resolver estes problemas, como o uso de polímeros biodegradáveis como embalagens de alimentos (CHANDRA e RUSTGI, 1998). Cabe ressaltar que os bioplásticos são muito bem aceitos no mundo moderno, devido a sua fácil adaptação a processos já existentes. Além disto, a substituição de matérias contaminantes na vida moderna tem feito com que a cada dia o investimento neste tipo de projetos aumente consideravelmente.

Neste capítulo será abordado o efeito da concentração de plastificante, o efeito da velocidade dos parafusos no processo de extrusão e o efeito dos teores de amido de milho e amido de mandioca na qualidade do bioplástico produzido. O efeito das variáveis propostas foi quantificado para maximizar sua utilização e entender melhor sua interação neste tipo de produtos.

## 1.1 Objetivo geral

Otimizar através de ferramenta estatística, o processo de extrusão na elaboração de bioplásticos de amido de mandioca e amido de milho.

## 1.2 Objetivos específicos

- Determinar modelos matemáticos capazes de expressar as características tecnológicas, dos bioplásticos extrudados produzidos, a partir da mistura de amido de mandioca, amido de milho e glicerol;
- Determinar e avaliar os parâmetros tecnológicos, energia mecânica específica (EME), ângulo de contato ( $\theta$ ), opacidade (%), espessura (mm), módulo de Young (MPa), deformação na ruptura (%), resistência a tração (MPa), força (N) e deformação (%) e grau de conversão do amido por calorimetria diferencial exploratória (DSC);
- Determinar a energia mecânica específica (EME) em função da configuração dos parafusos no processo de extrusão;
- Obter uma matriz representativa (bioplástico) com as características mais adequadas para futura adição de micro e nanocargas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

As características finais dos bioplásticos estão intimamente ligadas com as características químicas e propriedades estruturais dos biopolímeros utilizados como base após sua manipulação no processo de extrusão e termoprensagem. Sendo assim, torna-se necessário o conhecimento da composição e das propriedades das matérias-primas a serem modificadas no processo, bem como os possíveis mecanismos de formação dos filmes.

### 2.1 Interação do amido com os plastificante

Os primeiros estudos sobre o uso de amido em embalagens de alimentos biodegradáveis foram baseados na substituição de parte da matriz sintética por amido (abaixo de 10 %), porém, as principais dificuldades encontradas foram atribuídas à incompatibilidade química de amido com polímeros sintéticos (CARVALHO e MITCHELL, 2001). Assim biofilmes, com o amido como biopolímero, começaram a ser estudados de forma mais intensiva sendo a fécula de mandioca selecionada como sendo a matéria-prima mais adequada no trabalho de Cho e Rhee (2004).

Os plastificantes são substâncias incorporadas durante o processamento de plásticos com o objetivo de aumentar sua flexibilidade ou capacidade de alongamento. Eles reduzem a viscosidade do material fundido, diminuem a temperatura de transição vítrea, bem como a rigidez. Os plastificantes são geralmente líquidos, inodoros, incolores e de baixa volatilidade. Podem ser classificados em monoméricos, aqueles com massa molar de até 500 g/mol e poliméricos, com maior massa molar, como os poliésteres, ésteres complexos e óleos epoxidados. As características essenciais de um bom plastificante são baixa volatilidade e pouca ou nenhuma migração para a superfície, alta resistência à extração por água, óleos e solventes, compatibilidade com o polímero, baixa toxicidade e resistência térmica (PADUA e WANG, 2008).

Os plastificantes interagem com as moléculas do polímero conferindo-lhes maior mobilidade uma vez que minimizam as ligações secundárias. Desta forma, o material resultante apresenta uma temperatura de transição vítrea menor e maior volume livre do que o polímero sem plastificante. A temperatura de fusão também é reduzida e, as propriedades mecânicas e físicas do material são alteradas. Entretanto a natureza química das macromoléculas não sofre nenhum tipo de modificação (PADUA e WANG, 2008).

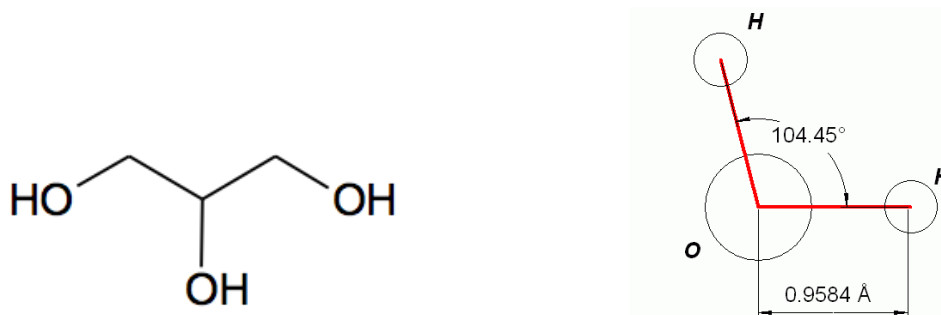
Os primeiros usos dos plastificantes foram para auxiliar no processamento de polímeros rígidos, possuindo a função de afetar as propriedades físicas e mecânicas, sem alterar a natureza química das macromoléculas. Uma possível forma de atuação dos plastificantes em polímeros envolve a redução das forças intermoleculares das cadeias poliméricas pelas moléculas do plastificante, pois estas atuam como um agente de lubrificação, permitindo que as macromoléculas deslizem umas sobre as outras mais livremente (PADUA e WANG, 2008).

Com relação à miscibilidade com o polímero, o plastificante deve ser compatível e permanecer no sistema. Isto implica em uma similaridade de forças intermoleculares dos dois componentes. A massa molar do plastificante deve ser alta o suficiente para que não seja vaporizada durante o processamento (LIU et al., 2006). Em polímeros semicristalinos, a plastificação afeta primeiramente as regiões amorfas e de imperfeições cristalinas, de forma que quanto maior o grau de cristalinidade menor a aceitação do plastificante. A plastificação

altera substancialmente todas as propriedades mecânicas dos polímeros. Em geral, verifica-se um aumento na elongação, diminuição da tensão de ruptura e da rigidez. Quando se requer do material rigidez e resistência, é conveniente manter o teor de plastificante o mais baixo possível, isto é, adicionar só o necessário para promover a flexibilidade e a processabilidade desejada. Estudos revelaram que a plastificação do amido origina alterações na cadeia polimérica como o aumento de flexibilidade seguido por diminuição na resistência mecânica, temperatura de transição vítrea e barreira a gases e vapor de água (PADUA e WANG, 2008).

A redução das forças intermoleculares da rede amilácea em consequência da coesão da molécula e do aumento do volume livre promove o efeito plastificante com o aumento da mobilidade das cadeias poliméricas (VICENTINI, 2003). Os plastificantes mais utilizados são mono-, di- e oligossacarídeos (geralmente xaropes de glucose e mel), lipídeos e derivados (ácidos graxos, monoglicérides e fosfolipídeos) e polióis (glicerol e derivados, sorbitol). No entanto, a opção do glicerol (1,2,3 propanotriol – Figura 30) como plastificante ao polímero de amido se deve a sua compatibilidade (VICENTINI, 2003).

Além do glicerol, a água é considerada um plastificante em filmes hidrofílicos, resultando em produtos com alto brilho (LIU et al., 2006). (Figura 18).



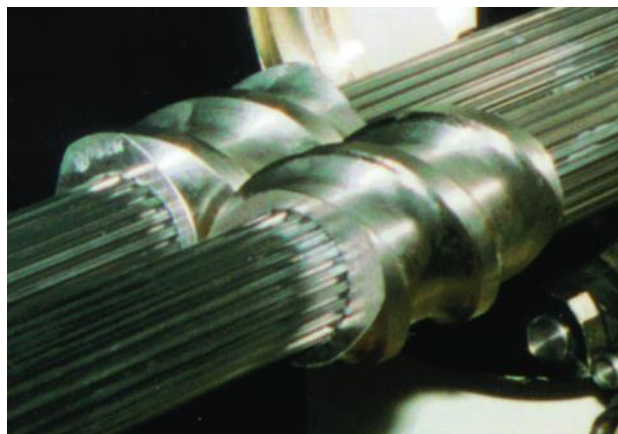
**Figura 18.** Molécula dos plastificantes glicerol e água respectivamente (Fonte: LIU et al., 2006).

## 2.2 Energia mecânica específica (EME)

A EME pode ser definida como a quantidade de energia necessária para processar o material dentro de um extrusor, o que está diretamente relacionada com a potência do motor e com a quantidade total do material processado num período de tempo específico. A potência do motor é produto entre o torque, o qual é proporcional a distância de aplicação, da força e da velocidade do parafuso (Ionashiro, 2005).

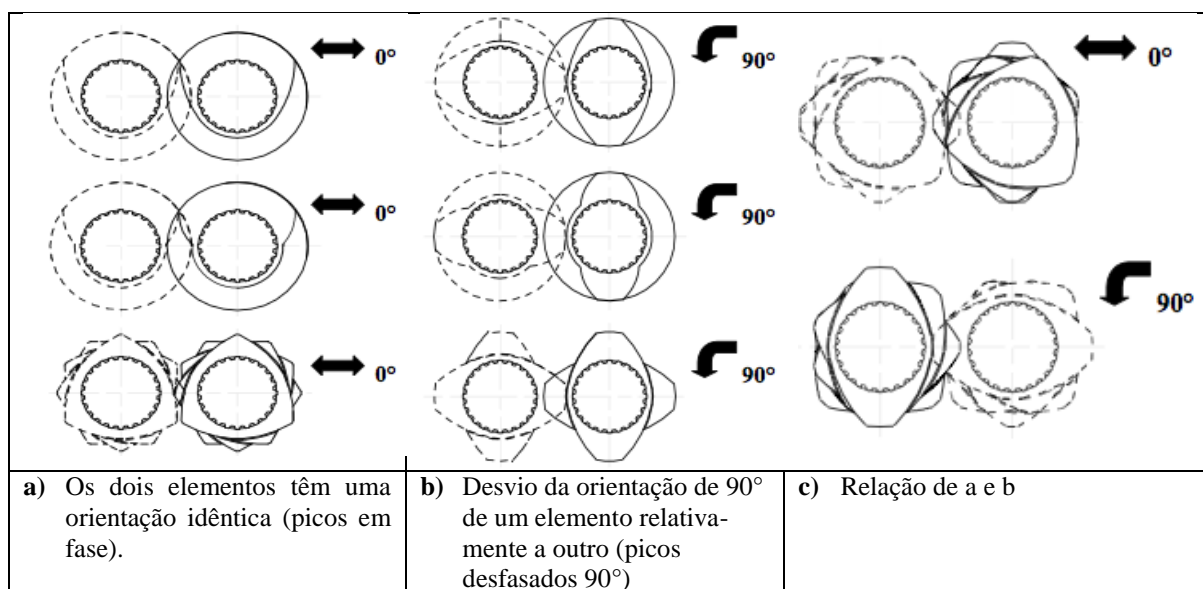
### 2.2.1 Aspectos da extrusão termoplástica relacionados com a energia mecânica

O parafuso ou rosca apresenta-se como parte central e principal do extrusor, possuindo em sua divisão as zonas de alimentação, transição e alta pressão (zona de cocção) (SEBIO, 1996). Os equipamentos dupla rosca atuais possuem diferentes tipos de parafusos que são configurados especificamente para proporcionar características determinadas no produto final através de processos energeticamente eficientes (Figura 19).



**Figura 19.** Montagem do perfil do parafuso numa extrusora dupla rosca marca Clextral.

A orientação dos parafusos em extrusoras de dupla rosca depende exclusivamente das roscas utilizadas na determinação de configuração de parafuso desejado. Na Figura 20, é possível observar sistemas de dupla rosca da marca Clextral orientados segundo tipo de roscas. Vale salientar que o equipamento utilizado neste estudo apresenta orientação do tipo a.



**Figura 20.** Aparelhamento e orientação dos elementos do parafuso para sistemas de extrusão de dupla rosca.

O parafuso conduz o material em direção à matriz revirando e pressionando-o contra as paredes do cilindro o que promove as transformações físicas e químicas no material. O controle da temperatura em cada uma das zonas do extrusor é muito importante, pois é um dos fatores principais que determinará o grau de transformação dos componentes da mistura, além de aumentar a energia mecânica do sistema. Este controle pode ser feito por meio de serpentinas de ar comprimido ou camisas de água fria. Muitos cilindros são equipados com

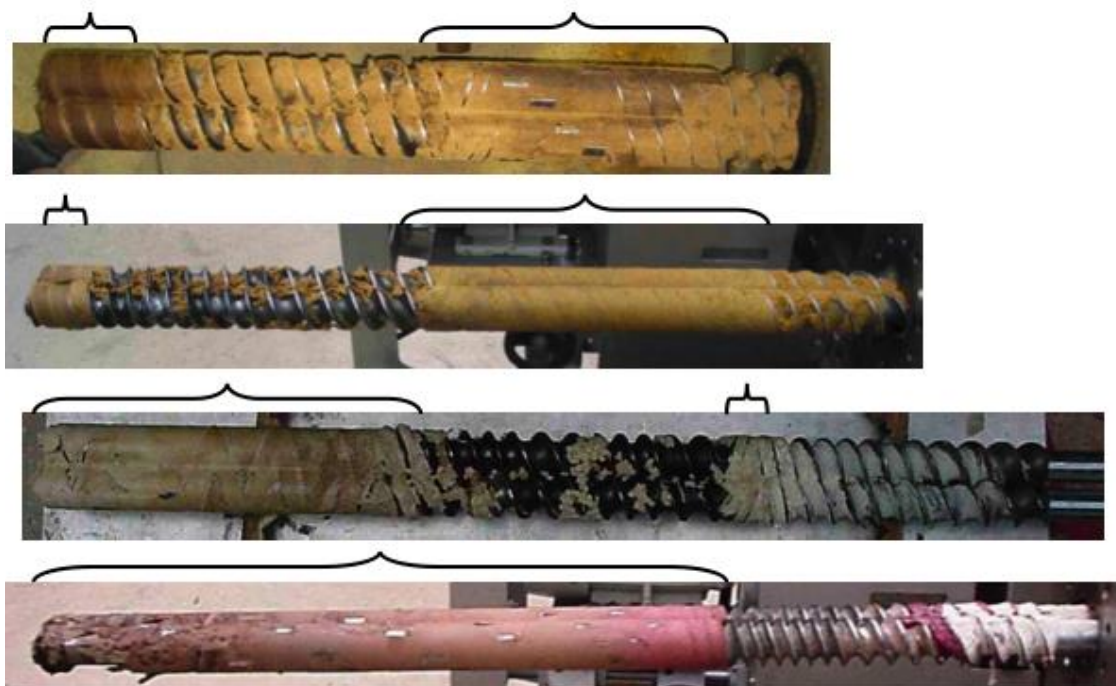
sensores de pressão e temperatura para controle do processo (HIETALA et al., 2013 e SILVA, 2007).

O canhão da extrusora é composto por câmaras encamisadas e por segmentos de roscas onde câmaras encamisadas permitem que se modifique a temperatura do canhão ao longo de seu comprimento, utilizando para isso água quente. Da mesma maneira, o resfriamento pode ser feito através da percolação de água fria. Dependendo da zona do extrusor onde o canhão se encontre, módulos abertos ou fechados são montados segundo o equipamento que se possui.

As roscas podem ser de mesmo diâmetro do início ao fim do canhão, assim como ter o segmento final de forma cônica (diâmetro menor). Sua forma construtiva respeita a relação entre o passo e o diâmetro da rosca, o que garante que no período de residência do produto no canhão, seja vencido para as etapas seguintes.

O canhão extrusor deve ser construído pela união de segmentos; isto facilita a configuração de diferentes situações e, principalmente, minimiza custos, visto que estes elementos devem ser trocados de tempos em tempos em virtude do desgaste natural pelo uso. As roscas são fabricadas com aço-liga especial, necessita de um motor potente para seu acionamento. De maneira geral são constituídas de três zonas: zona 1: Alimentação localizada logo abaixo do funil de alimentação. É a zona de entrada do material na rosca. Este material é de baixa densidade por sua natureza granular e pela presença do ar que entra com o produto. O canal se encontra parcialmente cheio, mas à medida que se desloca, o material é ligeiramente comprimido, expulsando o ar. Água pode ser injetada nesta zona, com o propósito de alterar a textura, desenvolver viscosidade e aumentar a transferência de calor por condução. Nesta zona, a profundidade dos filetes é maior e o seu diâmetro é constante em todo o seu comprimento. A experiência indica um mínimo de quatro filetes, a fim de se evitar a alimentação sem uniformidade ou aumento indesejado da temperatura; zona 2: compressão - destina-se a iniciar e promover a compressão e plastificação dos grânulos do amido, o que se obtém reduzindo a profundidade dos filetes e, conseqüentemente, o espaço disponível para os grânulos. O material empurrado para frente é aquecido pela troca de calor como cilindro aquecido e principalmente pela fricção; a compressão progressiva do material aumenta a sua densidade; zona 3: dosagem - é a parte final da rosca, geralmente com uma profundidade dos filetes relativamente pequena e é mantida constante por toda seção. Sua finalidade é dar estabilidade ao polímero e ajudar a manter constante o fluxo do material. Nesta etapa o produto perde sua característica granular e a densidade começa a aumentar na medida em que a pressão se desenvolve no cilindro. As partículas do material começam a se aglomerar e a formar uma massa que flui até alcançar a máxima compactação. Assim como as roscas, as camisas devem possuir segmentos internos cambiáveis, de modo a reconstituir as estrias que auxiliam o processo.

Interações podem ser feitas desta configuração padrão, exemplos claros podem ser observados na Figura 21 onde se ressalta a região de compressão onde a energia gerada pelo atrito entre partículas de amido geram maior EME.



**Figura 21.** Diferentes combinações de configuração de parafuso para sistemas de extrusão dupla rosca, destacando as zona com maior EME (Fonte: Ionashiro, 2008).

### **2.3 Efeito da mistura de amidos no processo de extrusão termoplástica**

As características físicas e químicas dos grânulos de amido tem efeito significativo nas propriedades tecnológicas dos bioplásticos desenvolvidos. Além do tamanho e a configuração semicristalina específica de cada amido segundo sua origem, as características finais dos bioplásticos são associadas ao teor de amilose e amilopectina. Por isso que a proporção de cada um dos amidos utilizados neste estudo (milho e mandioca) determinará propriedades tecnológicas nos bioplásticos que podem ser quantificadas, em função de quatro processos básicos: gelatinização, fusão, retrogradação e gelificação do amidoos dois últimos muito mais complexos e dependentes do teor de amilose e amilopectina de cada fonte botânica (Ionashiro, 2008).



## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Matérias-primas

O amido de mandioca (polvilho doce) e o amido de milho foram obtidos do comércio local no Estado do Rio de Janeiro. Glicerol com 95 % de pureza marca Vetec e água destilada serão usados como plastificantes.

### 3.2 Métodos

#### 3.2.1 Preparo dos pellets por extrusão termoplástica e delineamento experimental

Misturas de amidos e plastificantes foram processadas em uma extrusora de rosca dupla Cleextral Evolun HT25 (Firminy, França) equipada com uma matriz laminar de 3 cm de largura por 1 mm de espessura obtendo-se extrudados em formato de fita. A extrusora foi alimentada usando um alimentador automático gravimétrico com vazão fixa de 5 kg/h. O teor de plastificantes adicionado ao material foi controlado por uma bomba de pistão de líquidos automática (1,5 a 2,5 L/h), sendo que variado teor de plastificante (mistura de água e glicerina) foi bombeado para o interior da extrusora na primeira zona de alimentação. O teor de plastificante foi considerado uma variável independente, com 70 a 90% na fração líquida. As temperaturas das dez zonas de aquecimento foram: 40, 50, 60, 80, 100, 120, 100, 90, 70 e 70 °C com início na zona de alimentação até a saída da matriz. A rotação dos parafusos variou de acordo com o modelo experimental de 128 a 162 rpm (Tabela 4), onde os efeitos das variáveis independentes foram identificados a partir de um delineamento fatorial completo 2<sup>3</sup> com seis pontos centrais (20 ensaios) como mostra a Tabela 5. Visando maximizar o processo em função dos resultados da análise das propriedades mecânicas (variável dependente principal) para potencialmente produzir pelo menos um bioplástico com características adequadas para a adição das nanoargilas e nanofibras, a partir da metodologia proposta estabeleceu-se modelos matemáticos preditivos para melhor entender e caracterizar os bioplásticos obtidos.

**Tabela 4.** Níveis codificados das variáveis independentes do experimento.

Variáveis	Níveis				
	$-\alpha=1,682$	-1	0	+1	$+\alpha=1,682$
X <sub>1</sub>	69,9	73,85	80	86,15	90,8
X <sub>2</sub>	128,2	135	145	155	161,8
X <sub>3</sub>	13,18	20	30	40	46,82

X<sub>1</sub>: Porcentual de plastificante glicerol na fração líquida (%), X<sub>2</sub>: Velocidade de parafuso (rpm), X<sub>3</sub>: Porcentual de milho/mandioca (%).

O processamento dos dados e a análise estatística foram realizados com o auxílio do programa Statistica 6.0 (Tulsa, EUA).

**Tabela 5.** Delineamento completo do desenho experimental.

Tratamentos	Níveis codificados das variáveis			Níveis decodificados das variáveis		
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	-1	-1	-1	73,85	135	20
2	-1	-1	1	73,85	135	40
3	-1	1	-1	73,85	155	20
4	-1	1	1	73,85	155	40
5	1	-1	-1	86,15	135	20
6	1	-1	1	86,15	135	40
7	1	1	-1	86,15	155	20
8	1	1	1	86,15	155	40
9	$-\alpha$	0	0	69,9	145	30
10	$+\alpha$	0	0	90,8	145	30
11	0	$-\alpha$	0	80	128,2	30
12	0	$+\alpha$	0	80	161,8	30
13	0	0	$-\alpha$	80	145	13,18
14	0	0	$+\alpha$	80	145	46,82
15	0	0	0	80	145	30
16	0	0	0	80	145	30
17	0	0	0	80	145	30
18	0	0	0	80	145	30
19	0	0	0	80	145	30
20	0	0	0	80	145	30

$X_1$ : Porcentual de plastificante glicerol na fração líquida (%),  $X_2$ : Velocidade de parafuso (rpm),  $X_3$ : Porcentual de milho/mandioca (%).

### 3.2.2 Termo-prensagem dos extrudados

Os extrudados na forma de *pellet* foram cortados no comprimento médio de 40 cm, embalados em sacos de polipropileno e acondicionados em freezer (-18°C) para posterior análise. As fitas foram deixadas a temperatura ambiente até total descongelamento em sua embalagem original. Após o descongelamento, as fitas foram cortadas manualmente por meio de uma tesoura em pequenos pedaços com peso de 5 g. Cada pedaço de 5 g foi disposto no centro de uma prensa termo-hidráulica manual Skay Máquinas e Equipamentos Hidráulicos de 30 ton (São José do Rio Preto, SP) dotada de placas de aquecimento e resfriamento inferior e superior revestidas de Teflon®, onde se aplicou a pressão de 5 ton por 1 min. A temperatura das placas foi mantida constante a 95°C. De forma a facilitar a remoção do filme prensado do revestimento, este foi levado ao interior do freezer (-18°C) por 1 min e deixado à temperatura ambiente por mais 30 min antes da sua completa retirada do substrato. Os filmes apresentaram-se em formato circular com diâmetro aproximado de 300 mm.

### 3.2.3 Energia mecânica específica (EME)

A extrusão de cada amostra foi iniciada após o aquecimento programado de 10 zonas de temperatura e monitoramento inicial da umidade em 13% para todas as amostras. Para cada amostra, torque, pressão estática e vazão foram monitorados e a média dos valores foi usada no cálculo da EME, conforme a seguinte equação:

$$EME = \left[ \frac{(2\pi) \cdot (V_p) \cdot (T)}{(60s) \cdot F} \right] \text{ (equação 2)}$$

Onde:

$V_p$  = velocidade do parafuso (rpm)

$T$  = torque (N.m)

$V$  = vazão ou produtividade ( $\text{kg} \cdot \text{h}^{-1}$ )

O torque foi registrado pelo software do sistema de controle e ao final de cada processamento foi feita uma média.

A vazão de produção foi avaliada obtendo-se a massa (em gramas) da quantidade de extrudados coletados em sacos plásticos, durante 1 min, obtendo-se assim a vazão convertida em  $\text{kg/h}$  permitindo controlar a calibração programada através do software da extrusora utilizada.

### 3.2.4 Ângulo de contato

A determinação do ângulo de contato foi realizada a temperatura ambiente, de acordo com a metodologia descrita por SILVA et al. (2007), em um analisador de ângulo de contato KSV Instruments modelo CAM 101 (Helsinki, Finlândia).

### 3.2.5 Opacidade

A opacidade aparente dos filmes foi determinada com a ajuda de um espectrofotômetro Femto modelo 700 Plus (Femto Ind. Com. Instrumentos Ltda, São Paulo, Brasil). Os filmes foram cortados em retângulos e aderidos à parede interna da cubeta do espectrofotômetro, e a cubeta vazia foi usada como referência. A absorbância foi medida com comprimento de onda de 500 nm.

A opacidade foi calculada de acordo com o trabalho de Rocha (2009). A medida foi repetida três vezes para cada tipo de filme, e uma média foi feita para se obter um resultado.

### 3.2.6 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada por meio de micrômetro digital (Fowler IP54, USA). A espessura final foi a média aritmética de cinco posições, sendo quatro realizadas nas bordas e uma no centro de cada filme.

### 3.2.7 Propriedades mecânicas

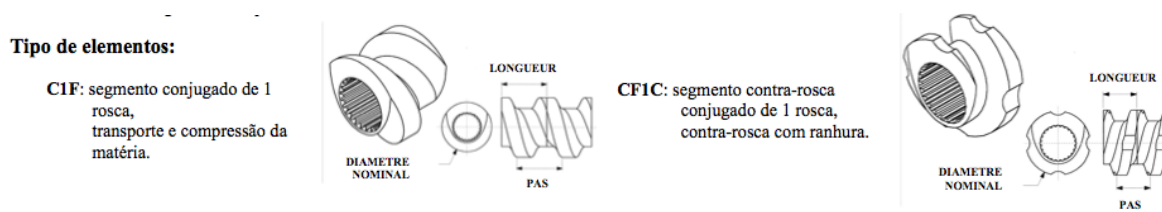
As propriedades mecânicas de interesse avaliadas neste estudo seguiram as mesmas diretrizes apresentadas no capítulo I.

### 3.2.8 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A determinação do grau de conversão do amido nos bioplásticos e a variação de entalpia dos amidos utilizados como matéria-prima (mandioca e milho) foram realizadas por análise de calorimetria diferencial de varredura, utilizando-se um DSC (Differential Scanning IQ 200, TA Instruments, EUA). As amostras foram pesadas em cápsulas de alumínio herméticas em excesso de água destilada e mantidas em repouso até o dia seguinte. A amostra foi aquecida a 10 °C/min na faixa de 5 a 110 °C, resfriada a 20 °C e novamente aquecida até 110 °C com o intuito de verificar a fusão dos cristais de amido (Ionashiro, 2005). A entalpia foi determinada por meio da integral da área sob a curva e expressa em J/g, temperaturas inicial e do pico foram determinadas manualmente.

### 3.2.9 Análise da configuração de parafuso

Com o intuito de diminuir o custo energético do processo de obtenção de bioplásticos utilizando a extrusão, modificações foram feitas na configuração dos parafusos. O emparelhamento e orientação dos parafusos sem fim, com que conta a extrusora Clextral dupla rosca depende exclusivamente das roscas utilizadas na determinação de configuração de parafuso. A mesma possui 50 elementos de 24 segmentos para cada um, com diâmetro nominal de 25 mm cada, sendo que cada módulo foi denominado com nomes codificados pelo fabricante (Figura 22a). Para este estudo foram testadas nas seções 42 e 49 outro tipo de módulos reversos (denominados CF1C), mostrados na Figura 22b, com o intuito de gerar maior energia mecânica no sistema diminuindo a necessidade de incrementar a energia térmica.



**Figura 22.** a) Elemento (C1F) presente na configuração do parafuso. b) Elemento reverso CF1C adicionado com o intuito de utilizar eficientemente a energia no sistema. (referencia).

### 3.2.10 Análise estatística dos resultados

Para realizar o ajuste dos dados experimentais ao modelo encontrado a análise de variância (ANOVA) com o emprego do teste F a 5% de significância foi empregada e segue nos apêndices A e B, segundo o qual um modelo de regressão é significativo quando o valor

do teste F calculado é maior ou igual ao do teste F tabelado e, quanto maior o teste F calculado, mais preditivo é o modelo (BOX e WETZ, 1973).

Segundo Barros et al., (1995); o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) mede a proporção da variação total da resposta que é explicada pelo modelo. Desse modo, quanto maior o  $R^2$ , isto é, quanto mais próximo de 1, menor será o erro e melhor o modelo. Segundo estes autores, modelos com  $R^2 < 0,65$  devem ser usados somente como indicadores de tendência, nunca para fins preditivos.

O processamento dos dados das variáveis independentes obtidos pela metodologia de superfície de resposta (MRS) foi realizado com auxílio do software *Statistica* (Statsoft, Tulsa, EUA), versão 6.0, com as variáveis independentes codificadas. Os gráficos foram plotados em função de duas variáveis, mantendo-se para a outra variável o valor constante relativo ao ponto central.

Para as variáveis-resposta que não geraram modelo preditivo e nem tendência, os resultados foram discutidos através de comparação de médias analisadas pelo teste de Tukey, utilizando o programa *Xlstat* (Addinsoft, Andernach, Germany), versão 7.5.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os bioplásticos apresentaram-se translúcidos, com boa aparência, lisos, de fácil manuseio, com flexibilidade variável de acordo com a concentração do plastificante. O fenômeno de plastificação hipoteticamente ocorreu devido a três fatores principais de acordo com os conceitos citados por Sebio (2007) na qual sugere que o teor de glicerol e água, cisalhamento e temperatura seriam fatores que provocaram a fusão da matriz polimérica conduzindo à formação de uma pasta plástica homogênea e viscosa. Por outro lado, o mesmo autor sugere que o alinhamento das moléculas ou agregados poliméricos aconteceu devido ao escoamento progressivo laminar formando camadas paralelas superpostas. Além disso, o mesmo autor sugere que o resfriamento da pasta polimérica na matriz fixa as estruturas e dá um formato final plastificado e que a expansão é evitada graças a uma gradiente de pressão estabelecida entre a entrada e a saída da matriz.

A determinação das propriedades tecnológicas resultantes da otimização neste estudo foi realizada com o objetivo de caracterizar o bioplásticos, podendo ser de grande importância para sua eventual utilização ou aplicação. Tanto para a ANOVA (localizados no apêndice) como para os gráficos tridimensionais de superfície resposta foram utilizados os valores das respostas (variáveis dependentes) apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Resultados experimentais para as variáveis dependentes analisadas do planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>.

Amostras	*TPFL (%)	Velocidade do parafuso (rpm)	**Amido milho/amido mandioca (%)	EME (Wh/kg)	Ângulo de contato (°)	Opacidade (%)	Espessura (mm)	Módulo de Young (MPa)	Deformação na ruptura (%)	Resistência a tração (Mpa)	F. na perfuração (N)	Deformação (%)	Tgel (J/g)	Aging B (J/g)
1	73,85	135	20	317,91	39,23	4,63	0,42	15,6	5,07	1,77	25,95	48,4	1,61	1,45
2	73,85	135	40	384,59	46,75	6,83	0,34	39,0	5,12	2,33	19,84	29,6	1,50	2,07
3	73,85	155	20	565,86	42,23	4,43	0,42	6,4	5,12	1,17	28,43	31,7	1,56	0,95
4	73,85	155	40	451,73	39,12	2,67	0,37	7,7	5,12	1,19	11,55	32,0	1,16	1,49
5	86,15	135	20	373,30	40,64	5,97	0,33	12,3	4,67	1,39	6,13	25,6	0,77	2,35
6	86,15	135	40	370,81	45,13	7,53	0,26	12,3	4,36	1,18	3,83	19,2	0,96	3,64
7	86,15	155	20	528,07	34,94	8,43	0,32	12,1	5,12	1,72	11,27	38,1	0,98	2,24
8	86,15	155	40	547,05	58,12	4,77	0,33	12,2	5,06	1,32	13,23	21,2	1,18	3,22
9	69,90	145	30	468,71	43,93	6,53	0,33	10,3	4,74	2,15	9,44	48,0	1,10	2,48
10	90,80	145	30	278,09	34,58	4,77	0,27	2,7	4,84	0,41	1,43	21,0	0,66	3,89
11	80,00	128	30	241,44	38,12	4,93	0,30	7,5	4,69	1,07	5,68	23,1	1,71	2,55
12	80,00	162	30	502,63	39,34	7,73	0,32	3,0	5,11	0,80	4,33	53,7	1,46	1,60
13	80,00	145	13	472,48	38,49	4,50	0,36	8,6	4,76	1,29	12,57	34,3	0,59	1,84
14	80,00	145	47	355,62	43,68	6,53	0,26	11,5	4,83	1,02	3,65	20,7	0,62	4,40
15	80,00	145	30	422,03	35,36	4,47	0,29	10,7	4,83	1,38	12,34	36,8	1,22	2,92
16	80,00	145	30	406,63	33,44	4,70	0,30	10,1	4,82	1,24	12,80	37,3	1,13	2,11
17	80,00	145	30	439,24	35,70	4,60	0,28	10,9	4,69	1,42	12,64	36,4	1,16	1,90
18	80,00	145	30	445,41	37,21	4,07	0,29	4,2	5,12	1,89	12,23	36,8	0,92	2,16
19	80,00	145	30	553,00	32,30	4,20	0,30	15,5	5,12	1,34	12,35	38,4	1,17	1,57
20	80,00	145	30	470,33	35,43	4,77	0,31	15,6	4,89	1,49	12,79	38,1	1,45	2,11

\* Teor de plastificante na fração líquida (concentração de glicerol com água).

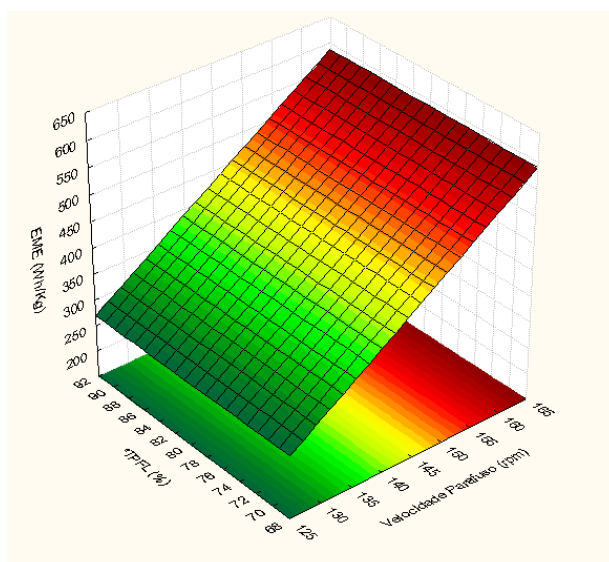
\*\* Concentração de amido de milho com respeito ao amido de mandioca nas misturas.

#### 4.1 Energia mecânica específica (EME)

A energia mecânica específica torna-se importante na análise dos pellets de amido e glicerol por permitir monitorar variações nos parâmetros do processo e da formulação (DOMENECH et al., 2013; ONWULATA et al., 2001).

A equação 3 apresenta o modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas o que evidencia que a velocidade do parafuso foi a variável mais significativa ( $P < 0,001$ ). O coeficiente de determinação indicou que 68% da variação da resposta foi explicada pelo modelo representado na Figura 23. O aumento da EME observado com o aumento da velocidade do parafuso no processo de extrusão explica-se pela elevação do atrito mecânico ao deslocar o material fundido dentro do extrusor até a saída da matriz. Ao diminuir este atrito no sistema a viscosidade do material diminui e o fluxo aumenta, reduzindo a energia mecânica específica.

$$\text{EME} = 454,17 + 79,47 X_2 \text{ (equação 3)}$$

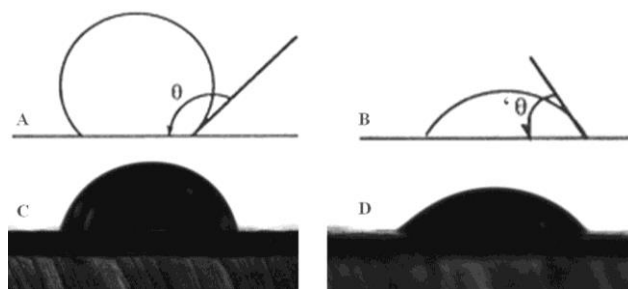


**Figura 23.** Efeito das variáveis quantitativa \*teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm), na energia mecânica específica (Wh/kg).

#### 4.2 Ângulo de Contato

O ângulo de contato é o ângulo formado quando um líquido conhecido não molha a superfície completamente. O ângulo  $\theta$  de contato com a superfície, formado por essa situação representa a propriedade de molhabilidade e indica a natureza da superfície do material. Na Figura 24 há um desenho esquemático do contato da água em dois tipos de materiais seguidos de fotos pertencentes à análise do bioplásticos estudados. Para a realização desta análise a temperatura oscilou entre  $24 \pm 1$  °C e a umidade relativa foi de  $73 \pm 1$  % foi feito um controle para a ausência de vibração para obterem-se medidas experimentais satisfatórias.



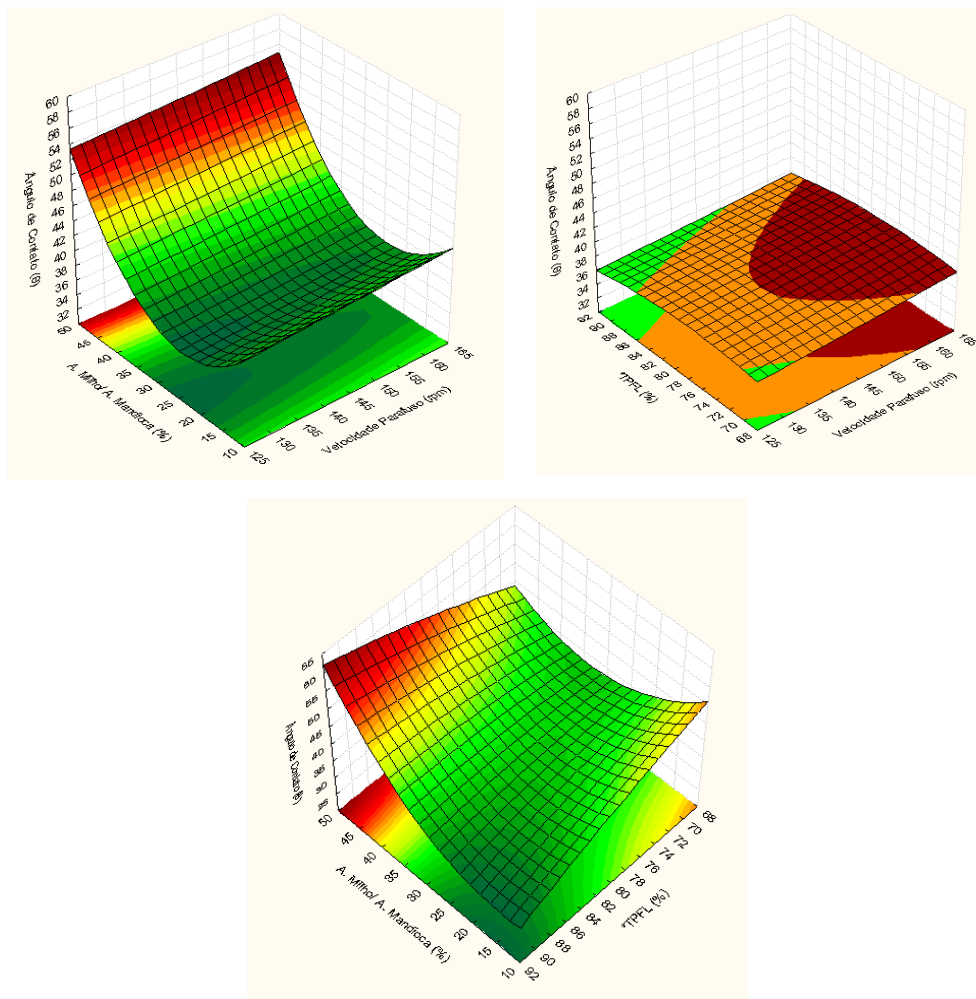


**Figura 24.** Desenho esquemático de medidas de ângulo de contato em dois exemplos de tipos de material diferentes: com característica hidrofóbica (A) e hidrofílica (B). Fonte: AL-HASSAN; NORZIAH, 2012. Fotografias da incidência da gota d'água no momento zero segundo dos tratamentos 8 (C) e 19 (D) do delineamento, que correspondem ao maior e menor valor encontrado respectivamente.

O modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas desta análise se encontra exposta na equação 4. Todas as variáveis tiveram significância na análise realizada ressaltando a sinergia existente entre as variáveis teor de glicerol na fração líquida e o aumento de amido de milho nos bioplásticos ( $P < 0,05$ ). O coeficiente de determinação indicou que 65% da variação da resposta foi explicada pelo modelo representado na Figura 25.

Os maiores ângulos foram encontrados nos tratamentos 8 e 6, correspondendo, respectivamente a 86,15 % de TPFL e 40% de amido de milho respectivamente. O aumento do teor de amido de milho na matriz do bioplástico diminuiu a molhabilidade. A alta interação entre as moléculas de amilose do amido de milho com os plastificantes, que se encontram em maior quantidade neste tipo de amido comparada com o amido de mandioca, poderia ter bloqueando a interação da matriz amilácea com a gotícula de água destilada utilizada nesta análise, o que elevou o ângulo. Quanto ao o teor de plastificante utilizado, não apresentou o mesmo comportamento do que no trabalho de Magalhães e Andrade (2009) e Averous e colaboradores (2000) que ao desenvolverem filmes de amido com glicerol como plastificante observaram que a elevação do teor do mesmo, o ângulo de contato foi reduzido. O glicerol tem altíssimo potencialde hidratação possibilitando maior interação com as moléculas de água e aumentado a molhabilidade de qualquer superfície onde há moléculas de álcool (AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; JIMÉNEZ et al., 2012).

$$\hat{\text{Ângulo de contato}} = 34,80 + 2,99 X_3 + 2,23 X_1^2 + 2,04 X_2^2 + 2,87 X_3^2 + 2,91 X_1 X_3 \text{ (equação 4)}$$



**Figura 25.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) e adição de amido de milho (%), no ângulo de contato (°), dos bioplásticos de amido.

Outros estudos também objetivaram aumentar o ângulo de contato de filmes de amido. Chi e colaboradores (2008) modificaram o amido por acetilação, o que elevou o ângulo de 43 para 68° isto justifica que o tipo de amido utilizado e suas diferenças químicas também tem um efeito específico nos bioplásticos deste tipo. Zhou e colaboradores (2009) empregaram amido após reação cruzada ou “photo crosslinking” em filmes por *casting* conseguindo aumento de 80 para 100°.

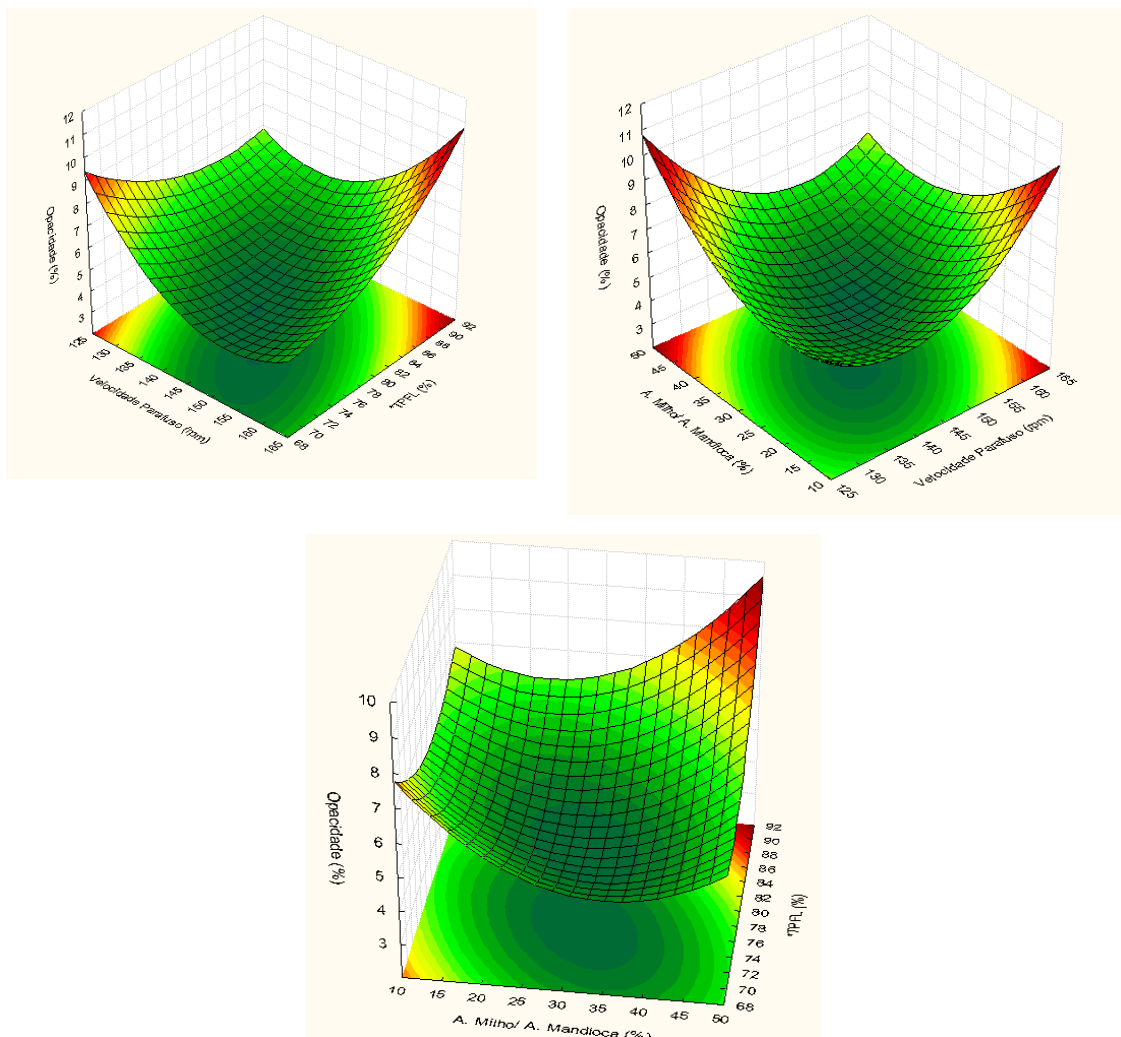
### 4.3 Opacidade

A opacidade variou de 2,67 a 8,43%. O menor valor, pertence ao tratamento 4. E o maior valor correspondente ao tratamento 7. As variáveis independentes  $X_1$  (teor de plastificante na fração líquida),  $X_2$  (velocidade do parafuso) e  $X_3$  (amido de milho/amido de mandioca) foram significativas ( $p < 0,05$ ). O coeficiente de determinação (0,58) gerado pelos resultados foi inferior ao aceito para que o modelo seja considerado preditivo (0,60), porém

pode ser usado para indicar tendência, pois todas as variáveis independentes foram significativas, ressaltando suas interações, onde pode ser observado uma diminuição da opacidade quando as variáveis independentes estudadas se encontram perto do ponto central, com 75% de glicerol na fração líquida, 148 rpm de velocidade de parafuso e 27% de amido de milho com respeito ao amido de mandioca (Figura 26). A equação 5 apresenta o modelo matemático proposto para as variáveis dependentes codificadas:

$$\text{Opacidade} = 4,47 + 0,37 X_1 + 0,36 X_1^2 + 0,60 X_2^2 + 0,32 X_3^2 + 0,51 X_1 X_2 - 0,32 X_1 X_3 - 1,15 X_2 X_3$$

(equação 5)



**Figura 26.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) e Adição de amido de milho (%), na opacidade (%) dos bioplásticos de amido.

Outros estudos têm sido efetuados com o intuito de correlacionar condições de processamento com a opacidade dos bioplásticos extrudados, Pelissari e colaboradores (2011) estudaram a influência dos seguintes parâmetros de extrusão: temperatura do canhão (120, 130 e 140°C) e velocidade do parafuso (25, 35 e 45 rpm) nas propriedades de filmes de amido de milho, quitosana e óleo de orégano. A transmitância de luz dos filmes foi influenciada negativamente pela variável velocidade do parafuso linear. Os valores mais elevados de transmitância de luz foram gerados por maiores velocidades, independente da temperatura do canhão. Este resultado está de acordo com o presente estudo onde a variável velocidade do parafuso ( $X_2$ ) também foi significativa ( $p < 0,05$ ) com efeito positivo na opacidade.

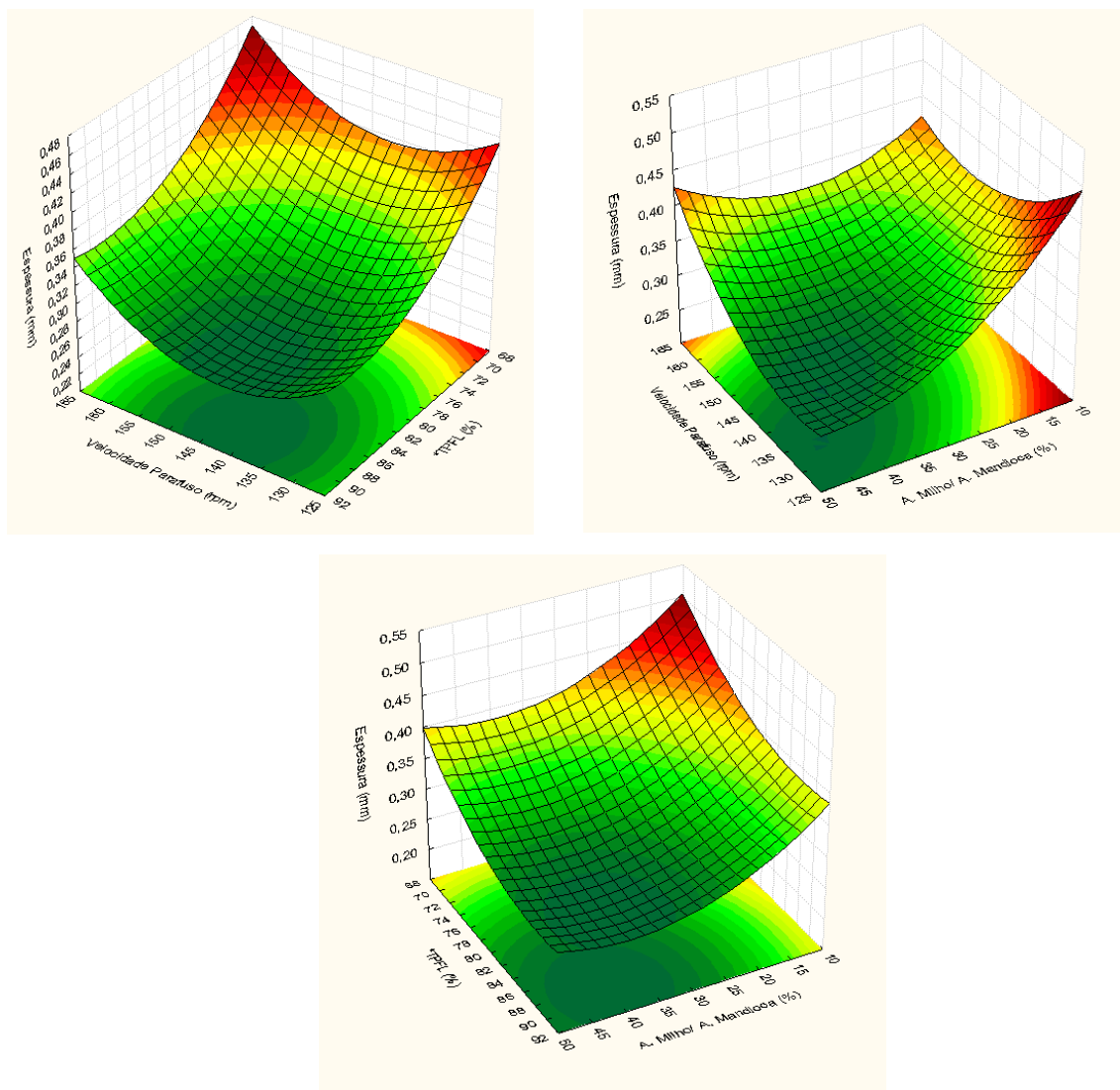
Outras pesquisas também demonstraram o efeito dos plastificantes e a interação com a fonte de amidos utilizada. Fakhoury e colaboradores (2012) desenvolveram bioplásticos com amido de mandioca (nativo e modificado) e gelatina em diferentes proporções (10% gelatina, 3 e 5% de amidos) com sorbitol ou glicerol como plastificantes e observaram que a adição de gelatina aumentou a transmitância de luz dos bioplásticos com ambos os tipos de amidos e plastificantes. As amostras produzidas com 5% de amido apresentaram menor transmitância de luz que os filmes com 3% para ambos os plastificantes. De forma geral, os filmes com amido modificado foram menos opacos que os elaborados com o amido nativo e a gelatina foi considerada a maior responsável pelo aumento desse parâmetro por impedir a cristalização, mantendo a camada amorfa e aumentando a transparência.

#### 4.4 Espessura dos filmes

A espessura é uma das análises mais importantes dos bioplásticos, pois sua uniformidade permite caracterizar de melhor forma as propriedades físicas dos polímeros. A uniformidade do processo, bem como sua repetibilidade e a adequação da matéria prima para o desenvolvimento de filmes são apenas alguns parâmetros que devem ser considerados para avaliação da espessura.

O modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas em função da espessura está representado na equação 6. Para esta análise todas as variáveis foram significativas na sua forma linear e quadrática. O coeficiente de determinação indicou que 80% da variação da resposta foi explicada pelo modelo representado na Figura 27. A diminuição da espessura para o modelo de processamento proposto neste estudo ocorreu com o aumento do teor de amido de milho (40%), velocidade de parafuso na faixa de 140±5 rpm e teores elevados de glicerol na fração líquida (90%). Assim o modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 6) é definido como:

$$\text{Espessura} = 0,29 + 0,03 X_1 + 0,009 X_2 - 0,026 X_3 + 0,010 X_1^2 + 0,01 X_2^2 + 0,01 X_3^2 \text{ (equação 6)}$$



**Figura 27.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) e adição de amido de milho (%) na espessura (mm) dos bioplásticos de amido.

Um polímero ideal é o que possui uma espessura independente da permeabilidade ao vapor d'água. No entanto, filmes com características hidrofílicas tem demonstrado correlação positiva. Entre as teorias, admite-se que quanto maior a espessura, maior é a resistência à transferência de massa por ele, e em consequência, o equilíbrio da pressão de vapor de água aumenta. Assim o cálculo da PVA é dependente da espessura (McHUGH et al., 1993).

Com respeito da significância do tipo e concentração de plastificantes utilizados, outros trabalhos estudaram o efeito da adição de diferentes plastificantes (glicerol e sorbitol) em filmes de amido de arroz por *casting*. Laohakunjit e Noomhorm (2004) notaram que quanto maior a concentração de glicerol (20, 25, 30 e 35%) e sorbitol (30, 35, 40 e 45%) nos filmes, maior é a espessura do filme que variou de 0,104 até 0,113 mm. Enquanto que os filmes controle (sem plastificante) apresentaram espessura de 0,1mm. Desta forma vale ressaltar que se comparado com o presente estudo, o resultado foi contraditório. Isto ocorre,

possivelmente pela técnica utilizada para produzir o filme, pois matrizes mais finas e consistentes foram obtidas com teores de glicerol elevados na termoprensagem após extrusão.

Esta teoria apresenta o respaldo do trabalho elaborado Pushpadass e colaboradores (2008) que desenvolveram filmes de amido de milho e glicerol com três tipos de plastificantes secundários (ácido esteárico, ureia e sucrose) por extrusão termoplástica. A espessura foi controlada pela matriz de 0,5 mm, porém a temperatura do canhão, tipo de plastificante e sua concentração alteraram significativamente ( $p < 0,05$ ) esse parâmetro. A variação foi de 0,4 a 0,8 mm. O aumento da temperatura do canhão reduziu a espessura de todos os tipos de filmes. Os autores justificaram esse comportamento pela maior fragmentação do amido, levando a uma matriz mais fluida o que também poderia ter acontecido com o material do presente trabalho ao expor a matriz de amido e glicerol a termoprensagem.

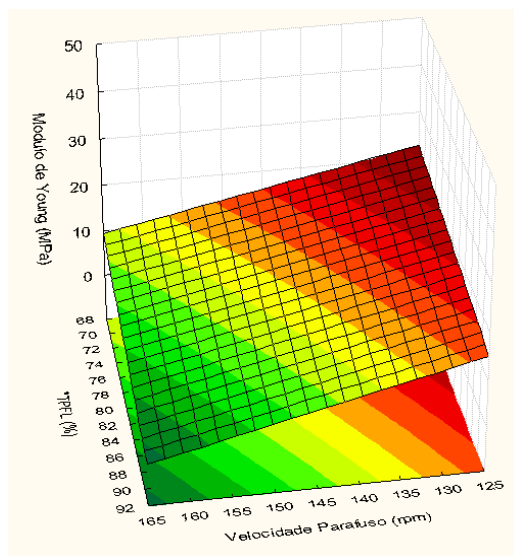
Ao respeito dos tipos de amido utilizados, Phan e colaboradores (2009) desenvolveram filmes de ágar, amido de mandioca, amido de arroz nativo e amido de arroz ceroso, todos com 15% de glicerol e por *casting*. Na avaliação da espessura, notaram que os filmes de ágar e amido de arroz ceroso permaneceram na mesma faixa (0,035 a 0,038mm), enquanto os filmes de mandioca e amido de arroz nativo apresentaram-se ligeiramente mais espessos (0,048 a 0,05mm). Como não houve mistura de dois ou mais materiais ou diferenças na concentração de glicerol, os autores atribuíram essa variação ao tipo de gel formado, suas proporções de amilose/amilopectina e, no caso do ágar, o tipo de gel mais viscoso que o hidrocolóide forma. Assim os biofilmes elaborados com maior conteúdo de amido de milho, que teoricamente contem mais amilose, formaram filmes mais finos pela capacidade que esta molécula tem para interagir hidrofílicamente com os plastificantes utilizados.

#### 4.5 Módulo de Young

O módulo de Young é um indicador de rigidez do filme, sendo derivada da região linear da curva de tensão de tração versus deformação, conhecida como região elástica. Quanto maior o módulo mais rígido é o material. Neste trabalho o resultado foi expresso em MPa, entretanto na literatura pode ser observado em N/m<sup>2</sup> ou kgf/cm<sup>2</sup>.

As interações das variáveis independentes  $X_1$  (teor de plastificante na fração líquida) e  $X_2$  (velocidade do parafuso) linear foram significativas ( $p < 0,05$ ). O coeficiente de determinação (63 %) gerado pelos resultados foi inferior ao aceito para que o modelo seja considerado preditivo (0,85) mas os resultados obtidos podem ser considerados para determinar tendências (Figura 28). A equação do modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 7) ficou definida como:

$$\text{Módulo de Young} = 10,91 - 3,64 X_2 + 5,20 X_1 X_2 \text{ (equação 7)}$$



**Figura 28.** Efeito das variáveis quantitativas \* teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) no módulo de Young (MPa) dos bioplásticos de amido.

Analisando a Figuras 28, observa-se que, em geral, o aumento da velocidade do parafuso e diminuição do teor de plastificante na fração líquida resultou em filmes com maior módulo elástico e, portanto, menos flexíveis. Porém a redução do glicerol como plastificante e aumento da energia mecânica reduziram a capacidade potencial do filme de criar ligações hidrofílicas entre suas moléculas de amido pré-gelatinizadas reduzindo a mobilidade das cadeias e a flexibilidade dos materiais (MALI et al., 2005). É possível ressaltar que os filmes com menor conteúdo de plastificante apresentaram-se estáveis quando armazenados sob condições controladas de umidade relativa (63%). Esses filmes foram mais rígidos que os filmes plastificados com maiores teores de glicerol. O aumento na flexibilidade na presença de plastificante em filmes hidrofílicos tem sido reportado anteriormente (MALI et al., 2005; SOBRAL et al., 2005).

Outros autores testaram materiais plastificados com uréia que apresentaram-se visivelmente rígidos em baixa UR. Este comportamento foi também observado por Ma e Yu (2004) e pode ser atribuído à característica “sólida” (alto ponto de fusão) do plastificante que, em condição de pouca água, enrijece a estrutura do material. Considerando o exposto anteriormente, resultados diferentes unicamente poderiam ser observados em umidades relativas maiores (< 90 %). Este comportamento pode estar relacionado às modificações estruturais na rede de amido quando o plastificante é incorporado, pois a matriz do filme torna-se menos densa e aumenta a flexibilidade.

#### 4.6 Deformação na Ruptura

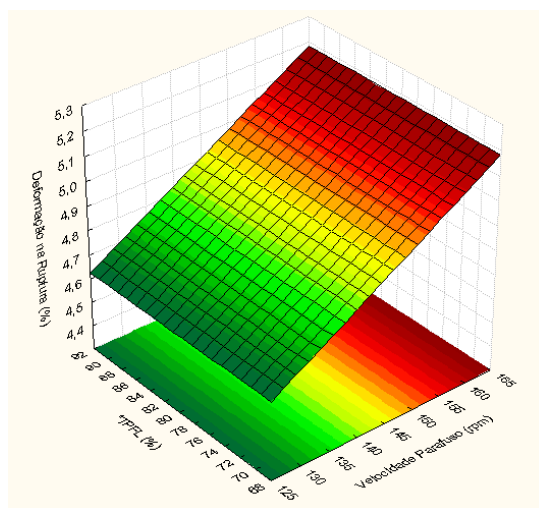
Alongamento na ruptura é a medida da maleabilidade do filme e pode ser considerada como uma característica que define a habilidade do filme em deformar antes de ocorrer sua ruptura, em outras palavras ceder sem se romper.

A regressão matemática proposta para as variáveis independentes codificadas que foram realizadas para esta análise se encontra exposta na equação 8. Podemos observar que



somente a velocidade do parafuso teve significância na deformação na ruptura ressaltando seu efeito linear positivo ( $P < 0,05$ ). O coeficiente de determinação indicou que 61% da variação da resposta foi explicada pelo modelo representado (Figura 29).

$$\text{Deformação na ruptura} = 4,90 + 0,14 X_2 \text{ (equação 8)}$$



**Figura 29.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) na deformação na ruptura (%) dos bioplásticos de amido.

O aumento da elongação com o aumento da velocidade do parafuso está de acordo com o reportado em outros trabalhos (FORSSSEL et al., 1999; LAWTON, 1996; MALI et al., 2005) e pode ser explicado pela higroscopicidade do amido e do plastificante que ganham água para alcançar o equilíbrio com o ambiente. A plastificação possibilita maior mobilidade das cadeias e menor interação molecular, resultando em aumento do espaçamento entre as cadeias poliméricas, melhorando o deslizamento e aumentando a elongação (LAWTON, 1996; MALI et al., 2005). Este efeito está relacionado com maiores valores de energia mecânica no sistema que modifica os grânulos de amido e os torna mais susceptíveis para interagir com os plastificantes ao perder sua estrutura semicristalina.

Os resultados obtidos no presente trabalho foram inferiores aos reportados em outros estudos. Stein e Greene (1997) obtiveram 300 % de elongação (UR de 76 %) para TPS de milho plastificados com 15 % de uréia. Avérous et al. (2001) reportaram elongação de 126 % para filmes de amido de trigo processados via extrusão e termomoldagem e armazenados a 50 % de UR. Entretanto, nestes trabalhos, o amido de trigo possuía diferente composição química e as umidades relativas podem ter influenciado positivamente este resultado. Outros fatores, como as condições de processo e espessura do material também podem explicar esta diferença.

Apesar dos valores terem sido considerados baixos, harmonizar a matriz de amido visando futuras aplicações se torna uma ferramenta importante, Stagner e colaboradores (2012) desenvolveram filmes de amido termoplástico e PBAT (polibutilenoadipato co-tereftalato) com 10, 20, 30, 40 e 50 % da resina sintética. Por ser uma resina de reforço, esta

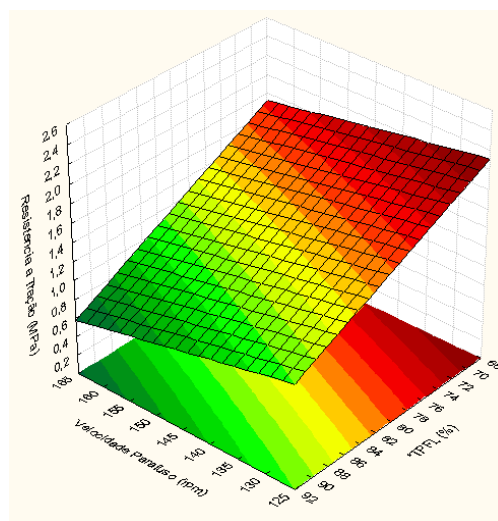


apresenta baixa maleabilidade e o aumento da incorporação reduz a capacidade de deformação do polímero em aproximadamente 16 %. Ao considerar a elevada taxa de substituição (50 %), pode-se afirmar que essa redução não representa uma alteração expressiva no polímero, tendo os autores concluído o estudo garantindo haver mistura harmoniosa entre o amido e a resina sintética. Pode-se concluir que a deformação dos filmes elaborados com FCA poderia não ter sido tão reduzida caso houvesse mistura harmoniosa entre a farinha e o amido.

#### 4.7 Resistência a tração

A resistência à tração é a resistência oferecida pelo material no ponto de ruptura. A equação 9 apresenta o modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas. Podemos observar que unicamente o teor de plastificante na fração líquida linear e sua interação com a velocidade do parafuso tiveram um efeito significativo ( $P < 0,05$ ). O coeficiente de determinação indicou que 62% da variação da resposta foi explicada pelo modelo representado na Figura 30. A diminuição do teor de glicerol na fração líquida no processo de extrusão diminuiu consideravelmente a resistência à tração na ruptura, isto está relacionado com o exposto por Janson e Thuvander (2004) e Lawton (2004). Esses autores relatam que, sob altas concentrações de umidade, ocorre um enfraquecimento da estrutura dos materiais, uma vez que, nestas condições, inicia-se a substituição das interações polímero-polímero e polímero-plastificante por interações polímero-água e plastificante-água. Mesmo assim comportamentos diferenciados foram observados com a utilização de diferentes plastificantes na produção dos filmes. Tamanho molecular, concentração, configuração e número de hidroxilas dos plastificantes também são fatores que podem afetar as interações entre estes e os polímeros resultando em diferentes respostas (Galdeano et al., 2005).

$$\text{Resistência a tração} = 1,44 - 0,28X_1 + 0,28 X_1 X_2 \text{ (equação 9)}$$



**Figura 30.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de plastificante na fração líquida (%) e velocidade de parafuso (rpm) resistência a tração (MPa), dos bioplásticos de amido.

Stagner e colaboradores (2012) afirmaram que filmes sem plastificante, e os que continham glicerol, uréia e sorbitol foram os que apresentaram maiores resistências, variando entre 38 e 49 MPa. Filmes com glicerol:sorbitol apresentaram resistência à ruptura de 38 MPa, similar à dos filmes com glicerol, uréia e sorbitol. Esses valores são maiores a os encontrados neste estudo, sendo assim é importante avaliar os efeitos diferenciados que o glicerol e água possuem agindo como plastificantes na matriz polimérica estudada e o tipo de técnica utilizada para realização do processo. Um forte indicativo para justificar esta hipótese se encontra exposto no trabalho desenvolvido por Funke et al. (1998) onde filmes por casting mostraram maiores valores de resistência à ruptura que bioplásticos extrudados. Estes autores também relataram que durante a extrusão, as cadeias do amido expostas a alta temperatura e cisalhamento podem sofrer degradação, o que justifica a diminuição da resistência.

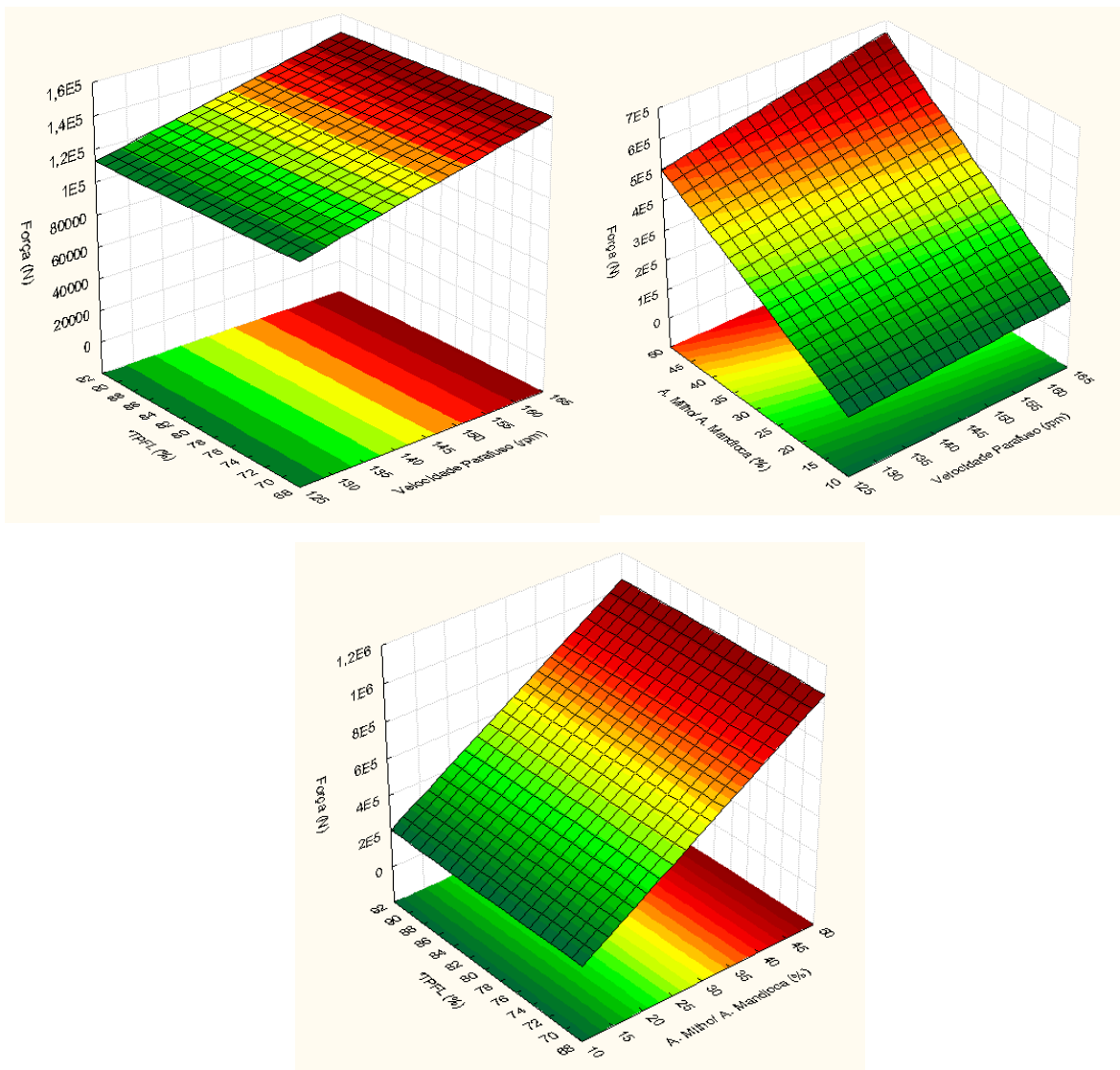
Krogars et al. (2003), também constatou que filmes de amido de milho obtidos usando a combinação de glicerol e sorbitol apresentaram melhor estabilidade quando comparado com o uso dos plastificantes isolados, e a combinação de diferentes tamanhos moleculares parece induzir mais interações entre os componentes e, portanto, manter o plastificante ligado, impedindo sua migração. Entretanto, os autores utilizaram concentrações superiores às utilizadas no presente trabalho, sendo provavelmente esta a explicação para as diferenças observadas. Mali et al. (2005) e Sothornvit e Krochta (2001) reportaram que filmes com glicerol apresentaram menor resistência que filmes com sorbitol, sendo explicado pelas diferenças moleculares entre sorbitol e glicerol.

#### 4.8 Força na perfuração

As interações das variáveis independentes  $X_1$  (teor de plastificante na fração líquida),  $X_2$  (velocidade do parafuso) e  $X_3$  (teor de amido de milho com respeito ao amido de mandioca) foram significativos ( $p < 0,05$ ). O coeficiente de determinação (60 %) gerado pelos resultados foi inferior ao aceito para que o modelo seja considerado preditivo (0,85). Entretanto os resultados obtidos podem ser considerados para determinar tendências. A equação do modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 10) foi definida como:

$$\text{Forçada na perfuração} = 12,22 - 4,74X_1 + 0,47X_2 - 2,80X_3 - 0,55X_1^2 - 0,71X_2^2 - 2,8X_3^2 + 2,54X_1X_2 + 2,83X_1X_3 - 0,81X_2X_3 \text{ (equação 10)}$$

Como observado na Figura 31, o aumento do trabalho mecânico em função da velocidade do parafuso no teor afetou consideravelmente a estrutura da matriz amilácea, o que aumentou a mobilidade das cadeias poliméricas, resultando no aumento das interações intermoleculares ocasionando um aumento na força de perfuração dos filmes. Esta sinergia foi claramente observada com o aumento do teor de amido de milho na formulação que experimentalmente está associada a maior energia mecânica no sistema.



**Figura 31.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de plastificante na fração líquida (%), percentual de amido de milho (%) e velocidade de parafuso (rpm) na Força (N), dos bioplásticos de amido.

Outros pesquisadores como Alves e colaboradores (2007) observaram que ao incorporarem amilose (15%) e glicerol (20 e 45%) em filmes de amido de mandioca por *casting* o mesmo comportamento do presente estudo com o aumento do amido de milho. A força na ruptura foi restringida de 19,6 para 7,9 N com o aumento de 20 para 45% de glicerol.

Assim, pode-se afirmar que a capacidade de reforço dos materiais desenvolvidos pode ser atribuída à possível formação de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila [OH] dos plastificantes e das hidroxilas da rede de amido tornando a matriz mais forte quando se aumenta a velocidade do parafuso no processo.

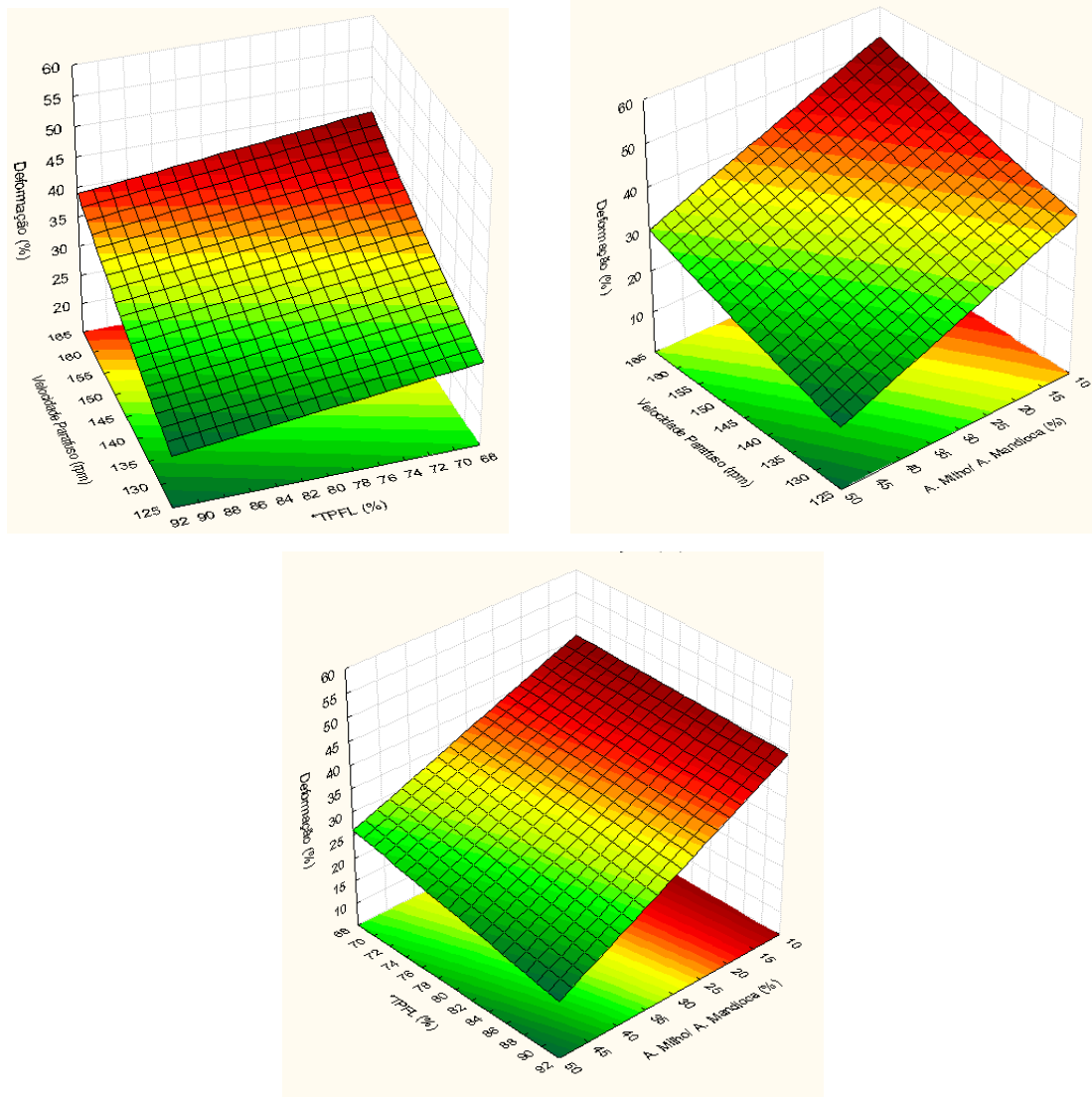
## 4.9 Deformação

A deformação na perfuração é um parâmetro de qualidade para materiais utilizados no acondicionamento de produtos com pontas ou outros tipos de protuberâncias que possam danificar a embalagem (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A representação gráfica tridimensional dos modelos preditivos dos efeitos significativos ( $P < 0,05$ ), de coeficiente de regressão superior a 75%, estão dispostas na Figura 32. A equação do modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 11) fica definida como:

$$\text{Deformação} = 37,38 - 6,07X_1 + 3,78 X_2 - 4,73 X_3 - 1,51 X_1^2 - 3,99 X_3^2 + 3,6 X_1 X_2 + 1,07 X_2 X_3$$

(equação 11)

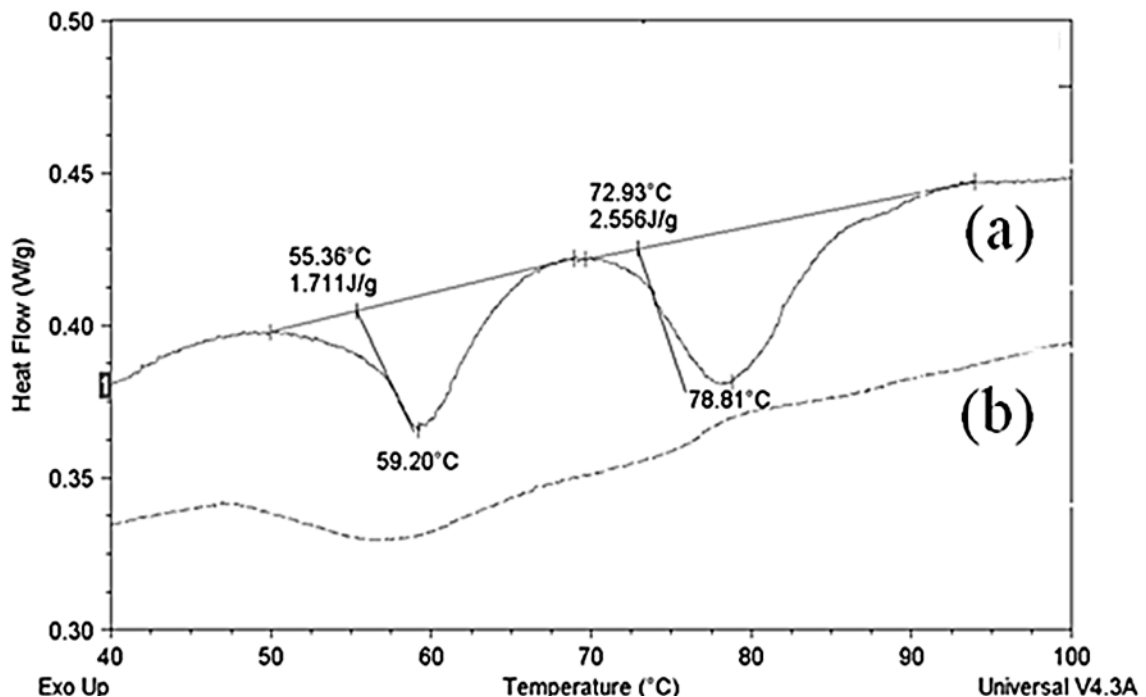


**Figura 32.** Efeito das variáveis quantitativas \*teor de glicerol na fração líquida (%), percentual de amido de milho (%) e velocidade de parafuso (rpm) na deformação (%), dos bioplásticos de amido.

Da mesma maneira que na análise de força na perfuração, a velocidade do parafuso teve um efeito sinérgico significativo ( $P < 0,05$ ) como descrito na equação preditiva proposta para esta análise. Os bioplásticos de amido de milho e mandioca com glicerol desenvolvidos neste estudo foram mais resistentes que filmes de amido de mandioca sem plastificante (11,6 N) (VICENTINI, 2003) e filmes de amido de amaranto plastificados com glicerol (2,3 N) (TAPIA-BLACIDO et al., 2005), armazenados a 57 % de UR. Comparando estes resultados, nota-se que o material estudado é mais resistente à perfuração que os filmes desenvolvidos na literatura. Entretanto, esta diferença pode estar relacionada às espessuras dos materiais e não somente ao tipo de processo utilizado. Nos testes de tração, o valor de espessura é considerado para o cálculo do resultado final, entretanto, para perfuração, este procedimento não é realizado, sendo provavelmente o motivo pelo qual estes bioplásticos apresentam maior resistência à ruptura.

#### 4.10 Temperatura de gelatinização

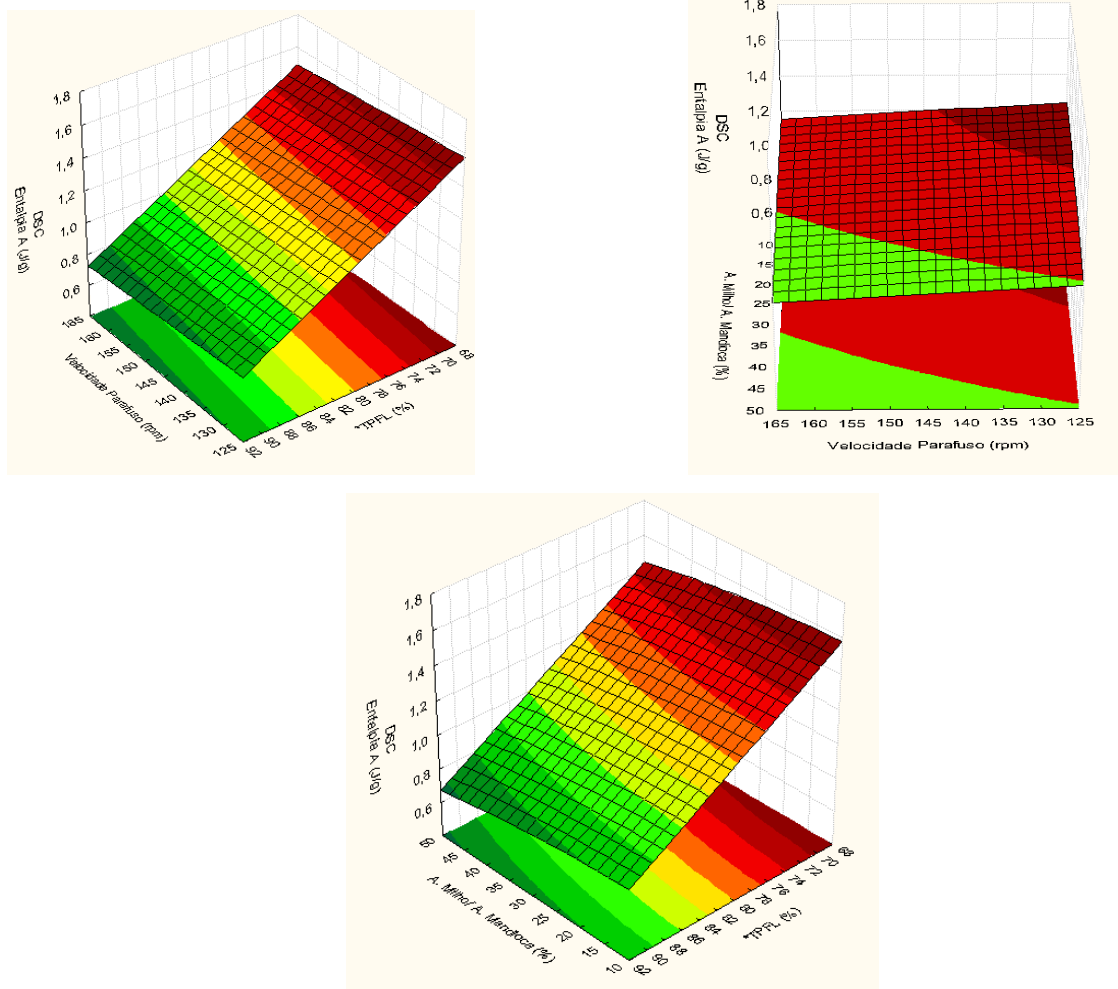
A energia requerida para a quebra da ordem molecular difere entre os grânulos de amido de uma mesma fonte botânica, assim, a calorimetria exploratória diferencial oferece um mecanismo de quantificação do grau de gelatinização que a matéria-prima principal (amido) foi submetida após o processo de extrusão e termoprensagem. Para determinar a temperatura de gelatinização ( $T_{gel}$ ), os termogramas foram integrados conforme a Figura 33. Os termogramas dos bioplásticos de amido desenvolvidos (Figura 32) demonstraram dois picos endotérmicos, bem definidos para ambas as amostras (A = bioplástico extrudado e termopresado e b = pellet de bioplástico extrudado) situado em 55 e 72 ° C, respectivamente. Essas curvas correspondem a temperaturas de gelatinização ( $T_{gel}$ ) e “Aging” ou envelhecimento a partir da mistura de amido.



**Figura 33.** Comparação dos bioplásticos de amidos extrudados e termoprensados (a) VS extrudados (b).

Os valores da entalpia de temperatura de gelatinização variou 0,66-1,71 J / g. A análise de regressão mostrou que Tgel foi afetada pelo teor de glicerol ( $P \leq 0,01$ ) e teores de amido de milho ( $p \leq 0,01$ ). O modelo de previsão utilizado para Tgel explicou 83% da variação total. A Figura34 ilustra o efeito destas variáveis na integridade do grânulo de amido, onde os valores máximos de Tgel foram alcançados nos menores valores de teor de glicerol na mistura. Os resultados das experiências em triplicado foram ponderados e utilizados para calcular o intervalo de confiança de 95%. A equação do modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 12) fica definida como:

$$T_{gel} = 1,17 - 0,207X_1 + 0,19X_2^2 - 0,19X_3^2 \text{ (equação 12)}$$



**Figura 34.** Efeito das variáveis quantitativas \*Teor de Plastificante na fração líquida (%), Percentual de amido de milho (%) e Velocidade de parafuso (rpm) na Entalpia A (J/g), dos bioplásticos de amido.

Os resultados mostram um aumento linear da temperatura requerida para a gelatinização do amido e esta temperatura diminuiu com o aumento do teor de glicerol. Aumentando o teor de água, por outro lado, resulta num decréscimo na temperatura de

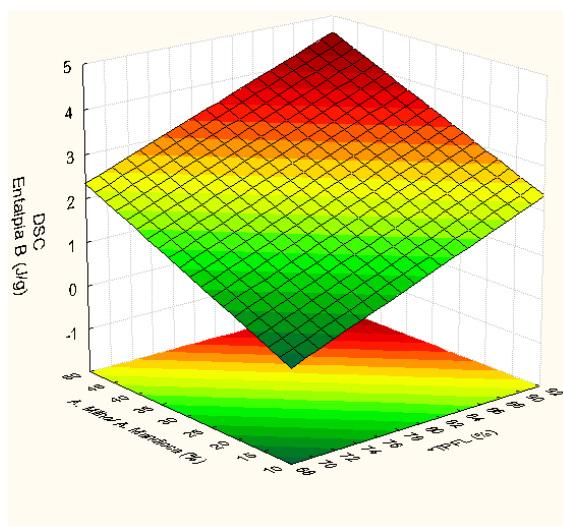
gelatinização, como esperado. Assim, parece que o glicerol tem um efeito oposto na gelatinização de água, e se comporta como um anti-plastificante deslocando o processo de gelatinização a temperaturas mais elevadas (Ramos et al., 2013;. Nashed e SoPaDe, 2003).

#### 4.11 Aging (DSC)

Os valores da entalpia do pico endotérmico chamado "Aging" ou envelhecimento variou 0,95-2,4 J / g. A análise de regressão mostrou que o "envelhecimento" foi afetado pelo teor de plastificante e a o aumento do teor de amido na mistura ( $p \leq 0,001$ ). O modelo de regressão preditivo utilizado explicou 79,5% da variação total. A Figura 35apresenta o efeito do aumento de amido de milho e conteúdo de glicerol, em que os valores máximos de "Aging" também foram aumentados.

A equação do modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 13) fica definida como:

$$\text{Aging} = 2,15 + 0,57X_1 + 0,57X_3 \text{ (equação 13)}$$



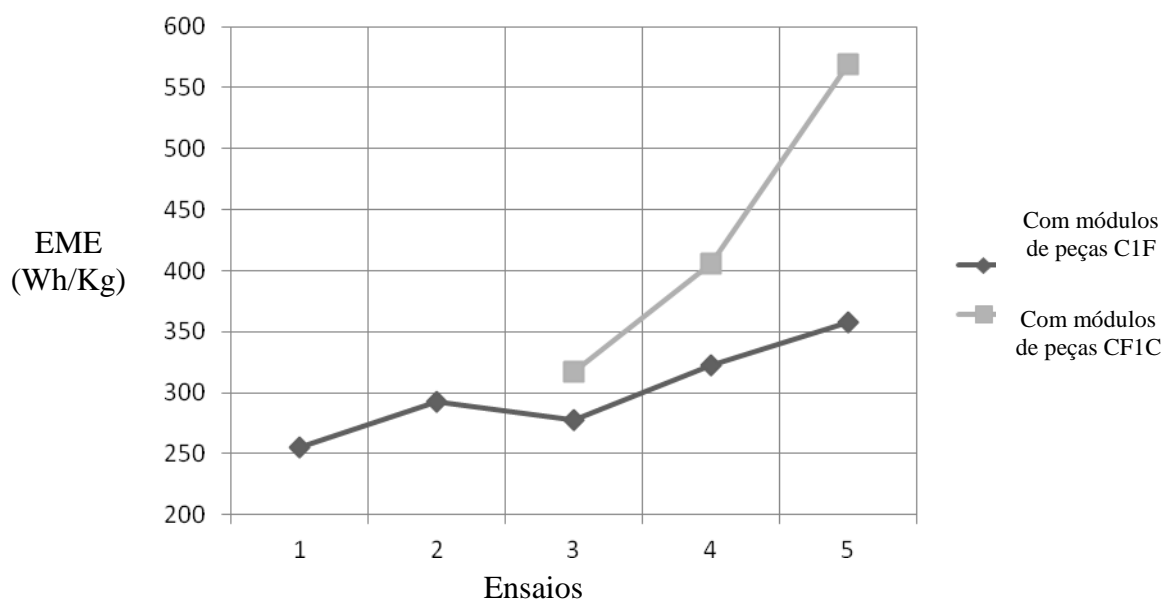
**Figura 35.** Efeito das variáveis quantitativas \*Teor de Plastificante na fração líquida (%) e percentual de amido de milho (%) na Entalpia B (J/g), dos bioplásticos amido.

Alguns trabalhos demonstram que no envelhecimento de bioplásticos ocorre a formação de uma rede estruturada, ou seja, o gel atinge um valor máximo, resultando na maior resistência mecânica (Chang et al., 2006;. Andres, et al., 2002, Martin et al, 2001). Além disso, Medeiros et al., (2011) propuseram que os biopolímeros de amido desempenham um papel crítico na Tg dos bioplásticos, e que durante o envelhecimento ou endurecimento da película, a formação da rede na parte amorfa (retrogradação do amido) resultou no aumento da Tg. Uma das razões que favorece este tipo de picos no presente estudo pode ser justificado com a literatura descrita com anterioridade, pois este período de envelhecimento favorece este fenômeno.

Outro efeito importante a ser avaliado para filmes à base de amido, foram observados na presença destes dois eventos térmicos, relacionados com a eliminação de água e com compostos de baixo peso molecular presentes na amostra por meio de evaporação / desidratação. Uma fração da água está contida nas moléculas de amido, devido a sua hidrofiliçidade, causando ligações de hidrogênio com grupos hidroxílicos das unidades de glicose (Wilhelm et al., 2003;. Cyras et al., 2006). Uma segunda fração esta associada a maior fase de decomposição ou envelhecimento da matriz, o que corresponde à eliminação dos grupos hidroxilo, decomposição e despolimerização das cadeias de carbono (Wilhelm et al., 2003).

#### 4.12 Efeito da configuração do parafuso na EME

Após observar os dados experimentais podemos identificar que para alcançar a EME mais próxima ao estudo realizado anteriormente, utilizando os segmentos CF1Cse deve de trabalhar no novo sistema com 135 rpm de velocidade de parafusos para garantir o mesmo trabalho mecânico. Isso pode ser observado na Figura 36.

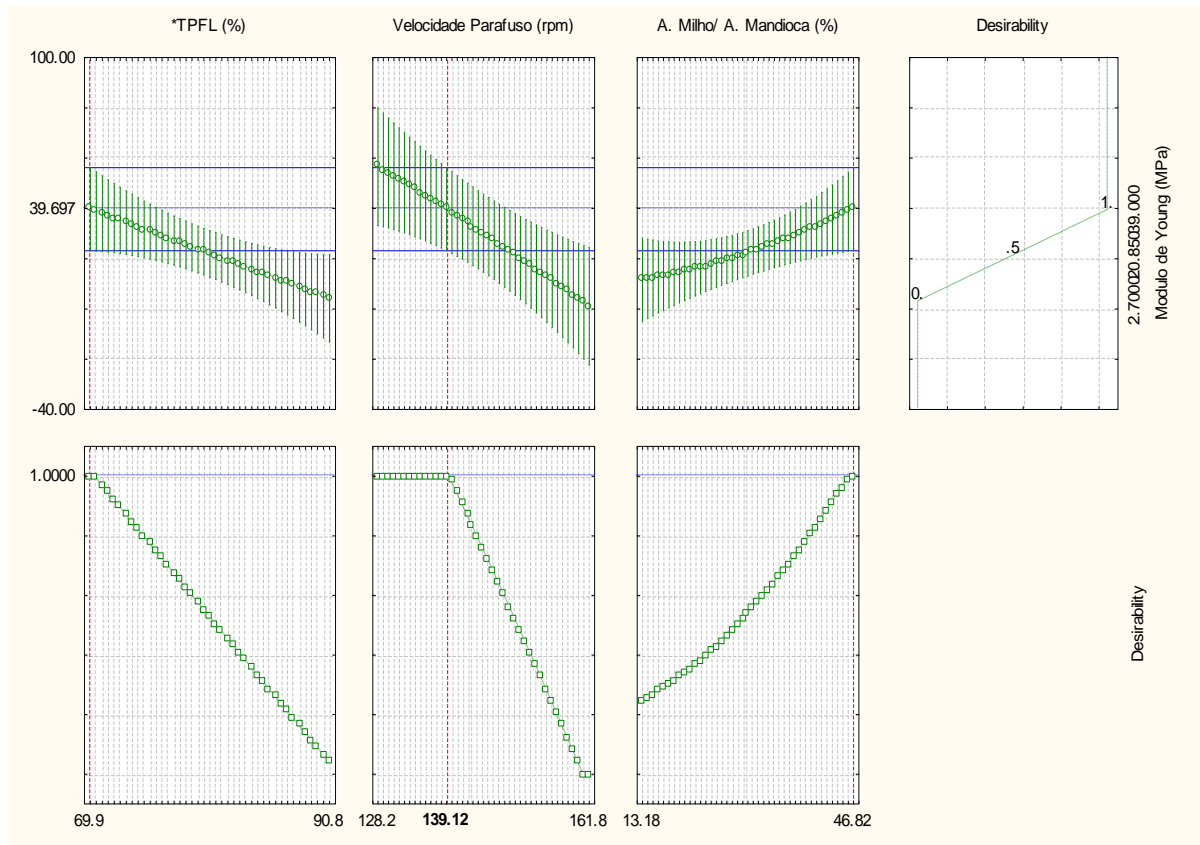


**Figura 36.** Efeito da configuração do parafuso na EME.

#### 4.13 Otimização do processo de extrusão

Após ter analisado as diferentes propriedades tecnológicas das matérias primas e dos bioplásticos processados, diferentes modelos matemáticos surgiram, cada um deles com a finalidade de explicar combinações que garantam resultados diferenciados nas condições em que o estudo foi conduzido. Para determinar qual a condição de processamento mais adequada para adição de micro e nanocargas, foi realizada uma função de utilidade (Figura 37). Nela pode-se observar que processando o material com 70 % de glicerol na fração líquida, 139 rpm na velocidade dos parafusos e 46,82 % de percentual de amido de milho com respeito ao amido de mandioca obtemos uma matriz adequada para utilizar com adição de nanocargas.





**Figura 37.** Função utilidade para processamento de bioplásticos de amido de milho e mandioca extrudados e termoprensados otimizados.

## 5 CONCLUSÕES

O processo de extrusão termoplástica e termopressagem, dentre das condições operacionais estabelecidas neste trabalho, é considerado viável para a produção de bioplásticos de amido de milho e de mandioca com glicerol. Apresenta-se como um material interessante na formulação de filmes laminados com bom aspecto. Após o estudo detalhado das variáveis independentes: teor de plastificante na fração líquida, velocidade de parafuso e aumento do teor de amido com respeito ao amido de mandioca é possível concluir que processando o material com 70 % de glicerol na fração líquida, 139 rpm na velocidade dos parafusos e 46,82 % de percentual de amido de milho com respeito ao amido de mandioca obtemos uma matriz mais adequada para sua utilização como uma matriz para adição de cargas e produção de biocompósitos com argila e fibras.

Onze modelos matemáticos, obtidos através dos coeficientes de regressão e análise estatística foram expostos com o intuito de pré-visualizar ou indicar a tendência da interação entre as variáveis independentes estudadas (de glicerol na fração líquida, velocidade dos parafusos e % de percentual de amido de milho com respeito ao amido de mandioca) para as respostas energia mecânica específica (EME), ângulo de contato ( $\theta$ ), opacidade (%), espessura (mm), módulo de Young (MPa), deformação na ruptura (%), resistência a tração (MPa), força (N) e deformação (%) e grau de conversão do amido por calorimetria diferencial exploratória (DSC) denominadas Tgel (Entalpia A) (J/g) e “Aging” (Entalpia B) (J/g) dos bioplásticos de amido extrudados e termoprensados. Para a EME o aumento da velocidade do parafuso, atingiu valores máximos nas velocidades acima de 155 rpm. Bioplásticos com teor de amido acima de 40% de amido melhoram a hidrofiliabilidade da matriz de amido aumentando o ângulo de contato ( $\theta$ ); nessa mesma concentração de amido e com velocidades de parafuso entorno de 145 rpm foram obtidos os filmes mais finos.

Referente às propriedades mecânicas, o processo de extrusão resultou na formação de estruturas mais abertas ou fragmentadas em função da energia mecânica exercida pela velocidade do parafuso que pode ser aumentada ou diminuída com determinações específicas do seu perfil, o que é confirmado pela maior capacidade de sorção de plastificantes pela matriz de amido. Embora, em alguns casos, os valores absolutos das diferentes propriedades mecânicas dos bioplásticos fossem diferentes, a tendência de resposta foi similar a encontrada na literatura neste tipo de materiais, o que possibilita fazer previsões. Para aprimorar estas características que continuam sendo um dos grandes objetivos dos diferentes grupos de pesquisa é necessário não só estudar o amido como única matéria-prima, se não também buscar sua associação com cargas de diferentes fontes visando estruturas mais firmes e consistentes para poder ser comparadas com matérias sintéticas e poder substituí-las. Sendo assim a partir da avaliação efetuada a matriz determinada com as condições de processo estudadas pretende maximizar as propriedades tecnológicas dos bioplásticos a serem desenvolvidos no próximo capítulo com a adição de micro e nanocargas.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-HASSAN, A.A.; NORZIAH, M.H. Starch gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n.1, p. 108–117, 2012.
- ALVES, V.D.; MALI, S.; BELEIA, A.; GROSSMANN, M.V.E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 8, p. 941–946, 2007.
- ANDRÉS, S. C., GIANNUZZI, L., e ZARITZKY, N. E. (2002). Quality Parameters of Packaged Refrigerated Apple Cubes in Orange Juice. **LWT - Food Science and Technology**, 35(8), 670–679. doi:10.1006/fstl.2002.0817
- AVEROUS L, MORO L, DOLE P e FRINGANT C (2000) Properties of thermoplastic blends: starch–polycaprolactone. **Polymer**, 41(40), 4157–4167.
- BOX, G. E. P.; WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by approximate response function. University of Wisconsin. **Technical Report**, n. 9, 1973.
- CARVALHO, C.W.P.; MITCHELL, J.R. Effect of sucrose on starch conversion and glass transition of nonexpanded maize and wheat extrudates. **Cereal Chemistry**, v. 78, n. 3, p. 342–348, 2001.
- CHANDRA R, RUSTGI R (1998) Biodegradable polymers. **Progr Polym Sci**. 23: 1273-1335.
- CHANG, Y. P., ABD KARIM, A., e SEOW, C. C. (2006). Interactive plasticizing–antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, 20(1), 1–8. doi:10.1016/j.foodhyd.2005.02.004
- CHO, S.Y.; RHEE, C. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. **Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology**, v. 37, n. 8, p. 833-839, 2004.
- CYRAS, V. P., ZENKLUSEN, M. C. T., VÁZQUEZ, A. (2006). Relationship between structure and properties of modified potato starch biodegradable films. **Journal of Applied Polymer Science**, 101, 4313-4319.
- DOMENECH, T.; PEUVREL-DISDIER E.; VERGNES B. The importance of specific mechanical energy during twin screw extrusion of organoclay based polypropylene nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Volume 75, 11 February 2013, Pages 7-14.
- FAKHOURY, F.M.; MARTELLI, S.M. BERTAN, L.C. YAMASHITA, F.; MEI, L.H.I.; QUEIROZ, F.P.C. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin e Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. **Food**

**Science and Technology**., v. 49, n. 1, p. 149 – 154, 2012.

FORSSELL, P.M.; HULLEMAN, S.H.D.; MYLLARINEN, P.J.; MOATES, G.K.; PARKER, R. Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches. **Carbohydrate Polymers**, v.39, p.43-51, 1999.

FUNKE, U.; BERGTHALLER, W.; LINDHAURE, M.G. Processing and characterization of biodegradable products based on starch. **Polymer Degradation and Stability**, v.59, p. 293-296, 1998.

HIETALA, M.; MATHEW, A. P.; OKSMAN, K.; Bionanocomposites of thermoplastic starch and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. **European Polymer Journal**, Volume 49, Issue 4, April 2013, Pages 950-956.

IONASHIRO, E. Y.; BANNACH, G.; SIQUEIRA, A. B.; CARVALHO, C. T.; RODRIGUES, E. C.; IONASHIRO, M. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. vol. 92 issue 3 June 2008. p. 953 – 959.

JANSSON, A.; THUVANDER, F. Influence of thickness on the mechanical properties for starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.499-503, 2004.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. **Food Hydrocolloids**., v. 26, n. 2, p. 302–310, 2012.

KROGARS, K.; HEINAMAKI, J.; KARJALAINEN, J.; RANTANEN, J.; LUUKKONEN, P.; YLIRUUSI, J. Development and characterization of aqueous amylose-rich maize starch dispersion for film formation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.56, p.215-221, 2003b.

LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. **Starch/Stärke**. v. 56, p. 348–356, 2004.

LAWTON, J.W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. **Carbohydrate Polymers**, v.29, p.203-208, 1996.

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

MA, X.; YU, J. The plasticizers containing amide groups for thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, v.57, p.197-203, 2004b.

MAGALHÃES NF e ANDRADE CT (2009) Thermoplastic corn starch/clay hybrids: Effect of clay type and content on physical properties. **Carbohydrate Polymers**, 75(6), 712–718.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.157-164, 2005.

MARTIN, O., SCHWACH, E., AVÉROUS, L., e COUTURIER, Y. (2001). Properties of

Biodegradable Multilayer Films Based on Plasticized Wheat Starch Research Paper, 372–380.

McHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J.M. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. **Journal of Food Science**, v. 58, 899–903, 1993.

NASHED, G., e SOPADE, P. A. (2003). The Plasticisation Effect of Glycerol and Water on the Gelatinisation of Wheat Starch Research Paper, 55, 131–137.

ONWULATA, C. I.; SMITH, P. W.; KONSTANCE, R. P.; HOLSINGER, V.H. Incorporation of whey products in extruded corn, potato or rice snacks. **Food research International**, v.34, p.679, 2001.

PADUA, G.W., WANG, Y., Tensile properties of extruded zein sheets and extrusion blown films. **Macromol. Mater. Eng.**, 288, 886–893, 2003.

PELISSARI, f.m.; YAMASHITA, f.; GROSSMANN, m.v.e. Extrusion parameters related to starch /chitosan active films properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 7, p. 702–710, 2011.

PHAN, THE. D.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A.; LUU, D. Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 548–558, 2009.

PUSHPADASS, H. A.; MARX, D. B.; MILFOR, H. A. Effects of Extrusion Temperature and Plasticizers on the Physical and Functional Properties of Starch Films **Starch/Stärke** v. 60 p. 527–538, 2008.

RAMOS, Ó. L., REINAS, I., SILVA, S. I., FERNANDES, J. C., CERQUEIRA, M. A., PEREIRA, R. N., VICENTE, A. A., ET AL. (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids**, 30(1), 110–122. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.001

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

SEBIO, L. Efeito de alguns Parâmetros Operacionais de Extrusão nas Propriedades Físico-químicas da farinha de inhame (*Dioscorea rotundata*). **Dissertação** (Mestrado) Campinas, SP. 1996. 106p.– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas., 1996.

SOBRAL, P.J.A.; SANTOS, J.S.; GARCIA, F.T. Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia. **Journal of Food Engineering**, v.70, p.93–100, 2005.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J.M. Plasticizer effect on mechanical properties of  $\beta$ -lactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, v.50, p.149–155, 2001.

STAGNER, J.A.; ALVES, V.D.; NARAYAN, R. Application and Performance of Maleated Thermoplastic Starch-Poly (butylenes adipate – co- terephthalate) Blends for Films. **Journal of**

**applied Polymer Science**, v. 126, p. 1135-1142, 2012.

TAPIA-BLÁCIDO, D.; MAURI, A.N.; MENEGALLI, F.C.; SOBRAL, P.J.A.; AÑÓN, M.C. Contribution of the Starch, Protein, and Lipid Fractions to the Physical, Thermal, and Structural Properties of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) Flour Films. **Journal of Food Science.**, v. 72, n. 5, P. 1288—1293, 2007.

VICENTINI, N. M. (2003). *Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita*. D. Sc. **Tese**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista.

WILHELM, H. M., SIERAKOWSKI, M. R., SOUZA, G. P., WYPYCH, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. **Carbohydrate Polymers**, 52, 101-110.

## **CAPÍTULO III**

# ADIÇÃO DE ARGILOMINERAIS E NANOLINTER DE ALGODÃO EM BIOPLÁSTICOS DE AMIDO DE MILHO E MANDIOCA EXTRUDADOS E TERMOPRENSADOS

## RESUMO

O objetivo deste capítulo foi elaborar bioplásticos de amidos termoplásticos obtidos a partir de misturas de amido de mandioca e milho adicionados de cargas de argila (vermiculita, bentonita, Novaclay, Cloisite 15A, zeolita modificada, zeolita cubana) e nanofibras (3 e 5 %) pelas técnicas de extrusão termoplástica e termoprensagem. Os filmes resultantes da otimização, do Capítulo II, foram avaliados quanto à suas propriedades físicas e foram determinadas suas propriedades tecnológicas tais como permeabilidade ao vapor de água, ângulo de contato, propriedades mecânicas, cor e microestrutura. Com respeito às propriedades tecnológicas de solubilidade em água e molhabilidade (ângulo de contato) a vermiculita apresentou a menor hidrofobicidade ( $\approx 55\%$  e  $\approx 75^\circ$  respectivamente), tendo potencial como reforço, evidenciado-se que houve dificuldade na incorporação mais homogênea no material que possa garantir um melhor intercalado ou esfoliação. Em termos de permeabilidade ao vapor da água os materiais adicionados reduziram em  $\approx 50\%$  quando comparados com o controle sem adição de cargas ( $0,27 \text{ g.mm/m}^2.\text{h.kPa}$ ). Para o módulo de Young foi possível observar que o aumento na concentração de cargas produz materiais mais rígidos e com tensão na ruptura menor (de até 47%). A bentonita e as zeolitas apresentaram após análise de difração de raios-x e análise de microestrutura uma distribuição parcial deste material na totalidade da matriz dos biocompósitos, porém outros estudos precisam ser feitos para afrmimar este fenômeno. Pode-se concluir que a obtenção de biocompósitos flexível na forma de filme por extrusão termoplástica e termoprensagem, foi considerada viável para a produção de bioplásticos com potencial para a utilização de embalagens flexíveis biodegradáveis, porém com as modificações pertinentes para sua implementação na escala industrial.

**Palavras-chave:** Argilas, Nano linter de algodão, Biocompósitos, Microcompósitos, Nanocompósitos.



## ABSTRACT

The purpose of this chapter was to develop bioplastics from thermoplastic starches obtained from mixtures of tapioca starch and corn starch added charges of clay (vermiculite, bentonite, Novaclay, Cloisite 15A, modified zeolite, Cuban zeolite) and nanofibers (3 e 05%) by extrusion cooking techniques and thermopressing. The films resulting from the optimization of Chapter II, were evaluated for their physical properties were determined and their technological properties such as permeability to water vapor, contact angle, mechanical properties, microstructure and color. With respect to the technological properties of water solubility and wettability (contact angle) vermiculite showed the lowest hydrophilicity ( $\approx 55\%$  and  $\approx 75^\circ$  respectively), having potential as reinforcement, evidenced that there was difficulty in incorporating more homogeneous the material that can guarantee a better interleaved or exfoliation. In terms of water vapor permeability of the materials added to  $\approx 50\%$  reduced compared to the control without addition of fillers (0.27 g.mm / m. H.kPa). For the Young's modulus was observed that the increase in the concentration of loads and produces more rigid materials with low tensile stress (up to 47%). The bentonite and zeolites presented after analyzing x-ray diffraction analysis and microstructure distribution part of this material on the entire array of biocomposites, but other studies need to be done to afrimar this phenomenon. It can be concluded that the obtaining of biocomposites in the form of flexible thermoplastic extrusion film by thermopressing been considered feasible for the production of bioplastics with potential for use of flexible packages biodegradable, but with appropriate amendments to its implementation in industrial scale.

**Keywords:** Clays, Nano cotton linter, Biocomposites, Microcompósitos, Nanocomposites.

# 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é anunciada como base de uma revolução tecnológica e industrial. É uma tecnologia que manipula a matéria em escala atômica, molecular e macromolecular, o que permite o aparecimento de novas propriedades, diferentes daquelas conhecidas na matéria no tamanho em que normalmente aparece na natureza. Desta forma permite a produção de novos materiais e a utilização de arranjos de materiais convencionais e em nanoescala para outorgar novas propriedades a produtos conhecidos, abrindo novas oportunidades em vários setores industriais. Peressini et al., (2003) qualificam a nanotecnologia como uma tecnologia desestruturante, pois na medida em que se consolida como tecnologia dominante, tornará obsoletas outras tecnologias e produtos hoje existentes. A nanotecnologia também é caracterizada como tecnologia facilitadora, pois pode ser incorporada aos mais variados setores produtivos. Essas duas características permitem prever que o seu desenvolvimento e difusão acarretam mudanças em praticamente todos os setores industriais.

Técnicas para melhorar as propriedades dos bioplásticos com matriz amilácea estão sendo extensivamente estudadas e tem se tornado o desafio mais importante dos últimos anos nesta linha de pesquisa. Independente do processo de produção dos biomateriais, a utilização de nanomateriais tem sido a técnica mais moderna apontada como solução a estas problemáticas.

Micro e nanocompósitos constituem uma classe de materiais formados por híbridos de materiais orgânicos e inorgânicos, onde a fase inorgânica está dispersa em nível micro ou nanométrico em uma matriz polimérica. Esta classe de materiais começou a ser estudada na década de 80 pelo Laboratório de Pesquisa da Toyota com o desenvolvimento de nanocompósitos de poliamida e argila. Nessa escala, a carga inorgânica melhorava as propriedades físicas e mecânicas do polímero, mesmo quando suas quantidades eram pequenas. As cargas nanométricas frequentemente usadas são argila, nanofibras, alumina, nanotubos, ouro, prata e grafite (GOPAKUMAR, 2010).

Neste capítulo do trabalho foram desenvolvidos micro e nanocompósitos de amido de milho e amido de mandioca, glicerol e nanomaterias na forma de fibra e argila utilizando como matriz principal as condições de processamento e matérias-primas já apresentadas no capítulo 3. Para avaliar o efeito da concentração de fibras e de argilas nas propriedades tecnológicas, mecânicas e de barreira de nanocompósitos foi preciso adotar dois delineamentos prévios utilizando à metodologia de superfície de resposta. O padrão alcançado serve de controle para comparar o efeito da adição de nanocargas.

## 1.1 Objetivo geral

Verificar o potencial tecnológico de biocompósitos de amido de milho e amido de mandioca com diferentes cargas extrudados e termoprensados para uso na indústria de plásticos e embalagens.

## 1.2 Objetivos específicos

- Determinar e avaliar os parâmetros tecnológicos, energia mecânica específica (EME), ângulo de contato ( $^{\circ}$ ), opacidade (%), espessura (mm), módulo de Young

(MPa), deformação na ruptura (%), resistência a tração (MPa), força (N) e deformação (%), permeabilidade ao vapor da água, viscosidade de pasta, propriedades reológicas, microestrutura e TGA de bioplásticos adicionados de argilas e fibras;

- Obter pelo menos um biocompósito (bioplástico) com potencial de implementação na indústria de embalagens para alimentos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Nanotecnologia

Em 1959, o cientista Richard Feynman anunciou em um encontro da Sociedade Americana de Física que o homem seria capaz de manipular átomos e moléculas fazendo deles o que bem entendesse. Hoje em dia Feynman é considerado “o pai da nanotecnologia”. Nanotecnologia é o conjunto de técnicas usadas para manipulação da matéria na escala dos átomos e moléculas. Por “nano” (do grego: “anão”) entendemos uma escala de medida. Um nanômetro equivale a um bilionésimo do metro ou a milionésima parte do milímetro (INVERNIZZI e FOLADORI, 2006a). O domínio da nanotecnologia encontra-se compreendido entre 0,1 e 100 nm. Por exemplo, a espessura de um fio de cabelo é de aproximadamente 80 mil nanômetros e um vírus tem de 20 a 300 nanômetros.

Segundo Medeiros e Mattoso (2006), “nanotecnologia é de maneira muito geral a habilidade de manipular em escala molecular, átomo por átomo, para criar estruturas maiores fundamentalmente com nova organização molecular e, normalmente, para fins comerciais. A nanotecnologia engloba a pesquisa com estruturas que tenham pelo menos uma dimensão menor que 100 nm, seja projetada utilizando processos que possibilitem o controle sobre os seus atributos químicos e físicos e possam ser combinadas para formar estruturas maiores.”

As nanociências estudam as propriedades dos átomos e moléculas, enquanto as nanotecnologias desenham, criam, sintetizam materiais através do controle da matéria em nanoescala (MEDEIROS e MATTOSO, 2006). Nessa escala os materiais manifestam propriedades diferentes das que exibem numa escala maior; por exemplo, propriedades reativas, magnéticas, ópticas, elétricas e tóxicas diferentes dos materiais em macroescala. Um material como o carbono em nanoescala pode ser mais resistente que um diamante, pesar muitas vezes menos que o aço e ter uma condutividade elétrica com mínimas perdas pela transmissão-distância. Os cientistas, ao redor do mundo estudam essas novas propriedades, buscando explorá-las em novos materiais e produtos (MEDEIROS e MATTOSO, 2006).

Os processos nanotecnológicos podem ser aplicados praticamente em qualquer produto manufaturado, em toda a gama de setores industriais. Pesquisadores estão empregando a nanotecnologia para conseguirem computadores mais rápidos, materiais mais resistentes, mais leves, com maior durabilidade, e produtos “inteligentes”, tais como drogas direcionadas para células específicas, sensores que possibilitam monitoração de processos industriais, agrícolas, entre outros (MEDEIROS e MATTOSO, 2006).

Em outra ordem de implicações, encontram-se os potenciais impactos para a saúde e o ambiente, que se assemelham à polêmica sobre os transgênicos, exigindo uma atitude preventiva. Atualmente ainda não existe regulamentação nacional ou internacional para avaliar a toxicidade das nanopartículas, embora já existam pesquisas alertando sobre a questão. Também há preocupação com a contaminação do ambiente, pois nanopartículas podem ser absorvidas pelo solo e depois entrar na cadeia alimentar (INVERNIZZI e FOLADORI, 2006b). As regulamentações e critérios de qualidade e segurança dos produtos serão no futuro outro fator a afetar os mercados.

Os países desenvolvidos destacam-se nas pesquisas e produção de produtos nanotecnológicos. Na América Latina o Brasil é o primeiro país a ter um Programa Nacional de Nanotecnologia (PNN). O PNN começou a ser articulado no início da presente década por iniciativa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e

lançado em 2005. Desde então, vem sendo desenvolvidas iniciativas de pesquisa, organização de redes de pesquisa e criação de infra-estrutura.

Dessa forma, segundo Medeiros e Mattoso (2006), o Brasil tem procurado não ficar de fora da corrida por esta tecnologia. O governo desde 2001 vem realizando esforços nesta área com a criação de uma Rede Brasileira em Nanotecnologia que conta com a participação de mais de uma centena de instituições de pesquisa e ensino em todo o País.

Dada a relevância outorgada a esta área na agenda de pesquisa brasileira, assim como o caráter revolucionário dessas tecnologias, capazes de desencadear alterações importantes nas condições produtivas, a investigação das implicações para o trabalho e a qualificação da força de trabalho constitui um aspecto relevante e necessário de ser estudado pelo país.

## **2.2 Nanotecnologia no setor alimentício**

A nanotecnologia pode ser utilizada em diversas fases do ciclo de produção das matérias primas, na chamada agricultura inteligente, nos alimentos propriamente ditos (nanoalimentos) e nas embalagens que os contêm (nanoembalagens) e outras coberturas finas (filmes) para manter frescos os alimentos, além de nanoaditivos nutricionais. O foco deste capítulo está em nanoembalagens ou microembalagens denominados biocompósitos.

Alguns autores denominam nanoalimento a todo alimento, produzido, processado ou embalado mediante o emprego de técnicas ou ferramentas nanotecnológicas ou ao qual se tenham agregado nanomateriais manufaturados, ou seja, alimentos que incorporem nanotecnologias em qualquer uma ou todas as fases de produção. Miller e Senjen (2008) estimam que estejam disponíveis para o consumo humano cerca de 400 a 500 nanoembalagens para alimentos. Nas embalagens, o emprego da nanotecnologia tem por objetivo aumentar o tempo de conservação dos alimentos, impedindo a troca gasosa e de umidade, além de evitar a exposição aos raios ultravioletas. Pode-se projetar nanomateriais de embalagens com capacidade biodegradável, antimicrobiana, antioxidante e enzimática com presença de compostos bioativos que prolonguem a conservação do alimento. Há, ainda, aplicação de nanosensores e nanossistemas às embalagens. Por exemplo, para monitorar a temperatura ou a umidade em longo prazo e gerar informações pertinentes sobre suas condições mudando de cor. Há também aplicação de nanoargilas e nano fibras em embalagens de alimentos e bebidas para dificultar as trocas gasosas (MILLER e SENJEN, 2008). Várias companhias como a Nestlé, British Airways, mono Prix Supermarkets, 3M, segundo Miller e Senjen, 2008, estão utilizando materiais para embalagens com sensores químicos, assim a nanotecnologia oferece novas ferramentas e mais sofisticadas alternativas para ampliar esta tecnologia e reduzir custos. Finas camadas utilizando nanotecnologia têm a função de encobrir alimentos, funcionar como barreira para as trocas gasosas, a umidade, e podem emitir cores, sabores, antioxidantes, enzimas e agentes anti-escurecedores, além de prolongar o tempo de conservação dos alimentos inclusive depois de abertos. Estas nanocoberturas, além de invisíveis são comestíveis e possuem ampla aplicação.

Vantagens do uso da nanotecnologia em nanocompósitos são inumeráveis. Entretanto com o uso da nanotecnologia no setor de alimentos crescem também as preocupações sobre a segurança dos mesmos. Várias evidências de riscos e incertezas têm sido reportadas por toxicólogos nos últimos anos. Dióxido de titânio, prata, zinco e dióxido de silício utilizados normalmente na indústria de alimentos têm demonstrado serem tóxicos para células e tecidos em experimentos in vitro, pois na escala nanométrica têm um acesso muito maior ao nosso corpo. Podendo entrar em células, tecidos e órgãos. Assim mesmas propriedades que oferecem novas oportunidades de aplicações para a indústria, podem também representar maiores riscos de toxidade para a saúde humana e para o meio ambiente.

Nanomateriais que apresentam partículas que medem até 300 nm podem ser absorvidos pelas células individualmente, enquanto que aqueles que apresentam nanopartículas com dimensões menores a 70 nm podem ser absorvidos pelo núcleo celular e causar danos maiores (MILLER e SENJEN, 2008).

### **2.3 Nanocompósitos**

Nanocompósitos são relativamente uma nova classe de materiais ou biocompósitos os quais tem dimensões de fases muito finas, tipicamente no limite de 1-100 nm. Trabalhos experimentais sobre estes novos materiais tem apresentado, em geral, que todos os tipos de classes de nanocompósitos conduzem a novas e aperfeiçoadas propriedades quando comparada com os seus micro e macrocompósitos. Existem vários exemplos: a intercalação de polímeros por fusão, que tem sido apresentado a ser mais uma eficiente e circunstancial alternativa a processos de intercalação por síntese de nanofase polímeros-silicatos híbridos. Esta nova classe de nanocompósitos apresentam, a diminuição do coeficiente de expansão térmica e aumento da resistência ao inchamento “swelling”. A melhoria de propriedades é suposta devido a estrutura nanoescalar do compósito e o sinergismo entre o polímero e o nanocomposto (SCRINIS e LYONS, 2007).

A obtenção e caracterização de nanocompósitos, através da intercalação de polímeros em argilas e fibras têm recebido atenção especial nas últimas décadas devido às diversas aplicabilidades, como dissipadores de carga eletrostática, protetores de radiação eletromagnética entre outras. Há várias propriedades de interesse que podem ser obtidas através desta interação. Isto dependendo da natureza química precisa do cátion e, da variedade de polímeros, ambos polar e não-polar, podem ser intercalados entre as regiões de intercamadas (ZHANG et al.,2007).

O nível da mobilidade nestes sistemas tem importantes implicações a dinâmica de polímeros, difusão em ambientes confinados e a superfícies e interfaces. A diversidade de instrumentação analítica tem sido cada vez mais ampliada e conseqüentemente as técnicas de análises também devido a necessidade de maior compreensão dos resultados da síntese de materiais como: microestruturas, compatibilidade e intercalação. As tradicionais análises utilizadas em micro e nanocompósitos de polímeros e nanocargas, atualmente são: calorimetria diferencial de varrimento (DSC), análise termodinâmica mecânica (DMTA), permeabilidade e retenção aumentadas (EPR), microscopia eletrônica de varredura (SEM), Raio-X e NMR, todas estas técnicas com vantagens e desvantagens (ZHANG et al.,2007).

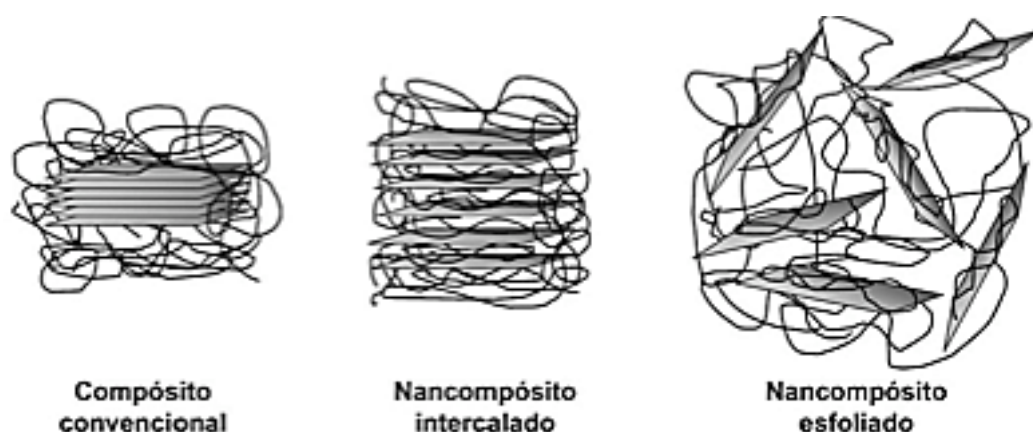
### **2.4 Cargas**

Podem ser definidas como materiais sólidos, não solúveis, que são adicionados aos polímeros em quantidades suficientes para diminuir os custos e/ou alterar suas propriedades físicas. Quando a carga deixa de ser um simples aditivo e passa a ser um componente de um material conjugado, o material é definido como um compósito polimérico (PAULL e LYONS, 2008).

Microcompósitos ou nanocompósitos poliméricos são considerados uma nova classe de materiais híbridos, compostos por uma matriz polimérica, na qual as partículas inorgânicas, com dimensões nanométricas, são dispersas. Um dos mais promissores sistemas de nanocompósitos é o híbrido baseado em polímeros orgânicos e argilominerais e nanofibras. Este tipo de nanocompósito é semelhante aos compósitos poliméricos tradicionais na medida em que cargas são adicionadas a uma matriz polimérica com o objetivo de se obter propriedades superiores a do polímero puro. A diferença é que, em nanocompósitos, estes

aumentos são obtidos em níveis de carregamento muito baixos (1-5 % em massa). Nos últimos anos, nanocompósitos híbridos de compostos de polímero-argila tiveram grande importância e foram alvos de inúmeros estudos, pois estes materiais exibem propriedades mecânicas e térmicas melhoradas; diminui a expansão térmica, a permeabilidade a gases e melhora a estabilidade dimensional (WANG et al.,2010, ZHANG et al.,2007).

A introdução de cargas orgânicas e inorgânicas na matriz polimérica melhora a dureza e a resistência mecânica, ocasionalmente, gera propriedades especiais oriundas do efeito sinérgico entre os componentes desses materiais (WILHELM et al.,2003). Dependendo do tipo de estrutura de dispersão da argila na matriz polimérica, os compósitos podem ser classificados como intercalados ou esfoliados (Figura 38).



**Figura 38.** Dispersão da argila numa matriz polimérica. (Fonte: MBEY et al., 2012).

As propriedades mecânicas dos nanocompósitos são controladas por diferentes parâmetros microestruturais como distribuição da carga, propriedades da matriz e da carga, interação interfacial e processamento adotado (SCRINIS e LYONS, 2007).

A combinação de polímeros naturais, como o amido, com a argila e nanofibras para preparação de materiais nanocompósitos é bastante atrativa. A adição de nanocargas durante o processamento promove e intensifica o processo de desestruturação do amido granular, fornecendo processamentos mais amenos (menores temperaturas).

Filmes de nanocompósitos amido/nanocargas mostraram uma forte diminuição na hidrofobicidade e aumento da dureza, rigidez e tenacidade. A atratividade desses materiais não é somente devida ao seu baixo custo eles fornecem uma grande variedade de benefícios. De acordo com SCRINIS e LYONS (2007), o aumento do módulo Young e da tensão na ruptura neste tipo de bioplásticos ocorre em razão da distribuição intercalada da argila.

A permeabilidade ao vapor d'água é reduzida, devido à trajetória mais tortuosa que as moléculas precisam seguir. Essa distribuição intercalada da nanocarga promove maior superfície de contato, ou seja, maior interação entre o amido e a carga, o que resulta na melhoria do reforço e aumento das propriedades mecânicas.

### 2.3 Nanocompósitos de fibras naturais

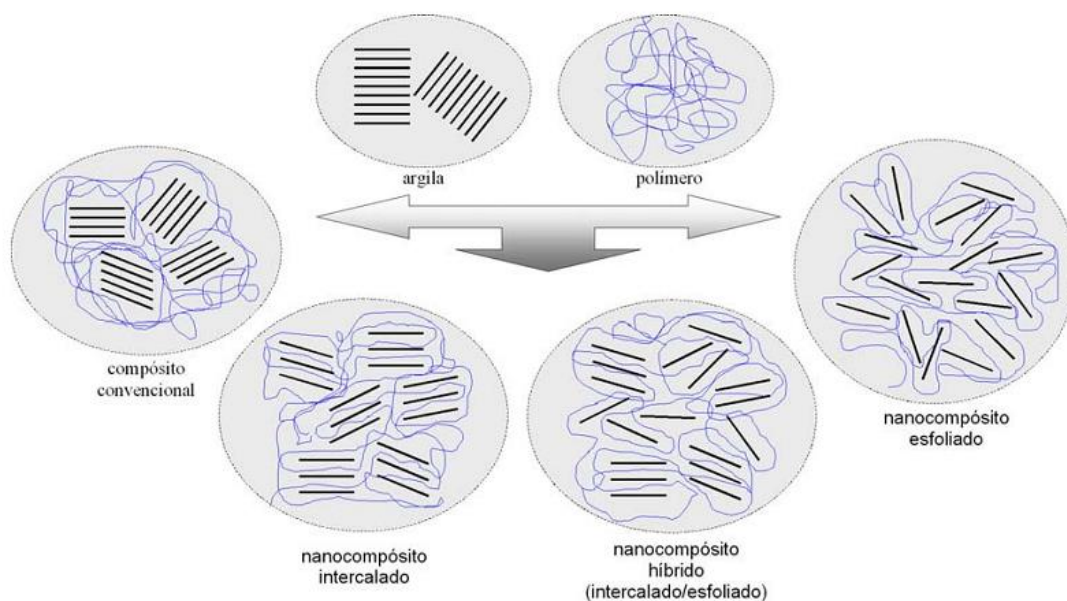
As principais propriedades de reforço estão associadas a razão de aspecto encontrada nas fibras, as quais conferem propriedades mecânicas diferenciadas. Essa razão de aspecto é definida como a relação do comprimento dividido pelo diâmetro das fibras.

A temperatura de decomposição da celulose observada através de Análise Termogravimétrica (TGA) ocorre de 330 a 350 °C, o que define o limite superior na temperatura de processamento dos compósitos baseados em fibras naturais, permitindo que as quatro principais commodities plásticas (PE, PP, PVC e PS), sejam usadas como matrizes sem restrições.

Os problemas comumente encontrados nos compósitos termoplásticos a base de lignocelulósicos são a baixa compatibilidade com resinas hidrofóbicas, instabilidade térmica acima de 220 °C, higroscopicidade, baixa densidade aparente, dificuldade de dispersão em equipamentos misturadores plásticos convencionais.

### 2.4 Nanocompósitos com organominerais (argilas)

Três morfologias da argila podem ser distinguidas quando nanocompósitos poliméricos são preparados, conforme a seguinte classificação: (i) intercalada, na qual uma ou mais camadas moleculares de cadeias de polímeros estão inseridas entre as folhas ou galerias da argila, (ii) esfoliada, na qual as camadas de argila estão dispersas homogêneas em uma matriz polimérica na forma de folhas individuais, ou (iii) híbrida, na qual ambas morfologias intercalada e esfoliada são observadas (Figura 39). Por outro lado, apenas um compósito convencional é formado quando a dispersão da carga não resulta inclusões de tamanho nano.



**Figura 39.** Morfologia da argila nos nanocompósitos (Fonte: SCRINIS e LYONS, 2007).



Diferentemente da morfologia intercalada, na morfologia esfoliada apenas um pequeno percentual em peso de folhas de argila apresenta algum ordenamento estrutural. Para obter sistemas contendo folhas individuais de argilas é importante que a reagregação das folhas na matriz polimérica seja evitada (SCRINIS e LYONS, 2007).

Muitas publicações na área de nanocompósitos enfatizam suas vantagens e, freqüentemente, reivindicam esfoliação completa ou no mínimo extensa. No entanto, a esfoliação completa é difícil de ser alcançada e, normalmente, forma-se uma estrutura híbrida contendo tactóides (partículas que não foram intercaladas pelo polímero), estruturas intercaladas (nas quais as distâncias na galeria são aumentadas) e camadas individuais de silicato esfoliadas (SCRINIS e LYONS, 2007).

## **2.5 Nanocompósitos de Amido e Argilas**

Sabe-se que a utilização de materiais à base de amido sem a utilização de agentes de reforços possuem algumas desvantagens (MBEY et al., 2012). Uma delas é a fraca resistência à água e conseqüentemente perdas nas propriedades mecânicas, o que pode ser melhorado (ou corrigido) com a adição de outros polímeros durante o processamento (ALBOOFETILEH et al., 2013). A incorporação de argilas em filmes de amido tem sido proposta na literatura como uma alternativa de melhoria das propriedades mecânicas e de barreira desses filmes (OJJO e RAY, 2013; AOUADA et al., 2011; CHIVRAC et al., 2010; CYRAS et al., 2008).

Dentre as nanoargilas mais comumente utilizadas para melhorar as propriedades de polímeros pode-se citar a montmorilonita, zeolitas, vermiculitas, bentonitas. Esta classe de minerais tem alta disponibilidade, alta versatilidade e baixo custo. Seu uso também é incentivado, uma vez que não se sabe se há conseqüências negativas para o meio ambiente ou a saúde humana (SANTOS, 1989). A melhoria nas propriedades está relacionada a dispersão das argilas nas matrizes poliméricas. Desta forma, as moléculas de água necessitam seguir um caminho mais tortuoso através do compósito de argila-polímero, levando a baixas taxas de transmissão de vapor de água e conseqüentemente a altos níveis de barreira. PARK et al. (2003) mostraram que a incorporação de apenas 5 % em massa de nanoargila em fécula de batata reduziu pela metade as taxas de transmissão de vapor de água.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Matéria-prima

O amido de mandioca (polvilho doce) e o amido de milho foram obtidos no comércio local no Estado do Rio de Janeiro. Glicerol padrão analítico e água destilada foram usados como plastificantes.

As cargas utilizadas foram:

a) A nanocelulose de linter de algodão foi elaborada pela Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE). Esta foi obtida através de hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (60 % w/w) a 45 °C por 60 min obtendo uma dimensão média de nanocristais com comprimento de 177 nm e 12 nm de largura.

b) Argilas bentonita, vermiculita, Cloisite 15A, Novaclay e zeolita normal e modificada, foram fornecidas pela Embrapa Instrumentação Agropecuária (São Carlos, SP) e a Embrapa Solos (Rio de Janeiro, RJ).

As características destas cargas estão representadas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Cargas utilizadas no reforço de biocompósitos de amidos e glicerol.

Carga	Tipo	Modificador orgânico	Umidade (%)	d <sub>001</sub> (Å)	Tamanho das partículas	Fornecedor
Linter de algodão	<i>Delta opal</i> (Holoce-lulose: 81,5±8 %)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2	24	177 nm x 12 nm	Embrapa Agroindústria Tropical
Bentonita	Montmorilona (55-70 %)	natural	6	13,7	0,2 µm	Embrapa Solos
Vermiculita	(Mg, Fe) <sub>3</sub> [(Si, Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> ] [OH] <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	natural	2	5,99	80-100 µm	Embrapa Solos
Cloisite 15A	Argila modificada	* (CN <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (HT) <sub>2</sub> N <sup>+</sup>	2	31,5	6	Southern Clay
Novaclay	Argila modificada	**AMS - 32	4	28,8	19 µm	Ioto Internacional
Zeolita modificada	Argila modificada	patente	5	27	-	Embrapa Solos
Zeolita Cubana	argila	natural	6	3,83	1,5 µm	Embrapa Solos

\* HT= grupamento graxo hidrogenado (≅ 65% C<sub>18</sub>, ≅30% C<sub>16</sub>, 5% C<sub>14</sub>) e contra-íon Cl<sup>-</sup>

\*\*AMS - 32 = Agente modificador de superfície sem sal de amônio, patenteado pela Ioto Internacional (DEPR 015100000646).

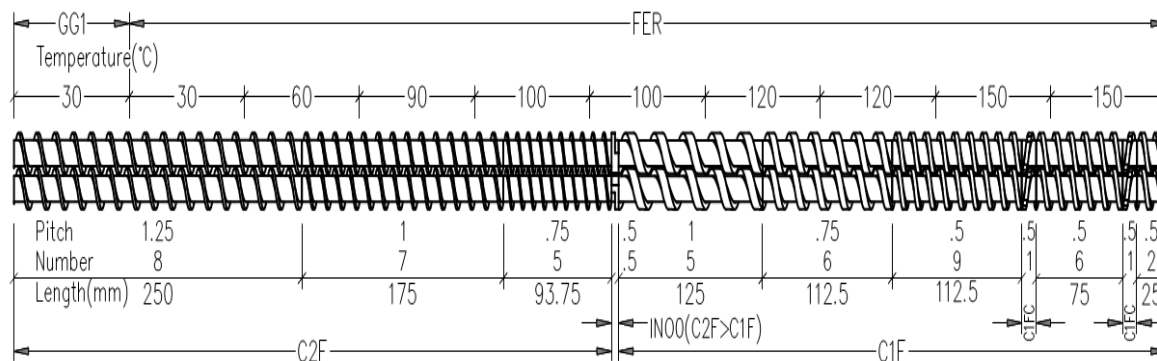
## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Determinação de densidade absoluta das argilas

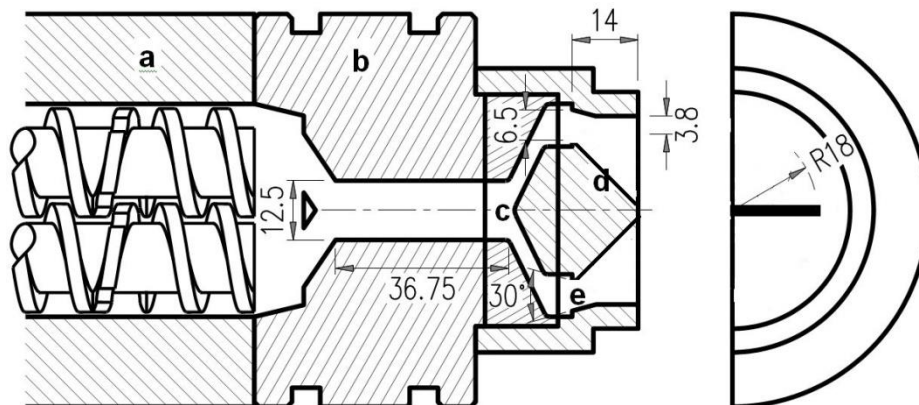
A densidade absoluta foi obtida por picnometria à gás hélio em um picnômetro AccuPyc III340 (Micromerites, Norcross, EUA). As medidas foram feitas em duplicata para cada argila. A densidade absoluta é referente a divisão da massa do material pelo volume absoluto que inclui o volume real do material excluindo os poros abertos e fechados.

### 3.2.2 Preparo dos pellets por extrusão termoplástica

Misturas de amidos, nanoargilas, nanofibras e plastificantes foram processadas em uma extrusora de rosca dupla Clextral Evolun HT25 (Firminy, França) equipada com uma matriz laminar de 3 cm de largura por 1 mm de espessura obtendo-se extrudados em formato de fita. A extrusora foi alimentada de forma contínua por meio de um alimentador automático. A vazão de alimentação foi de 4,5 kg/h. O teor de plastificantes a ser adicionado ao material foi controlado por uma bomba de pistão de líquidos automática (2,5 L/h), com teor de plastificante fixo (mistura de água e glicerina) que foi bombeado para o interior da extrusora na primeira zona de alimentação. O teor de plastificante foi de 70 % na fração líquida. As temperaturas das dez zonas de aquecimento foram: 40, 50, 60, 80, 100, 120, 100, 90, 70 e 70 °C com início na zona de alimentação até a saída da matriz. A rotação dos parafusos foi fixada em 135 rpm, onde as diferenças entre as amostras estava na adição das diferentes nanocargas adicionadas em concentrações de 3 e 5 % para cada uma, respectivamente (14 tratamentos). A configuração dos parafusos e matriz utilizadas se encontram especificados nas figuras 40 e 41.



**Figura 40.** Representação esquemática da configuração do parafuso no processo de obtenção de pellets dos biocompósitos (Fonte: VARGAS-SOLÓRZANO, 2013).



**Figura 41.** Representação esquemática da matriz laminar utilizada no extrusor para a obtenção de pellets dos biocompósitos (Fonte: VARGAS-SOLÓRZANO, 2013).

### 3.2.3 Obtenção dos filmes por termo-prensagem

Os extrudados na forma de pellet foram cortados no comprimento médio de 40 cm, embalados em sacos de polipropileno e acondicionados em freezer (-18 °C) para posterior análise. As fitas foram deixadas a temperatura ambiente até total descongelamento em sua embalagem original. Após o descongelamento, as fitas foram cortadas manualmente por meio de uma tesoura em pequenos pedaços com peso de 5 g. Cada pedaço de 5 g foi disposto no centro de uma prensa termo-hidráulica manual Skay Máquinas e Equipamentos Hidráulicos de 30 ton (São José do Rio Preto, SP) dotada de placas de aquecimento e resfriamento inferior e superior revestidas de Teflon®, onde foi aplicada uma pressão de 15 ton por 1 min. A temperatura das placas foi mantida constante a 95 °C. De forma a facilitar a remoção do filme prensado do revestimento, este foi levado ao interior do freezer (-18 °C) por 1 min e deixado à temperatura ambiente por mais 30 min antes da sua completa retirada do substrato. Todas as análises realizadas para caracterizar estes materiais, foram comparadas utilizando o teste Tukey, ( $P < 0,05$ ).

### 3.2.4 Determinação da espessura

A espessura dos filmes foi medida em micrômetro digital modelo Fowler IP 54 (Fowler, Newon, EUA), com sensibilidade de  $\pm 0,001$  mm, em cinco pontos aleatórios para cada filme, a partir do qual a média foi obtida.

### 3.2.5 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes foi determinada segundo método proposto por Gontard et al. (1993). Foram retiradas duas amostras com 2 cm de diâmetro, de umidade conhecida, pesadas e mergulhadas em 50 mL de água destilada. O sistema foi agitado lentamente por um banho-maria digital Dubnoff NT 232 (Biovera, Rio de Janeiro, Brasil) por 24 horas, a 25 °C. Após este período, as amostras foram retiradas da água e secas (105 °C por 24 h) para determinar o peso do material que não foi solubilizado. A solubilidade foi expressa pela porcentagem de material seco solubilizado.

A solubilidade é expressa pela porcentagem de material seco solubilizado de acordo com a equação 14.

$$SA = \frac{\text{Filme (g)}}{\text{Filme seco (g)}} \times 100 \quad (\text{Equação 14})$$

### 3.2.6 Medida de opacidade e cor

A opacidade aparente dos filmes foi determinada com a ajuda de um espectrofotômetro Femto modelo 700 Plus (Femto Ind. Com. Instrumentos Ltda, São Paulo, Brasil). Os filmes foram cortados em retângulos e aderidos à parede interna da cubeta do espectrofotômetro, e o ar foi usado como a referência. Nessas condições, o comprimento de onda de 500 nm foi empregado para a medida, e a opacidade da película foi calculada de acordo com o trabalho de (ROCHA, 2009). A medida foi repetida três vezes para cada tipo de filme, e uma média foi realizada para se obter um resultado.

A determinação de cor dos filmes e frutos foi realizada por refletância no determinador de cor Color Quest XE espectrofotômetro (Hunterlab, Reston, EUA) com abertura de 0,375 mm de diâmetro, com iluminante D65 ângulo de 10 graus.

Os parâmetros de cor medidos foram:

- $L^*$  = luminosidade (0 = preto e 100 = branco);
- $a^*$  (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho);
- $b^*$  (-100 até zero = azul, do zero ao +33 = amarelo);
- $Cab^*$  chroma =  $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  em um sistema de coordenadas polares;
- $hab$  ângulo hue =  $\arctan(b^*/a^*)$  em um sistema de coordenadas polares;

O parâmetro Cromo ( $Cab^*$ ), indica a intensidade de cor da amostra (cromaticidade) e foi determinado a partir dos resultados de  $a^*$  e  $b^*$ , através da Equação 15:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (\text{Equação 15})$$

O ângulo hue ( $hab^\circ$ ) é um indicador de tonalidade e foi calculado de acordo com a Equação 16:

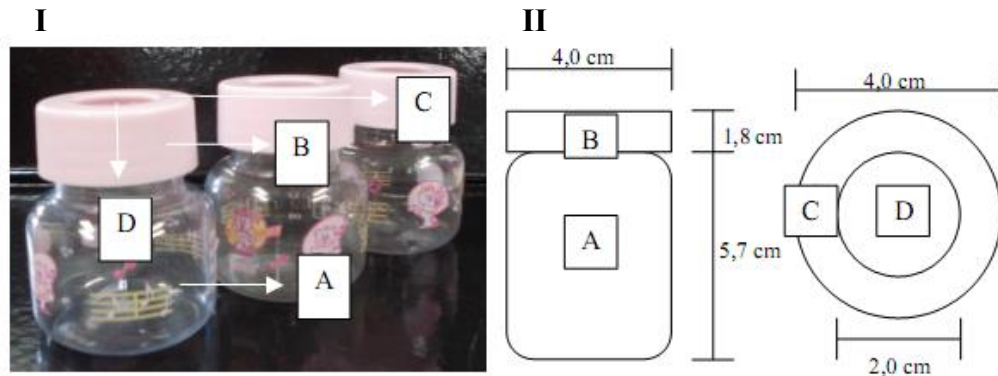
$$h^\circ = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Equação 16})$$

Foram realizadas 4 repetições em cada amostra (CIE, 1978).

### 3.2.7 Permeabilidade ao vapor de água

A transmissão do vapor da água nos filmes foi determinada gravimetricamente segundo método ASTM n. D882-00 (2001) modificado à temperatura de 25 °C

desconsiderando a permeabilidade do recipiente. Amostras de filmes cortadas em formato circular foram fixadas em copos contendo água destilada (100 % de umidade relativa), os quais foram colocados em dessecador com sílica gel de forma a assegurar um gradiente hídrico no sistema (Figura 42). Ao longo de 7 dias sob vácuo, os copos foram pesados diariamente de forma a acompanhar a evolução de peso no período. O cálculo da permeabilidade ao vapor de água foi realizado de acordo com a metodologia modificada descrita por Vicentini (2003) e por Nazan Truhan e Sahbaz (2004)



**Figura 42.** Copos gravimétricos de dimensões conhecidas (I) e desenho esquemático de auxílio para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água (II).

De início calculou-se a taxa de permeabilidade ao vapor de água ( $Tva$ ), como descrito na Equação 17:

$$Tva = \frac{g}{tA} \text{ (Equação 17)}$$

Onde: A é área de permeação ( $12,29 \text{ cm}^2$ ); g é perda de peso e t tempo total em horas; o termo g/t foi calculado por regressão linear.

Em seguida a permeabilidade ao vapor de água ( $Pva$ ) foi calculada a partir da Equação 18:

$$Pva = \left(\frac{g}{tA}\right)\left(\frac{x}{\Delta P}\right) \text{ (Equação 18)}$$

Onde: x é espessura dos filmes;  $\Delta P$  é diferença de pressão de vapor do ambiente com sílica gel (0) e contendo água pura ( $2,642 \text{ kPa}$ , a  $22^\circ\text{C}$ ).

### 3.2.8 Medida de ângulo de contato

A determinação do ângulo de contato dos filmes foi realizada a temperatura ambiente, de acordo com a metodologia descrita por SILVA et al. (2007), em um analisador de ângulo de contato KSV Instruments modelo CAM 101 (Helsinki, Finlândia).

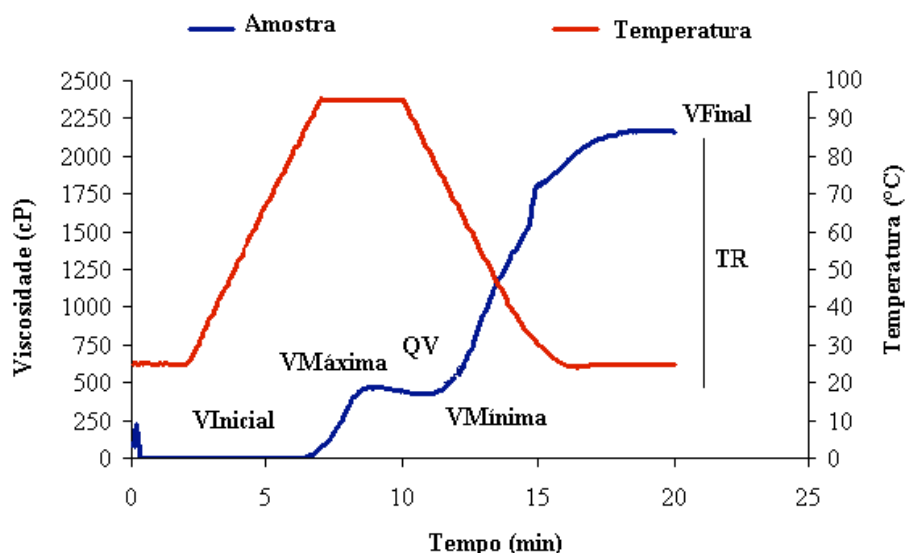
### 3.2.9 Caracterização Mecânica dos biocompósitos

Os filmes foram analisados quanto ao desempenho no teste de tração, perfuração e módulo de Young como descrito no capítulo I e II deste trabalho.

### 3.2.10 Propriedades viscoamilográficas

A viscosidade de pasta das amostras moídas com nitrogênio líquido dos pellets foi determinada com o uso do analisador rápido de viscosidade (Rapid Visco Analyser – RVA), série 4, da marca Newport Scientific, provido do software Thermocline for Windows, utilizando-se a sua metodologia para materiais extrudados. As análises foram feitas em duplicata, para cada biocompósito e os controles (sem adição de carga). Para a realização desta análise, as amostras extrusadas e secas foram moídas em moinho de disco com nitrogênio líquido e logo peneiradas no agitador de peneiras RO-TAP modelo RX-29-10. A fração retida entre peneiras de 125 e 250  $\mu\text{m}$  foi utilizada para esta análise, pois segundo Becker et al., (2001) a diferença do tamanho de partículas entre as amostras pode ocasionar falsa interpretação dos resultados obtidos. Foram utilizadas 3 g de farinha extrusada e moída, com umidade corrigida para 14 %, em base úmida, e em seguida adicionou-se água destilada até a obtenção do peso final de 28 g, conforme metodologia descrita por Ascheri et al. (2006).

O perfil de análise utilizado foi “extrusion 1 no-alcohol”, que apresenta como característica a manutenção inicial do sistema a 25 °C durante 2 minutos. O aquecimento ocorreu em seguida e aos 7 minutos a temperatura máxima foi atingida (95 °C), onde permaneceu por alguns minutos. Logo após, o resfriamento foi iniciado até a temperatura de 25 °C, totalizando vinte minutos de análise. Para interpretação dos amilogramas foram utilizados os seguintes parâmetros, (Figura 43):



**Figura 43.** Parâmetros avaliados na curva viscoamilográfica dos biocompósitos extrudados e moídos.

- a) Viscosidade inicial ou viscosidade a frio (VInicial): é o valor da viscosidade em cP (Centipoise), na temperatura de 25 °C, no início do ciclo de aquecimento;
- b) Viscosidade máxima (VMáxima): é o valor da viscosidade no ponto máximo da curva, obtido durante o ciclo de aquecimento, expresso em cP;
- c) Viscosidade mínima após o ciclo de aquecimento a 95 °C (VMínima);
- d) Quebra de viscosidade (QV) ou “Breakdown”: é a diferença entre a viscosidade máxima e mínima durante a manutenção a 95 °C;
- e) Viscosidade final no ciclo de resfriamento (VFinal): é o valor da viscosidade em cP, ao final da análise (25 °C);
- f) Tendência à retrogradação (TR) ou “Setback”: é a diferença entre a viscosidade final e o menor valor de viscosidade durante a manutenção a 95 °C.

### 3.2.11 Reometria: Rampa de cisalhamento

A curva de viscosidade em função da taxa de cisalhamento foi realizada para as soluções de amido procedentes da análise viscoamilográfica através de uma rampa crescente de taxa de cisalhamento em uma faixa de 0 a 50 s<sup>-1</sup>, durante 3 minutos. A comparação com a com a curvas de fluxo resultou em um ajustamento com modelo de Ostwald de Waele.

$$\sigma = k\dot{\gamma}^n \text{ (Equação 19)}$$

Onde:

$\sigma$  = tensão de cisalhamento (Pa)

$k$  = índice de consistência (Pa.s)

$\dot{\gamma}$  = taxa de cisalhamento (s<sup>-1</sup>)

$n$  = índice de comportamento de fluido (adimensional).

### 3.2.12 Termogravimetria

Para obtenção das curvas termogravimétricas utilizou-se uma termo-balança, analisador termogravimétrico, T. Diferencial, modelo TGA/SDTA- 851E. Todas as amostras foram pesadas e acondicionadas em micro-cadinhos, de alfa-alumina, pré-tarados na termobalança (LACERDA, 2006). As condições de análise foram as seguintes: massa da amostra de 5,0 g na forma de pellet; atmosfera de nitrogênio, 142 pontos de medida com vazão de 50 mL/min; razão de aquecimento de 10 °C/min, com temperatura inicial de 20 °C e temperatura final de 700 °C. Para a obtenção das curvas foi utilizado o programa Microsoft Office Excel (AGGARWAL e DOLLIMORE, 1998).

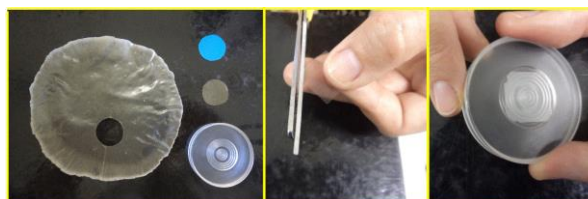
### 3.2.13 Difração de raios X

A determinação do índice de cristalinidade foi realizada em um difrator de D2 Phaser (Bruker, Alemanha). Foi necessário adaptar a porta-amostras, para isso foi necessário seguir os passos abaixo:

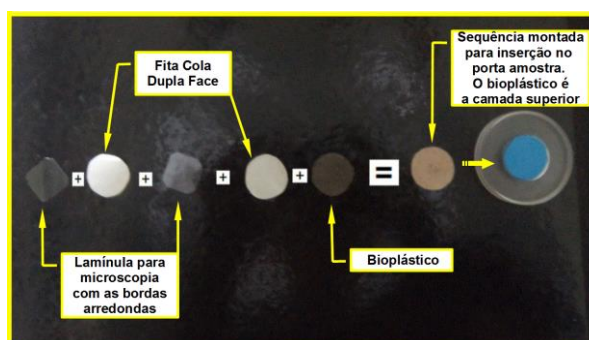
A técnica foi desenvolvida para duas metodologias: o método 1 consistiu no uso dos bioplásticos mais finos (0,2-0,3mm) montados numa sequencia alternada de duas lamínulas de vidro, intercaladas com duas outras camadas de fita dupla face (substrato) recoberta com o bioplástico segundo a forma circular da porta-amostra, (figuras 44 e 45). Como controle, para



verificar se havia contaminação ou interferência da cristalinidade do material utilizado no substrato, foram realizadas diversas análises de Raios-X sem a camada externa de bioplástico.

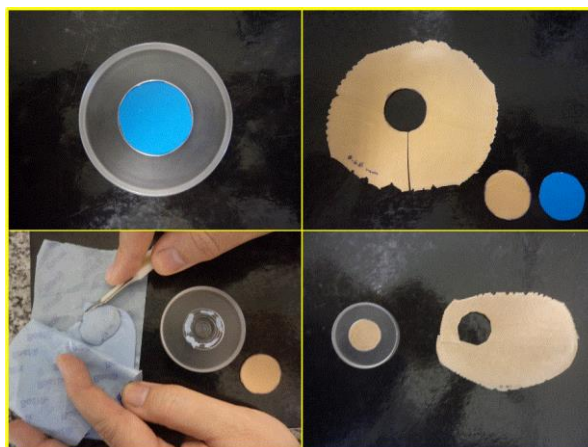


**Figura 44.** Corte e molde das lamínulas de vidro para compor o substrato suporte do bioplástico na porta-amostra (Fonte: LIMA et al., 2013).



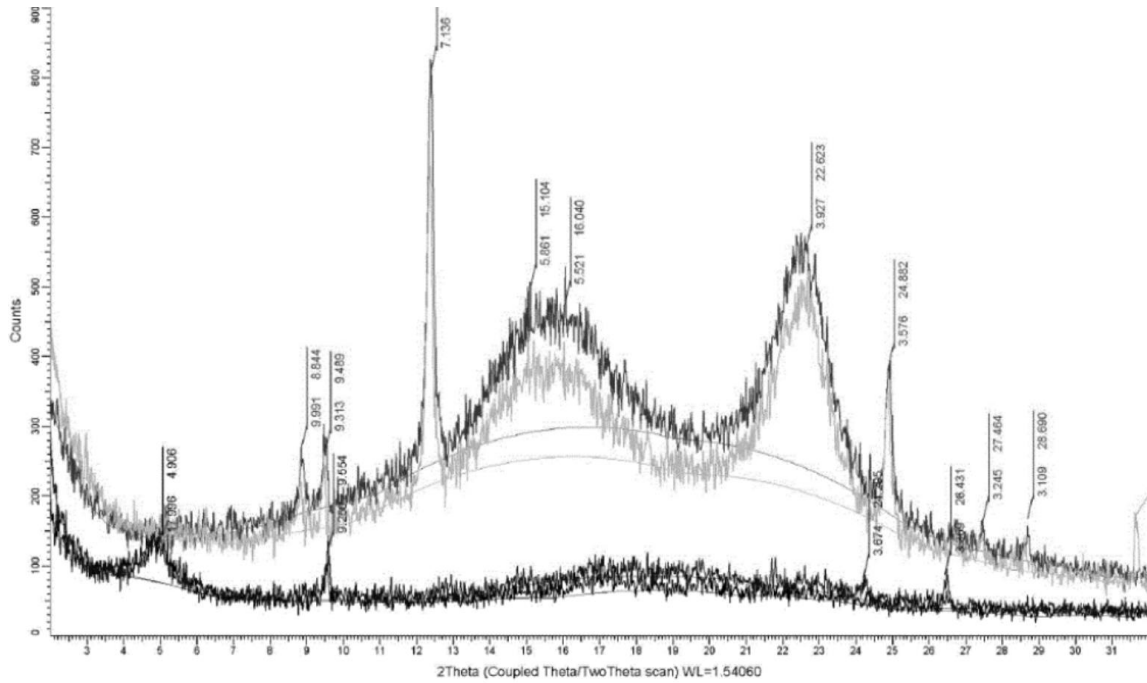
**Figura 45.** Sequência de montagem do Método 1 (Fonte: LIMA et al., 2013).

A técnica do método 2 utilizou o protótipo do bioplástico mais espesso (0,6-0,8mm), espessura esta, calculada pelo software AbsorvX da Bruker, onde foi moldado, cortado e fixado no porta amostra por meio de massa vedante comercial, Figura 46.



**Figura 46.** Sequência de montagem do Método 2 (Fonte: LIMA et al., 2013).

Os difratogramas apresentados na Figura 47 demonstram que não houve interferência do material utilizado como substrato no método 1 e nem das diferentes espessuras dos bioplásticos utilizados nos Métodos 1 e 2, sendo assim optou-se pela metodologia 1 para realizar esta análise.



**Figura 47.** Comparação entre os difratogramas de Raios-X do suporte (porta amostra+laminula+fita dupla fase): perfil na parte inferior, e os da análise do bioplástico de amido com zeólita usando o método 1 (cinza) e método 2 (preto) (Fonte: LIMA et al., 2013).

### 3.2.14 Microscopia Eletrônica de Varredura e Análise química pontual

Foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura (Hitachi TM 3000 table top microscope, Tokio, Japão) acoplado com o sistema de espectroscopia de energia dispersa (EDS), no material extrudado e nos biocompósitos para avaliar a superfície do pellet e o grau de inserção das cargas na matriz do amido gelatinizado. As amostras foram deixadas em dessecador com sílica gel por 24h e então cortadas, coladas em adesivo de carbono junto ao suporte de alumínio e em seguida levadas a camara de vácuo do microscópio em aceleração de 15 kV.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Densidade absoluta

Antes de adicionar as cargas na matriz amilácea dos bioplásticos desenvolvidos é importante saber que as características destes materiais influenciam diretamente esta interação, tais resultados podem ser atribuídos às características intrínsecas de cada matéria-prima utilizada na obtenção dos biocompósitos extrudados e termoprensados. Além disso, durante o processo de extrusão termoplástica estas características podem ser modificadas, beneficiando ou não estas ligações que tem por objetivo principal melhorar as propriedades mecânicas e de barreira aos gases e ao vapor da água para obter produtos diferenciados (MATZINOS et al., 2002; MANRICH, 2005; COSTA, 2008).

Com relação a densidade absoluta e porosidade (Tabela 8), esta é uma das características intrínsecas das matérias-primas, acredita-se que a esta característica influencie nos resultados obtidos, pois quando estas cargas interagem com calor e umidade durante o processamento podem conferir à matriz de amido e glicerol propriedades tecnológicas como elasticidade, coesividade, hidratação, conformação e tamanho molecular, contribuindo assim para melhorar as características tecnológicas antes mencionadas.

**Tabela 8.** Densidade absoluta e porosidade de cargas utilizadas como reforço em bioplásticos de amido e glicerol.

Amostras	Densidade Absoluta (g/cm <sup>3</sup> )	Total Poros (cm <sup>3</sup> )
Bentonita	2,30 ± 0,0057	0,56 ± 0,0011
Zeolita Cubana	1,47 ± 0,0021	0,32 ± 0,0010
Zeolita Modificada	2,48 ± 0,0050	0,59 ± 0,0008
Cloisite 15A	1,56 ± 0,0032	0,35 ± 0,0013
Novaclay	1,32 ± 0,0041	0,31 ± 0,0012
Vermiculita	1,56 ± 0,0032	0,66 ± 0,0011

Média ± desvio padrão de medições em duplicata.

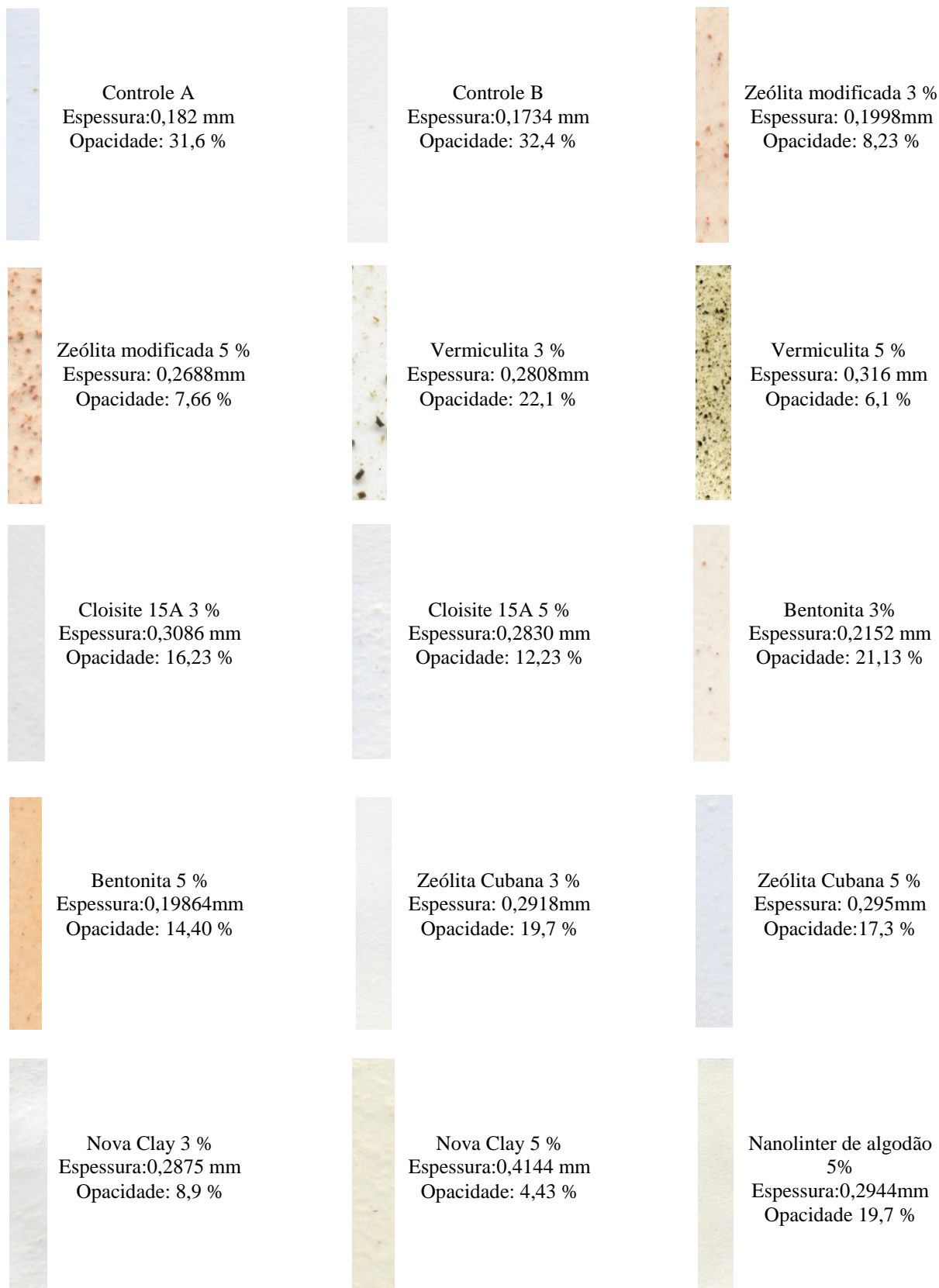
### 4.2 Espessura dos bioplásticos e opacidade

Na atualidade, as propriedades ópticas e de espessura dos bioplásticos são parâmetros fundamentais para o devido acondicionamento de produtos. Uma embalagem plástica com elevado brilho e transparência torna-se uma ferramenta valiosa para o setor de marketing, que cada vez mais busca uma boa apresentação visual dos produtos. Por outro lado, muitas vezes, a proteção contra a incidência de luz se faz necessária, quando se trata de acondicionamento de produtos sensíveis a reações de deterioração catalisadas pela luz (SAKANAKA, 2007). Desta forma, a opacidade é uma propriedade de fundamental importância em filmes utilizados para recobrimento ou embalagem de alimentos (GONTARD et al., 1996).

Na Figura 48 podemos observar que baixos valores de opacidade indicam menor transparência nos biocompósitos, isso pode ser observado em todos os tratamentos onde o incremento de 3 a 5% diminuiu a opacidade para todos os tratamentos. Pode-se observar que

esta tendência não foi influenciada pela espessura do material, pois para todos os biocompósitos onde esta variação foi relativa. Resultados similares, porém baseados na avaliação de cor, foram encontrados por Bourtoom e Chinnam (2008) e Chillo et al. (2008).

Estes parâmetros são os mais utilizados para caracterização das propriedades ópticas. Em compósitos a base de amido, a opacidade é geralmente influenciada pela proporção de amilose e amilopectina presente. De acordo com Wanget et al., (2003), amidos que contém alto teor de amilose apresentam menores valores de transmitância, devido à forte tendência de associação de suas cadeias lineares através da formação de ligações de hidrogênio por forças eletrostáticas. Adicionalmente, o amido, ao ser misturado com outros materiais pode sofrer reações que podem resultar em mudanças de cor e afetar sua aplicabilidade (JENSEN, 2007). Em filmes tubulares produzidos por extrusão, a cristalinidade induzida pelo processamento e o grau de orientação afetam o brilho e a transparência. Com o aumento da cristalinidade, os filmes podem ser translúcidos, opacos ou transparentes, dependendo do grau de cristalinidade, tamanho dos cristais e posição relativa entre eles (MANRICH, 2005).



**Figura 48.** Comparação opacidade e espessura entre os biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações.

## 4.2 Imagens e análise instrumental de cor

Segundo Kramer e Twigg (1962), cor é uma característica da luz medida em termos de intensidade e comprimento de onda. Isso surge da presença da luz em intensidades maiores em alguns comprimentos de onda do que em outros.

A formação de cor durante o processo de extrusão proporciona importante informação a respeito do grau do tratamento térmico no biocompósito a base de amido, e está diretamente relacionada com a composição da matriz e suas cargas (RAY e BOUSMINA, 2005). Condições severas resultam em produtos mais escuros, com valores de luminosidade menores e aumentos nos valores das coordenadas de cromatocidade  $a^*$  e  $b^*$  (BADRIE e MELLOWES, 1991). Liu et al. (2006) descreveram a importância das condições operacionais de extrusão na perda da cor de grãos de milho. Muitas são as reações que ocorrem durante esse processo de extrusão, e as mais comuns são reações de coloração e degradação não enzimática do pigmento das farinhas.

A cor dos bioplásticos, sem dúvida, um fator de fundamental importância para a sua comercialização e aplicação, sendo diretamente influenciada pelas matérias-primas que compõem a sua formulação. Na Figura 49 pode se observar qualitativa e quantitativamente a variação do  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , e  $C_{ab}^*$  e  $h_{ab}^\circ$ . A luminosidade (0= preto e 100= branco) considera o quanto “branco” ou “preto” é um material, desta forma é normal que os tratamentos controle (sem adição de cargas) tenham uma maior luminosidade ( $\cong 85\%$ ), sendo o mais próximo o biocompósito com adição de 5% de zeólita cubana, que apresentou características visuais similares.

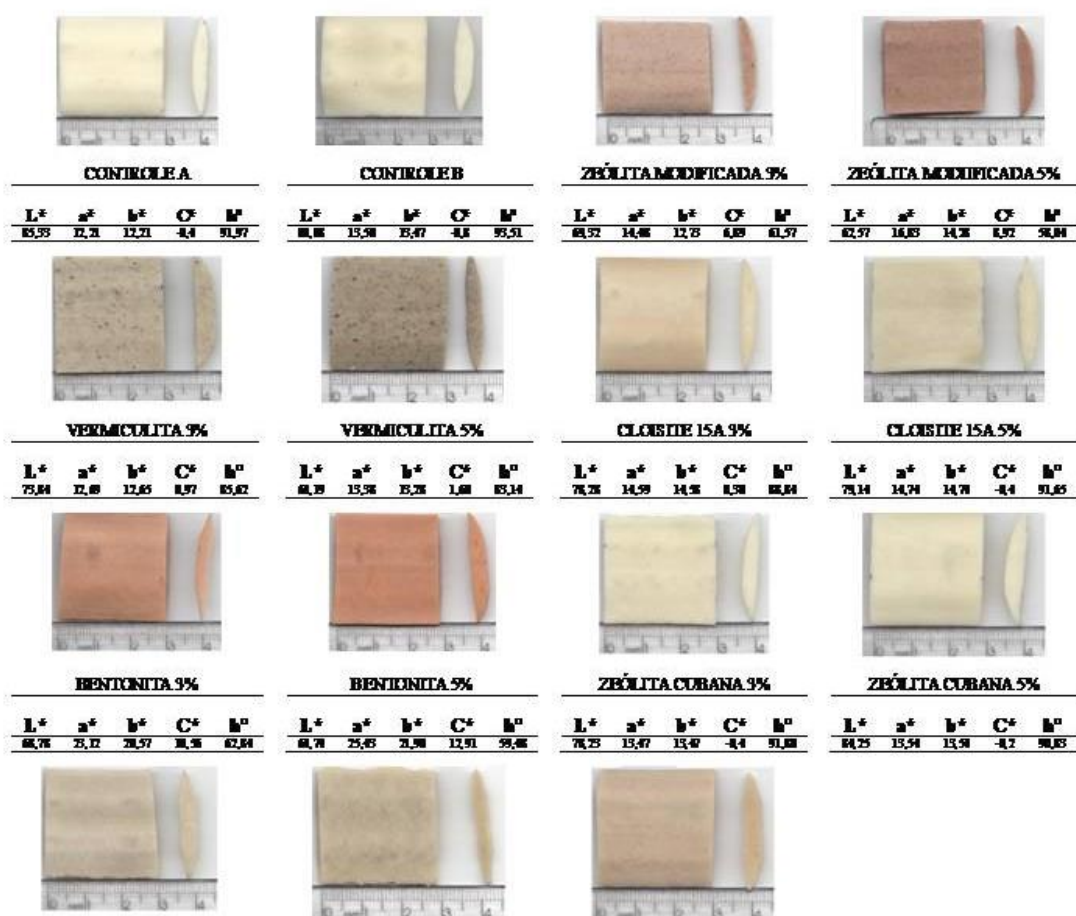
O incremento específico de carga diminuiu a luminosidade dos biocompósitos, com exceção das amostras adicionadas com Cloisite 15<sup>a</sup> e Zeólita cubana onde a relação foi diretamente proporcional para as análises realizadas.

Nos valores de  $a^*$  (valores negativos = verde e positivo = vermelho) o comportamento das amostras seguiu a mesma tendência da luminosidade. Nessa análise, o valor positivo indica que o tom da amostra é mais vermelho e o valor negativo indica um tom mais verde. Para esta variável os tratamentos adicionados de bentonita apresentam os maiores valores ( $\cong 24\%$ ) resultado que pode ser confirmado com simples observação visual. E falando da intensidade este estudo demonstrou que também existe uma relação diretamente proporcional com a intensidade deste parâmetro com a concentração da carga.

Com a variável  $b^*$  (negativo = azul e positivo = amarelo) houve um comportamento similar ao parâmetro  $a^*$ . Esse parâmetro informa a cor amarela tendo o maior valor os tratamentos controle e os adicionados com bentonita. Como as características físicas das cargas são responsáveis pela coloração dos pellet é esperado que nos tratamentos com maiores concentrações também seja maior este parâmetro de cor, onde o amarelo principalmente do amido seja menos observado.

O  $C_{ab}^*$  representa a intensidade da cor de forma, onde o menor valor encontrado foi o dos controles, biocompósitos de amido com adição de cloisite e zeólita cubana que são amostras brancas os maiores para os biocompósitos com adição de zeólita modificada e bentonita.

O  $h_{ab}^\circ$  que indica a tonalidade, ou seja, a cor propriamente dita enquanto os outros descrevem a luminosidade e intensidade da cor. O amarelo representado pela faixa  $90^\circ$ . As outras cores são  $0^\circ$ : vermelho,  $180^\circ$ : verde e  $233^\circ$ : azul. Os valores de todos os tratamentos variaram entre  $58$  e  $93^\circ$ , faixa representada pela cor amarela, como esperado pelo alto conteúdo de amido. Os tratamentos controle e adicionados de cloisite 15 A e zeólita cubana apresentaram ângulos em geral superiores a  $90^\circ$  à medida que os tratamentos com cargas de cores mais intensas foram analisados ângulos inferiores a  $90^\circ$  foram observados.



**Figura 49.** Comparação da cor dos pellets dos biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações.

A formulação de compósitos utilizando cargas orgânicas e inorgânicas com o objetivo de reforçar biofilmes a base de amido, modifica notavelmente as propriedades óticas dos bioplásticos, o estudo e comparação com polímeros sintéticos já existentes se torna importante para sua eventual aplicação e potencial aceitação no mercado.

Desta forma é importante mencionar alguns estudos, como o efetuado por Zhong e colaboradores (2011) que desenvolveram filmes de amido de Kudzu (*P. lobata*) e quitosana por *casting* com diferentes solventes ácidos (acético, láctico e málico). Ao avaliarem os atributos de cor instrumental, observaram que a adição de diferentes ácidos não alterou a luminosidade (em média: 87) nem o  $h_{ab}$  ( $179^\circ$ ) que indicou haver tom verde nos filmes. O  $a^*$  se apresentou negativo (intensidade verde) e  $b^*$  positivo (média: 10), o que também indicou intensidade amarela nas amostras. Além disto, os autores indicaram que houve a possibilidade da reação de Maillard ter ocorrido na presença de quitosana e glicerol.

Ghanbarzadeh e colaboradores (2010) elaboraram filmes de amido modificado e CMC (carboxi metil celulose: 0, 5, 10, 15, 20 e 25%) por *casting* e encontraram diferenças na cor mais significativas nas análises de luminosidade e o parâmetro  $b^*$ . Não foram encontradas diferenças em  $a^*$  (-1,49 a -1,61). A amostra isenta de CMC teve a menor luminosidade (mais escuro): 34,4 (0%) e 81,6 (20%) e maior escala  $b^*$  (intensidade amarela): 18,4 (0%) e 10,5 (20%). O aumento da adição de CMC elevou a luminosidade e reduziu de  $b^*$ . Nos filmes de

amido com FCA aqui produzidos, a medição da escala  $b^*$  apresentou resultado inverso 10,8 (0%) e 29 (20%), pois o CMC tornou os filmes mais brancos, enquanto a FCA (que apresenta coloração amarela) produziu filmes mais amarelos e, portanto com valores de  $b^*$  superiores.

### 4.3 Solubilidade em água

A insolubilidade à água é uma importante propriedade de biocompósitos a base de amido visando sua utilização como embalagem de alimentos que possuam alta atividade água ( $A_w$ ), ou que necessitem estar em contato com a água durante o processamento de alimentos revestidos por esses (vegetais minimamente processados). No entanto, a alta solubilidade pode ser uma vantagem em algumas aplicações onde a absorção da água pode melhorar a palatabilidade ou textura do alimento antes do consumo (GONTARD et al., 1993). A solubilidade dos filmes variou de 53,44 a 68,18%. Os resultados seguem na Tabela 9.

**Tabela 9.** Valores de solubilidade em água dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.

Amostra	Solubilidade em água (%)
Bentonita3%	57,2±2,3 <sup>ef</sup>
Bentonita5%	59,3±1,4 <sup>c</sup>
Cloisite 15A3%	56,5±1,5 <sup>e</sup>
Cloisite 15A5%	58,6±2,1 <sup>c</sup>
Nanolinter de algodão	68,5±1,2 <sup>a</sup>
Nova Clay3%	55,6±0,8 <sup>f</sup>
Nova clay5%	53,5±0,9 <sup>h</sup>
Vermiculita3%	53,4±0,8 <sup>h</sup>
Vermiculita5%	57,5±0,6 <sup>g</sup>
Zeolita cubana3 %	57,3±1,2 <sup>d</sup>
Zeolita cubana5%	54,6±1,1 <sup>d</sup>
Zeolita modificada 3%	54,5±0,2 <sup>g</sup>
Zeolita modificada 5%	57,4±0,4 <sup>d</sup>
Controle A	66,3±1,5 <sup>b</sup>
Controle B	68,1±0,7 <sup>a</sup>

Média ± desvio padrão de medições em triplicata. As medias com letras diferentes, diferem uma da outra de acordo ao teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Os resultados obtidos neste estudo podem ser comparados com a pesquisa desenvolvida por Bourtoom e Chinnan (2008) que encontraram efeito similar ao desenvolverem filmes de amido com quitosana por casting. Müller e colaboradores (2009) observaram mesmo comportamento em filmes de amido com fibras de celulose. Nas concentrações 30 e 50% de fibras a solubilidade atingiu seu menor valor. Ghanbarzadeh e colaboradores (2010) estudaram os efeitos da adição de CMC em filmes de amido de milho por casting nas seguintes concentrações: 0, 5, 10, 15 e 20%. A adição de CMC, em todas as concentrações reduziram a solubilidade. A adição de apenas 5% já reduziu a solubilidade,



enquanto de 5 a 15% a redução não foi significativa, porém ao adicionar 20% de CMC a redução é na ordem de quase 10%. Todos estes comportamentos são atribuídos a natureza hidrofóbica do material dentro da matriz de amido que pode reduzir estes valores.

#### 4.4 Permeabilidade ao vapor da água

A perda de umidade dos copos gravimétricos contendo água destilada foi linear durante os experimentos realizados, indicando transferência de massa em estado estacionário. A permeabilidade ao vapor de água variou de 0,30 a 0,63g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa para os biocompósitos de amido contendo as diferentes cargas estudadas neste trabalho e 0,26 63g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa para os bioplásticos de amido sem adição de cargas utilizados como controle. De acordo com a Tabela 10, a adição das cargas nos bioplásticos colaborou para o aumento da permeação de vapor de água. Por exemplo, a permeabilidade passou de 26,08 para os controles a 63 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa nos biocompósitos de amido adicionados de Novaclay (5%) , quando a concentração de carga variou de 3 para 5 %. Este fenômeno pode estar associado à redução da disponibilidade de grupos hidroxilas para ligação com a água, quando aumentada a concentração de plastificante nos filmes. (Mali, 2002), Müller et al. (2008), Laohakunjit e Noomhorm (2004) também encontraram maiores valores de permeabilidade ao vapor de água com o aumento de glicerol em filmes de amido de mandioca e filmes de amido de arroz.

**Tabela 10.** Valores de permeabilidade ao vapor d'água dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.

Amostra	Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/m <sup>2</sup> .h.kPa)
Bentonita3%	0,33±0,04 <sup>h</sup>
Bentonita5%	0,30±0,02 <sup>h</sup>
Cloisite 15A3%	0,48±0,05 <sup>de</sup>
Cloisite 15A5%	0,42±0,03 <sup>f</sup>
Nanolinter de algodão	0,51±0,05 <sup>c</sup>
Nova Clay3%	0,41±0,02 <sup>f</sup>
Nova clay5%	0,63±0,01 <sup>a</sup>
Vermiculita3%	0,48±0,03 <sup>e</sup>
Vermiculita5%	0,56±0,01 <sup>b</sup>
Zeolita cubana3 %	0,50±0,04 <sup>cd</sup>
Zeolita cubana5%	0,53±0,01 <sup>c</sup>
Zeolita modificada 3%	0,30±0,06 <sup>h</sup>
Zeolita modificada 5%	0,40±0,02 <sup>g</sup>
Controle A	0,27±0,04 <sup>i</sup>
Controle B	0,26±0,08 <sup>i</sup>

Média ± desvio padrão de medições em triplicata. As medias com letras diferentes, diferem uma da outra de acordo ao teste de Tukey (p < 0.05).

Para os tratamentos onde a permeabilidade aumentou, Dias e colaboradores (2010) observaram a elevação da PVA com o aumento do glicerol em filmes de amido. Eles atribuíram essa propriedade do filme à capacidade de hidratação do glicerol, por ser altamente higroscópico. Em estudo sobre a adição de micropartículas de óxido de zinco (KRISTO e BILIADERIS, 2007) em filmes de amido observaram uma redução expressiva da PVA, explicada pela dificuldade das moléculas de água ultrapassarem a o filme com sua superfície ocupada pelas micropartículas. Em contrapartida este estudo obteve resultados contrários, influenciado provavelmente pelo atrito que as partículas das cargas ocasionam na película de amido e glicerol na termopressagem.

#### **4.5 Ângulo de contato**

O ângulo de contato é um indicativo da molhabilidade do biocompósito, este termo é definido como a manifestação macroscópica da interação molecular entre sólidos e líquidos em contato direto na interface entre eles. As forças coesivas do líquido tendem a formar uma gota esférica, já as forças adesivas entre o sólido e o líquido tendem a espalhar o líquido sobre o sólido, assim o ângulo de contato é determinado pela competição entre estas duas forças. Segundo Bialopiotrowicz (2003) é um teste importante em filmes de amido, pois estes são elaborados com o propósito de recobrimento de frutas, que são armazenadas em câmaras-frias com UR elevada, podendo sob tal condição absorver água, perdendo sua aplicabilidade.

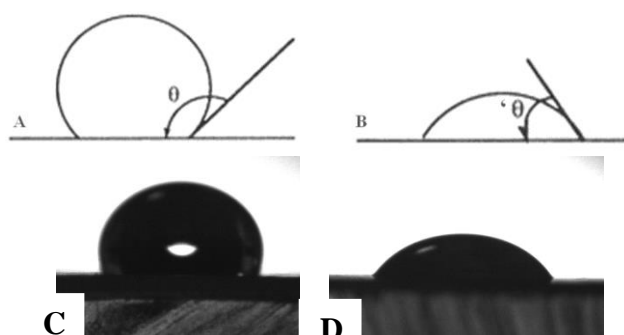
Na tabela 11 observa-se que o ângulo de contato da água com a superfície dos biocompósitos aumentou à medida que houve a elevação da concentração de polpa, apresentando os valores variando entre 22,24 a 29,76° (Fig.2), valores inferiores aos filmes de acetato de celulose (54,3°) e aos filmes de polietileno (105,1°) (VAN OSS, 1994). Essa diferença possivelmente está relacionada à natureza hidrofílica dos filmes de amido e aditivos, visto que foi observada em todas as amostras uma rápida absorção de água (AVÉROUS et al., 2004)

**Tabela 11.** Valores de ângulo de contato dos biocompósitos adicionados de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão de diferentes cargas e concentrações.

Amostra	Ângulo de contato ( $\theta$ )
Bentonita3%	48,4±1,9 <sup>h</sup>
Bentonita5%	48,2±0,2 <sup>h</sup>
Cloisite 15A3%	55,6±0,8 <sup>g</sup>
Cloisite 15A5%	59,5±0,6 <sup>e</sup>
Nanolinter de algodão	67,6±0,5 <sup>b</sup>
Nova Clay3%	56,6±1,2 <sup>f</sup>
Nova clay5%	32,4±0,7 <sup>m</sup>
Vermiculita3%	94,3±0,4 <sup>a</sup>
Vermiculita5%	66,6±0,2 <sup>c</sup>
Zeolita cubana3 %	38,2±0,7 <sup>i</sup>
Zeolita cubana5%	34,7±1,1 <sup>l</sup>
Zeolita modificada 3%	67,6±0,6 <sup>b</sup>
Zeolita modificada 5%	66,3±0,2 <sup>d</sup>
Controle A	37,3±0,4 <sup>j</sup>
Controle B	37,1±0,8 <sup>k</sup>

Média ± desvio padrão de medições em triplicata. As medias com letras diferentes, diferem uma da outra de acordo ao teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

O grau de hidrofiliicidade dos filmes foi avaliado por meio da determinação do ângulo de contato (Figura 50). Para obter informações sobre a cinética de absorção da gota d'água pelos bioplásticos adicionados e não adicionados de cargas, foram coletadas medidas por 10 s, com intervalo de microsegundos entre elas. Podemos observar que o biopólímero adicionado com 3% de vermiculita (Figura 50 C) apresentou molhabilidade menor quando comparado ao controle (Figura 50 D) produzindo um ângulo de contato mais estável, produto de uma cinética menor de absorção da gota d'água pelos biocompositos com adição de estas cargas.



**Figura 50.** Desenho esquemático de medidas de ângulo de contato em dois exemplos de tipos de material diferentes: com característica hidrofóbica (A) e hidrofílica (B). Fonte: Bastos, 2010. Fotografias da incidência da gota d'água no momento zero para os biocompósitos adicionados de (C) 3% vermiculita e (D) bioplástico controle sem adição de carga.

## 4.6 Propriedades mecânicas

### 4.6.1 Ensaios de Perfuração

Como referenciado anteriormente este ensaio visa avaliar os parâmetros de qualidade de materiais utilizados no acondicionamento de produtos com cantos vivos e outros tipos de protuberâncias que possam danificar a embalagem durante o acondicionamento e a distribuição. É, também, de grande utilidade quando se deseja dificultar a violação de uma embalagem (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A Força implementada nesta análise é dependente do material presente na estrutura, da espessura, do formato da ponteira, da presença ou grau de orientação, do módulo de elasticidade, da taxa de penetração (velocidade do ensaio), entre outros (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Desta maneira podemos observar na Tabela 12 que a concentração das cargas utilizadas neste estudo teve um efeito inversamente proporcional com a força implementada pela sonda, este comportamento só foi diferente para as amostras com 5% bentonita e com 5% de zeolita modificada, onde o aumento da concentração da carga aumentou em 49,87 e 31,07% respectivamente mostrando, portanto menor cristalinidade e orientação molecular destas amostras, indicando que provavelmente existe algum grau de esfoliação nestas amostras.

De acordo com outros autores quanto maior a rigidez do filme maior será a resistência à perfuração. Esses resultados corroboram os encontrados por Sobral (2000) trabalhando com filmes à base de proteínas, Sobral (1999) trabalhando com filmes à base de gelatina e Mali et al. (2005) trabalhando com filmes à base de amido plastificados com glicerol.

Por outra parte os valores de deformação na ruptura encontrada neste estudo (Tabela 12), o aumento na deformação foi constante mesmo com as diferenças de espessura, resultados que corroboram os encontrados por Sobral (1999) trabalhando com filmes à base de gelatina.

Comparando-se os resultados de força máxima na ruptura dos biocompósitos, os filmes adicionados de closite em 5%, nanolinter 5% e zeolita cubana 3 e 5% de concentração apresentaram os maiores valores. Por outra parte as maiores deformações foram atingidas com a adição de 5% de adição de zeolita cubana e zeolita modificada, já os filmes de amido sem a incorporação cargas apresentaram baixa resistência à perfuração, se comparados com os outros mais com valores intermédios de deformação. Os resultados expostos na Tabela 12 mostram que a incorporação de cargas ao bioplástico aumenta a sua resistência.

**Tabela 12.** Valores de força e deformação na perfuração dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.

<b>Tratamento</b>	<b>Força na Perfuração (N)</b>	<b>Deformação na Perfuração (%)</b>
Bentonita 3%	15,3 ± 0,46 <sup>n</sup>	1,3±0,26 <sup>m</sup>
Bentonita 5%	30,6±1,14 <sup>h</sup>	16,4±2,04 <sup>h</sup>
Cloisite 15A 3%	34,4±2,02 <sup>c</sup>	20,4±0,82 <sup>f</sup>
Cloisite 15A 5%	31,9±3,08 <sup>f</sup>	25,0±2,79 <sup>c</sup>
Nanolinter de algodao 5%	35,1±0,39 <sup>b</sup>	3,7±0,54 <sup>l</sup>
Novaclay 3%	28,5±0,86 <sup>i</sup>	7,1±0,45 <sup>k</sup>
Novaclay 5%	27,7±0,50 <sup>j</sup>	14,6±0,80 <sup>i</sup>
Vermiculita 3%	32,7±0,90 <sup>d</sup>	21,4±0,68 <sup>e</sup>
Vermiculita 5%	24,6±1,13 <sup>l</sup>	16,4±0,89 <sup>h</sup>
Zeolita cubana 3%	36,3±0,58 <sup>a</sup>	11,1±0,35 <sup>j</sup>
Zeolita cubana 5%	32,4±0,80 <sup>e</sup>	48,2±1,0 <sup>a</sup>
Zeolita modificada 3%	21,9±0,79 <sup>m</sup>	18,7±0,67 <sup>g</sup>
Zeolita modificada 5%	31,8±0,97 <sup>g</sup>	42,2±1,07 <sup>b</sup>
Controle	26,3±0,55 <sup>k</sup>	23,7±1,11 <sup>d</sup>

Média ± desvio padrão de 30 medições. As medias com letras diferentes, diferem uma da outra de acordo ao teste de Tukey (p < 0.05).

#### 4.6.2 Ensaios de Tração

Os resultados de tensão na tração (MPa), deformação na tração (%) e módulo de Young (MPa) obtidos nos ensaios efetuados no presente estudo estão apresentados na Tabela 1 para os biocompósitos e bioplásticos utilizados como controle.

A Tabela 13 mostra que para a maioria dos biocompósitos há uma diminuição da tensão na ruptura e do módulo de elasticidade com o aumento da concentração de cargas na matriz polimérica. Isso demonstra que o filme torna-se mais rígido com o aumento das mesmas. Também se pode notar que, com o aumento da rigidez, houve um aumento da deformação na ruptura dos biocompósitos, este comportamento só difere do obtido pela utilização de cloisite 15A cuja aparência e maleabilidade não foi atrativa para este estudo nas condições de processo utilizadas.

Uma justificativa para estes comportamentos foi descrita por Jansson e Thuvander (2004), que estudaram a influência da espessura de filmes de amido e glicerol (suspensão de 18 g de amido/100 g de suspensão e 30 g de glicerol/100 g fécula seca) secos à temperatura ambiente. O trabalho mostrou que a tensão na ruptura aumentou de 2 para 4 MPa e o módulo de Young aumentou de 20 para 100 MPa quando a espessura variou de 0,3 a 1,0 mm. Eles atribuíram o aumento do módulo de elasticidade à variação no grau de alongamento da molécula durante a secagem. Ao evaporar a água, o volume diminui e o filme encolhe, deformando-se. A taxa de deformação irá depender da espessura do filme, pois a evaporação da água se torna controlada pela difusão. Nos filmes mais finos a água evapora mais rapidamente e as moléculas do filme não têm tempo de se adaptar ao encolhimento. Nos filmes mais espessos a água evapora lentamente e as moléculas têm tempo suficiente para sofrer a relaxação e orientarem-se. Como os filmes mais espessos permanecem com uma maior quantidade de água por um tempo maior, é esperado que a cristalinidade desses filmes

seja maior. As pequenas diferenças encontradas para a tensão na ruptura com o aumento da espessura indicam que o polímero empacotou similarmente em todas as espessuras. Desta forma poderíamos associar que a densidade das cargas e sua compatibilidade com a matriz dos biocompósitos desenvolvidos jogam um papel importante na espessura e isso pode de igual forma afetar os ensaios de tração.

**Tabela 13.** Valores de tensão e deformação na tração e módulo de Young dos biocompósitos de amidos e glicerol adicionados de argilominerais e nanolinter de algodão adicionados de diferentes cargas e concentrações.

<b>Tratamento</b>	<b>Tensão na Tração (MPa)</b>	<b>Deformação na Tração (%)</b>	<b>Módulo de Young (MPa)</b>
Bentonita 3%	25,1±0,16 <sup>c</sup>	3,7±0,40 <sup>n</sup>	6,7±0,35 <sup>a</sup>
Bentonita 5%	12±7±0,37 <sup>h</sup>	26,1±0,34 <sup>f</sup>	3,5±0,62 <sup>d</sup>
Cloisite 15A 3%	10,7±0,48 <sup>j</sup>	28,2±0,70 <sup>e</sup>	2,0±0,09 <sup>i</sup>
Cloisite 15A 5%	11,5±1,22 <sup>i</sup>	13,1±0,76 <sup>j</sup>	3,4±0,49 <sup>d</sup>
Nanolinter de algodao 5%	48,8±1,20 <sup>a</sup>	9,5±0,50 <sup>k</sup>	5,4±0,50 <sup>b</sup>
Novaclay 3%	21,2±0,49 <sup>d</sup>	8,2±0,66 <sup>m</sup>	3,3±0,29 <sup>e</sup>
Novaclay 5%	8,2±0,45 <sup>l</sup>	25,0±0,73 <sup>g</sup>	1,5±0,35 <sup>j</sup>
Vermiculita 3%	8,9±0,52 <sup>k</sup>	29,3±0,67 <sup>d</sup>	0,8±0,06 <sup>k</sup>
Vermiculita 5%	7,9±0,09 <sup>m</sup>	19,1±0,54 <sup>h</sup>	0,8±0,06 <sup>k</sup>
Zeolita cubana 3%	40,3±0,56 <sup>b</sup>	8,5±0,53 <sup>l</sup>	5,3±0,6 <sup>c</sup>
Zeolita cubana 5%	6,5±0,5 <sup>n</sup>	55,4±2,22 <sup>a</sup>	0,7±0,09 <sup>l</sup>
Zeolita modificada 3%	13,4±0,43 <sup>f</sup>	15,3±0,44 <sup>i</sup>	2,3±0,33 <sup>h</sup>
Zeolita modificada 5%	12,4±0,39 <sup>g</sup>	30,4±0,62 <sup>c</sup>	2,6±0,29 <sup>f</sup>
Controle	17,6±0,54 <sup>e</sup>	53,8±1,11 <sup>b</sup>	2,5±0,10 <sup>g</sup>

Média ± desvio padrão de 30 medições. As medias com letras diferentes, diferem uma da outra de acordo ao teste de Tukey (p < 0.05).

Comparando-se os tipos de carga utilizados, os valores dos módulos de elasticidade do biocompósito com 5% de zeolita cubana apresentaram um claro aumento deste valor, hipoteticamente este resultado e as micrografias efetuadas neste estudo mostram que o processo de espalhamento da carga tenha orientado a matriz e melhorado estas características.

Ao comparar o bioplástico controle com os biocompósitos adicionados de 5% de nanolinter de algodão e 3% de zeolita cubana, percebe-se que as cargas causaram grande aumento na tensão de ruptura, conferindo um reforço ao bioplásticos de amidos. Porém, há uma diminuição na deformação na tração com a incorporação das mesmas, como relatado na literatura (MÜLLER, 2007; MORAES, 2009).

#### 4.7 Propriedades viscoamilográficas

Na Figura 51 são apresentados os perfis das curvas de viscosidade de pasta em função do tempo e da temperatura dos biocompósitos de amidos e glicerol com as diferentes cargas. A propriedade de viscosidade de pasta de bioplásticos extrudados é importante, principalmente, quando se quer dar uma aplicação específica ao material produzido ou para saber que tão susceptível é a matéria prima que forma o biocompósito em diferentes

temperaturas na presença de água. As modificações de viscosidade dos extrudados têm sido demonstradas em diversos estudos e são afetadas pelas condições de operação do processo de extrusão (GALDEANO, 2005; GUHA et al., 1998).

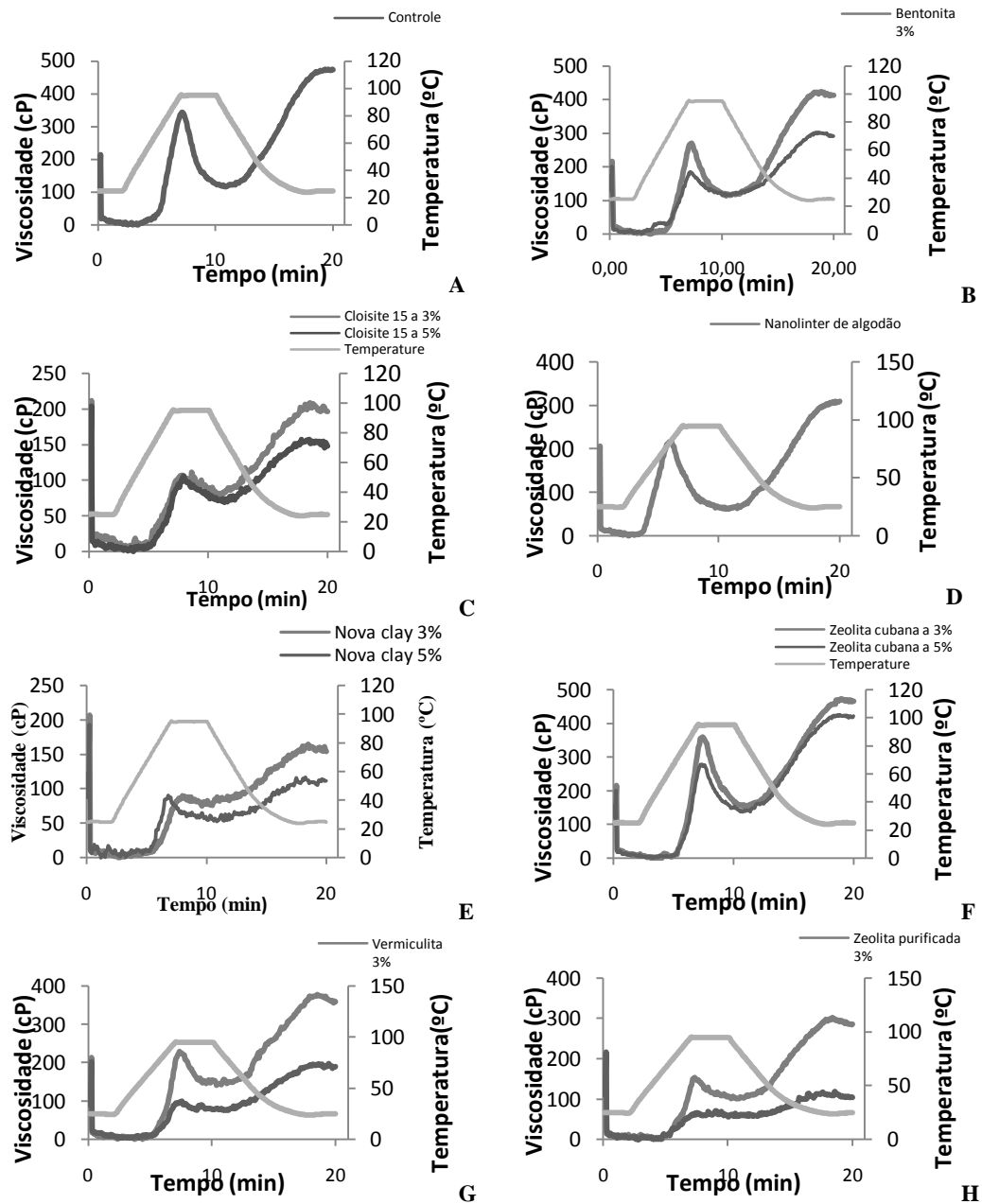
No geral misturas de amido e cargas apresentam menor viscosidade inicial do que a dos materiais processados sem adição de carga. O mesmo efeito pode ser observado também para as viscosidades finais das misturas. Estes valores podem ajudar na comparação das diferenças entre as cargas e a concentrações adicionadas ao biocompósito a base de amido extrudado. Pode se observar que a viscosidade inicial das amostras em água a 25 ° C (viscosidade a frio) é nula para todos os tratamentos. Esta propriedade indica o potencial da mistura de amido para absorver a água à temperatura ambiente e formar uma pasta líquida ou gel viscoso (BECKER et al., 2001).

Os perfis obtidos podem estar justificados pelas baixas temperaturas utilizadas no processamento e pela ação como lubrificante do glicerol durante o mesmo. O processamento de amido para a produção de bioplásticos é influenciado pelas matérias-primas e sua interação no processo. E provocando temperaturas acima ou abaixo da gelatinização do amido, resulta em curvas características para cada biocompósito. No caso de misturas de amido e glicerol sem adição de carga (Figura 51a), durante os primeiros 8 minutos, a viscosidade da pasta foi de 350 cP, e depois diminuiu para 210 cP, durante o ciclo de aquecimento. Isto implica que a maioria dos grânulos de amido absorveu água, indicando integridade dos seus grânulos. Nas figuras 3b, c, d, e, f, g e h, pode ser visualizado que a viscosidade inicial dos amidos foi menor do que 350 cP, e que em alguns minutos de aquecimento e agitação se obteve uma diminuição nos valores da mesma forma que no controle. Mesmo assim as amostras com adição de cargas processadas nas mesmas condições por extrusão, apresentam diferenças. A adição das cargas nas amostras, mostraram uma menor viscosidade, resultado justificado pela diminuição do teor de amido ou pelo aumento no atrito que a adição das cargas provoca nos grânulos de amido.

Os valores de viscosidade a 95 °C são um parâmetro que mede a resistência dos grânulos amido e seu colapso resultante da ação de temperatura e estresse mecânico no RVA. De acordo com os resultados obtidos, as misturas de amido (Figura 51a) mostrou uma maior capacidade de absorção de água a 95 °C, fator indesejável para nossas matrizes. Desta forma é importante que a matriz dos biocompósitos adicionados de cargas sejam menos higroscópicas.

As propriedades higroscópicas de bioplásticos de amido estão diretamente relacionadas com o grau de gelatinização do amido que é a combinação do evento de fusão da porção cristalina do grânulo e da transição vítrea da sua porção amorfa, que ocorre como consequência da aplicação do calor numa suspensão aquosa, bem como produto da agitação mecânica empregada. Inicialmente, o intumescimento é reversível, tornando-se irreversível conforme o aumento da temperatura que rompe as pontes de hidrogênio e permite a incorporação de água pelo amido. Tal incorporação aumenta a separação entre as cadeias e a aleatoriedade, diminuindo o número e o tamanho das regiões cristalinas e a perda da birrefringência. O rompimento dos grânulos libera a amilose, o que contribui para o aumento da viscosidade da suspensão (FUKUOKA, et al., 2002; MATUDA, 2004; THIRÉ et al., 2003)

Neste estudo os resultados também indicam uma degradação parcial da estrutura cristalina do amido durante a extrusão. De acordo com a Figura 51, as viscosidades finais também foram menores com a adição de cargas. Os valores elevados para a viscosidade final e máxima foram atribuídos à elevada proporção de grânulos de amido intacto como observado por outros autores (MENEGASSI et al., 2007; SILVA, 2007; TORRES et al., 2005; CARVALHO et al., 2002) e conseqüentemente das características tecnológicas dos bioplásticos desenvolvidos.



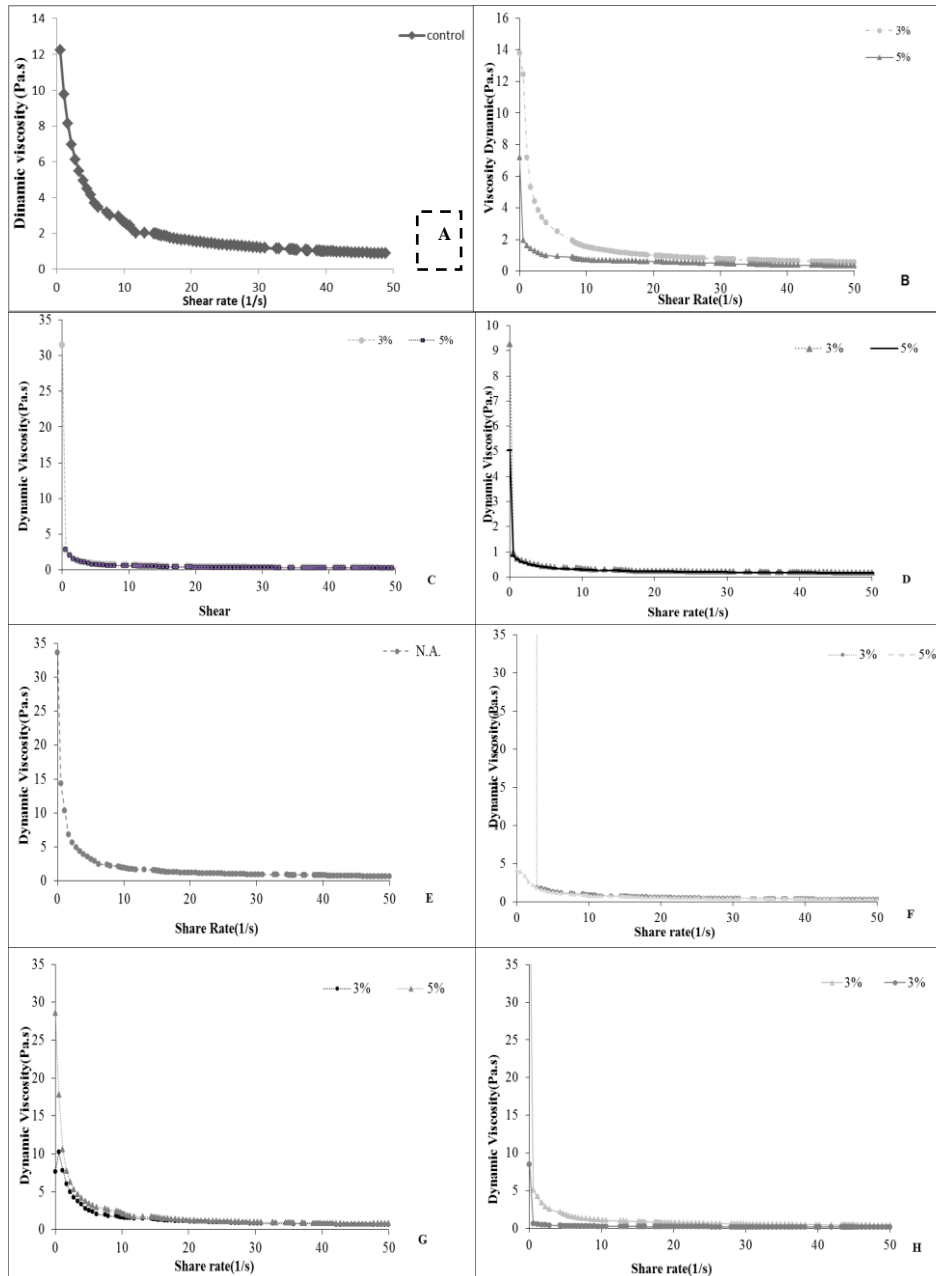
**Figura 51.** Comparação dos perfis de viscosidade dos biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações.

#### 4.8 Propriedades reológicas

Os resultados das análises das misturas dos biocompósitos e do controle, durante a rampa de cisalhamento estão representados nas Figuras 52. Durante a análise houve uma redução na viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. De acordo com a Tabela 14, as amostras, ajustaram-se melhor ao modelo de Ostwald de Waele, já que o fator de correlação ( $R^2$ ), está próximo a 1 (0,99). O modelo de Ostwald de Waele é regido pela equação  $\sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n$ , onde:  $\sigma$  é a tensão de cisalhamento, K é o índice de consistência de fluxo,  $\dot{\gamma}$  é a taxa de cisalhamento e n é o índice de comportamento de fluxo, onde o valor de n é



responsável pela distinção do comportamento de fluido do material, sendo  $n < 1$  = pseudoplástico,  $n = 1$  = newtoniano e  $n > 1$  = dilatante. Portanto pode-se concluir que as amostras possuem um comportamento pseudoplástico já que todos os resultados apresentaram  $n$  menor que 1(0,29-0,62).



**Figura 52.** Reogramas obtidos das misturas de amido e cargas (A. Controle, B. Bentonita, C. Cloisite 15A, D. Novaclay, E. Nanolinter de algodão, F. Zeolita cubana, G. Zeolita modificada em diferentes concentrações).

Os valores do índice de comportamento de fluxo (Tabela 14) obtidos durante a análise indicaram que a concentração das cargas nos biocompositos tem efeito diretamente proporcional, pois a quanto menores foram as concentrações de carga nas amostras o comportamento apresentou-se mais pseudoplástico. A amostra controle (A) apresentou o mesmo comportamento pseudoplástico ( $n=0,29$ ). Esse comportamento pseudoplástico pode ser explicado pela orientação progressiva das moléculas solúveis de amido na direção do fluxo, bem como a ruptura do sistema de ligação intra e intermolecular na rede de amido que aumenta a sensibilidade à força de cisalhamento (SUN e YOO, 2011).

Os valores do índice de consistência ( $K=598,2-7513$  Pa.s) (Tabela 14) indicaram que as amostras com menores teores de carga apresentaram maior índice de consistência, entretanto com a adição das cargas zeolita cubana apresentaram maiores valores de K. Esse comportamento, provavelmente, ocorreu porque a carga influencia na reticulação, o que garante caráter mais elástico, portanto a adição da mesma torna a mistura mais consistente. Em relação a concentração das cargas, teores de 3% IPS garantem maior interação na rede entre o amido e as proteínas, garantindo valores de K maiores.

**Tabela 14.** Valores de índice de consistências (K), Índice de comportamento de fluido (n), e fator de correlação ( $R^2$ )

Amostra	K (Pa.s)	n	$R^2$
Bentonita 3%	6478	0,3603	0,9995
Bentonita 5%	3620	0,4165	0,9994
Cloisite 15A 3%	2048	0,4424	0,9992
Cloisite 15A 5%	1136	0,508	0,9994
Nanolinter de algodão	8270	0,3567	0,9959
Novaclay 3%	721,4	0,6166	0,9998
Novaclay 5%	665,3	0,6207	0,9998
Vermiculita 3%	3447	0,3909	0,9995
Vermiculita 5%	2388	0,4632	0,9978
Zeolita cubana 3 %	7513	0,3194	0,9991
Zeolita cubana 5%	1374	0,374	0,999
Zeolita modificada 3%	4975	0,3068	0,9986
Zeolita modificada 5%	598,2	0,6911	0,9998
Controle	9362	0,2962	0,9977

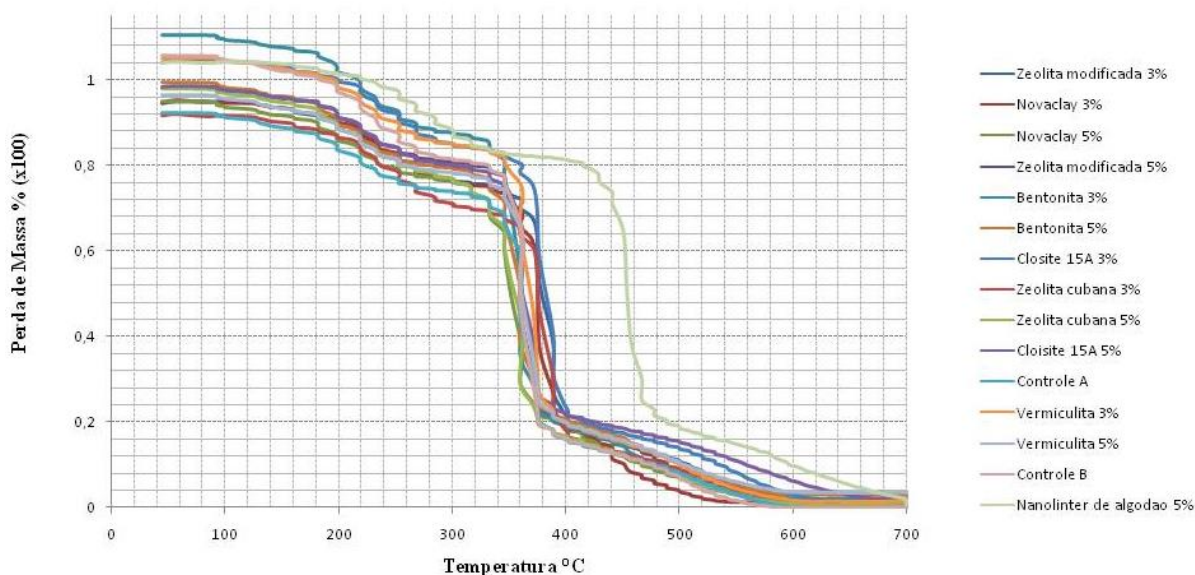
#### 4.9 Análise termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica dos materiais poliméricos é geralmente estudada por análise termogravimétrica. Por meio dessa técnica, a perda de massa devida à formação de compostos voláteis após a degradação da amostra a altas temperaturas é monitorada em função da temperatura (SOARES et al., 2005). A Figura 53 mostra os termogramas obtidos para os diferentes biocompósitos com adição de suas cargas específicas em concentrações de 3 e 5% respectivamente, e dois controles sem adição de carga. A faixa de temperatura estudada variou entre 25 e 700 °C. O termograma da Figura 532 mostra perda de massa praticamente total em duas etapas e a temperaturas elevadas (na faixa entre 340 a 460 °C), o que confirma a alta estabilidade térmica do biocompósitos elaborados no presente estudo (BANU e RADHAKRISHNAN, 2004; Andrade et al., 2008). Nota-se que a degradação térmica da

celulose da amostra com nanolinter de algodão a qual envolve reações de despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas no intervalo ocorrem entre 440-470 °C. Para todas as amostras uma primeira etapa de degradação ocorreu a 200 °C e pode ser atribuídos à degradação de compostos de menores massas molares, presentes em menores teores. Na segunda etapa, a perda de massa ocorreu devido à degradação térmica da grande maioria de moléculas. A decomposição máxima mais elevada para essa etapa ocorreu para amostra adicionada de nanolinter (5%) a 700 °C. Para os outros biocompósitos, a etapa de perda de massa em torno de  $380\pm 20$  °C não foi observada. No entanto, não foi efetuada a curva da derivada que poderia corroborar a modificação química do bioplástico com adição de cargas. O aumento da estabilidade térmica para amostra com nanolinter de algodão na concentração de 5% pode ser explicada pela presença de resíduos usados na reação de modificação química. Uhl et al., 2000, estudaram o efeito da estabilidade térmica do polibutadieno reticulado com diversos dióis e verificaram o decréscimo da estabilidade térmica das amostras reticuladas em comparação com a amostra original não modificada.

De acordo com Aggarwall e Dollimore (1998), o tratamento térmico em amidos normalmente leva à sua despolimerização quando a temperatura aplicada excede os 300 °C. O amido passa por uma série de alterações irreversíveis: num primeiro momento a alteração estrutural leva o polímero à formação de pirodextrinas. Em temperaturas mais elevadas ainda, a despolimerização das macromoléculas levam à formação de levoglucosana, furfural, produtos de baixa massa molecular e voláteis, e enfim, em produtos carbonáceos (cinzas).

Acima de 400 °C, para todas as amostras foi manifestado um pico em torno de 400 - 580 °C o qual está relacionado com a degradação de resíduos carbonáceos. Verificou-se ainda para, algumas amostras, grande resíduo de cinzas principalmente para a o biocompósito com nanolinter. Segundo Roman e Winter (2004), este evento se deve a capacidade de gerarem grande quantidade de cinzas, pois os grupos sulfatos podem atuar como retardantes de chama.



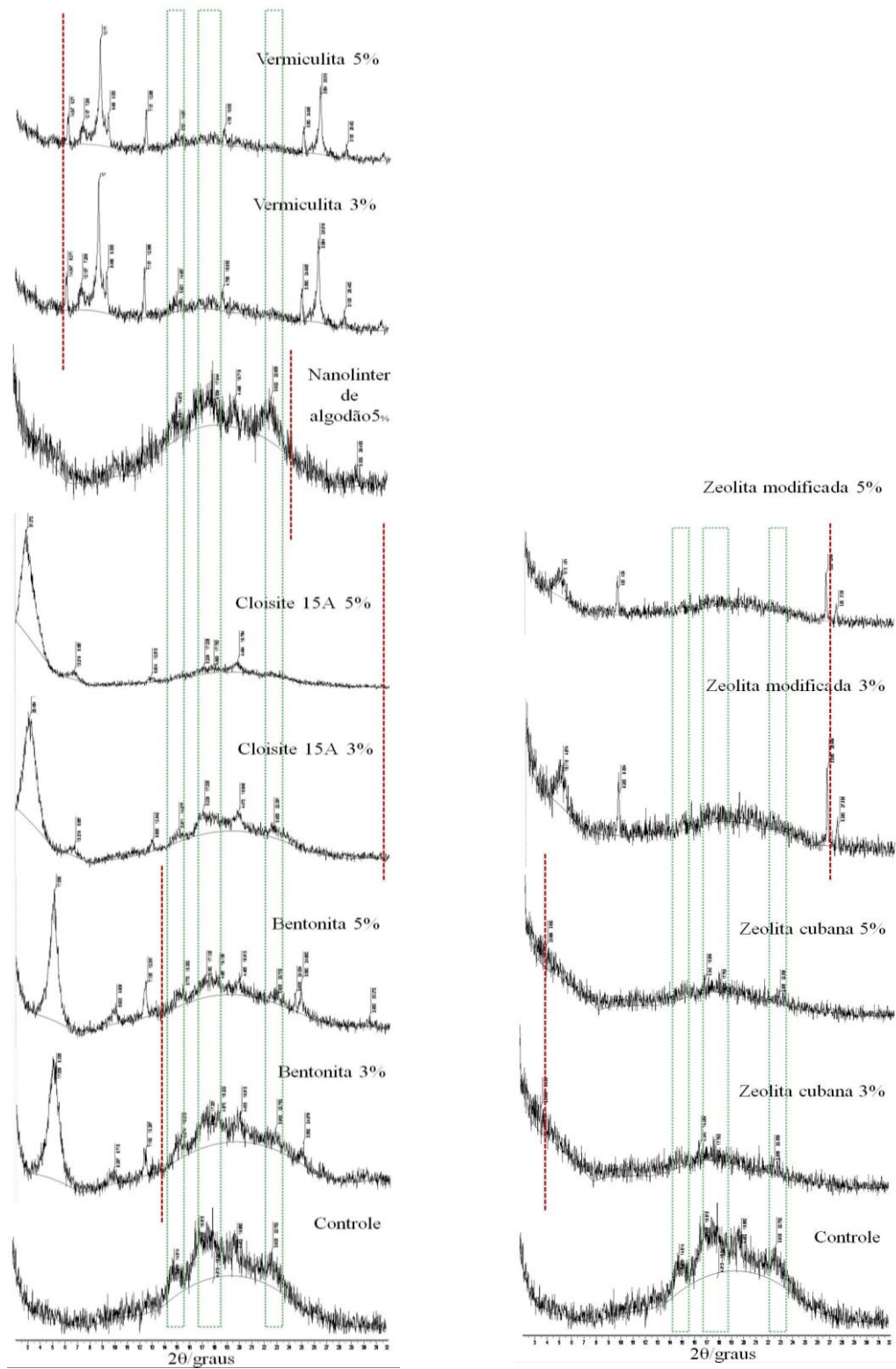
**Figura 53.** Comparação da estabilidade térmica dos biocompósitos de amido e glicerol com diferentes cargas e concentrações.

#### 4.10 Análise de cristalinidade (DRX)

A fim de investigar a possível interrelação do amido na estrutura das cargas utilizadas como reforço no processamento dos biocompósitos, foram feitas análises por difratometria de raios-X, como mostrado na Figura 54. Nesta análise, a interação entre a bentonita e o amido é evidenciada pelo deslocamento do pico basal  $d_{001}$  ( $13,8^\circ$ ) da Bentonita para regiões de menores ângulos, o mesmo aconteceu para o Nanolinter de algodão ( $24^\circ$ ), Zeolita cubana ( $6^\circ$ ) e Zeolita modificada ( $27^\circ$ ) o que indica a entrada de moléculas componentes do amido nos espaçamentos basais das mesmas, não foi possível observar este comportamento para os biocompósitos com Cloisite 15A e Vermiculita o que indica a produção de biocompósitos convencionais, não esfoliados. Para a os biocompósitos adicionados de Novaclay não foi possível realizar esta análise devido a problemas operacionais. Deve-se notar que, não houve esfoliação completa nos biocompósitos desenvolvidos, visto que o pico basal manteve-se deslocado, ou seja, há ainda certa ordenação das cargas. Isso se deve provavelmente a problemas de seleção e homogeneização das fases escolhidas como reforço.

Na Figura 54 se apresentam também os difratogramas para os biocompósitos considerando a cristalinidade das amostras de amido tipo “A”, nos quais é possível verificar que o comportamento dos compósitos em relação ao espaçamento basal se mantém, ou seja, houve intercalação de amido nas lamelas das cargas. Verificam-se sinais da presença dos cristais de amido nos biocompósitos. O amido apresentou comportamento cristalino, com picos nas regiões de  $15$ ,  $17,9$  e  $23^\circ$ . Esses picos também são identificados no bioplástico contendo apenas amido (controle), a presença de amido cru fez com que o material se apresentasse cristalino, diferentemente dos amidos pré-gelatinizados, onde a estrutura semicristalina é mínima ou nula.

Resultados similares foram achados pela pesquisa desenvolvida por GIROTO (2013), que desenvolveu nanocompósitos com montmorillonita e observou comportamentos similares na tendência de esfoliação desta carga.



**Figura 54.** Difratoigramas de raios-X de biocompositos de amidos e glicerol e bioplásticos de amido (controle).

#### 4.11 Análise de Microestrutura

Baseado nos resultados promissores de esfoliação parcial estipulados nas análises de difração de raios-x dos biocompósitos com suas respectivas cargas (bentonita, nanolinter de algodão, zeólita modificada e zeólita cubana), mudanças morfológicas dos materiais adicionados de zeólita modificada com 3% de concentração foram investigadas por microscopia (Figura 55). Verifica-se que a matriz de amido apresentou uma superfície com regiões homogêneas (azul) e heterogêneas (vermelhas), indicando potencial degradação e distribuição das cargas de zeólita modificada com 3% de concentração, como também foi verificado por, GIROTO, 2013 e CAMPOS et al. (2012).

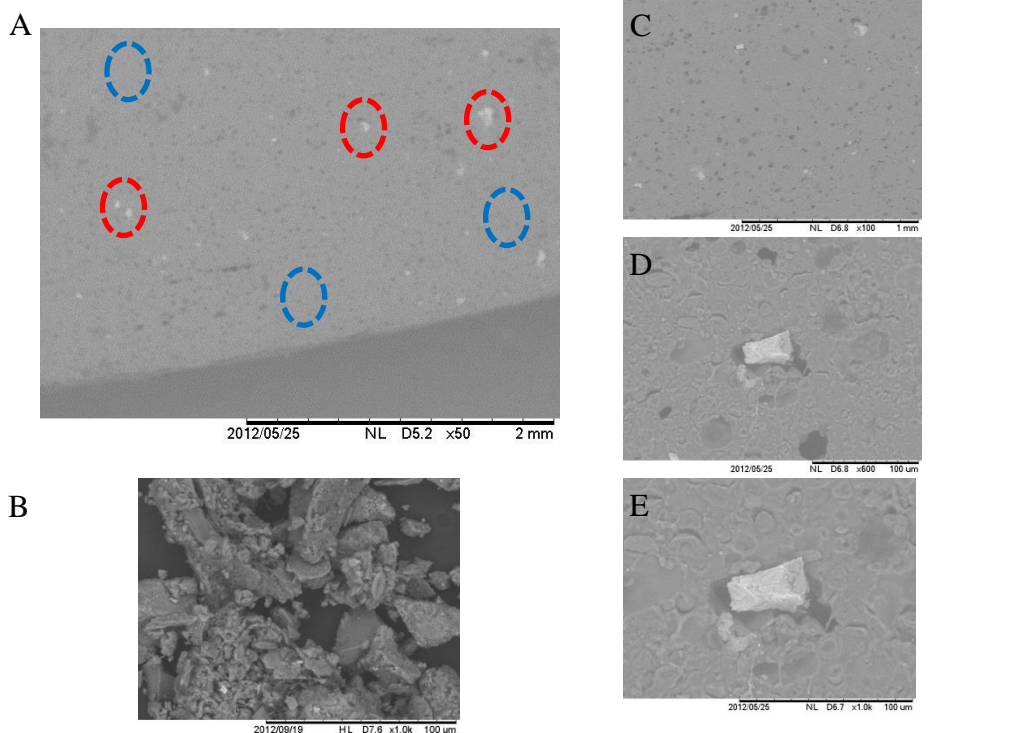
Em relação à dispersão da zeólita, análises de espectrometria de energia dispersa foram realizadas na sua morfologia verificando que resíduos da zeólita se encontram distribuídos na totalidade do biocompósito, fortalecendo desta forma a hipótese de esfoliação.

Outra observação pertinente que pode ser apreciada para avaliar a distribuição desta carga pode ser observada na Figura 55B, modificações estruturais ou até mesmo morfológicas é encontrada nas imagens para a amostra pura, como já havia sido verificado pelos difratogramas de raios-X.

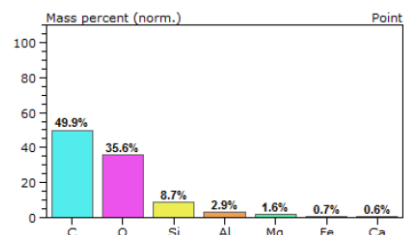
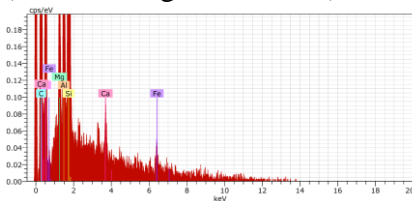
Os mesmos resultados foram aplicados e observados para os biocompósitos com 5% de zeólita, como pode ser visualizado na Figura 56 mais em menor proporção quando comparado com a adição de 3%, onde inclusive as modificações estruturais foram menores (Figura 56B). A Tabela 15 apresenta o comportamento das cargas com respeito a sua distribuição na sua microestrutura.

**Tabela 15.** Distribuição das cargas nos biocompósitos.

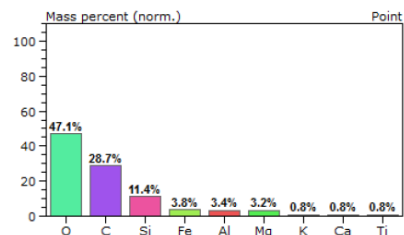
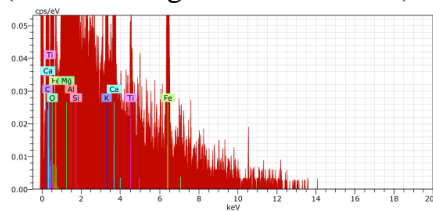
<b>Amostra</b>	<b>Distribuição uniforme</b>	<b>Elementos presentes</b>
Bentonita 3%	Presença	C, O, Si, Al
Bentonita 5%	Presença	C, O, Si, Al, Mg, Fe, Ca, Na
Cloisite 15A 3%	Presença	C, O, Fe, Si, Al, K, Mg, Ca
Cloisite 15A 5%	Presença	C, O, Si, Ca
Nanolinter de algodão	Ausência	C, O, N, Cu, Cl, K
Novaclay 3%	Presença	C, O, Si, Al, Na, Ca
Novaclay 5%	Presença	C, O, Si, S, K, P, Al, Si
Vermiculita 3%	Presença	C, O, Si, Mg, Fe, K, Al
Vermiculita 5%	Presença	C, O, Si, Ca, Fe, Mg, Al, K
Zeólita cubana 3 %	Presença	C, O, Ca, Si, Mg
Zeólita cubana 5%	Ausência	C, O, Fe, Si, K, Al, Mg, Ti
Zeólita modificada 3%	Presença	C, O, Si, Al, Mg, Fe, Ca, K, Ti
Zeólita modificada 5%	Presença	C, O, Si, Fe, Al, Mg
Controle	Ausência	C, O, Ca



Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Homogenea – Azul)

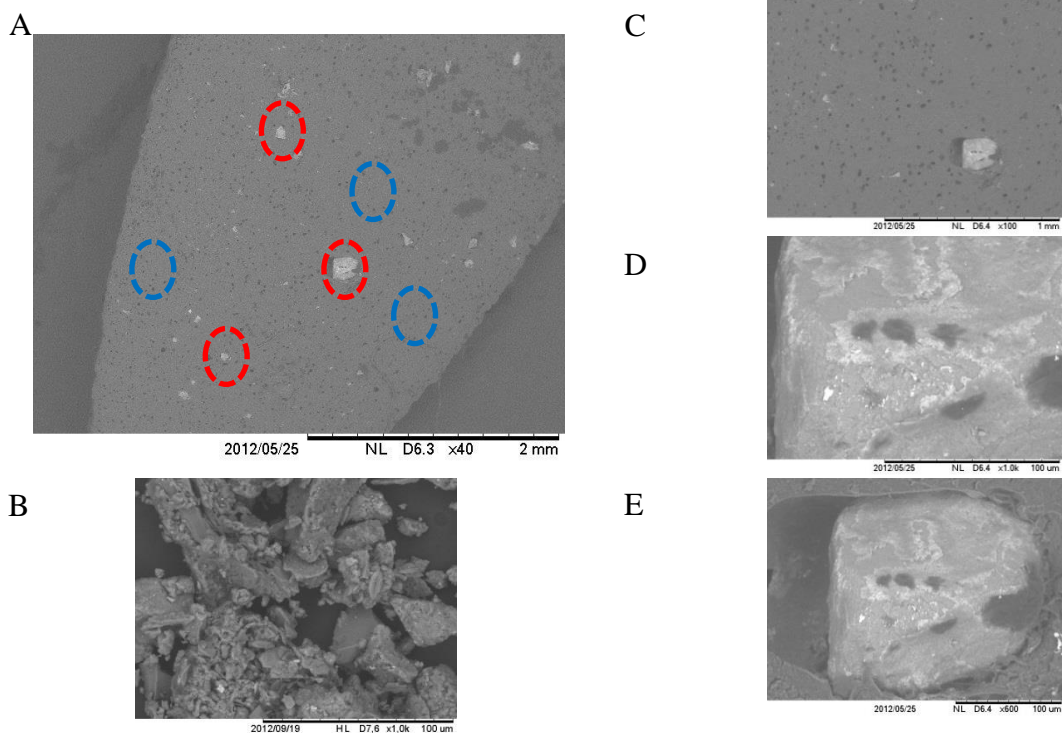


Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Heterogenea – Vermelho)

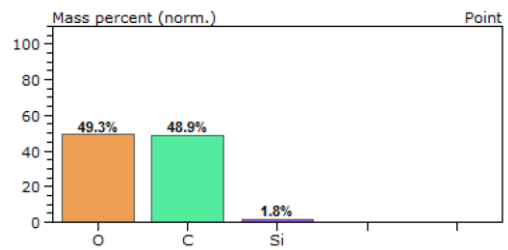
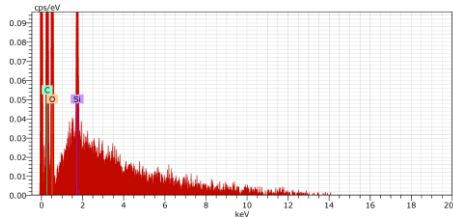


**Figura 55.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV da zeolita modificada pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 600 x. E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita modificada com aumento de 1000 x.

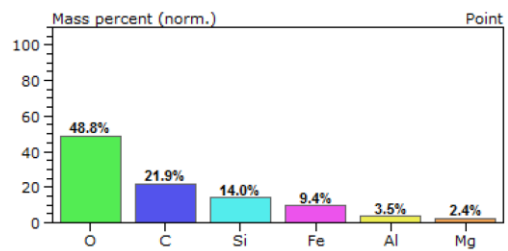
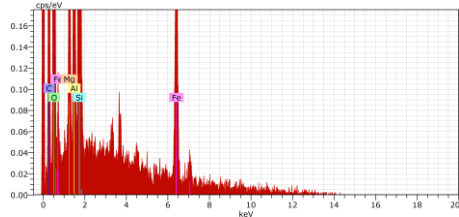




Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Homogenea – Azul)



Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Heterogenea – Vermelho)

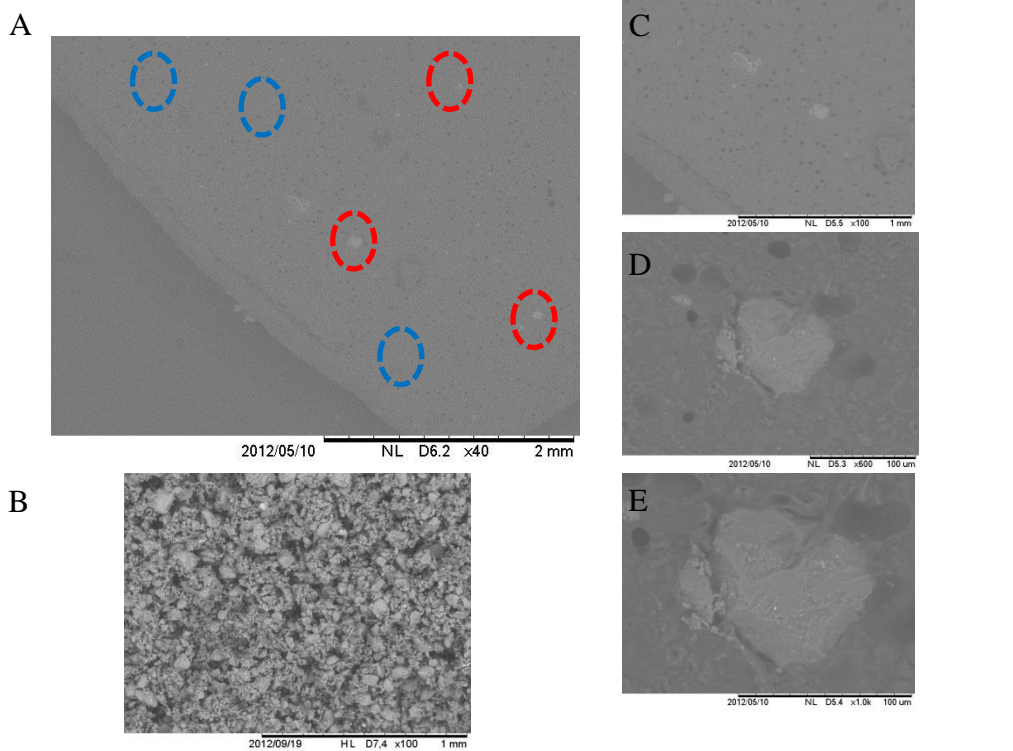


**Figura 56.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV da zeolita modificada pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita modificada com aumento de 1000 x.

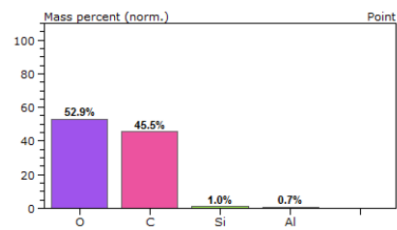
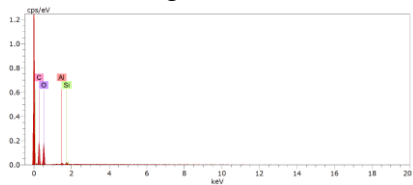


Continuando com esta avaliação a morfologia dos biocompósitos contendo bentonita também foram investigadas. A Figura 57 apresenta as imagens para os materiais seguindo a mesma metodologia, onde distribuição total foi observada na morfologia do material. Acredita-se que a esta carga este presente nos materiais possa ter potencial para futuros estudos visando aprimorar a características do polímero.

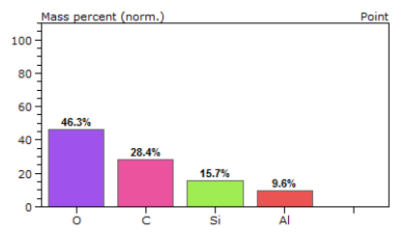
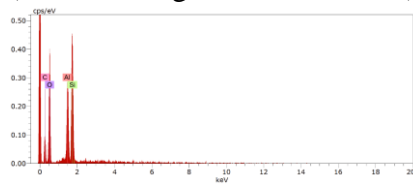
Como resultado, da análise morfológica da bentonita (Figura 58), pouca ou nenhuma avaliação estrutural pode ser abordada, aparentemente ele sem misturou muito bem na matriz de amido.



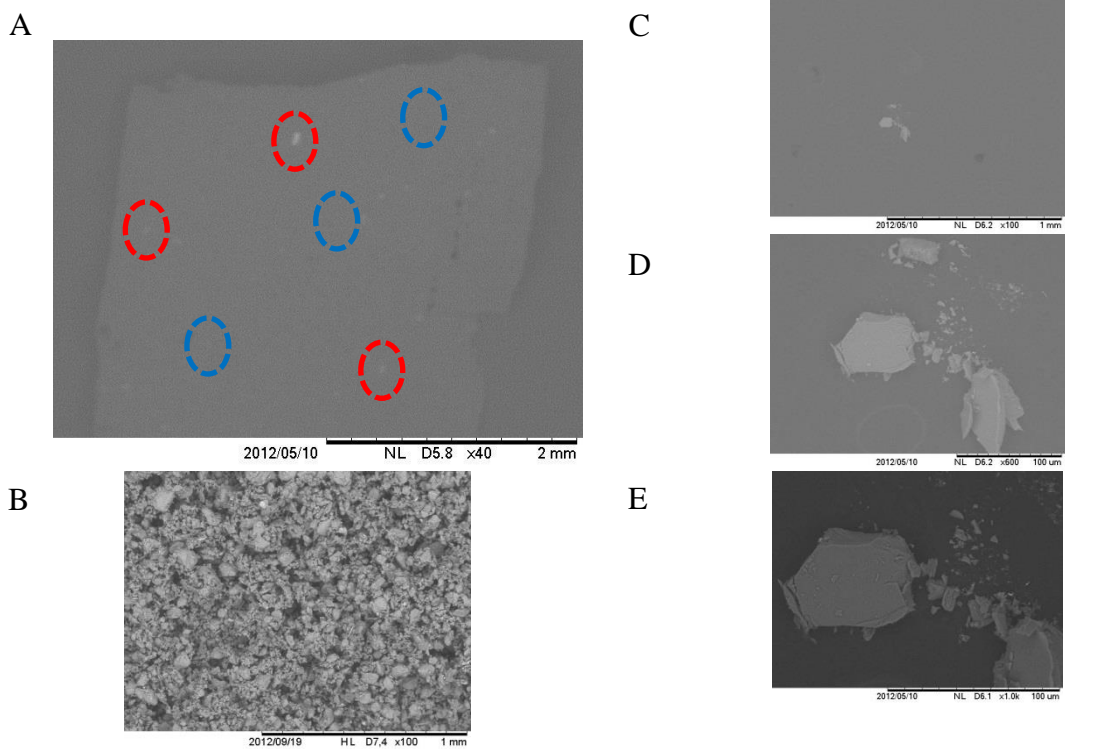
Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Homogenea – Azul)



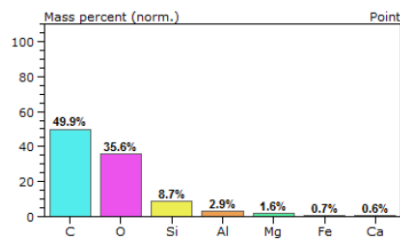
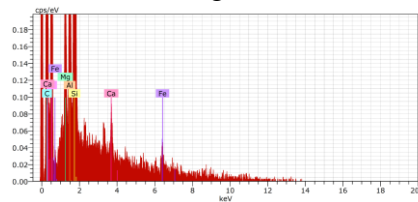
Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Heterogenea – Vermelho)



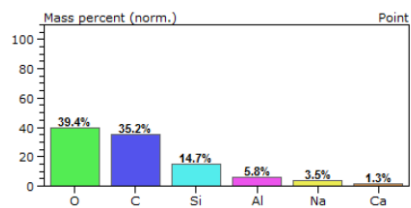
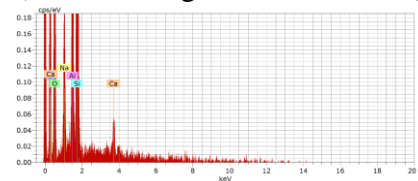
**Figura 57.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Bentonita com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de bentonita pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Bentonita com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Bentonita com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% Bentonita com aumento de 1000 x.



Espectrometria de energia dispersa de raios X (Fase Homogênea – Azul)



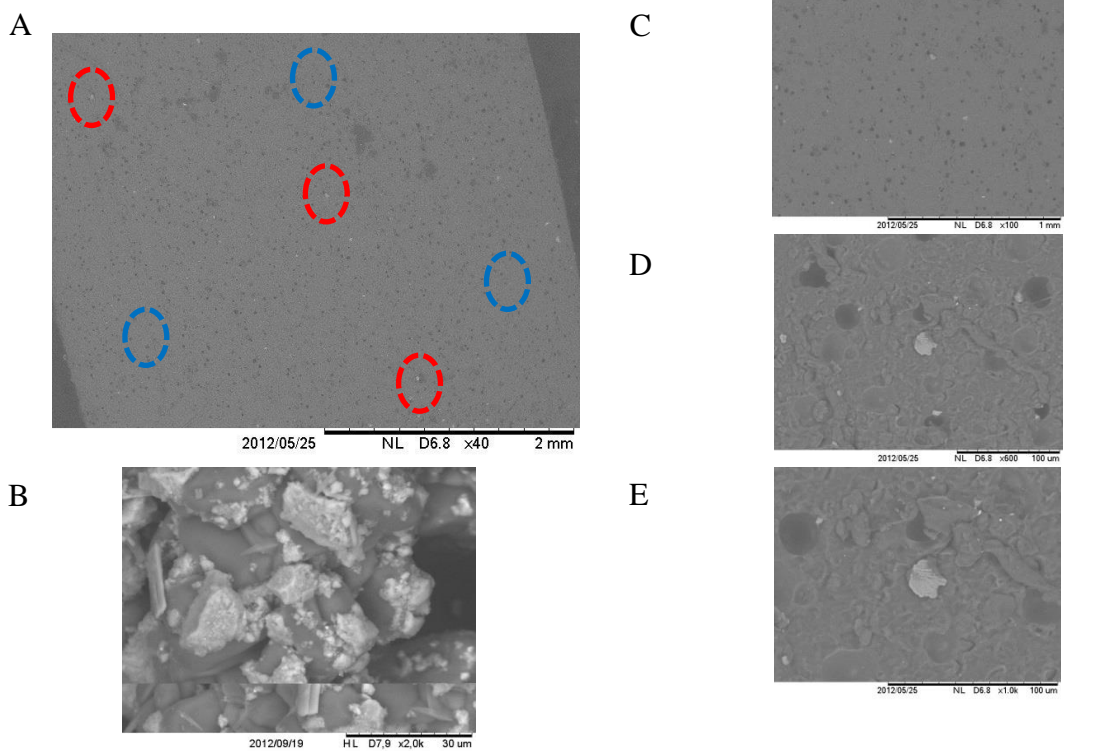
Espectrometria de energia dispersa de raios X (Fase Heterogênea – Vermelho)



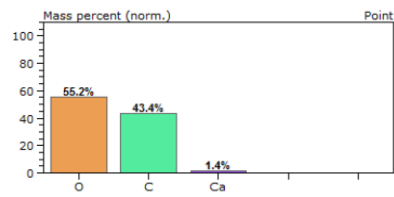
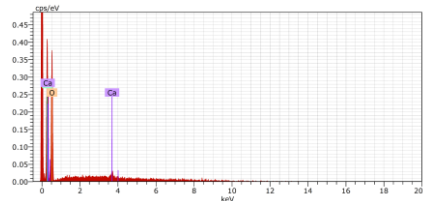
**Figura 58.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de bentonita pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Bentonita com aumento de 1000 x.

A zeolita cubana apresenta claramente como as outras amostras mudanças morfológicas nos biocompósitos desenvolvidos com 3% de concentração (Figura 59), seguindo a metodologia proposta foram investigadas com a ajuda do EDS uma análise química pontual ao redor da matriz constatando potencial esfoliação. Praticamente nenhuma modificação foi observada no material puro dentro da matriz de amido após extrusão (Figura 59).

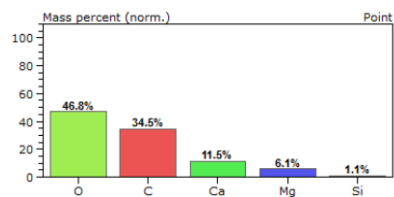
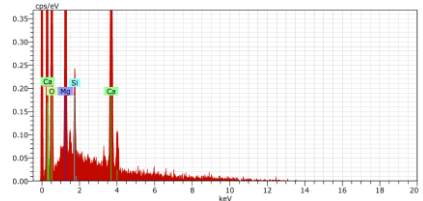
Em contrapartida do observado com anterioridade, a avaliação morfológica dos biocompósitos contendo 5% de zeolita cubana não apresentou uniformidade, descartando a esfoliação (Figura 60). O aumento da concentração desta carga diminuiu sua interação, fato que pode ser constatado visualizando a integridade morfológica observada na matriz (Figura 60B).



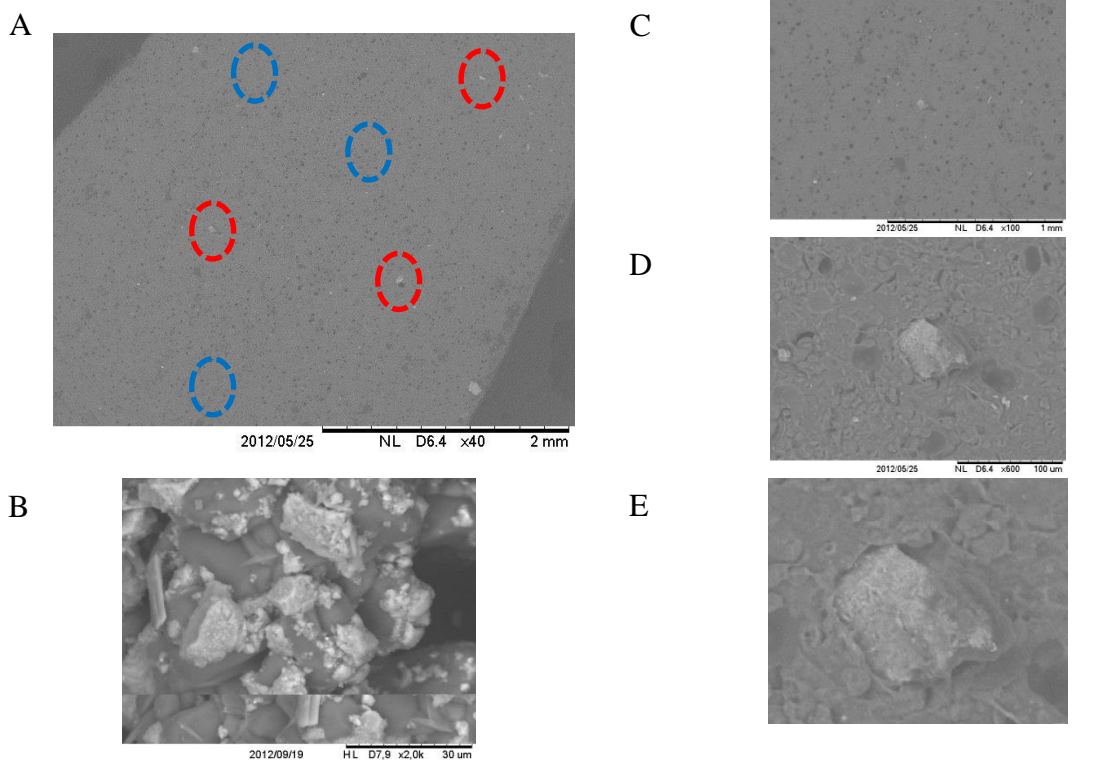
Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Homogenea – Azul)



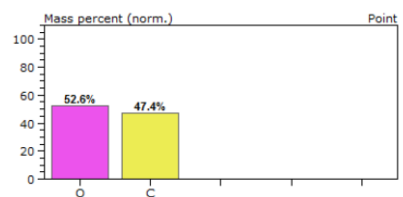
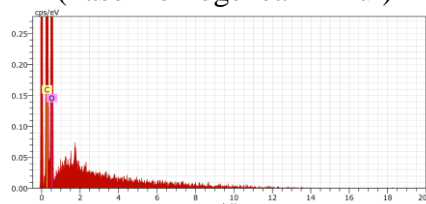
Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Heterogenea – Vermelho)



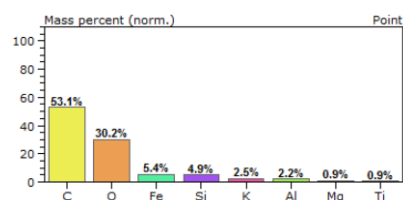
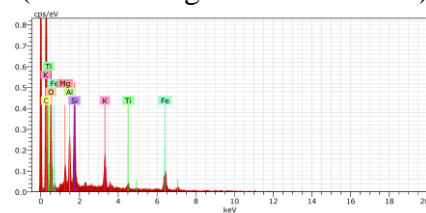
**Figura 59.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita cubana com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de zeolita cubana pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita cubana com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% de Zeolita cubana com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 3% Zeolita cubana com aumento de 1000 x.



Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Homogenea – Azul)



Espectrometria de energia dispersa de raios X  
(Fase Heterogenea – Vermelho)

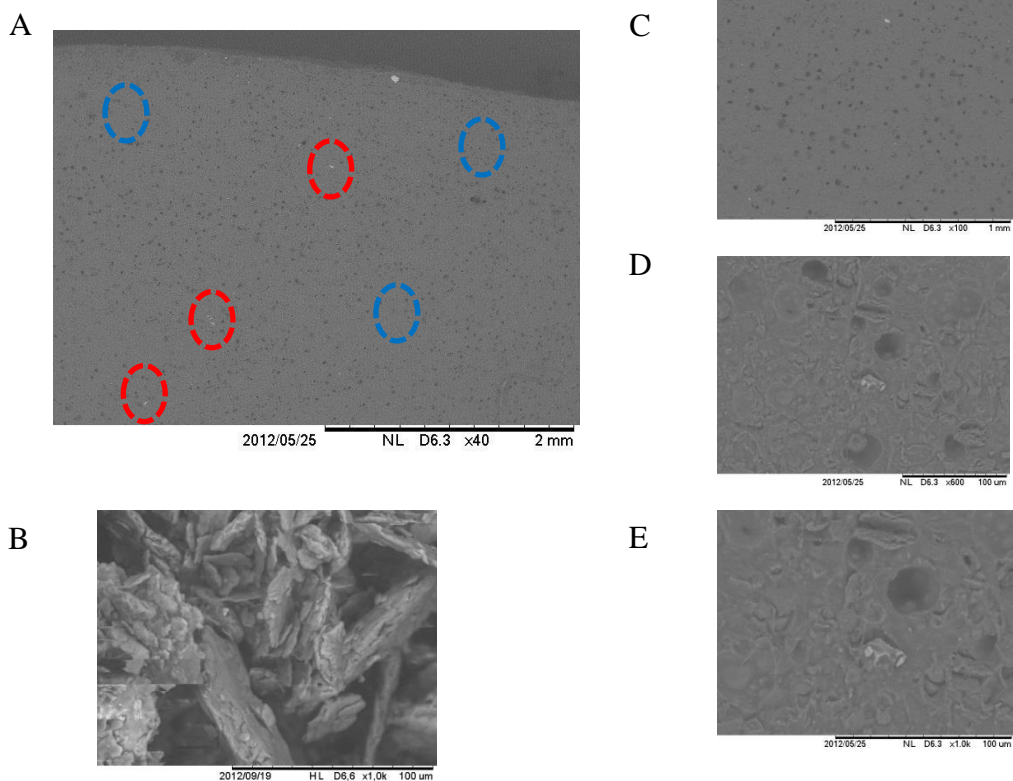


**Figura 60.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV da zeolita cubana pura C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Zeolita cubana com aumento de 1000 x.

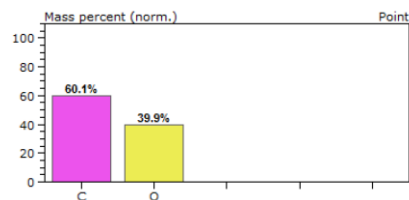
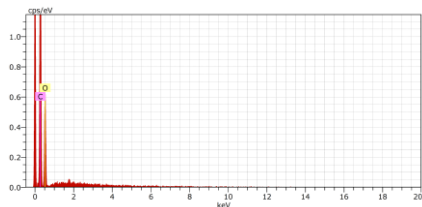
Os mesmos resultados foram observados para os biocompósitos com 5% de nanolinter de algodão, como pode ser visualizado na Figura 61 o material provavelmente não se misturou produzindo desta forma um biocompósito convencional.

Considerando todos os resultados anteriores podemos observar que o bioplástico de amidos utilizado como controle não possui minerais dentro de sua formulação que possam ter ocasionado apreciações erradas da composição química pontual das amostras (Figura 62) podemos afirmar que esta técnica representa uma ferramenta útil que poderia auxiliar a determinação de esfoliação em biocompósitos, mais ainda tem que ser associada a difração de raios-x e principalmente microscopia eletrônica de transmissão que não foi realizada neste estudo.

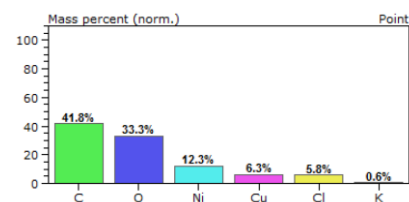
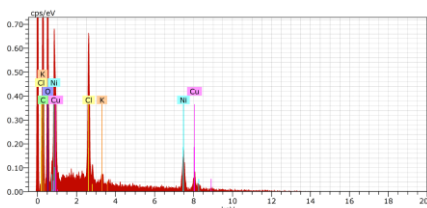




Espectrometria de energia dispersa de raios X (Fase Homogenea – Azul)

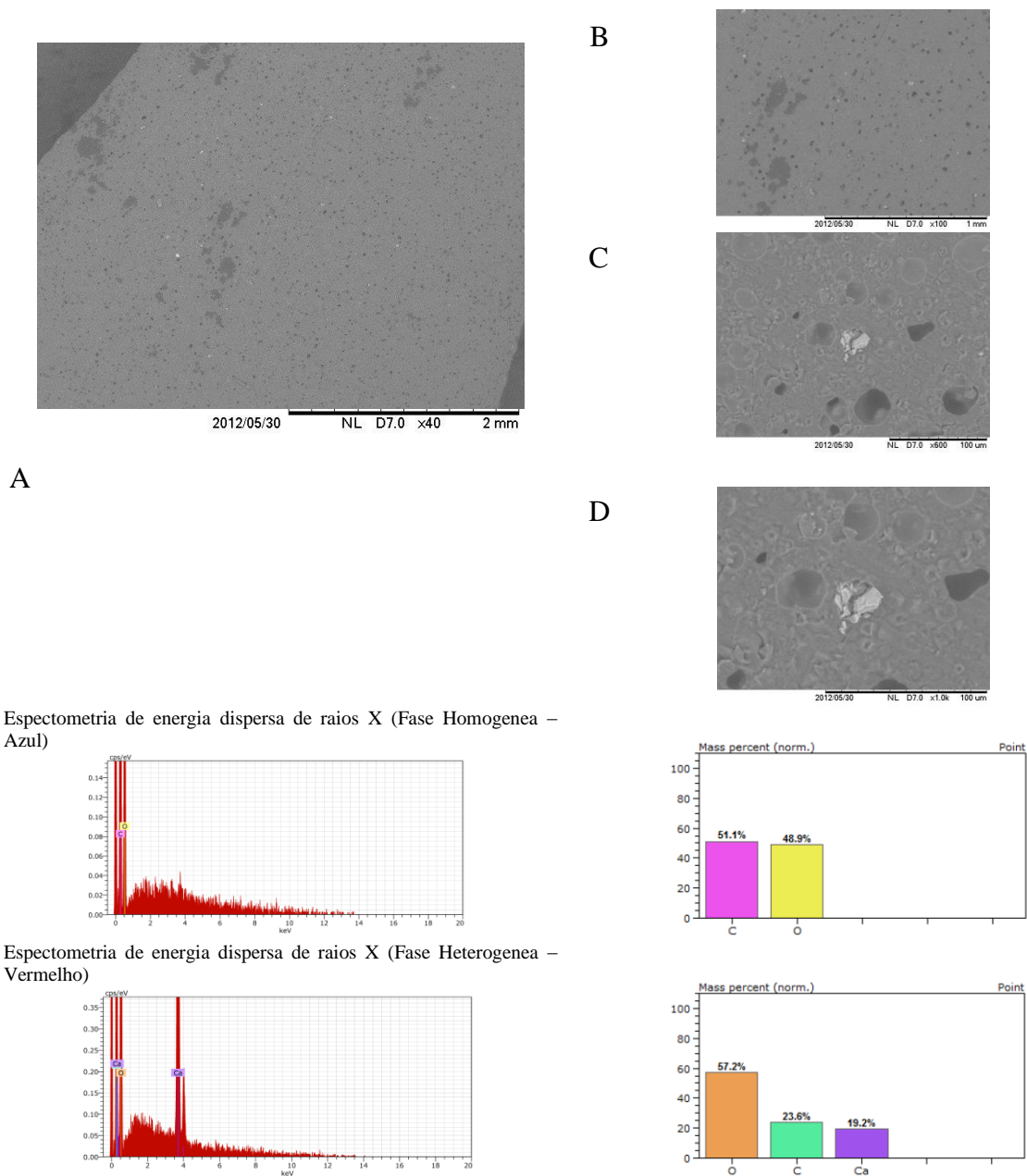


Espectrometria de energia dispersa de raios X (Fase Heterogenea – Vermelho)



**Figura 61.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV do nanolinter de algodão C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 100 x. D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 600 x E. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos e 5% de Nanolinter de algodão com aumento de 1000 x.





**Figura 62.** A. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 50 x com 6 espectros de EDS para as áreas denominadas heterogêneas (vermelho) e homogêneas (azul). B. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 100 x. C. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 600 x D. MEV de corte transversal do extrudado de combinação de amidos (Controle A) com aumento de 1000 x.

## 5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a obtenção de biocompósitos flexível na forma de filme por extrusão termoplástica e termoprensagem, foi considerada viável para a produção de bioplásticos com potencial para a utilização de embalagens flexíveis biodegradáveis, porém com as modificações pertinentes para sua implementação na escala industrial. Isto devido a que o processo de termoprensagem torna a produção muito inferior comparado com o potencial que possui uma indústria. As cargas de bentonita, zeolita cubana e zeolita modificada mostraram resultados promissores nas avaliações tecnológicas efetuadas neste capítulo. Pode-se concluir que as variáveis independentes foram: laminar de 1 mm, vazão de alimentação de 4,5 Kg/h, uma vazão de líquidos de 2,5 L/h, 70 % de glicerol na fração líquida, 139 rpm na velocidade dos parafusos e 46,82 % de percentual de amido de milho com respeito ao amido de mandioca, temperaturas nas 10 zonas de aquecimento (40, 50, 60, 80, 100, 120, 100, 90, 70 e 70°C respectivamente) adicionadas de bentonita e zeolitas.

Os parâmetros tecnológicos avaliados permitem concluir que a densidade das cargas podem influenciar diretamente estes parâmetros. Porém em termos de espessura os maiores valores foram encontrados com a adição de Novaclay, a ponto de produzir filmes pouco maleáveis, duros e opacos.

Em termos visuais os biocompósitos com zeolita cubana mostraram ter maior parecido com bioplásticos de amido, sua coloração branca facilita sua mistura, mas a adição de bentonita mostrou ter potencial para aplicações diferenciadas pela tonalidade avermelhada parecida a pele humana após termoprensagem.

Em relação às propriedades tecnológicas de solubilidade em água e molhabilidade (ângulo de contato) a vermiculita apresentou a menor hidrofobicidade, tendo potencial como reforço porém estudando melhores metodologias para uma incorporação mais homogênea no material garantindo um melhor intercalado ou esfoliação.

A permeabilidade ao vapor da água apresentou-se como um parâmetro influenciado principalmente pela espessura desta forma a adição de Novaclay apresentou os melhores resultados.

Nos ensaios de perfuração foi possível concluir que o aumento das concentrações de bentonita e zeolita modificada aumentaram a resistência do material. Porém, os maiores valores se obtiveram utilizando a zeolita cubana. Da mesma forma conclui-se que a deformação do biocompósito aumentada com a utilização das duas zeolitas do estudo, quando comparado com os controles.

Para o módulo de Young foi possível concluir que o aumento na concentração de cargas produz materiais mais rígidos e com tensão na ruptura menor.

Fazendo associações da solução filmogênica que da origem aos biocompósitos as análises reológicas de viscosidade permitiram concluir que o incremento das cargas diminuiu a viscosidade e tendência a retrogradação das amostras, foi também apreciado que o grânulo de amido dentro da matriz polimérica se encontrada parcialmente cru, pois perfis característicos de este tipo de material foram claramente observados. Em termos gerais através da análise reológica foi possível constatar que a estrutura amilácea que constitui a matriz dos biocompósitos tem um comportamento pseudoplástico que aumenta com a diminuição das cargas, porém em contrapartida teores de 3% aumentaram o índice de consistência.

Para todas as amostras foi possível determinar uma alta estabilidade térmica que oscilou entorno de 340 e 460°, destacando-se do resto os biocompósitos adicionados de nanolinter de algodão cujos valores foram maiores.

Pode-se concluir também que os resultados de difração de raios-x e análise de microestrutura permitem observar uma distribuição parcial deste material na totalidade da matriz dos biocompósitos, porém outras técnicas devem ser utilizadas para verificar este fenômeno.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A. Thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v. 319, p.17-25, 1998.
- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A. Thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v. 319, p.17-25, 1998.
- ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.;HOSSEINI, H.; ABDOLLAHI, M. Effect of Nanoclay and Cross-Linking Degree on the Properties of Alginate-Based Nanocomposite Film. **Journal of Food Processing and Preservation**.1745-4549 2013.
- ANDRADE, J.; FRUTUOSO, A. G.; IHA, K.; ROCCO, J. A. F. F.; BEZERRA, E. M.; MATOS, J. R.; SUÁREZ-IHA, M. E. V.; **Quim. Nova** 2008, 31, 301.
- ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrudados.**Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.26, n.4, 2006.
- AVÉROUS, L. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. **Journal of Macromolecular Science**, v. 44, n. 3, p. 231-274, 2004.
- BADRIE, N.; MELLOWES, W.A. Effect of extrusion variables on cassava extrudates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 5, p. 1334-1337, 1991.
- BANU, P.; RADHAKRISHNAN, G.; **Eur. Polym. J.** 2004, 40, 1887
- BECKER, A.; HILL, S.E.; MITCHELL, J.R. MILLING. 2001. A further parameter affecting the rapid visco analyser (rva) profile. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 78, n. 2, p. 166-172.
- BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 17, p. 141-147, 2003.
- BOURTOOM, T.; CHINNAN, M.S. Preparation and properties of rice starch chitosan blend biodegradable film. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 15, p. 1633-1641, 2008.
- CARVALHO, R.V.; ASCHERI, J.L.R.; CAL-VIDAL, J. Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de extrudados (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 1006-1018, 2002.
- CHIVRAC F, GUEGUEN O, POLLET E, AHZI S, MAKRADI A e AVEROUS L (2008) Micromechanical modeling and characterization of the effective properties in starch-based nano-biocomposites. **Acta Biomaterialia** 4(15), 1707–1714.
- CYRAS, V. P., ZENKLUSEN, M. C. T., VÁZQUEZ, A. (2006). Relationship between structure and properties of modified potato starch biodegradable films. **Journal of Applied Polymer Science**, 101, 4313-4319.

DIAS, A.B.; MÜLLER, C.M.O.; LAROTONDA, F.D.S.; LAURINDO, J.B. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 2, p. 213–219, 2010.

FUKUOKA, M.; OHTA, K.I.; WATANABE, H. Determination of the terminal extent of starch gelatinization in a limited water system by DSC. **Journal of Food Engineering**, v. 53, n. 1, p. 39-42, 2002.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A.A. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11 n. 6, p. 697–702, 2010.

GIROTO, A. S. nanocompósitos para a liberação controlada de compostos triazínicos aplicados como defensivos agrícolas. **Dissertação** (Mestrado) São Carlos, SP, 2013. Universidade Federal de São Carlos. Centro de ciências exatas e de tecnologia, Departamento de Química, 2013.

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

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.

GOPAKUMAR, R. Unravelling the string dual of the gaussian matrix model. Harish-Chandra Research Institute, Julio. 2010.

GUHA, M.; ALI, S.Z.; BHATTACHARYA, S. Effect of barrel temperature and screw speed on rapid viscoanalyser pasting behaviour of rice extrudate. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v. 33, n. 3, p. 259-266, 1998.

[http://www.foeeurope.org/activities/nanotechnology/Documents/Nano\\_food\\_report.pdf](http://www.foeeurope.org/activities/nanotechnology/Documents/Nano_food_report.pdf)  
(accessed 27 March 2012).

INVERNIZZI, NOELA E FOLADORI, GUILLERMO (2006a) El despegue de las nanotecnologías.

JANSSON, A.; THUVANDER, F. Influence of thickness on the mechanical properties for starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.499-503, 2004.

JENSEN, S. Emulsificantes com diferentes EHL (equilíbrio hidrofílico-lipofílico) em filmes de amido de mandioca. 2007. 92p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

KRAMER, A.; TWIGG, B.A. Fundamentals of quality control for the food industry. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1962.

KRISTO E e BILIADERIS CG. Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 1, p. 146–158, 2007.

LACERDA, L. G. Uso de técnicas termo-analíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amidos de matérias-primas tropicais. Universidade Estadual de Ponta Grossa. **Dissertação** de mestrado. p.81, 2006.

LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. **Starch/Stärke**. v. 56, p. 348–356, 2004.

LIMA, E. M. B. ; ORTIZ, J. A. R. ; MORO, T.M.A. ; CARVALHO, C. W. P. ; ASCHERI, J. L. R. . **Adaptação da técnica de preparo das amostras de bioplásticos para análise de difração de raios-x**. São Carlos, SP. Anais do VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2013. v. 1. p. 141-143.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**., v. 19, n. 1, p. 157–164, 2005.

MANRICH, S. Processamento de termoplásticos: rosca única, extrusão e matrizes, injeção e moldes. São Paulo: Artliber Editora, 2005.

MATUDA, T.G. Análise térmica da massa de pão francês durante os processos de congelamento e descongelamento: otimização de uso de aditivos. 2004. 142f. **Tese** (Doutorado em Engenharia) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

MATZINOS, P. et al. Processing and characterization of starch/polycaprolactone products. **Polymer Degradation and Stability**, v. 77, p. 17 – 24, 2002.

MEDEIROS, E. S.; MATOSSO, L. H. C.; Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais. São Paulo: Artliber, 2006. Cap. 1 p. 13-20.

MENEGASSI, B.; LEONEL, M.; MISCHAN, M.M.; PINHO, S.Z. Efeito de parâmetros de extrusão na cor e propriedades de pasta da farinha de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1780-1792, 2007.

MILLER G., SENJEN R. (2008): Out of the laboratory and on to our plates: Nanotechnology in food and agriculture. Friends of the Earth Australia, Europe, and USA. Available at:

MORAES, J. O. Propriedades de filmes de amido incorporados de nanoargilas e fibras de celulose. **Dissertação** (Mestrado) –Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico (CTC). Florianópolis, 2009.

MULLER CMO, LAURINDO JB e YAMASHITA F (2009) Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, 23(12), 1328–1333.

MÜLLER, C.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 82-87, 2008.

NAZAN TURHAN, K.; SAHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n.3, p.

459-466, 2004.

PADUA, G. W.; WANG, Y., Tensile properties of extruded zein sheets and extrusion blown films. **Macromol. Mater. Eng.**, 288, 886-893, 2003.

PERESSINI, D., BRAVIN, B., LAPASIN, R., RIZZOTTI, C., SENSIDONI, A. (2003).

RAY, S. S.; BOUSMINA, M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In green the 21<sup>st</sup> century materials world. **Progress in Materials Science**, v. 50, p. 962-1709, 2005.

ROCHA, G. O. (2009). Obtenção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis a partir de Misturas de Amido de Mandioca e Extrato Protéico de Soja. M. SC. **Dissertação**, Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

ROMAN, M. e WINTER, W. T. - **Biomacromol.**, 5, p.1671 (2004).

SAKANAKA, L. S. Confecção Filmes biodegradáveis por extrusão de blendas de amido termoplástico e polibutileno succinato co-adipato (PBSA). 2007. 117p. **Tese** (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

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

SCRINIS G., LYONS K. (2007): The emerging nano-corporate paradigm: Nanotechnology and the transformation of nature, food and agri-food systems. **International Journal of Sociology of Food and Agriculture** 15(2)

SILVA, W.A.; PEREIRA, J.; CARVALHO, C.W.P.; FERRUA, F.Q. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de filmes de diferentes fontes de amido. **Ciência Agrotécnica**, v. 31, n. 1, p. 154-163, 2007.

SOARES, R. M. D.; LIMA, A. M. F.; OLIVEIRA, R. V. B.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V.; **Polym. Degrad. Stab.** 2005, 90, 449.

SOBRAL, P.J.A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia**, v.8, n.1, 1999. p.60-67.

Starch-methylcellulose based edible films: rheological properties of film-forming dispersions. **Journal of Food Engineering**, 59, 25-32.

SUN D.; YOO, B. Rheological and Thermal Properties of Blend Systems of Rice Flour and Potato Starch. **Food Science and Biotechnology**. Dongguk University-Seoul, Seoul 100-715, Korea, 2011.

THIRÉ, R.M.S.M.; SIMÃO, R.A.; ANDRADE, C.T. High resolution imaging of the microstructure of maize starch films. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 54, n. 2, p.149-158, 2003.

TORRES, L.L.G.; EL-DASH, A.A.; CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, J.L.R.; GERMANI,

R.;MIGUEZ, M. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, grupo AAA) por extrusão termoplástica. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 23,n. 2, p. 273-290, 2005.

VAN OSS, C.J. 1994. *Interfacial Forces in Aqueous Media*. New York: Marcel Dekker, 440 pp.

VARGAS-SOLÓRZANO, J. W. **Obtenção e caracterização de farinha extrudada de diferentes genótipos de sorgo para o desenvolvimento de biscoitos doces**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

VICENTINI, N. M. (2003). *Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita*. D. Sc. **Tese**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista.

WANG, X.; SUN, X.; LIU, H.; LI, M.; MA, Z.; **Food Bioproducts Processing** 2010, 147.

WANG, Y.; RAKOTONIRAINY, A. M.; PADUA, G. W. Thermal behavior of zein-based biodegradable films. **Starch/Stärke**, v.55, p.25-29, 2003.

WILHELM, H. M., SIERAKOWSKI, M. R., SOUZA, G. P., WYPYCH, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. **Carbohydrate Polymers**, 52, 101-110.

ZHANG, Q-X., YU, Z-Z., XIE, X-L., NAITO, K., KAGAWA, Y. (2007). Preparation and crystalline morphology of biodegradable starch/clay nanocomposites. **Polymer**, 48, 7193 - 7200.

ZHONG, Y.; SONG,X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch–chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers.**, v. 84, n. 3, p, 2011.



## **CAPÍTULO IV**

# BIOPLÁSTICOS COM ADIÇÃO DE ARGILOMINERAIS E NANOLINTER: ASPECTOS DE SEGURANÇA

## RESUMO

Após ter elaborado diferentes bioplásticos micro e nanoestruturados o objetivo deste capítulo foi avaliar a toxicidade dos bioplásticos adicionados de nano cargas de argila e fibras já que elas apresentam grande área superficial, frequentemente, exibem propriedades mecânicas, ópticas, magnéticas ou químicas distintas de partículas e superfícies macroscópicas. Não há dúvida de que a nanotecnologia oferece melhorias nas propriedades tecnológicas dos materiais desenvolvidos. Entretanto, como qualquer área da tecnologia que faz uso intensivo de novos materiais, ela pode trazer alguns riscos ao meio ambiente e à saúde humana. As mesmas características que tornam as nanopartículas interessantes do ponto de vista de aplicação tecnológica podem ser indesejáveis quando essas são liberadas ao meio ambiente. Neste capítulo a realização de testes de citotoxicidade e genotoxicidade utilizando tecidos vegetais (*Allium cepa*) e tecidos animais *in vitro* mostraram que apesar dos resultados promissores, zeolita cubana e bentonita merecem maior atenção quanto a os testes toxicológicos, pois frente aos estudos realizados demonstraram interferências na inibição de índice mitótico em tecidos vegetais ou traumas na viabilidade celular dos tecidos animais evidentes quando submetido a contato. Concluindo-se que a zeolita modificada é o único material seguro após as análises efetuadas recomendadas para sua manipulação e implementação para futuros estudos visando fornecer novos mercados para este material no desenvolvimento de embalagen flexíveis.

**Palavras-chave:** Citotoxicidade, Nanoparticulas, Meio ambiente, Filmes nanoestruturados.

## ABSTRACT

Having elaborated different bioplastics micro and nanostructured goal of this chapter was to evaluate the toxicity of nano bioplastics added of charges clay and fibers since they have a large surface area, often exhibit mechanical, optical, magnetic or distinct chemical and particle macroscopic surfaces. There is no doubt that nanotechnology offers improvements in the technological properties of the materials developed, however, as any area of technology that makes intensive use of new materials, it can bring some risks to the environment and human health. The same characteristics that make nanoparticles interesting from the standpoint of application technology may be undesirable when these are released to the environment. In this chapter the testing cytotoxicity and genotoxicity using plant tissues (*Allium cepa*) and animal tissues in vitro results showed that despite promises, Cuban zeolite and bentonite deserve greater attention as toxicological testing because studies have demonstrated against interference Inhibition of mitotic index en plant tissue or trauma on cell viability of animal tissues evident when subjected to contact. Concluding that the modified zeolite is the only safe material after the analyzes performed for recommended handling and implementation for future studies to provide new markets for this material in the development of flexible embalagen.

**Keywords:** Cytotoxicity, Nanoparticles, Environment, Nanostructured films.

# 1 INTRODUÇÃO

O avanço da tecnologia na direção do universo nanométrico tem aberto uma série de oportunidades em diferentes campos da ciência e da tecnologia, como novas drogas, sistema de aplicação de medicamentos, reforço de bioplásticos, alimentos, desenvolvimento de tecidos celulares sintéticos, miniaturização de circuitos e dispositivos eletro-eletrônicos e eletromecânicos, desenvolvimento de novos materiais e produtos com características, propriedades e funcionalidades específicas, sensores, novos processos catalíticos, novas fontes de armazenamento e produção de energia, chegando à fronteira da interação e integração de dispositivos nanotecnológicos, organismos vivos e sistemas de informação (MEDEIROS e MATOSSO, 2006).

Todas estas novas tecnologias e oportunidades no campo da ciência e tecnologia trazem implicações ambientais, éticas, sociais e jurídicas, colocando o sociedade como agente de consumo, transformação, manipulação e desenvolvimento de novos materiais e produtos, seja nos centros de pesquisa e desenvolvimento, nas fábricas, nos institutos tecnológicos ou nas universidades e, secundariamente, porém não menos importante, à população em geral na forma de consumidores ativos ou passivos de produtos nanotecnológicos.

O conhecimento adquirido e acumulado por séculos de pesquisas e estudos no campo da medicina do trabalho é suficiente para afirmar dois aspectos em relação à interação do trabalhador com materiais nanométricos: (i) nanopartículas são potencialmente agentes nocivos à saúde humana e, (ii) muito trabalho, estudo e pesquisa ainda são necessários para se definir com apurado grau de certeza acerca da toxicidade e dos efeitos de longo prazo em razão da exposição dos trabalhadores a uma infinidade de nanomateriais e nanoestruturas que têm sido descobertas diariamente. Neste capítulo foram abordados os aspectos toxicológicos dos materiais utilizados neste estudo. Para maior segurança os mesmos foram feitos nas nano cargas isoladas e no bioplástico nano estruturado (nanocompósito).

## 1.1 Objetivo geral

Determinar a genotoxicidade e citotoxicidade nas nanocargas utilizadas e nos bioplásticos nanoestruturados extrudados e termoprensados produzidos.

## 1.2 Objetivos específicos

- Determinar através de testes de genotoxicidade possíveis efeitos mutagênicos, tóxicos de compostos utilizando-se de cultura celular de sangue total, ou linfócitos isolados, em tratamento com as substâncias testes em determinadas concentrações. Utilizando os testes Cometa, Micronúcleo e Citogenética, Aberrações Cromossômicas;
- Aplicar o teste que utiliza *Allium cepa*, para avaliar se as cargas apresentam caráter tóxico, comprometendo as divisões celulares do organismo vegetal;
- Determinação da citotoxicidade, para determinar a viabilidade de células que foram expostas ao material que se utilizou como carga.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Riscos da manipulação de nanomateriais**

Do ponto de vista da saúde do trabalhador e dos indivíduos que têm contato com materiais nanoparticulados, uma série de estudos e maiores/melhores informações toxicológicas são necessárias para o entendimento das complexas relações entre as nanopartículas e os organismos vivos. O homem tem uma relação há muito tempo com materiais nanoparticulados na forma de aerodispersóis provenientes de processos naturais tais como queimadas ou erupções vulcânicas. Porém, nunca ocorreu na história, o contato dos seres humanos, com nanomateriais sintéticos de elevada pureza, concentração, complexidade ou funcionalização, tornando a síntese, manipulação, manuseio, estocagem, estabilização, incorporação e o uso dos nanomateriais em um assunto de extrema complexidade, ainda não completamente estudado em sua profundidade, tempo e multidisciplinariedade necessária (MEDEIROS e MATTOSO, 2006).

Segundo Medeiros e Mattoso (2006) no Brasil, esforços têm sido feitos, visando aumentar o diálogo entre os diversos setores da sociedade na busca de maior transparência e, especialmente na disseminação de informações adequadas e na promoção de debates entre o público e os setores mais organizados da sociedade (sindicatos, universidades, indústrias e o poder público).

### **2.2 Mecanismos de transporte de material particulado e nanoparticulados**

A principal característica das nanopartículas é seu tamanho e elevada energia superficial, isto faz com que as nanopartículas se comportem quase como um fluido, quando dispersas no ambiente. Desta forma, as nanopartículas podem facilmente ser absorvidas pelo trato respiratório dos indivíduos, atingindo seus alvéolos pulmonares. Porém, sua elevada energia superficial faz com que as nanopartículas possuam uma elevada tendência de aglomeração aumentando sua massa e/ou seu volume pela incorporação de outras nanopartículas. O comportamento aero/hidrodinâmico do aglomerado de nanopartículas dependerá tanto de sua distribuição de tamanho e de volume destes aglomerados (grau de aglomeração), como também de sua estabilidade física uma vez que os aglomerados maiores podem também liberar ou agregar mais nanopartículas ao longo do tempo dependendo do balanço de forças eletrostáticas, mecânicas ou mesmo magnéticas.

### **2.3 Interação das nanopartículas com os sistemas biológicos**

Após a contaminação do organismo pelas nanopartículas, uma série de interações e reações complexas e fatoriais, bio-físico-químicas pode acontecer. Isto desencadeia um variado processo de defesa celular que muitas vezes é específico, dependendo do tipo de nanopartícula, composição química, distribuição de tamanho de partículas, morfologia, densidade, homogeneidade, tamanho médio, reatividade, mineralogia, estrutura cristalina, solubilidade, poder catalítico, modificação superficial, número de partículas, hidrofobicidade biopersistência e relação entre comprimento e espessura das células ou dos tecidos atingidos e seus mecanismos de defesa.

A combinação de partículas diminutas de elevada área superficial e sua habilidade de gerar espécies químicas contendo oxigênio reativo tem sido indicada como um dos principais fatores indutivos de danos pulmonares (BECK et al., 2011). De uma forma genérica e hipotética, a interação entre as nanopartículas pode gerar processos inflamatórios através de perturbações do estresse oxidativo e/ou do decréscimo do cálcio citossólico.

Outros tipos de problemas que podem ser causados pelas nanopartículas quando estas entram no sistema circulatório é a possibilidade de trombose e parada do sistema cardiovascular em função do bloqueio da passagem do fluxo sanguíneo pelas artérias e veias (BECK et al., 2011). A habilidade das nanopartículas de acessarem a corrente sanguínea tem sido observada em estudos utilizando animais. Nestes casos, as nanopartículas são administradas via inalação, entrando no sistema circulatório pelos pulmões. Uma vez no sistema circulatório, as nanopartículas podem interagir com o endotélio, ou produzir efeitos diretamente sobre as placas arterioescleróticas, inflamação local e desestabilização das placas coronária resultando na ruptura, trombose ou síndrome coronariana aguda. As partículas também podem interagir como fatores de coagulação promovendo trombose e acidentes cardiovasculares. Ainda hoje, estas observações não foram comprovadas em humanos, porém estes estudos indicam que este mecanismo de interação e suas conseqüências são uma hipótese plausível pela similaridade entre os sistemas imunológicos dos mamíferos.

## **2.3 Genotoxicidade, Citotoxicidade e Biologia Molecular**

### **2.4.1 Teste *Allium cepa***

Os vegetais superiores são sistemas genéticos utilizados em larga escala para monitorar alterações genéticas causadas por poluentes ambientais, e são excelentes indicadores de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de ambientes que contenham substâncias químicas (GRANT, 1994; YI e MENG, 2003).

Bioensaios com plantas podem detectar a genotoxicidade mais rápida e eficientemente do que os bioensaios animais. Além disto, são mais simples, econômicos e tem uma grande ocorrência no monitoramento ambiental (YI e MENG, 2003). As condições desfavoráveis são que são menos apropriadas para o desenvolvimento de plantas, causando um maior número de anormalidades em suas células, devido as instabilidades genômicas (BEZRUKOV e LAZARENKO, 2002). Os vegetais superiores são muito utilizados como organismos-testes, por serem excelentes indicadores de efeitos tóxicos, pois respondem com uma alta sensibilidade e produzem pouco falsos positivos (GRANT, 1994). As alterações cromossômicas no *Allium cepa* são observadas em qualquer fase do ciclo celular, sendo consideradas evidências de efeito mutagênico promovidos por agentes clastogênicos (cromossomos acêntricos) ou aneugênicos (cromossomos inteiros que não completaram a migração na anáfase) (VIDAKOVIÉ-CIFREK et al., 2002).

Segundo Fiskejő 1988, dentre os vegetais superiores, o *Allium cepa* tem sido muito utilizado para o estudo dos mecanismos básicos de ação e de determinação dos efeitos de algumas substâncias, por características que possui na sua cinética de proliferação, pelo crescimento rápido das raízes, pelo grande número de células em divisão, pelo índice de tolerância a diferentes condições de cultivo e por possuir cromossomo em número reduzido ( $2n = 16$ ) e de grande tamanho (MATSUMOTO et al., 2006), além disso são facilmente corados e observados (KURÁS et al., 2006).

As células meristemáticas do *Allium cepa* constituem um eficiente material genético para analisar aberrações cromossômicas e cromatídicas, troca entre cromátides irmãs, formação de micronúcleos e alterações no índice mitótico (MIGID et al., 2007).

#### 2.4.2 Ensaio Cometa

O teste cometa, também denominado eletroforese em microgel, foi introduzido primeiramente por Östling e Johanson em 1984 como uma técnica eletroforética para a visualização direta do dano ao DNA. O teste cometa vem sendo cada vez mais utilizado para avaliar a genotoxicidade de novos produtos químicos, monitoramento de contaminação ambiental e pesquisas dos danos e reparos do DNA (COLLINS, 2004) sem a necessidade de se ter células em divisão (OLIVE e BENÁTH, 1993).

Eritrócitos e linfócitos do sangue são mais comumente utilizados para a realização do teste cometa, pois, são de fácil obtenção e não necessitam que seja feita a dissociação celular (BELPAEME et al., 1998).

Na técnica do ensaio cometa utilizam-se células individualizadas, colocadas em agarose sobre uma lâmina de microscopia, para remover os conteúdos celulares, com exceção do material nuclear, submetidas à eletroforese e coradas em brometo de etídio. O resultado é observado ao microscópio, sendo que as células sem DNA danificado apresentam um núcleo redondo, enquanto o DNA resultante de quebras simples ou múltiplas migra para fora do núcleo, formando uma “cauda”, parecendo um cometa. A extensão do DNA que migrou está relacionada com o dano ocorrido (FAIRBAIRN et al.,1995). A avaliação da extensão do dano ocasionado ao DNA são avaliados de diversas maneiras, umas das medidas mais utilizadas na avaliação deste dano é realizada pela relação do raio do núcleo e a extensão das caudas formadas pelo DNA em migração (classificadas como classe 0 – nenhum dano, até a classe 4 – máximo dano) (FERRARO et.al.,2004).

As vantagens desta técnica incluem, além da sensibilidade na detecção de dano no DNA; a coleta de dados em nível de células individualizadas; uso de um número reduzido de células para análise; e a possibilidade de aplicação em qualquer população de células eucarióticas isoladas (TICE e VASQUEZ, 1999).

#### 2.4.3 Citogenética

A partir da forma e do número de cromossomos de uma espécie, é estabelecido seu cariótipo. A representação do cariótipo pode ser um cariograma (imagem dos cromossomos) ou um ideograma (esquema dos cromossomos) e é ele que fornece as informações substanciais para o estabelecimento das relações entre espécies, com respeito à organização dos cromossomos.

Estudos cromossômicos têm sido utilizados na determinação das relações filogenéticas e evolutivas entre grupos de plantas (RAVEN, 1975).

A análise citogenética comumente utilizada na citotaxonomia vegetal inclui basicamente o número e a morfologia dos cromossomos mitóticos, o aspecto do núcleo interfásico, o comportamento de cromossomos meióticos e a microsporogênese (VOSA, 1985; GUERRA, 1988).

A análise cariotípica envolvendo a avaliação de dados como tamanho de cromossomos, relação entre os braços, presença de constrição secundária e satélite, propriedades de coloração, podem trazer informações valiosas, principalmente quando se quer comparar espécies diferentes ou examinar a variação entre indivíduos da mesma espécie (RUAS, 1989).

## 2.4.4 Manutenção de Culturas Celulares

O cultivo de células se iniciou no princípio do século XX com Harrison, em 1907, e Carrel, em 1912. Esta técnica consiste no conjunto de técnicas que permitem o cultivo e a manutenção de células fora do organismo do qual são provenientes, em um meio ambiente controlado. Estas são mantidas preservando características próprias como a capacidade de desagregação (mecânica ou enzimática) do tecido original. Existem culturas a partir de tecidos animais (incluindo tecidos humanos) e vegetais. É uma importante ferramenta de pesquisa nos laboratórios do mundo inteiro, pois estas culturas servem para diversificados testes onde se testam a viabilidade celular de culturas após diversos tratamentos, como contato direto com alguma substância.

### 2.4.4.1 Ensaio de Viabilidade Celular

A técnica de cultura de células permite cultivar ou manter células isoladas fora do organismo onde elas existem, mantendo suas características próprias. Essas culturas podem ser feitas a partir de tecido humano, vegetal e animal (SPIER e GRIFFIHS, 1985). A cultura de célula tem como objetivo investigar a fisiologia ou bioquímica de algumas células, empregado também para medir a toxicidade de hormônios e fármacos.

Fibroblastos são uma família de células de origem mesenquimal que sintetizam os componentes fibrilares (colágeno e elastina), e não fibrilares (glicoproteínas e proteoglicanos) da matriz extracelular do tecido conjuntivo e tem como função produzir complexos de diferentes naturezas com macromoléculas (colágeno), regulando assim suas deposições e orientações na matriz (CARVALHO e COLLARES-BUZATO, 2005).

Os fibroblastos apresentam variações quanto à função o que permite a caracterização de subpopulações celulares capazes de desempenhar vários papéis na histologia de diversos tecidos e órgãos e também em determinadas doenças. O cultivo *in vitro* de fibroblastos tem demonstrado que eles são capazes de se diferenciar em diversos subtipos celulares com características morfológicas e bioquímicas distintas, que podem corresponder à variedade celular observada *in vivo* (BAYREUTHER et al., 1988).

Os fenótipos dos fibroblastos *in vitro* podem ser influenciados por fatores ambientais como: método de cultivo, suplemento nutricional, densidade populacional e natureza do substrato (CARVALHO e COLLARES-BUZATO, 2005). Muitos testes *in vitro* são realizados utilizando fibroblastos, possibilitando análises de viabilidade celular entre compostos.

### 2.4.4.2 Tali

Teste de viabilidade celular, bastante atual, que consiste em medir células viáveis, quais foram mortas, ou sofreram apoptose. Utiliza do contraste para gerar dados estatísticos confiáveis para experimentos.



## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Local de realização das análises

As análises de genotoxicidade e citotoxicidade foram realizadas em parceria com a Universidade de Sorocaba, Uniso, no laboratório de biotecnologia.

### 3.2 Teste de Aberração cromossômica em *Allium cepa*

O material biológico utilizado como sistema-teste constituiu-se de sementes pré-germinadas de *Allium cepa* ( $2n=16$  cromossomos), as quais foram submetidas a tratamento durante 24 horas em soluções dos materiais em pó: Cloisite, Novaclay, Zeolita cubana, Bentonita, Zeolita modificada e Bermiculita, todos na concentração de 60 mg/mL. No controle negativo as sementes foram tratadas apenas com água Milli-Q, e no controle positivo o agrotóxico trifluralina. Após o tratamento com as soluções dos diversos materiais, as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1 v/v) por 24 horas, e em seguida lavadas três vezes com água destilada para remoção do excesso do fixador.

Após a fixação, as raízes foram submetidas a uma hidrólise ácida em banho-maria a 60°C em solução de HCl 1M, e banhadas por três vezes em água, e então foram coradas em reativo de Schiff, na ausência de luz, durante duas horas e lavadas novamente por três vezes em água ultra pura para a retirada do excesso do corante.

As lâminas foram preparadas em triplicata e para o preparo destas, os meristemas das raízes foram corados com Carmim (uma gota) e levemente esmagados com uma lamínula. Posteriormente estas foram armazenadas em temperatura à - 80°C para que não haja a perda do material.

A análise das lâminas foi realizada por leitura em microscópio das divisões celulares e das anormalidades cromossômicas como pontes, fragmentos, danos celulares e desarranjos. Também foram realizados os ensaios para o Linter nas concentrações 0,01, 0,1 e 1mg/mL.

### 3.3 Ensaio Cometa

Todo o procedimento do ensaio cometa foi realizado em sala escura para que a radiação ultravioleta não produzisse danos ao DNA, uma vez que esta radiação induz mutações. Os linfócitos utilizados foram obtidos de sangue humano, coletado com seringa e agulha descartáveis, armazenado em tubo de coleta com anticoagulante EDTA e mantido em uma caixa com gelo.

Para a separação dos linfócitos, o sangue foi misturado em um tubo Falcon com 4mL de meio de cultura composto por RPMI. Em seguida esta mistura foi gotejada suavemente pela parede de um segundo tubo Falcon contendo 4 mL de Ficoll, sendo este submetido a centrifugação a 2.500 rpm durante 30 min.

Com a centrifugação foi possível a separação do material, o qual apresentou na fase de cima uma nata, que é um aglomerado de células brancas. Esta estrutura foi retirada e colocada em um terceiro tubo Falcon contendo 4 mL de meio de cultura, o material foi homogeneizado no meio e colocado para centrifugar a 1.500 rpm por 15 min. Após esta segunda centrifugação

o sobrenadante foi descartado, e obtido então 0,5mL de linfócitos para serem utilizados no teste cometa.

Os linfócitos então foram submetidos a tratamento durante 1 h com os materiais a serem testados. Também foi realizado o controle negativo onde os linfócitos não foram tratados com nenhum composto. As lâminas foram preparadas em duplicata, da seguinte forma:

Os linfócitos tratados foram misturados com agarose low melting (agarose derretida e mantida em banho-maria a 37°C) na proporção 25:100 µL, esta mistura espalhada em lâmina pré-coberta com agarose normal, em cima do material foi colocado uma lamínula e as lâminas foram submetidas a refrigeração em geladeira até a agarose solidificar.

As lamínulas foram retiradas e as lâminas mergulhadas em solução de lise gelada por 1 h. Após a etapa de lise as lâminas foram deixadas em uma solução de neutralização por 5 min. As lâminas foram transferidas para uma cuba horizontal de eletroforese e sobre estas foi colocado o tampão de eletroforese, após 20 min de descanso se iniciou a corrida (25 V, 300 mA por 20 min). Concluída a corrida por eletroforese as lâminas foram novamente submetidas a neutralização, por 10 min, e lavadas em água, por cerca de 5 min.

A secagem das lâminas foi realizada Over Night, a temperatura ambiente, e no dia seguinte foram reidratadas, secas, colocadas em solução fixadora por 10 min, e secas em estufa a 37°C. Após, foram hidratadas por 5 min em água destilada e coradas em solução com nitrato de prata (até a solução começar a escurecer) e as lâminas foram novamente lavadas 3 vezes em água destilada.

Em seguida as lâminas foram colocadas na solução “stop” por 5 min e lavadas 3 vezes com água destilada para finalizar. A última secagem foi feita a temperatura ambiente e a análise dos cometas foi realizada através da contagem de aproximadamente cem células por material a ser testado, selecionadas aleatoriamente (50 por lâmina, 2 lâminas por agrotóxico), visualizadas em microscópio óptico.

O dano foi visualmente determinado pela classificação das células, de acordo com o tamanho da cauda (de dano 0 a dano 4) e foi calculado o índice de dano (ID). Com este ensaio foram testados os mesmos materiais em pó do teste anterior, na concentração de 1mg/mL, o material Linter nas concentrações 0,01, 0,01 e 1mg/mL, e os materiais Cloisite, Novaclay, Zeolita Cubana, Bentonita, Zeolita modificada, Vermiculita em pellets.

### **3.4 Citogenética utilizando Cultura células com Sangue Total**

Para a coleta foram colhidos de 3 a 5 mL de sangue através da punção venosa com agulha e seringa esterilizadas ou descartáveis previamente heparinizada (0.1 mL de liuqemine) após assepsia local com álcool iodado ou álcool 70%.

Cultura de linfócitos: 500 µL de sangue total heparinizado e 2 mL de fitohemaglutina foram adicionados em placas de cultura contendo 5 mL de meio de cultura (RPMI 1690) com 20% de soro fetal bovino. Ressaltando que toda a operação foi realizada em fluxo laminar, com material estéril. Os frascos de cultura foram mantidos em estufa a 37°C por 72 h. O material foi mantido em contato com a cultura durante 24 h. De 30 a 45 min antes do fim desse período, foram acrescentadas 4 gotas de colchicina ao meio de cultura. Ao final do período de incubação os frascos foram retirados da estufa, levemente agitados e seu conteúdo foi transferido para tubos cônicos quais foram submetidos a centrifugação por 5 minutos a 900 rpm. O sobrenadante resultante foi retirado.

Para os testes com hipotonia progressiva foram adicionados aos tubos 5 mL de solução hipotônica de KCl, homogeneizados aos materiais com pipeta plástica. O material foi incubado a 37°C por 15 min, seguido de agitação, e adição de 0,5 mL de fixador.

Para afixação do material, este foi centrifugado por 5 min a 900rpm. O sobrenadante foi retirado, ressuspendido em 4 mL de fixador, e submetido a centrifugação a 900rpm por 5 min. Processo que foi repetido por três vezes. Após a última lavagem com fixador, uma quantidade de sobrenadante proporcional ao sedimento foi mantida.

Posteriormente, pingou-se 3-4 gotas do material ressuspenso sobre a lâmina levemente inclinada e o material foi seco a temperatura ambiente. Para a coloração, foi utilizado Giensa (6 mL de giensa + 20 mL de solução tampão fosfato, completado para 100 mL de água destilada).

### **3.5 Manutenção de Culturas Celulares**

É importante destacar que a sala de cultura celular deve ser mantida descontaminada, bem como os equipamentos, estufas e fluxo, e o operador deve estar adequadamente pavimentado. Os materiais utilizados como micropipetas, ponteiras, e entre outros e a o próprio fluxo laminar deve ser radiado de luz germicida antes de se iniciar a manipulação das células.

Durante o armazenamento as células permanecem encubadas em estufa a 37°C na presença de 5% de CO<sub>2</sub>, com a tampa da garrafa levemente aberta. Sobre a troca de meio de cultura, este procedimento foi realizado com a lavagem rapidamente das células com PBS ou meio de cultura, quais também foram descartados, e assim novo meio de cultura DMEM foi adicionado às células.

Para a tripsinização, contagem e repique foram removidos o meio da garrafa por aspiração com pipeta Pasteur, e adicionado 20 mL de meio sem soro para lavagem da garrafa. Ao se adicionar esse meio, a garrafa foi fechada, e o meio passado várias vezes por toda a superfície onde as células estavam aderidas. Em seguida, o meio foi retirado, e adicionado 3 mL de tripsina, qual também foi passada várias vezes por toda a superfície onde as células estavam aderidas e a garrafa ficou em estufa incubadora de CO<sub>2</sub> a 37°C por 5 min.

Após essa breve incubação, adicionou-se 20 mL de meio DMEM com auxílio de uma pipeta Pasteur gotejando o meio sobre a parede da garrafa onde as células estavam anteriormente aderidas, fazendo com que as células desgrudem da superfície para poderem ser aspiradas. Foi realizada então a aspiração desse meio e este foi colocado em tubo Falcon para realização da centrifugação por 5 min a 15000 rpm. Depois de centrifugado, o sobrenadante foi descartado e o precipitado de células foi ressuspendido em 1 mL de meio DMEM e homogeneizado com o auxílio de uma pipeta Pasteur.

Com uma câmara de Neubauer previamente preparada, o material foi introduzido entre a lamínula e a câmara, seguindo da adição do corante azul de Tripán por uma micropipeta. A quantidade de células da garrafa foi dividida em duas partes, sendo que uma foi ressuspendida em 10 mL de meio DMEM e novamente incubadas e a outra parte foi congelada para posterior teste de viabilidade celular pós-congelamento.

#### **3.5.1 Ensaio de Viabilidade Celular**

A cultura celular utilizada para este estudo foi a de 3T3 (fibroblastos de camundongos), cultivada em meio DMEM suplementado com 15% de soro fetal bovino, mantida a 37°C. A dispersão das células foi feita com tripsina, seguido de adição de meio de cultura DMEM.

Os materiais testados foram colocados em placas de cultura de células, e as células foram então adicionadas a essas placas, em contato direto com o material, durante 24 h.

Após, o material foi retirado, e as células foram fixadas com metanol e ácido acético, e coradas com giemsa 4%.

A avaliação foi realizada por análise morfológica das células, por meio de microscópio. Neste teste os materiais avaliados foram os Pellets 5% (Cloisite, Novaclay, Zeolita cubana, Bentonita, Zeolita modificada, Vermiculita e Controle A) e as membranas (Cloisite, Novaclay, Zeolita Cubana, Bentonita, Zeolita modificada, Vermiculita, Nano de Algodão, Controle A e Controle B). Em ambos os casos, se utilizou de um quadrado de 1 cm x 1cm do material para a realização dos testes, e foi mantido um controle negativo onde só foram mantidas células, sem nenhum material em contato.

### **3.5.2 Tali**

Os ensaios por Tali foram realizados com soluções dos materiais em pó Cloisite, Novaclay, Zeolita cubana, Bentonita, Zeolita modificada e Vermiculita nas concentrações de 0,1, 1,0 e 5,0 mg/mL e também com o Linter, nas mesmas concentrações, junto a um controle negativo. O tratamento foi realizado em 100µL de células com meio de cultura, durante 1 h. Após o tratamento, o conteúdo foi transferido para tubos de 2mL, centrifugado a 1500 rpm por 5 min e o sobrenadante resultante foi descartado.

O material restante foi ressuscitado com 100 µL de reagente C, em seguida foi adicionado 5µL do reagente A, novamente ressuscitado, e mantido no escuro em temperatura ambiente por 20 min. Novamente foi realizada a centrifugação do material a 1500rpm por 5 min, adicionado 100 µL do reagente C e homogeneizado todo o conteúdo. Por fim, foi adicionado 1µL da solução B e deixado em repouso por 5 min. Para a leitura, 25µL de material de cada amostra a ser analisada foi adicionado a lâminas próprias para o aparelho, inseridas nele, seguido de focalização e corrida para que se faça a avaliação das células. Previamente, no equipamento foi escolhido o teste APOP, e feito o Background.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 *Allium cepa*

#### 4.1.1 Leituras nas laminas ou Bioplásticos

Analisando os dados da leitura das lâminas é possível verificar que estas apresentaram uma boa taxa de divisão celular para que a avaliação de citotoxicidade. Como o teste foi realizado em triplicata, as médias foram calculadas, e foram determinados os índices Mitóticos e de Alterações (Tabela 16), seguido da avaliação da significância, qual se dá nos gráficos abaixo (Figura 63 e 64).

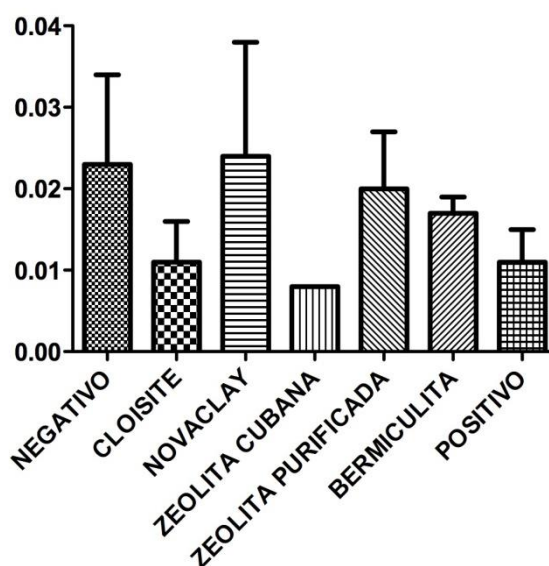
Em relação ao índice mitótico, é possível constatar que o material Novaclay apresentou nas células qual ficou em contato, índice mais próximo ao controle negativo, seguido dos materiais Zeolita modificada, e Vermiculita.

As células quais ficaram em tratamento com o material Cloisite apresentam índice mitótico muito próximo do índice do controle positivo, e as que ficaram em contato com Zeolita Cubana apresentam índice mitótico ainda inferior a estes, o que sugere que estes materiais possam diminuir ou bloquear a divisão celular.

**Tabela 16.** Dados referente as leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos - Técnica *Allium cepa*

<b>Tratamento</b>	<b>Média Índice Mitótico</b>	<b>Desvio Índice Mitótico</b>	<b>Média Índice de Alterações</b>	<b>Desvio Índice de Alterações</b>
Negativo	0,0269	0,0033	0,015	0,014
Cloisite	0,0254	0,0192	0,042	0,040
Novaclay	0,0285	0,0098	0,064	0,037
Zeolita C.	0,0085	0,0015	0,229	0,036
Bentonita	0,0186	0,0044	0,001	0,000
Zeolita P.	0,0224	0,0017	0,089	0,072
Bermiculita	0,0210	0,0032	0,027	0,026
Positivo	0,0094	0,0024	0,230	0,047

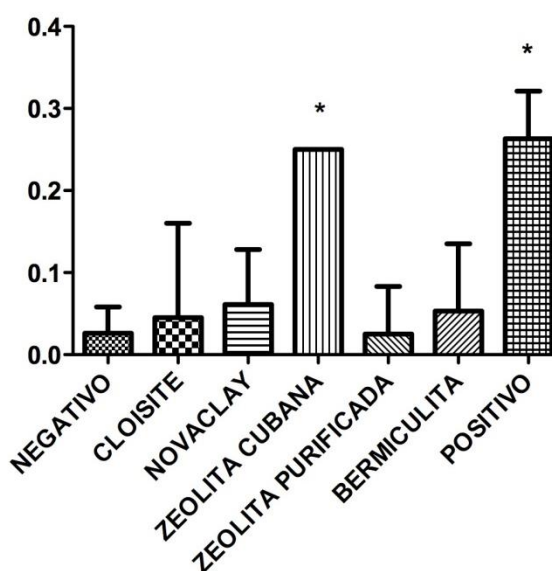
Contudo, estes resultados não demonstraram significância quando avaliados pelo GraphPad Prism 5.



**Figura 63.** Gráfico de significância do índice mitótico das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos.

Com relação aos índices de alterações (Figura 64), o controle negativo apresentou um índice bem baixo, junto com as células tratadas com zeolita modificada. Outras amostras como Cloisite, Novaclay e Bermiculita também apresentaram índices baixos de alterações.

Entretanto, o controle positivo, e o material Zeolita Cubana apresentaram altos e significativos índices de alterações nas células.



**Figura 64.** Gráfico de significância do índice de alterações das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos.

Perante tais resultados, se faz necessário maiores estudos com atenção voltada principalmente ao material Zeolita Cubana, que frente este teste, sugere possuir caráter genotóxico.

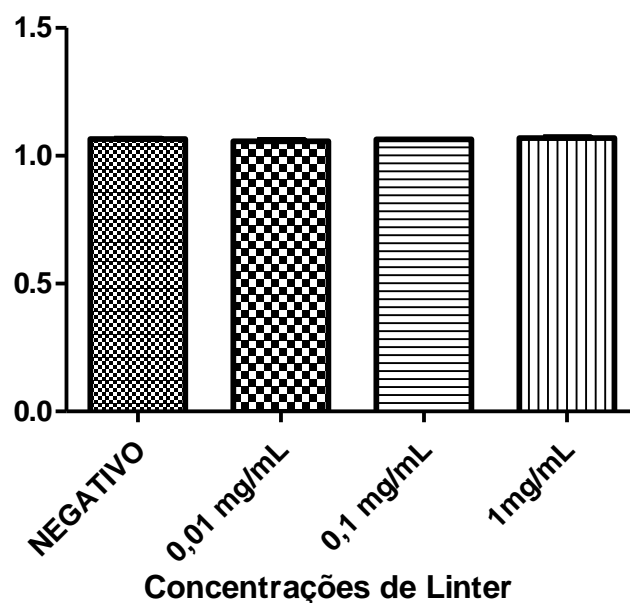
#### 4.1.2 Linter

Os dados obtidos com a leitura das lâminas de *Allium cepa* para análise de Linter, representados na Tabela 17, e a Figura 65, demonstram que o Linter nas diversas concentrações testadas manteve o índice mitótico muito semelhante ao tratamento negativo, que apresentou índice de 1,065. O Linter a 0,01mg/mL e a 0,1mg/mL apresentaram índice mitótico pouco abaixo, 1,057 e 1,064, respectivamente, enquanto o Linter a 1mg/mL, apresentou leve aumento desse índice, 1,069.

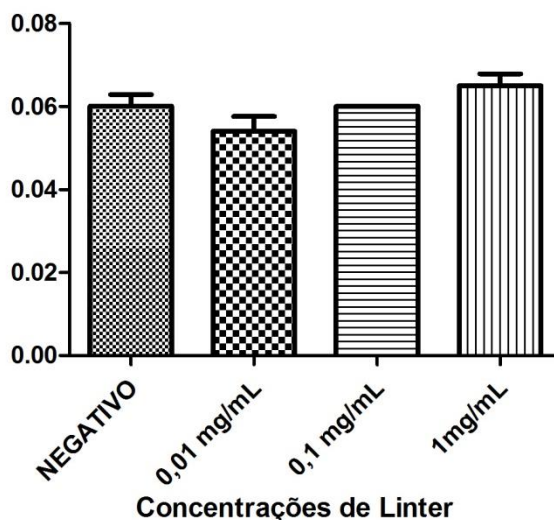
**Tabela 17.** Dados referente leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com Linter - Técnica *Allium cepa*.

<b>Tratamento</b>	<b>Média Índice Mitótico</b>	<b>Desvio Índice Mitótico</b>	<b>Média Índice de Alterações</b>	<b>Desvio Índice de Alterações</b>
Negativo	1,065	0,002	0,060	0,004
Linter 0,01mg/ml	1,057	0,006	0,054	0,005
Linter 0,1mg/ml	1,064	0,000	0,060	0,000
Linter 1mg/ml	1,069	0,004	0,065	0,004

A Figura 65 apresenta que tais diferenças são insignificantes, uma vez que os resultados são muito próximos. Quanto aos índices de alterações, dados na Tabela 2 e representados no Gráfico de Significância da Figura 66, apresentaram-se de forma semelhante aos índices mitóticos. O Linter 0,1mg/mL apresentou o mesmo índice do controle negativo, de 0,060, o Linter 0,01mg/mL apresentou Índice pouco menor, de 0,054 e o Linter testado a 1mg/ml apresentou Índice pouco superior, de 0,065. Contudo, estes valores também não demonstraram significância perante avaliação do GraphPad Prism 5.



**Figura 65.** Gráfico de significância do índice mitótico das células submetidas aos tratamentos nas diversas concentrações de Linter.



**Figura 66.** Gráfico de significância do índice de alterações das células submetidas aos tratamentos nas diversas concentrações de Linter.

## 4.2 Ensaio Cometa

### 4.2.1 Leituras obtidas nas lâminas ou Bioplásticos

O experimento foi executado com sucesso pela metodologia adotada de teste Cometa anteriormente descrita tanto para os materiais do Projeto Bioplástico quanto para o Linter. Foram realizadas as leituras das lâminas, calculado as células, o Score, índice de danos, e



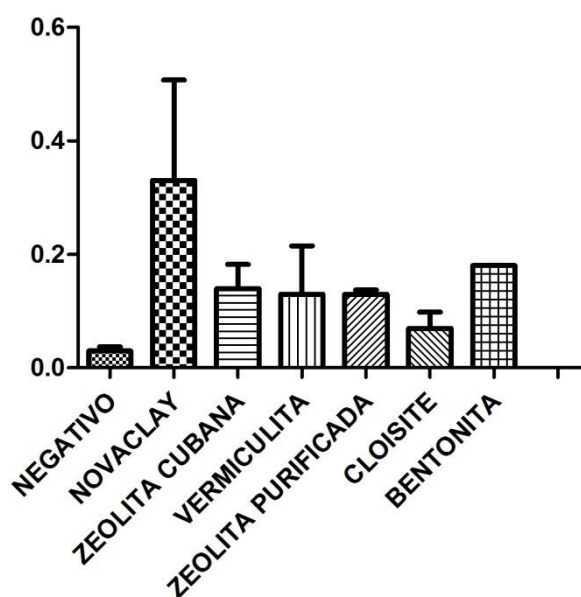
então foi alcançada uma média do Índice de danos para cada tratamento. Esses dados estão apresentados na Tabela 18, e o gráfico de significância deste índice de danos, é apresentado na Figura 67.

Os ensaios realizados com os materiais em pó não foram bem sucedidos, uma vez que a partícula do material não permitiu a leitura das lâminas. Quanto aos materiais em pellet, como é possível observar na Tabela 18, o tratamento negativo apresentou nas células um índice de danos muito baixo, abaixo, e consideravelmente distante dos índices apresentados pelas células submetidas aos demais tratamentos. As células tratadas com Cloisite 5% apresentaram o índice de danos mais próximo das do Controle Negativo, as tratadas com Zeolita modificada, Vermiculita e Zeolita Cubana apresentam índices parecidos entre si, mas considerados altos quando comparados ao índice do controle negativo. Já o tratamento com Bentonita 5% causou nas células um índice de danos ainda maior, só menor que a Novaclay, que apresentou nas células, o maior índice de danos.

Por mais que esses dados pareçam significativos, perante avaliação estatística no GraphPad Prism 5, esses danos não apresentam significância (Figura 67), porém, não deixam de ser importantes ou válidos.

**Tabela 18.** Dados referente às leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com os bioplásticos - Ensaio Cometa.

<b>Tratamento</b>	<b>Células Contadas</b>	<b>Score</b>	<b>Índice de Danos</b>	<b>Desvio Índice de Danos</b>
Negativo	62	2	0,03	0,007
Novaclay 5 %	59	18	0,33	0,262
Z.Cubana 5 %	71	10	0,14	0,058
Vermiculita 5 %	69	9	0,13	0,120
Z. Purificada 5 %	54	7	0,13	0,007
Cloisite 5 %	58	4	0,07	0,041
Bentonita 5 %	79	14	0,18	0,001



**Figura 67.** Gráfico de Significância dos Índices de Danos apresentados pelos diversos tratamentos com os materiais do Projeto Bioplástico.

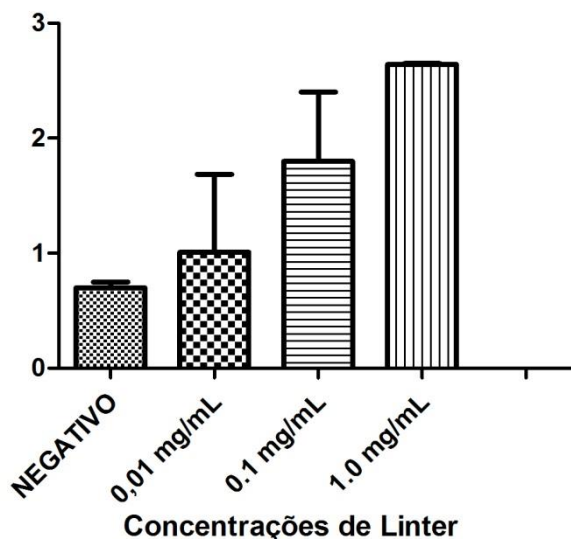
#### 4.2.2 Linter

A leitura das lâminas de Linter foi realizada, e foram calculados novamente do Score, o Índice de danos e obtido uma média do índice de danos de cada tratamento, seguido de avaliação de significância. pelo GraphPad Prism 5. Pelos dados da Tabela 19, é possível constatar diferenças nítidas entre as médias do Score e do índice de danos das células do controle negativo com relação as médias do Score e do índice de danos das células que foram submetidas a algum tratamento. É notável que os danos às células aumentaram de acordo com o aumento da concentração do material testado. Contudo, o material testado, Linter, demonstra caráter que causa danos ao material genético, lembrando que sua capacidade de gerar esses danos aumenta quando em maiores concentrações.

**Tabela 19.** Dados referente leituras realizadas das células submetidas aos diversos tratamentos com Linter - Ensaio Cometa.

Tratamento	Células Contadas	Score	Índice de Danos	Desvio Índice de Danos
Negativo	52	36,5	0,70	0,068
Linter 0,01mg/mL	57	59,5	1,01	0,955
Linter 0,1mg/mL	53,5	95,5	1,80	0,851
Linter 1,0mg/mL	63,5	167,5	2,64	0,016

Estatisticamente esses dados também não apresentam significância, Figura 68, contudo, estes resultados também não perdem sua validade.



**Figura 68.** Gráfico de significância dos índices de danos apresentados pelos diversos tratamentos com Linter.

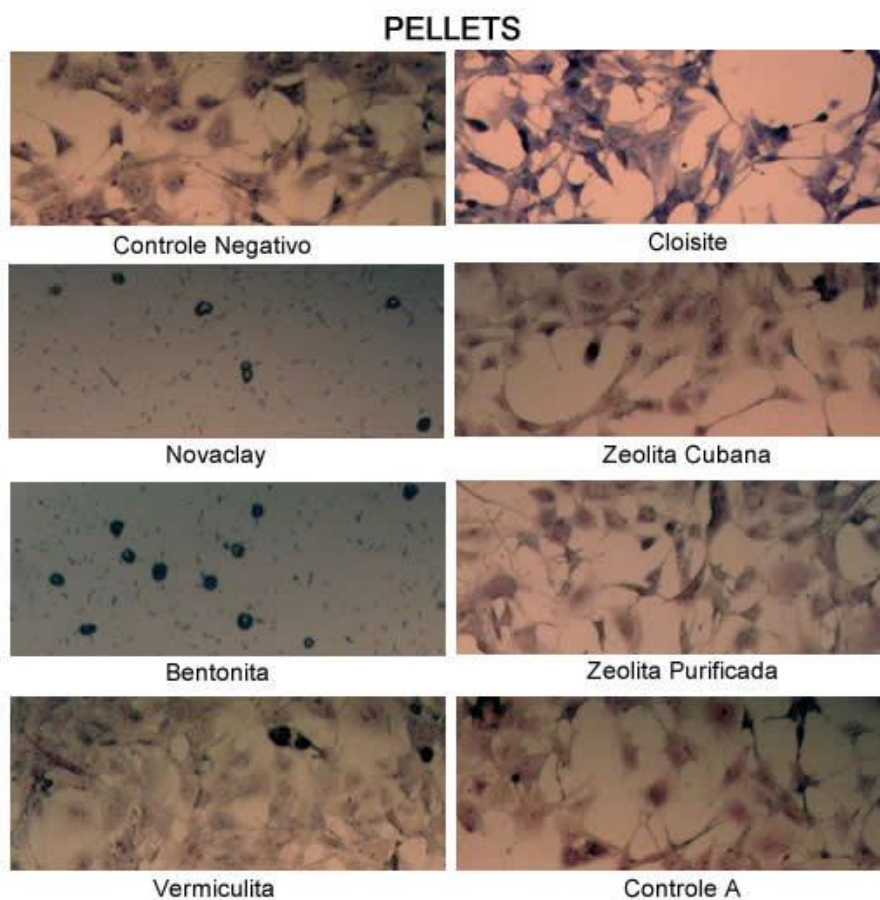
Ainda é importante ressaltar que os danos que o Ensaio Cometa permite avaliação são passíveis de correção, portanto, é sempre importante associá-lo a outros testes.

#### 4.3 Citogenética

Esta técnica foi realizada por três vezes, porém, os resultados não foram satisfatórios, uma vez que a cada tentativa, foram poucas as lâminas quais permitiam nitidamente a visualização das metáfases e dos cromossomos.

#### 4.4 Viabilidade Celular

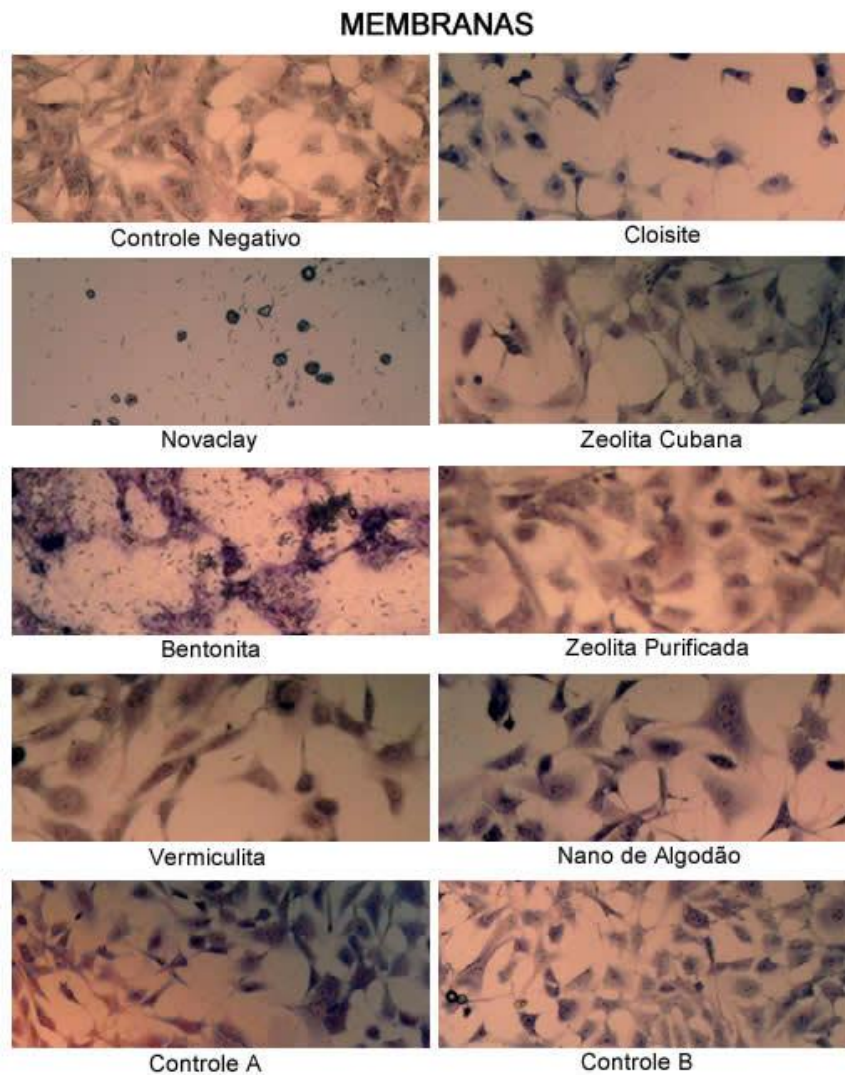
Visualizando a morfologia das células em contato com os materiais, comparando-as entre si, e com o controle negativo (fotos das células apresentadas nas Figuras 69 e 70) é possível notar que tanto na análise do material em forma de pellet, quanto em membrana, as células que sofreram algum tipo de trauma, e acabaram morrendo (morfologia claramente diferenciada, onde as células se apresentam em um borrão, ou arredondadas) foram as células quais foram submetidas a contato com materiais compostos por Novaclay e Bentonita, enquanto as demais células (controle negativo e em contato com os demais materiais) demonstram estar vivas, e bem aderidas (células esticadas).



**Figura 69.** Microfotografias das células que ficaram em contato com os Pellets.

Especificamente em relação às células mantidas em contato com os demais materiais, também não apresentaram nenhuma diferença significativa quanto a sua concentração quando comparadas ao controle negativo.

Contudo, é possível sugerir, que na situação em qual o experimento foi realizado, os materiais Novaclay e Bentonita apresentaram caráter de citotoxicidade em contato direto com as células 3T3.



**Figura 70.** Microfotografias das células que ficaram em contato com as membranas.

## 4.5 Tali

### 4.5.1 Leituras obtidas nas lâminas ou Bioplásticos

Pela avaliação dos dados resultantes pela análise do Tali (Tabela 20), é possível constatar que todas as células quais receberam algum tratamento apresentaram viabilidade celular inferior ao controle negativo, o que é esperado, porém, esta viabilidade celular das células tratadas com as diversas amostras apresentaram taxas muito baixas algumas vezes, e proporções não tão esperadas, como por exemplo, a viabilidade celular não diminui conforme se aumenta a concentração do composto em cada tratamento (o que só acontece no caso do material Bentonita).

**Tabela 20.** Dados referente análise por Tali das células tratadas com os materiais.

<b>Amostra</b>	<b>Concentração</b>	<b>Viabilidade (%)</b>	<b>Morte (%)</b>	<b>Apoptose (%)</b>
Controle Negativo		70	10	20
Controle Negativo		68	4	28
Cloisite	0,1mg/mL	3	92	4
Cloisite	1,0mg/mL	8	89	3
Cloisite	5,0mg/mL	1	98	1
Novaclay	0,1mg/mL	9	73	18
Novaclay	1,0mg/mL	8	79	13
Novaclay	5,0mg/mL	33	67	0
Zeolita Cubana	0,1mg/mL	37	47	16
Zeolita Cubana	1,0mg/mL	22	63	15
Zeolita Cubana	5,0mg/mL	49	43	8
Bentonita	0,1mg/mL	18	45	36
Bentonita	1,0mg/mL	2	94	5
Bentonita	5,0mg/mL	1	99	1
Zeolita modificada	0,1mg/mL	54	36	10
Zeolita modificada	1,0mg/mL	42	41	17
Zeolita modificada	5,0mg/mL	58	40	2
Vermiculita	0,1mg/mL	40	24	37
Vermiculita	1,0mg/mL	59	41	0
Vermiculita	5,0mg/mL	62	18	20

Contudo, é sugerido a repetição do teste, junto de um melhor ajuste do equipamento, pois este resultado parece comprometido, principalmente pelo material testado ser em pó, e com isso, as pequenas partículas podem ter sido consideradas pelo equipamento como células.

#### **4.5.2 Linter**

Os dados coletados nesta análise, representados na Tabela 21, apresentam novamente como esperados, maior viabilidade celular nas células mantidas como controle negativo do que nas submetidas aos tratamentos com o Linter. Porém, para melhor avaliação da interferência da concentração do material na viabilidade, também é sugerido repetição da análise.

**Tabela 21.** Dados referente análise por Tali das células tratadas com diferentes concentrações de Linter

<b>Amostra</b>	<b>Concentração</b>	<b>Viabilidade (%)</b>	<b>Morte (%)</b>	<b>Apoptose (%)</b>
Controle Negativo		70	10	20
Controle Negativo		68	4	28
Linter	0,1mg/mL	30	40	30
Linter	1,0mg/mL	54	7	38
Linter	5,0mg/mL	34	64	2

## 5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir pelo teste *Allium cepa*, os bioplásticos contendo Cloisite e Zeolita Cubana, se mostraram tóxicas pela sua ação inibidora do índice mitótico. Neste mesmo teste o Linter de algodão não apresentou toxicidade.

Em relação ao ensaio Cometa verificou-se que todos os materiais testados aumentaram os danos às células, principalmente o material Novaclay, o qual aumenta bastante esses danos, seguido do material Bentonita, ficando memorizado a sua toxicidade. A avaliação da viabilidade celular de células, quando estas são mantidas em contato direto com os materiais estudados, demonstrou possível caráter citotóxico aos materiais Novaclay e Bentonita, tanto quanto estes estão em membranas, ou pellets.

A citogenética e o ensaio de viabilidade celular Tali tanto para os materiais em estudo quanto para o Linter não ofereceram resultados suficientes para elaboração de uma conclusão sobre tais, e com isso se sugere a repetição destes últimos testes.

Como cada ensaio utiliza um tipo de material teste: células vegetais, linfócitos humanos, fibroblastos de camundongo, é tolerante que os resultados não sejam os mesmos.

Contudo, é possível concluir que os materiais Cloisite, Zeolita Cubana, Novaclay e Bentonita merecem maior atenção quanto a novos testes, ou mesmo aplicações, pois frente aos testes demonstraram interferências geotóxicase citotóxicas evidentes ao material qual foi submetido a contato. Sobre o Linter, seu caráter genotóxico apresenta ser dependente de sua concentração, quanto mais concentrado, causa maior quantidade de danos nas células, sendo importante constatar que esta consideração quanto a este último material é determinada pelo ensaio cometa realizado, uma análise de danos que podem ser passíveis de correção.



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECK, A., KRETZSCHMAR, U., SCHMID, O. (Eds.) (2006): Organic Food Processing - Principles, Concepts and Recommendations for the Future. Results of a European research project on the quality of low input foods. **FiBL-Report**. Research Institute of Organic Agriculture FiBL, Frick, Switzerland. Available at: <http://orgprints.org/8914/01/beck-et-al-2006-reportLowInputFood.pdf> (accessed 21 July 2011).

BELPAEME, K.; COOREMAN, K.; KIRSCH-VOLDERS, M. Development and validation of the in vivo alkaline comet assay for detecting genomic damage in marine flatfish. **Mutation research**, v. 415, n. 3, p. 167-84, 1998.

BEZRUKOV, V. F.; LAZARENKO, L. M. Environmental impact on age-related dynamics of karyotypical instability in plants. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 520, p. 113-118, 2002.

CARVALHO, H.; COLLARES-BUZATO, C.M. Célula – Uma abordagem multidisciplinar. Ed. Manole, Barueri, S/P, 2005.

COLLINS, A.R. The comet assay for DNA damage and repair: Principles, applications and limitations. **Molecular Biotechnology**, v. 26, 249-261, 2004.

FAIRBAIRN, D.W.; OLIVE, P.L.; O'NEIL, K.L. The comet assay: a comprehensive review. **Mutation Research**, v.339 p. 37-59. 1995.

FERRARO, M.V.M.; FENOCCHIO, A.S.; MANTOVANI, M.S.; OLIVEIRA RIBEIRO, C.A.; CESTARI, M.M. Mutagenic effects of trybutyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology**. v. 27. p.103-107. 2004.

FISKEJÖ, G. The Allium test as an Alternative in Environmental Studies: The Relative Toxicity of Metal Ions. **Mutation Research**, Orlando, v. 197, n.21, p. 243-260 Oct.1988.

GRANT, W. The present status of higher plants bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, Amsterdam, v.310, n.2, p.175-85, 1994.

GUERRA, M. S. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco. **Rev. Bras. Genet.**, v. 9, p. 21-40, 1988.

KURAS, M.; NOWAKOWSKA, J.; SLIWINSKA, E.; PILARSKI, R.; ILASZ, R.; TYKARSKA, T.; GULEWICZ, K. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of Allium Test induced by barck water extract of *Uncariatomentosa* (Willd.) DC. **Chemosphere**, Oxford., v. 107, p. 211-221, 2006.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTII, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water

contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirao Preto, v. 29, n.1, p.148-158, 2006.

MEDEIROS, E. S.; MATOSSO, L. H. C.; Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais. São Paulo: Artliber, 2006. Cap. 1 p. 13-20.

MIGID, A.H.M.; AZAB, Y.A.; IBRAHIM, W.M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.66, p.57-64, 2007.

OLIVE, P.L.; BANÁTH, J.P. Induction and rejoining of radiation-induced DNA single-strand breaks: 'the tail moment' as a function of position in the cell cycle. **Mutation Research**, v. 294, p. 275-283, 1993.

OSTLING.O. AND JOHANSON,KJ. (1984) Microelectrophoretic study of radiationinduced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 123, 291-298.

RAVEN, P. H. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. **Ann. Mo. Bot. Gard.**, v. 62, p. 724-764, 1975.

RUAS, C. F. Evolução cariotípica no gênero *Mikania* Willd (Compositae). 1989. 137 f. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1989.

TICE, R.; VASQUEZ, M. Protocol for the application of the pH>13 alkaline single cell gel (SCG) assay to the detection of DNA damage in mammalian cells. **Environmental Mutagenesis**, p.315-339, 1999.

VIDAKOVIĆ-CIFREK Z, PAVLICA M, REGULA I. PAPERS D. Cytogenetic damage inshallot (*Allium cepa*) root meristems induced by oil industry "high-density brines". **Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.43, p. 284-291. 2002.

VOSA, C. G. Plant chromosome banding and cytotaxonomy. Tópicos de citogenética e evolução de plantas. In: AGUIAR-PERECIN, M. L. R.; MARTINS, P. S.; BANDEL, G. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p. 17-25.

YI, H.; MENG, Z. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 537, p. 109-114, 2003.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os amidos de milho e mandioca adicionados de glicerol e cargas mostram-se materiais interessantes para a produção de biocompósitos extrudados e termoprensados com bom aspecto e boas propriedades. A presença da bentonita e as zeolitas utilizadas como cargas nas concentrações de 3 e 5% aumentam a rigidez, diminuem a tenção na ruptura e o módulo de elasticidade dos biocompósitos produzidos, apresentando propriedades óticas interessantes, com potencial para aplicação na indústria de bioembalagens flexíveis.

Após a avaliação meticulosa das condições de processamento é possível concluir que produção de biocompósitos com uma extrusora Clextral dupla rosca com matriz laminar de 1 mm, vazão de alimentação de 4,5 Kg/h, vazão de líquidos de 2,5 L/h, 70 % de glicerol na fração líquida, 139 rpm na velocidade dos parafusos e 46,82 % de percentual de amido de milho com respeito ao amido de mandioca, adição de zeolitas e bentonita (3 e 5%), com um perfil de temperatura específico nas 10 zonas de aquecimento (40, 50, 60, 80, 100, 120, 100, 90, 70 e 70°C respectivamente) e termoprensagem de 15 ton por 1 minuto se apresenta como uma alternativa na produção de materiais com propriedades diferenciais.

Em termos de permeabilidade, solubilidade em água e molhabilidade os biocompósitos processados nas mesmas condições mais adicionados de vermiculita apresentam potencial tecnológico, porem os mesmos apresentam características óticas que permitem concluir que os compósitos obtidos são convencionais, sem nenhuma intercalação ou esfoliação, pelo que técnicas de processamento e mistura devem ser desenvolvidas para melhorar estes aspectos.

Apesar dos resultados promissores, Zeolita Cubana e Bentonita merecem maior atenção quanto a os testes toxicológicos, pois frente aos estudos realizados demonstraram interferências evidentes ao material submetido a contato. Sendo a zeolita modificada o único material seguro após as análises efetuadas recomendadas para sua manipulação e implementação para futuros estudos visando fornecer novos mercados para este material para o desenvolvimento de embalagens flexíveis.

## APÊNDICE

**ApêndiceA.** Coeficientes de regressão, falta de ajuste e coeficiente de determinação das propriedades mecânicas

**ApêndiceB.** Coeficientes de regressão, falta de ajuste e coeficiente de determinação das propriedades físicas

**Apêndice A.** Coeficientes de regressão, falta de ajuste e coeficiente de determinação das propriedades mecânicas e de espessura dos bioplásticos.

	<b>Força na perfuração (N)</b>	<b>Deformação na perfuração(%)</b>	<b>Tensão na tração (mPa)</b>	<b>Deformação na tração (%)</b>	<b>Módulo de Young (MPa)</b>	<b>Espessura (mm)</b>
<b>Intercepto</b>	1.22E+01*	3.74E+01*	1.45E+00*	4.91E+00*	1.09E+01*	2.94E-01*
<b>X<sub>1</sub></b>	-4.74E+00*	-6.08E+00*	-2.77E-01*	-7.70E-02 n.s.	-2.49E+00*	-3.01E-02*
<b>X<sub>1</sub><sup>2</sup></b>	-5.59E-01*	-1.52E+00*	2.20E-02 n.s.	-1.52E-02 n.s.	5.08E-03 n.s.	1.05E-02*
<b>X<sub>2</sub></b>	4.73E-01*	3.78E+00*	-1.26E-01*	1.40E-01*	-3.64E+00*	9.05E-03*
<b>X<sub>2</sub><sup>2</sup></b>	-7.11E-01*	-1.41E-01n.s.	-1.00E-01 n.s.	2.37E-02 n.s.	-4.37E-01 n.s.	1.40E-02*
<b>X<sub>3</sub></b>	-2.81E+00*	-4.74E+00*	-3.54E-02 n.s.	-1.48E-02 n.s.	2.07E+00 n.s.	-2.62E-02*
<b>X<sub>3</sub><sup>2</sup></b>	3.86E-01*	-3.99E+00*	-2.22E-02 n.s.	-1.35E-02 n.s.	1.26E+00 n.s.	1.40E-02*
<b>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub></b>	2.54E+00*	3.60E+00*	2.76E-01*	1.38E-01*	5.20E+00*	3.75E-03 n.s.
<b>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub></b>	2.83E+00*	-6.00E-01*	-1.49E-01 n.s.	-5.25E-02 n.s.	-2.90E+00 n.s.	8.75E-03*
<b>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub></b>	-8.14E-01*	1.08E+00*	-9.13E-02n.s.	2.50E-02 n.s.	-2.58E+00 n.s.	1.38E-02*
<b>Falta de ajuste</b>	6.22E-02	6.32E-01	5.13E-02	3.03E-01	1.77E+01	1.10E-04
<b>R<sup>2</sup></b>	0,60	0,75	0,62	0,61	0,63	0,80

\*Significativas; n.s. Não significativas.

**Apêndice B.** Coeficientes de regressão, falta de ajuste e coeficiente de determinação das propriedades físicas, calorimétricas e energia mecânica específica (EME) dos bioplásticos.

	Opacidade (%)	Ângulo de contato (°)	Entalpia A	Entalpia B	EME (Wh/kg)
<b>Intercepto</b>	4.48E+00*	3.48E+01*	1.17E+00*	2.15E+00*	4.54E+02*
<b>X<sub>1</sub></b>	3.79E-01*	-3.09E-01 n.s.	-1.96E-01*	5.76E-01*	-1.62E+01 n.s.
<b>X<sub>1</sub><sup>2</sup></b>	3.64E-01*	2.23E+00*	-6.19E-02 n.s.	2.35E-01 n.s.	-1.66E+01 n.s.
<b>X<sub>2</sub></b>	3.63E-03 n.s.	3.45E-01 n.s.	-2.79E-02 n.s.	-2.35E-01 n.s.	7.95E+01*
<b>X<sub>2</sub><sup>2</sup></b>	6.04E-01*	2.05E+00*	1.87E-01*	-1.57E-01 n.s.	-1.70E+01 n.s.
<b>X<sub>3</sub></b>	1.28E-01 n.s.	2.99E+00*	-5.09E-03 n.s.	5.66E-01*	-1.67E+01 n.s.
<b>X<sub>3</sub><sup>2</sup></b>	3.16E-01*	2.88E+00*	-1.59E-01*	2.12E-01 n.s.	-2.18E+00 n.s.
<b>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub></b>	5.08E-01*	1.49E+00*	1.03E-01 n.s.	6.88E-02 n.s.	1.99E+00 n.s.
<b>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub></b>	-3.18E-01*	2.91E+00*	1.13E-01 n.s.	1.39E-01 n.s.	7.99E+00 n.s.
<b>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub></b>	-1.15E+00*	1.01E+00 n.s.	-3.50E-02 n.s.	-4.88E-02 n.s.	-1.99E+01 n.s.
<b>Falta de ajuste</b>	7.85E-02	3.07E+00	2.90E-02	1.98E-01	2.72E+03
<b>R<sup>2</sup></b>	0,57	0,65	0,83	0,80	0,68

\*Significativas; n.s. Não significativas.