

## **Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira**

*Nanocomposite biofilms obtained from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and Monmorilonite: Evaluation of the physical, mechanical and barrier properties*

### **Autores | Authors**

#### **William Renzo CORTEZ-VEGA**

Universidade Federal da Grande Dourados  
(UFGD)  
Faculdade de Engenharia  
Dourados/MS - Brasil  
e-mail: williamvega@ufgd.edu.br

#### **Daniela Cardozo BAGATINI Juliana Tais Andreghetto de SOUZA**

Universidade Federal do Rio Grande  
(FURG)  
Engenharia de Alimentos  
Escola de Química e Alimentos  
Rio Grande/RS - Brasil  
e-mail: danielabagatini@hotmail.com  
ju.andreghetto@hotmail.com

#### **✉ Carlos PRENTICE**

Universidade Federal do Rio Grande  
(FURG)  
Escola de Química e Alimentos  
CP 474  
CEP 96201-900  
Rio Grande/RS - Brasil  
e-mail: dqmprent@furg.br

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 13/09/2011  
Aprovado | Approved: 13/02/2013

### **Resumo**

O objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades de biofilmes nanocompósitos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) com argila organofílica. Inicialmente, foi obtido isolado proteico de corvina (IPC) utilizando-se o processo de mudança de pH. O IPC foi obtido a partir de subprodutos da industrialização de corvina. Para o desenvolvimento dos filmes, foi executado um planejamento experimental de Box e Behnken, com três níveis de IPC (2; 3,5; 5 g.100 g<sup>-1</sup> de solução), argila montmorilonita MMT (0,3; 0,5; 0,7 g.100 g<sup>-1</sup> de solução) e glicerol (25, 30, 35 g.100 g<sup>-1</sup> IPC). Os filmes poliméricos foram desenvolvidos pela técnica de *casting*. Os valores de resistência à tração variaram entre 7,2 e 10,7 MPa, e os valores de alongamento, de 39,6 a 45,8%. Os valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) variaram entre 3,2 e 5,5 g mm m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>kPa<sup>-1</sup>. O IPC apresentou teor médio de proteína de 97,87% (b. s.). Pode-se concluir que os filmes nanocompósitos produzidos a partir de IPC com MMT foram promissores, desde o ponto de vista das propriedades mecânicas, da aparência visual e do fácil manuseio até a baixa permeabilidade ao vapor de água e a baixa solubilidade. Com relação às propriedades mecânicas, as concentrações de IPC e MMT foram os principais fatores que influenciaram o desenvolvimento dos filmes nanocompósitos. Os resultados obtidos no planejamento experimental utilizado indicaram que 3,5 g de IPC.100 g<sup>-1</sup> de solução, 0,5 g de MMT.100 g<sup>-1</sup> de solução e 30 g de glicerol.100 g<sup>-1</sup> IPC seriam os parâmetros ideais para a preparação de filmes nanocompósitos por *casting*.

**Palavras-chave:** *Corvina; Subproduto; Isolado proteico; Filmes nanocompósitos; Propriedades.*

### **Summary**

The objective of this study was to evaluate the properties of nanocomposite biofilms based on Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate with organophilic clays. Initially the croaker protein isolate (CPI) was obtained using the pH shifting process from by-products of croaker industrialization. A Box and Behnken experimental design was used to develop the films, with three levels of CPI (2, 3.5 and 5 g.100 g<sup>-1</sup> solution), montmorilonite MMT clay (0.3, 0.5 and 0.7 g.100 g<sup>-1</sup> solution) and glycerol (25, 30 and 35 g.100g<sup>-1</sup> CPI). The polymeric films were produced by the "casting" technique. The tensile strength values ranged from 7.2 to 10.7 MPa and the elongation values from 39.6 to 45.8%. The water vapor permeability (WVP) values ranged from 3.2 to 5.5 (g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>) and the CPI had an average protein content of 97.87% protein (d. b.). It was concluded that the nanocomposite films produced from CPI with MMT were promising from the standpoint of their mechanical properties, visual appearance and easy handling, as well as for their low water vapor permeability and low water solubility. With respect to their mechanical properties, the concentrations of CPI and MMT were the main factors influencing the development of the nanocomposite films. The results obtained from the experimental design indicated that 3.5 g of CPI.100 g<sup>-1</sup> solution, 0.5 g of MMT.100 g<sup>-1</sup> solution and 30 g of glycerol.100 g<sup>-1</sup> CPI would be the ideal parameters for the development of nanocomposite films by "casting".

**Key words:** *Whitemouth croaker; Byproduct; Protein isolate; Composite films; Properties.*

## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

### 1 Introdução

A maioria dos biofilmes é constituída de plásticos biodegradáveis obtidos a partir de materiais de fonte renovável, que agem como barreira a elementos externos e podem proteger os produtos embalados de danos físicos e biológicos, assim como impedir a volatilização de compostos e a perda de umidade, aumentando a vida útil do produto. Nos últimos anos, vem ocorrendo um grande interesse pelo desenvolvimento de biofilmes comestíveis ou degradáveis biologicamente, em razão das preocupações ambientais sobre o descarte dos materiais não renováveis das embalagens para alimentos e das oportunidades para criar novos mercados para as matérias-primas formadoras de filme (BAE et al., 2009; PAIVA et al., 2006; RHIM; NG, 2007). Materias poliméricas naturais, tais como polissacárideos (amido e celulose), proteínas e triglicéridos (óleos vegetais), são biodegradáveis e podem, portanto, desempenhar um papel significativo para resolver os problemas ambientais provocados pelo uso de materiais poliméricos sintéticos.

Cuq et al. (1995), trabalhando com proteínas de sardinha (*Sardina pilchardus*), demonstraram que as proteínas miofibrilares possuem a capacidade de formar filmes transparentes e bastante resistentes. Outros trabalhos foram realizados com proteínas miofibrilares de carne bovina (SOUZA et al., 2004) e de pescado (MONTERREY-QUINTERO e SOBRAL, 2000).

As proteínas de pescado apresentam propriedades que são vantajosas no preparo de biofilmes, tais como habilidade para formar redes, plasticidade e elasticidade, apresentando boa barreira ao oxigênio; entretanto, sua barreira ao vapor de água é baixa em função da sua natureza hidrofílica. Estas propriedades podem ser melhoradas aplicando-se nanotecnologia, incluindo materiais, como as nanoargilas e argilas organofílicas. Assim, estas partículas de tamanho nanométrico, dispersas na matriz polimérica, poderiam melhorar as propriedades mecânicas, de barreira a gases e à umidade, térmicas, ópticas e transparência, quando comparadas com compostos poliméricos convencionais (PAIVA et al., 2006).

A principal razão para as diferenças no desempenho entre materiais compósitos e nanocompósitos está relacionada com a elevada área superficial destes últimos, resultando em elevada interação entre a matriz e as nanopartículas (RAY e OKAMOTO, 2003).

Dentre as nanopartículas frequentemente utilizadas em nanocompósitos, encontram-se as nanoargilas, como a montmorilonita, que é um dos minerais argilosos mais abundantes e investigados (RHIM; NG, 2007). Existem poucos estudos sobre biofilmes nanocompósitos com argilas, como biofilmes de proteína de soja com argilas (RHIM et al., 2005) e de proteína de soro de

leite com montmorillonita (HEDENQVIST et al., 2006). Olabarrieta et al. (2006) demonstraram que há uma melhoria na resistência física e à umidade dos biofilmes nanocompósitos, em comparação aos biofilmes sem nanoargila.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes nanocompósitos a partir de isolado proteico de corvina com montmorilonita, bem como avaliar suas propriedades físicas, mecânicas e de barreira.

### 2 Material e métodos

A matéria-prima utilizada foi carne mecanicamente separada (CMS), proveniente de subprodutos da industrialização de corvina (*Micropogonias furnieri*). O isolado proteico de corvina foi obtido empregando-se metodologia adaptada de Nolsoe e Underland (2009) para solubilizar e isolar proteína pelo processo de variação de pH. A argila organofílica utilizada foi a Montmorilonita K10 (Sigma-Aldrich) com tamanho de partícula de 100 nm. O plastificante utilizado foi o glicerol (Vetec, Química Fina).

#### 2.1 Elaboração dos filmes

Para a elaboração de filmes de isolado proteico de corvina (IPC), foi executado um planejamento experimental de três níveis e três fatores com três réplicas no ponto central, sugerido por Box e Behnken (1960). Os resultados foram submetidos à metodologia de superfície de resposta (MSR), para estudar os efeitos simultâneos das variáveis independentes – concentração de IPC (IPC = 2; 3,5 e 5 g.100 g<sup>-1</sup> de solução filmogênica); concentração de montmorilonita (MMT = 0,3; 0,5 e 0,7 g.100 g<sup>-1</sup> de solução filmogênica), e plastificante glicerol (G = 25, 30 e 35 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC em base seca) – sobre as respostas resistência à tração (MPa), alongamento (%), força na ruptura (N), permeabilidade ao vapor de água (g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>) e solubilidade (%). Para análise de variância e metodologia de superfície de resposta, foi utilizado o programa Statistica 6.1 for Windows. Na Tabela 1, são apresentadas as variáveis.

Os filmes poliméricos foram preparados pela técnica de *casting*, em que cada solução filmogênica (100 mL)

**Tabela 1.** Níveis e valores das variáveis independentes IPC, MMT e glicerol utilizados no planejamento experimental de Box e Behnken para preparação dos filmes.

Variáveis codificadas	Variáveis reais		
	IPC (g.100 g <sup>-1</sup> de solução)	MMT (g.100 g <sup>-1</sup> de solução)	G (g.100 g <sup>-1</sup> de IPC)
-1	2,0	0,3	25
0	3,5	0,5	30
+1	5,0	0,7	35

IPC: Isolado proteico de corvina; MMT: montmorilonita; G: Glicerol.

## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

foi preparada segundo planejamento experimental, inicialmente com o preparo de uma dispersão de IPC em água destilada. Esta dispersão aquosa foi mantida com agitação suave e constante por 20 minutos com agitador eixo-hélice (IKA, modelo RW 20DZM.n) a 30 °C em banho ultratermostático (QUIMIS, modelo 214 D2), para hidratação do IPC. Posteriormente à hidratação, ajustou-se o pH da dispersão para 11,2 com adição de NaOH 1N (Merck) utilizando-se pHmetro de bancada (Marconi modelo PA 200) e mantendo-se agitação constante por mais 10 minutos. Em seguida, foi adicionada a MMT e a temperatura foi elevada a 80 °C. Após a completa dissolução do IPC e da MMT, adicionou-se o glicerol previamente solubilizado em água destilada na temperatura da solução filmogênica (80°C), mantendo-se o pH em 11,2. Posteriormente, a solução filmogênica foi colocada em homogeneizador (Ultra-turrax IKA modelo T25) por 2 minutos; em seguida, foi espalhada em placas de Petri com diâmetro de 15 cm e submetida à secagem em estufa com circulação de ar (QUIMIS 314D 242) a 40 °C ± 1 °C por 12 horas. Após a secagem, os filmes foram armazenados por 48 h, até o início das análises, em dessecadores mantidos a 25°C ± 2°C e umidade relativa de 55% ± 2%. Para controle da umidade relativa (UR), foi utilizada solução saturada de CaCl<sub>2</sub>.

### 2.2 Composição proximal do IPC

Foram realizadas determinações em triplicata de proteína, umidade, lipídios e cinzas, segundo metodologia oficial (CUNNIFF, 1995), a fim de determinar a composição proximal do IPC.

### 2.3 Espessura dos filmes

A espessura dos filmes foi medida utilizando-se um micrômetro digital (INSIZE modelo IP54). A espessura foi determinada como a média de oito medidas aleatórias em pontos diferentes do filme.

### 2.4 Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e o alongamento na ruptura (A) foram determinados uniaxialmente, esticando a amostra em uma direção usando um texturômetro (Stable Micro Systems modelo TA.XT plus), de acordo com o método padrão da American Society for Testing and Materials, ASTM D-882 (ASTM, 2001), com célula de carga de 50N. Foram utilizados corpos de prova em triplicata com as seguintes dimensões: 100 mm de comprimento e 25 mm de largura. Como parâmetros de execução de ensaios, adotaram-se uma distância inicial entre as garras de 50 mm e uma velocidade de 20 mm.min<sup>-1</sup>.

A força e a deformação na perfuração foram determinadas em triplicata em testes de perfuração, segundo metodologia de Araujo-Farro et al. (2010). Foi

possível determinar o cálculo da deformação na ruptura, conforme a Equação 1:

$$\frac{\Delta l}{l_0} = \frac{\sqrt{D^2 + l_0^2} - l_0}{l_0} \quad (1)$$

em que:  $l_0$  = raio da superfície exposta do filme não tensionado;  $D$  = distância penetrada pela sonda na ruptura.

No ponto de ruptura, o raio da superfície ( $l_0$ ) tem um aumento  $\Delta l$ . A força na ruptura ( $F$ ), expressada em Newtons (N), e o deslocamento da sonda na ruptura ( $D$ ) foram determinados diretamente das curvas de força em função da deformação.

### 2.5 Permeabilidade ao vapor de água

Ensaio em triplicata de permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram realizados por método gravimétrico a 25 °C, de acordo com a metodologia descrita na norma ASTM E96-95 (ASTM, 1995). Corpos de prova de cada filme, em forma de discos ( $d = 70$  mm), foram fixados com parafina em células de permeação de alumínio, contendo cloreto de cálcio anidro granulado. Essas células foram acondicionadas em dessecadores a 25 °C e 75% UR. A partir do ganho de massa do cloreto de cálcio granulado, mensurado em intervalos de 24 h, durante 7 dias, foi possível determinar o vapor de água que permeou o filme, conforme a Equação 2:

$$PVA = \frac{W}{t.A} \cdot \frac{x}{\Delta P} \quad (2)$$

em que:  $W$  = massa de umidade absorvida (g);  $t$  = tempo de duração do teste (dias);  $X$  = espessura média do filme (mm);  $A$  = área da superfície exposta do filme (m<sup>2</sup>);  $\Delta P$  = diferença de pressão parcial de vapor através do filme (kPa).

### 2.6 Solubilidade dos filmes em água

A solubilidade dos filmes em água foi determinada em triplicata, sendo que amostras dos filmes foram recortadas em quadrados de 2 × 2 cm. A porcentagem inicial da matéria seca de cada amostra foi determinada após deixar a mesma em estufa a 105 °C por 24 horas. Após a pesagem, as amostras foram imersas em recipientes com 25 mL de água destilada e agitadas periodicamente a 220 RPM por 24 horas. Após esse período, as amostras foram removidas e secas (105 °C por 24 horas), para determinação da massa da matéria seca que não se dissolveu em água (FAKHOURI et al., 2007).

### 2.7 Transparência

A transparência dos filmes foi determinada em triplicata, utilizando-se um espectrofotômetro (Biospectro,

## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

BRA modelo SP-22). Corpos de prova foram cortados em retângulos e colocados no lado interno da célula do espectrofotômetro. A transparência foi determinada a 600 nm por meio da Equação 3, de acordo com o método ASTM D1746 (ASTM, 2003).

$$\text{Transparência} = \frac{\log \% T_{600}}{b} \quad (3)$$

em que:  $T_{600}$  = transmitância a 600 nm; b = espessura do filme (mm).

### 2.8 Análise estatística

A análise estatística dos resultados do planejamento fatorial foi realizada utilizando-se o software Statistica 6.1 (Statsoft, USA), com 5% de probabilidade na ANOVA.

## 3 Resultados e discussão

### 3.1 Matéria-prima

A Tabela 2 apresenta a composição proximal apresentada pelo isolado proteico de subprodutos

**Tabela 2.** Composição proximal de isolado proteico de corvina (base úmida e base seca).\*

Componente (%)	Isolado Proteico de Corvina	
	Base úmida	Base seca
Umidade	3,83 ± 0,19	-
Proteína	92,37 ± 0,48	97,87 ± 0,31
Lipídeos	0,72 ± 0,01	0,76 ± 0,01
Cinzas	1,29 ± 0,05	1,37 ± 0,06

\*Resultado expresso como média e desvio padrão de três determinações.

**Tabela 3.** Delineamento experimental de Box e Behnken, e resultados obtidos nos ensaios mecânicos dos filmes nanocompósitos de isolados proteicos de corvina.

Ensaio	Variáveis Independentes			Ensaio mecânicos*				
	IPC (g)	MMT (g)	Glicerol (%)	Propriedades de tração			Perfuração	
				RT (MPa)	A (%)	ME (MPa)	FR (N)	DR (%)
1	(5)1	(0,7)1	(30)0	7,3±0,1	39,6±0,1	12,9±0,2	6,2±0,1	7,4±0,1
2	(5)1	(0,3)-1	(30)0	7,8±0,1	39,7±0,2	12,9±0,1	6,1±0,2	7,3±0,2
3	(2)-1	(0,7)1	(30)0	8,3±0,1	40,4±0,1	13,1±0,2	7,3±0,1	8,3±0,3
4	(2)-1	(0,3)-1	(30)0	7,7±0,2	40,1±0,1	13,2±0,1	8,1±0,2	9,4±0,1
5	(5)1	(0,5)0	(35)1	8,2±0,1	40,6±0,1	13,8±0,2	7,9±0,1	9,9±0,2
6	(5)1	(0,5)0	(25)-1	8,5±0,1	40,7±0,1	15,2±0,2	8,9±0,1	10,3±0,3
7	(2)-1	(0,5)0	(35)1	7,4±0,2	39,7±0,3	13,1±0,2	7,3±0,2	9,3±0,2
8	(2)-1	(0,5)0	(25)-1	8,6±0,1	40,8±0,1	13,4±0,1	7,5±0,2	10,2±0,2
9	(3,5)0	(0,7)1	(35)1	7,8±0,1	40,1±0,2	13,2±0,3	7,9±0,4	9,5±0,3
10	(3,5)0	(0,7)1	(25)-1	7,7±0,3	40,1±0,1	13,1±0,1	7,9±0,1	8,9±0,1
11	(3,5)0	(0,3)-1	(35)1	7,2±0,2	39,6±0,3	13,1±0,2	8,3±0,1	9,6±0,1
12	(3,5)0	(0,3)-1	(25)-1	8,6±0,2	40,7±0,1	13,4±0,1	8,2±0,1	9,9±0,2
13	(3,5)0	(0,5)0	(30)0	10,7±0,2	45,8±0,2	17,5±0,1	9,6±0,1	10,8±0,1
14	(3,5)0	(0,5)0	(30)0	10,5±0,2	44,9±0,1	17,5±0,2	9,7±0,1	10,7±0,1
15	(3,5)0	(0,5)0	(30)0	10,6±0,1	45,6±0,3	17,2±0,2	9,5±0,1	10,7±0,2

IPC: Isolado proteico de corvina; MMT: Montmorilonita; RT: Resistência à tração; A: Alongamento; ME: Módulo de elasticidade; FR: Força na ruptura; DR: Deformação na ruptura. \*Média de 3 repetições ± desvio padrão.

da corvina, obtido pelo processo de variação de pH, considerando-se solubilização alcalina e precipitação isoeletrica das proteínas.

O processo de solubilização ácida possui um maior risco de oxidação lipídica do que o processo de solubilização alcalina, pois as proteínas heme podem ser ativadas como pró-oxidantes em pH baixo (NOLSOE e UNDERLAND, 2009; KRISTINSSON, 2001). Como se pode observar na Tabela 2, o isolado proteico obtido de carne mecanicamente separada de corvina apresentou 97,87% de proteína (base seca). Este valor está acima dos valores encontrados por Freitas (2011), que encontrou valores de 93,11% para isolados proteicos de subprodutos de corvina. Estes valores também foram superiores aos encontrados por Martins et al. (2009), que encontraram 86,94% e 77,98% em isolados proteicos de músculo e de subprodutos de corvina, respectivamente.

O teor de lipídeos foi inferior a 0,8% para o IPC, valor que está abaixo dos encontrados por Martins et al. (2009), de 6,6 e 4,4% para subprodutos e músculo de corvina, respectivamente.

### 3.2 Propriedades dos filmes

A Tabela 3 apresenta a planilha do planejamento experimental de Box e Behnken (1960), e os resultados obtidos nos ensaios mecânicos.

De acordo com a Tabela 3, os valores de resistência à tração variaram entre 7,2 e 10,7 MPa, e os valores de alongamento, de 39,6 a 45,8%, sendo que os valores mais altos de resistência à tração e alongamento foram obtidos no ponto central (3,5 g de IPC, 0,5 g de MMT e glicerol 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC). Estes resultados concordam com Araujo-Farro et al. (2010), que observaram valores na



## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

faixa de 2,63 a 23,90 MPa para resistência à tração em filmes de amido puro de quinoa. No entanto, os resultados obtidos de resistência à tração e alongamento no presente estudo estão abaixo dos encontrados por Kvien et al. (2007), que verificaram, para filmes nanocompósitos à base de amido, 12,5 MPa. Os resultados de alongamento obtidos no presente trabalho foram mais altos do que os valores encontrados pelos referidos autores, que observaram 31% de alongamento.

Sothornvit et al. (2009) estudaram o efeito do tipo de nanoargila sobre as propriedades físicas e antimicrobianas de filmes compósitos de isolado proteico de soro e obtiveram valores de RT de 1,55 e 3,29 MPa, quando usaram cloisite 20A e cloisite 30B, respectivamente; tais valores são inferiores quando comparados com os resultados obtidos no presente trabalho. Os resultados de alongamento obtidos neste trabalho encontram-se dentro da faixa de 29,1 a 51,7%, verificada pelos mesmos autores.

Os valores de módulo de elasticidade variaram entre 12,9 e 17,5 MPa (Tabela 3), sendo que os valores mais altos foram obtidos quando foram utilizados 3,5 g de IPC, 0,5 g de MMT e glicerol 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC; os valores mais baixos foram constatados quando foram utilizados 5 g de IPC, 0,7 g de MMT e glicerol 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC.

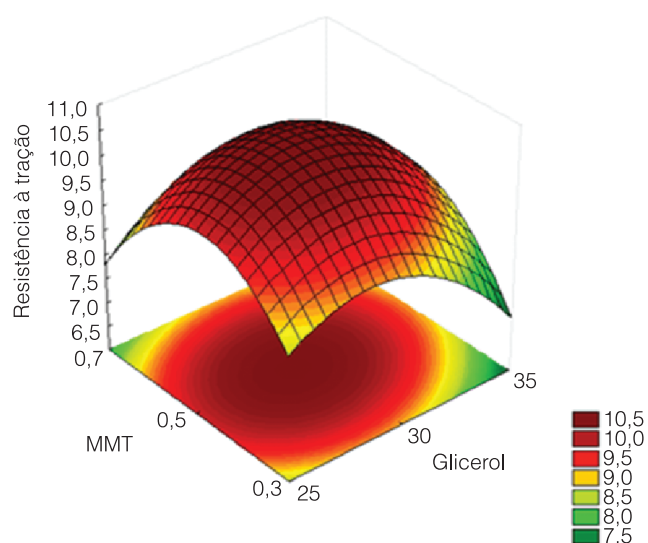
Pode-se observar na Figura 1 que os fatores de maior influência sobre a resistência à tração dos filmes são a concentração de IPC e a concentração de MMT. Também se pode observar que a concentração de 3,5% de IPC e 0,5% de MMT proporcionou maior resistência à tração, 10,5 MPa, comparativamente a outras

porcentagens de IPC e MMT. Observa-se na Figura 2 que a concentração de MMT exerceu maior influência negativa sobre o alongamento, ou seja, quanto maior o conteúdo de MMT, menor será o alongamento. Os fatores de maior influência para o alongamento dos filmes nanocompósitos são a concentração de IPC e a concentração de MMT. Também se pode observar que nos pontos centrais (3,5 g de IPC, 0,5 g de MMT e glicerol 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC) utilizados para IPC e MMT, houve maior alongamento, um valor em torno de 45,8%.

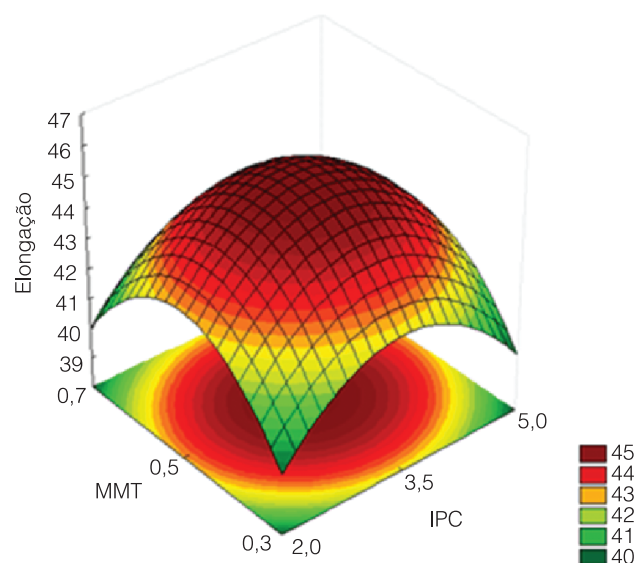
De acordo com a Tabela 3, os valores de força na ruptura variaram entre 6,1 e 9,7 N, e os valores de deformação na ruptura, entre 7,3 e 10,8%, sendo que os valores mais altos de força na ruptura e deformação na ruptura foram obtidos quando foram utilizados 3,5 g de IPC, 0,5 g de MMT e glicerol 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC. Estes resultados concordam com os resultados de Araujo-Farro et al. (2010), que encontraram valores entre 3,50 e 7,99 N para força na ruptura, e valores entre 0,59 e 10,93% para deformação na ruptura, em filmes de amido puro de quinoa.

Os fatores de maior influência sobre a força na ruptura dos filmes são a concentração de IPC e a concentração de MMT (Figura 3). Biofilmes com 3,5% IPC e 0,5% de MMT apresentaram maior força na ruptura, em torno de 9,6 N. A concentração de IPC exerceu maior influência negativa sobre a resposta força na ruptura, ou seja, quanto maior o conteúdo de IPC, menor será o valor desta propriedade; diversamente, a concentração de MMT exerceu maior influência positiva.

A Tabela 4 apresenta a planilha do planejamento experimental de Box e Behnken (1960), e os resultados



**Figura 1.** Superfície de resposta da resistência à tração em função das concentrações de MMT (%) e IPC (%) (concentração de glicerol fixa em 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC).



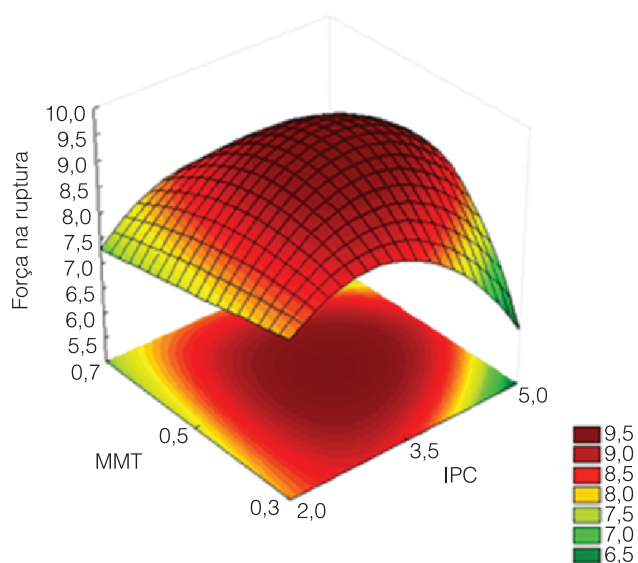
**Figura 2.** Superfície de resposta do alongamento em função das concentrações de MMT (%) e IPC (%) (concentração de glicerol fixa em 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC).

## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

de espessura, umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e transparência.

Os valores de PVA variaram entre 3,2 e 5,5 g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>, a 25°C e 75% UR, sendo que os valores mais baixos de PVA foram obtidos no ponto central. Estes valores baixos devem-se à estrutura em camadas da nanorargila. Estes resultados são ligeiramente superiores ao obtidos por Souza et al.



**Figura 3.** Superfície de resposta da força na ruptura em função das concentrações de MMT (%) e IPC (%) (concentração de glicerol fixa em 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC).

(2011), que encontraram valores entre 1,32 e 3,80 para PVA em filmes biopoliméricos de quitosana modificada com fração de lipídeos, a 25 °C e 75% UR. O aumento da permeabilidade ao vapor de água com o aumento da concentração de plastificante higroscópico é comum em biofilmes (SOBRAL e OCUNO, 2000). Estes resultados também concordam com Araujo-Farro et al. (2010), que encontraram para PVA valores de 4,89 g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>, a 25 °C e 75% UR. A propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes baseados em proteína isolada de soro de leite, que foi determinada por PVA, foi afetada pela adição da argila. No presente estudo, a PVA diminuiu quando foram usados maiores teores de argila. Esta diminuição na PVA com misturas de nanoargilas tem sido frequentemente observada com outros polímeros, como amido termoplástico (PARK et al., 2003) e quitosana (RHIM et al., 2006). Yano et al. (1997) também mostraram que a PVA de filmes nanocompósitos de polímero/argila diminuiu exponencialmente quando o teor de argila foi aumentado. Isto ocorre porque a estrutura em camadas da nanoargila impede a transmissão de vapor de água através da matriz do filme ou promove atraso na difusão de vapor de água, pois cria um caminho tortuoso na difusão através do polímero (SOTHORNVIT et al., 2010; PARK et al., 2003; SORRENTINO et al., 2006).

No presente trabalho, os fatores que tiveram maior influência nos filmes são a concentração de IPC e a concentração de MMT (Figura 4). Também se pode observar que nos pontos centrais (3,5 g de IPC; 0,5 g de

**Tabela 4.** Delineamento experimental de Box e Behnken, e resultados de espessura, umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e transparência dos filmes nanocompósitos de isolados proteicos de corvina.

Ensaio	Variáveis Independentes			Propriedades*				
	IPC (g)	MMT (g)	Glicerol (%)	E (µm)	U (%)	S (%)	PVA (25°C e 75% UR)	T (mm <sup>-1</sup> )
1	(5)1	(0,7)1	(30)0	172,0±0,1	14,8±0,2	27,6±0,1	5,4±0,2	8,4±0,1
2	(5)1	(0,3)-1	(30)0	159,0±0,2	14,9±0,1	26,2±0,3	5,2±0,1	9,1±0,2
3	(2)-1	(0,7)1	(30)0	163,0±0,3	14,5±0,2	20,3±0,1	5,0±0,1	9,3±0,1
4	(2)-1	(0,3)-1	(30)0	155,0±0,1	14,4±0,1	20,7±0,2	4,6±0,2	8,9±0,1
5	(5)1	(0,5)0	(35)1	183,0±0,1	18,1±0,1	26,8±0,2	5,5±0,2	7,9±0,2
6	(5)1	(0,5)0	(25)-1	132,0±0,2	13,6±0,2	20,4±0,3	4,2±0,3	10,8±0,1
7	(2)-1	(0,5)0	(35)1	167,0±0,1	17,8±0,2	24,7±0,1	4,7±0,1	8,6±0,1
8	(2)-1	(0,5)0	(25)-1	117,0±0,1	18,2±0,1	19,5±0,1	3,9±0,1	12,6±0,1
9	(3,5)0	(0,7)1	(35)1	128,0±0,2	14,1±0,1	26,8±0,1	4,1±0,1	11,8±0,1
10	(3,5)0	(0,7)1	(25)-1	123,0±0,1	14,2±0,1	19,1±0,2	3,7±0,2	12,1±0,2
11	(3,5)0	(0,3)-1	(35)1	170,0±0,1	17,9±0,2	26,1±0,2	4,6±0,2	8,7±0,2
12	(3,5)0	(0,3)-1	(25)-1	119,0±0,2	13,8±0,1	18,1±0,3	3,8±0,3	12,3±0,2
13	(3,5)0	(0,5)0	(30)0	121,0±0,1	16,1±0,1	18,6±0,2	3,2±0,1	13,0±0,2
14	(3,5)0	(0,5)0	(30)0	123,0±0,2	16,2±0,1	18,4±0,1	3,2±0,2	12,7±0,1
15	(3,5)0	(0,5)0	(30)0	121,0±0,1	16,2±0,2	18,3±0,1	3,3±0,1	13,1±0,1

IPC: Isolado proteico de corvina; MMT: Montmorilonita; E: Espessura; U: Umidade; S: Solubilidade; PVA: Permeabilidade ao vapor de água (g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>); T: Transparência. \*Média de 3 repetições ± desvio padrão.

## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

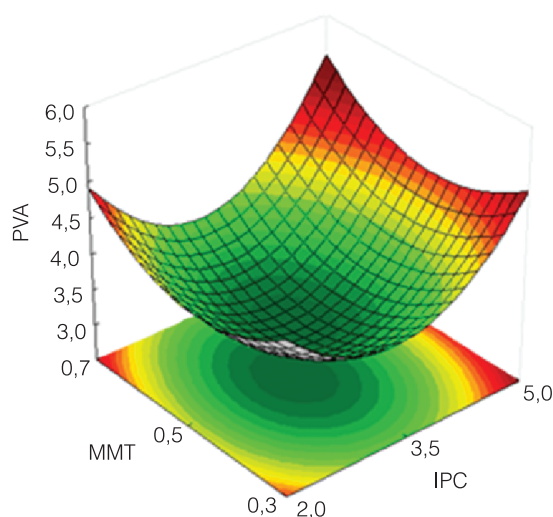
MMT, e glicerol 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC), verificou-se menor valor de PVA, em torno de 3,2 g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>.

Na Figura, 5 pode-se observar que a concentração de 3,5% de IPC, juntamente com 25 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC de glicerol, resultou em maior transparência dos filmes em relação ao uso de um maior teor destes componentes. Os fatores de maior influência sobre a transparência foram a concentração de IPC e a concentração de glicerol.

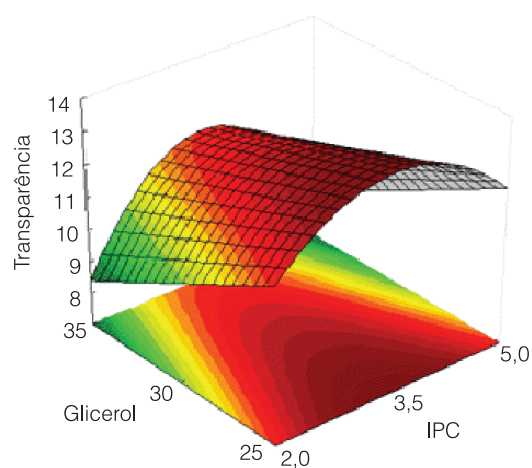
Pode-se observar, na Tabela 4, que os valores de umidade variaram entre 13,6 e 18,2%. Estes resultados concordam com Turbiani e Kieckbusch (2011), que encontraram valores entre 11,3 e 18,8% de umidade para biofilmes confeccionados à base de alginato de sódio, usando cloreto de cálcio como agente reticulante e glicerol como plastificante. Os valores de solubilidade em água variaram entre 18,1 e 27,6%, concordando

com Turbiani e Kieckbusch (2011), que encontraram valores entre 7,1 e 29% de solubilidade. Estes resultados também concordam com Araujo-Farro et al. (2010), que encontraram para solubilidade valores de 15,9%. Também concordam com Rhim et al. (2005), que verificaram solubilidade de 12,3% para filmes compósitos de proteína de soja e argila mineral (MMT organicamente modificada), e valor de 13,7% ao usar bentonita e proteína de soja, e 21,2% quando foi usado talco com proteína de soja.

Os valores de espessura variaram entre 117 e 183 µm. Os valores de transparência variaram entre 8,4 e 13,1 mm<sup>-1</sup>. Estes resultados concordam com os encontrados por Sothornvit et al. (2009), que estudaram o efeito do tipo de nanoargila sobre as propriedades físicas e antimicrobianas de filmes compósitos de isolado proteico de soro de leite, tendo achado valores de 10,19 e 6,30 mm<sup>-1</sup> quando usaram cloisite 20A e cloisite 30B,



**Figura 4.** Superfície de resposta da permeabilidade de vapor de água em função das concentrações de MMT (%) e IPC (%) (concentração de glicerol fixa em 30 g.100 g<sup>-1</sup> de IPC).



**Figura 5.** Superfície de resposta da transparência em função das concentrações de glicerol (%) e IPC (%) (concentração de MMT fixa em 0,3%).

**Tabela 5.** Modelos de segunda ordem polinomial para desenvolvimento de filmes nanocompósitos.

Resposta	Modelos de segunda ordem polinomial	R <sup>2</sup>
Resistência à tração (MPa)	$= 10,6 - 1,23IPC^2 - 1,59MMT^2 - 0,35G - 1,19G^2 - 0,28IPC \text{ MMT} - 0,23 \text{ IPC MMT}^2 + 0,23IPC \text{ G} + 0,37 \text{ MMT G}$	0,9914
Alongamento (%)	$= 45,43 - 2,58IPC^2 - 2,90MMT^2 - 2,40G^2$	0,9677
Força na ruptura (N)	$= 9,6 + 0,5IPC - 1,43IPC^2 - 0,18 \text{ MMT} - 1,25MMT^2 - 0,28G^2 + 0,22IPC \text{ MMT} - 1,28IPC \text{ MMT}^2$	0,9675
Permeabilidade ao vapor de água (g.mm.m <sup>-2</sup> .d <sup>-1</sup> .kPa <sup>-1</sup> ) 25°C e 75% UR	$= 3,23 + 0,26IPC + 1,17IPC^2 + 0,65 \text{ MMT}^2 + 0,30G + 0,17G^2 + 0,15IPC^2 \text{ MMT} + 0,13IPC \text{ G} + 0,23IPC^2 \text{ G}$	0,9827
Transparência (mm <sup>-1</sup> )	$= 12,73 - 2,60IPC^2 - 1,35MMT^2 - 0,97G - 0,75IPC^2 \text{ G} + 0,83MMT \text{ G}$	0,9086

IPC: Isolado proteico de corvina; MMT: montmorilonita; G: Glicerol. R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação.

## Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

respectivamente. Sothornvit et al. (2010) verificaram uma diminuição nos valores de transparência quando foi usada maior concentração de argila em filmes de isolado proteico de soro de leite, obtendo valores de 14,38; 6,30; 4,89, e 4,22 mm<sup>-1</sup>, quando foi utilizado isolado proteico de soro de leite com 0; 5; 10, e 20 g de MMT orgânica modificada, respectivamente.

Modelos gerados para cada resposta são representados pelas equações na Tabela 5, para todas as respostas analisadas neste trabalho. O F (Fisher) calculado foi maior pelo menos em 5 vezes, em relação ao F tabelado ( $p < 0,05$ ), mostrando uma alta significância. Conforme Gacula e Singh (1988), quando o  $F_{\text{calculado}}$  é superior a 5 vezes o  $F_{\text{tabelado}}$ , o modelo é preditivo.

### 4 Conclusão

O isolado proteico de corvina (IPC) obtido a partir de subprodutos da industrialização de corvina apresentou teor médio de proteína de 97,87% (b. s.). Os filmes nanocompósitos produzidos a partir de IPC com argila montmorilonita (MMT) obtiveram boas propriedades mecânicas, adequada aparência visual e fácil manuseio, bem como baixa permeabilidade ao vapor de água e baixa solubilidade em água. As concentrações de IPC e MMT influenciaram nas propriedades mecânicas dos filmes nanocompósitos. O planejamento experimental utilizado determinou que 3,5 g de IPC; 0,5 g de MMT e 30 g.

100 g<sup>-1</sup> de IPC de glicerol são os parâmetros ideais para a elaboração de filmes nanocompósitos utilizando-se a técnica de *casting*.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pela Bolsa concedida, e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo apoio financeiro.

### Referências

ARAUJO-FARRO, P. C.; PODADERA, G.; SOBRAL, J. P. A.; MENEGALLI, F. C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 81, p. 839-848, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.03.051>

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Designation: D1746: Standard Test Method for Transparency of Plastic Sheeting**. Philadelphia: ASTM, 2003. p. 352. (Annual Book of ASTM Standards).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Designation: D882: Standard Test Method for Tensile**

**Properties of Thin Plastic Sheeting**. Philadelphia: ASTM, 2001. p. 162-170. (Annual Book of ASTM Standards).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Designation: E96-95: Standard Test Methods for Water Vapour Transmission of Materials**. Philadelphia: ASTM, 1995. p. 406-413. (Annual Book of ASTM Standards).

BAE, H. J.; PARK, H. J.; HONG, S. I.; BYUN, Y. J.; DARBY, D. O.; KIMMEL, R. M.; WHITESIDE, W. S. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite films. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, v. 42, p. 1179-1186, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2008.12.016>

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometer**, Ahmedabad, v. 2, p. 455-475, 1960.

CUNNIFF, P. A. (Ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. Washington: AOAC, 1995. 1018 p.

CUQU, B.; AYMARD, C.; CUQU, J. L.; GUILBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. **Journal of Food Science**, Malden, v. 60, p. 1369-1374, 1995. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04593.x>

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000200027>

FREITAS, I. R. **Otimização do Processo de Obtenção de Isolados Protéicos Provenientes de Pescado de Baixo Valor Comercial**. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.

GACULA, M. C.; SINGH, J. **Statistical Methods in Food and Consumer Research**. London: Academic Press, 1988. p. 853.

HEDENQVIST, M. S.; BACKMAN, A.; GALLSTEDT, M.; BOYD, R. H.; GEDDE, U. W. Morphology and diffusion properties of whey/montmorillonite nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Newark, v. 66, p. 2350-2359, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.compscitech.2005.11.026>

KRISTINSSON, H. G. **Conformational and Functional Changes of Hemoglobin and Myosin Induced by pH: Functional Role in Fish Quality**. 2001. 83 f. Thesis (PhD Food Science and Technology)-University of Massachusetts, Amherst, 2001.

KVIEN, I.; SUGIYAMA, J.; VOTRUBEC, M.; OKSMAN, K. Characterization of starch based nanocomposites. **Journal of Material Science**, London, v. 42, p. 8163-8171, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-007-1699-2>



**Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira**

CORTEZ-VEGA, W. R. et al.

- MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Hidrolisado protéico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 61-66, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100012>
- MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 179-189, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2000000100020>
- NOLSOE, H.; UNDELAND, I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. **Food Bioprocess and Technology**, London, v. 2, p. 1-27, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-008-0088-4>
- OLABARRIETA, I.; GALLISTEDL, M.; ISPIZUA, I.; SARASUA, J. R.; HEDENQVIST, M. S. Properties of aged montmorillonite-wheat gluten composite films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 1283-1288, 2006. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0522614>
- PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; GUIMARÃES, T. R. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de polipropileno e montmorilonita organofílica. **Polímeros**, Campinas, v. 16, p. 136-140, 2006.
- PARK, H. M.; LEE, W. K.; PARK, C. Y.; CHO, W. J.; HA, C. S. Environmentally friendly polymer hybrids. Part I Mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 38, p. 909-915, 2003.
- RAY, S. S.; OKAMOTO, M. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Polymer Science**, Oxford, v. 28, p. 1539-1641, 2003. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2003.08.002>
- RHIM, J. W.; HONG, S. I.; PARK, H. M.; NG, P. K. W. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 5814-5822, 2006.
- RHIM, J. W.; LEE, J. H.; KWAK, H. S. Mechanical and barrier properties of soy protein and clay mineral composite films. **Food Science and Biotechnology**, Netherlands, v. 14, p. 112-116, 2005.
- RHIM, J. W.; NG, P. K. W. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 47, p. 411-433, 2007. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390600846366>
- SOBRAL, P. J. A.; OCUNO, D. Permeabilidade ao Vapor de Água de Biofilmes à Base de Proteínas Miofibrilares de Carne. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, n. 3, p. 11-16, 2000.
- SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; TORTORA, M.; VITTORIA, V. Barrier properties of polymer/clay nanocomposites. **Polymer Nanocomposites**, Cambridge, v. 17, p. 273-292, 2006. <http://dx.doi.org/10.1533/9781845691127.1.273>
- SOTHORNVIT, R.; HONG, S. I.; AN, D. J.; RHIM, J. W. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, p. 279-284, 2010.
- SOTHORNVIT, R.; RHIM, J. W.; HONG, S. I. Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 91, p. 468-473, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.09.026>
- SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, p. 619-626, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000400024>
- SOUZA, V. C.; MONTE, M. L.; PINTO, L. A. A. Preparation of biopolymer film from chitosan modified with lipid fraction. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 46, p. 1856-1862, 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02692.x>
- TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G. Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 82-90, 2011. <http://dx.doi.org/10.4260/BJFT2011140200011>
- YANO, K.; USUKI, A.; OKADA, A. Synthesis and properties of polyimide-clay hybrid films. **Journal of Polymer Science**, Malden, v. 35, p. 2289-2294, 1997.