

INFLUÊNCIA DA ESPESSURA DE BIOFILMES FEITOS À BASE DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES SOBRE SUAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS¹

PAULO JOSÉ DO AMARAL SOBRAL²

RESUMO - O emprego potencial de filmes comestíveis e biodegradáveis em embalagens é condicionado pelas suas propriedades funcionais, que são influenciadas por muitos fatores, inclusive pela espessura. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da espessura dos biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares (de carne bovina e de tilápia-do-nilo) sobre suas propriedades funcionais. Os biofilmes foram preparados a partir de uma solução filmogênica com 1 g de proteínas/100 g de solução. A concentração de plastificante foi de 45 g de glicerina/100 g de proteínas, e o pH foi mantido em 2,7. Após secagem, os filmes foram acondicionados em dessecadores a 58% de umidade relativa e 22°C, por quatro dias. As propriedades mecânicas foram determinadas por teste de perfuração; a permeabilidade ao vapor de água, por um método gravimétrico, e a cor e a opacidade, com colorímetro HunterLab, a 22°C. A força na perfuração, a permeabilidade ao vapor de água, a diferença de cor e a opacidade dos dois biofilmes aumentaram linearmente com a espessura dos corpos-de-prova. A deformação na perfuração foi pouco dependente da espessura e apresentou grande dispersão, em ambos os filmes. A taxa de permeabilidade ao vapor de água diminuiu linearmente com a espessura.

Termos para indexação: produtos protéicos, biopolímeros, carne, peixe, propriedades mecânicas, propriedades ópticas, permeabilidade.

THICKNESS EFFECTS OF MYOFIBRILLAR PROTEIN BASED EDIBLE FILMS ON THEIR FUNCTIONAL PROPERTIES

ABSTRACT - Research on edible and biodegradable films had been promoted recently because of environmental concerns. The use of these materials for packaging applications is conditioned by their functional properties, which are influenced by many factors, including thickness. The objective of this work was to study the influence of thickness of myofibrillar protein-based biofilms on some of their functional properties. Biofilms were prepared from film forming solutions (FFS) containing 1 g of protein/100 g of FFS. The plasticizer concentration was 45 g glycerin/100 g of protein and the pH was kept at 2.7. After drying, biofilms were conditioned in desiccators at 58% relative humidity and 22°C, for four days. Mechanical properties were determined by puncture tests; water vapor permeability, using a gravimetric method, and color and opacity, with a HunterLab colorimeter, all tests at 22°C. Tensile strength, water vapor permeability, color and opacity of both biofilms, increased linearly upon thickness. Deformation at break presented little slope with considerable points dispersion for both biofilms. Water vapor transmission rate decreased linearly with thickness.

Index terms: protein products, biopolymers, meat, fish, mechanical properties, optical properties, permeability.

INTRODUÇÃO

A conservação de alimentos exige, normalmente, tratamentos físicos ou químicos. Além disso, a utili-

zação de embalagem, rígida ou flexível, é imprescindível. Muitas embalagens flexíveis são feitas com plásticos, isto é, materiais sintéticos, que apesar de possuírem excelentes propriedades funcionais, são considerados não-biodegradáveis e estão envolvidos em problemas de gerenciamento de resíduos sólidos municipais. A biodegradação do polietileno, por exemplo, é estimada em 200 anos (Torres, 1994). Uma das soluções para amenizar esse problema é a

¹ Aceito para publicação em 4 de janeiro de 2000.

² Engenheiro de Alimentos, Dr., Departamento de Zootecnia (ZAZ), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP13630-000 Pirassununga, SP.

utilização de biopolímeros na produção de materiais biodegradáveis (Gontard & Guilbert, 1996; Guilbert et al., 1997).

Os principais biopolímeros usados na elaboração de biofilmes são polissacarídeos (Nisperos-Carriedo, 1994) e proteínas (Gennadios et al., 1994; Torres, 1994). De modo geral, os biofilmes produzidos a partir de proteínas apresentam propriedades mecânicas melhores que as dos filmes à base de polissacarídeos (Chen, 1995).

O uso desses materiais em embalagens para alimentos vai depender – além de parâmetros como custo e disponibilidade – de suas propriedades funcionais: propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade), propriedades ópticas (cor e opacidade), propriedades de barreira (permeabilidades ao vapor de água, ao O₂ e ao CO₂), solubilidade em água e propriedades sensoriais. Essas propriedades dependem do biopolímero usado (conformação, peso molecular, distribuição de cargas, polaridade), das condições de fabricação (pH, concentração de proteínas na solução filmogênica, tratamento térmico da solução, tipo e teor de aditivos, como os plastificantes) e das condições ambientais (temperatura e umidade relativa), importantes por causa da natureza higroscópica dos biopolímeros e do plastificante usados. Outro parâmetro que influencia as propriedades dos biofilmes é a espessura (Mahmoud & Savello, 1992; Cuq et al., 1996), a qual, geralmente, não é considerada em diversos estudos.

O controle da espessura dos biofilmes é difícil, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting*. Quando se trabalha com alta concentração de proteínas na solução filmogênica, essa se torna muito viscosa, comportando-se como fluido de Bingham, isto é, que não flui sobre a força do próprio peso. Nesse caso, a solução é espalhada com um equipamento conveniente, mantendo-se uma espessura da solução no suporte, que permite o conhecimento da espessura do filme depois de seco. Essa técnica permite um bom controle, mas apresenta um forte inconveniente, que é a possibilidade de produção de bolhas na solução, em decorrência da propriedade de formação de espuma das proteínas. Outra alternativa é trabalhar com soluções diluídas. Nesse caso, o controle da espessura ocorre por meio do conhecimento da gramatura de solução no suporte.

Essa técnica, apesar de minimizar os problemas de formação de espuma, exige controle rigoroso da forma do suporte e do nível da mesa da estufa, para evitar diferenças de espessura provocadas por desnível.

Ayranci & Çetin (1995) elaboraram filmes com uma solução de celulose de concentração constante, adicionando concentrações crescentes de proteínas de pistache, e observaram espessuras variando de 0,014 mm até 0,045 mm, a partir de espessura (inicial) de 5 mm da solução nos suportes. Gennadios et al. (1996) prepararam biofilmes à base de ovoalbuminas usando soluções filmogênicas com concentração variável de plastificante, controlando-se o nível da solução no suporte. Observa-se, nesse trabalho, que a espessura dos filmes variou entre 0,098 mm e 0,103 mm. Gennadios et al. (1993c) elaboraram biofilmes à base de glúten, misturados com zeína ou isolado protéico de soja, com diversos tipos de plastificantes, aplicando as soluções nos suportes com aplicador de cromatografia delgada. Os biofilmes apresentaram espessuras entre 0,064±0,009 mm e 0,101±0,023 mm. Em todos esses estudos, as variações das propriedades estudadas foram atribuídas às condições de interesse, sobretudo ao nível de mistura de proteínas e concentração de plastificante, desconsiderando-se a influência da espessura sobre essas propriedades.

Segundo Chen (1995), a permeabilidade ao vapor de água de biofilmes varia com a espessura, segundo uma lei da potência cujo expoente tem valor entre -1,2 e -0,8. Entretanto, Park & Chinnan (1995) estudaram o efeito da espessura de biofilmes à base de zeína, glúten e derivados de celulose sobre a permeabilidade ao vapor de água e CO₂ a 21°C, e O₂ a 30°C, entre 0,1 mm e 0,5 mm, e observaram comportamento linear entre essas propriedades e a espessura dos filmes. Enquanto a permeabilidade aos gases diminuiu (maior inclinação para o CO₂), a permeabilidade ao vapor de água aumentou com a espessura.

O efeito de possíveis variações das propriedades, como consequência da variação da espessura dos filmes, nem sempre é considerado, mas é fundamental. Gennadios et al. (1993a) e Monterrey-Quintero & Sobral (1998) estudaram as propriedades mecânicas de biofilmes à base de zeína e glúten e à base de

proteínas miofibrilares de tilápia-do-nylo, respectivamente, utilizando técnicas de otimização de superfície de resposta. Monterrey-Quintero & Sobral (1998) determinaram baixos coeficientes de correlação (não-significativos) do ajuste do modelo quadrático completo à força na perfuração. Gennadios et al. (1993a) também tiveram esse mesmo tipo de problema. Segundo esses autores, os problemas de análise estatística com a deformação na ruptura, mesmo em teste de tração, é consequência da variabilidade da espessura dos biofilmes. O único estudo mais detalhado sobre a influência da espessura nas propriedades funcionais de biofilmes, encontrado na literatura, foi realizado por Cuq et al. (1996). Observa-se, nesse trabalho, que a força na ruptura, em teste de perfuração, e a permeabilidade ao vapor de água aumentaram linearmente com a espessura entre 0,010 mm e 0,055 mm, ao passo que a deformação na perfuração e a opacidade permaneceram praticamente constantes.

Constata-se, na literatura internacional, que as proteínas de origem vegetal são mais utilizadas para a elaboração de biofilmes do que as proteínas de origem animal. Isso se deve à produção elevada e ao baixo custo dessas proteínas nos países desenvolvidos. O Brasil é grande produtor apenas de proteínas de soja.

Considerando-se que as proteínas de origem animal produzidas no Brasil são, ou podem ser, competitivas no mercado internacional, o presente trabalho foi realizado com tais proteínas.

O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da espessura dos biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das proteínas miofibrilares

Diferentemente de muitas proteínas de origem vegetal, que podem ser encontradas facilmente no comércio, as proteínas miofibrilares devem ser extraídas de algum músculo de interesse. Neste estudo, as proteínas miofibrilares (PM) foram preparadas a partir de pedaços da paleta (pós *rigor mortis*) bovina (*Bos indicus*) e de filés (pré *rigor mortis*) de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*), produzidos no campus da USP de Pirassununga, utilizando-se uma técnica análoga ao preparo do surimi (Monterrey-

Quintero & Sobral, 1998; Ocuno et al., 1998). O músculo, limpo e picado manualmente, foi triturado e lavado quatro vezes com água destilada fria (4-5°C), na proporção 2:1 de água:carne, descartando-se o sobrenadante, contendo proteínas sarcoplasmáticas (hidrossolúveis). Em seguida, esse material foi transformado em pasta, com um processador de alimentos simulando um *cutter*, e peneirado em um tamis ABNT 30 (abertura de 0,59 mm), para remoção do tecido conectivo restante. O produto assim obtido foi liofilizado em um liofilizador de bancada (Hetotrap, CT-60e), após congelamento com N₂ líquido. As proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) de tilápia-do-nylo e de carne bovina foram analisadas em duplicatas, apresentando 85,52% e 84,45% de proteínas, 6,71% e 5,63% de gordura e 5,15% e 5,24% de umidade, respectivamente.

Elaboração dos biofilmes

Os biofilmes foram preparados segundo uma técnica tipo *casting*, que consiste no preparo de uma solução filmogênica (SF), utilizando-se condições escolhidas através de estudos de Monterrey-Quintero (1998) e Ocuno et al. (1998). Inicialmente, dissolveu-se a proteína (1 g de PML/100 g de SF) em água destilada, sob agitação suave, adicionando-se em seguida o plastificante (45 g de glicerina(Synth)/100 g de PML). O pH foi mantido em 2,7 com ácido acético glacial (Synth), controlado com um peagômetro de bancada (Tecnal, TEC-2). A SF foi tratada termicamente (PML de tilápia-do-nylo: 40°C/30 minutos; PML de carne bovina: 50°C/30 minutos) com ajuda de um banho-maria (Tecnal, TE184). Em seguida, foram aplicados de 8 a 80 g, perfazendo de 57,45 a 574,55 g de solução/cm² de suporte, de SF em placas de plexiglass (11,8 x 11,8 cm), previamente preparadas, para se obterem filmes com espessuras diferentes. O controle de peso foi feito em uma balança semi-analítica (Marte, AS2000, com precisão de ±0,01 g).

As soluções filmogênicas foram desidratadas em uma estufa com circulação e renovação de ar (Marconi, MA037), a 35°C e umidade relativa ambiente, por 18 a 20 horas. Os biofilmes obtidos foram acondicionados a 22°C e 58% de umidade relativa, em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, por quatro dias, antes de serem caracterizados. Após esse período, a espessura dos filmes foi medida com um micrômetro digital (±0,001 mm), com ponteira de 6,4 mm de diâmetro, em nove pontos diferentes, considerando-se a espessura do filme como a média entre as nove leituras. Todas as caracterizações foram realizadas em condições ambiente de sala climatizada (temperatura de 22°C e umidade relativa entre 55% e 65%). Cada placa constituiu um corpo de prova.

Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas de interesse foram a força e a deformação na ruptura, em testes de perfuração, segundo metodologia difundida na literatura (Gontard, 1991; Cuq et al., 1996). Os filmes foram fixados em uma célula com 52,6 mm de diâmetro e perfurados por uma sonda de 3 mm de diâmetro, deslocando-se a 1 mm/s. Esses testes foram realizados com um instrumento de medidas físicas TA.XT2i (SMS). A força (F) na perfuração e o deslocamento da sonda (D) na perfuração foram determinados diretamente das curvas de força x deformação, com o emprego do programa "Texture Expert" V. 1.15 (SMS). A deformação na ruptura por perfuração ($\Delta l/l_0$) foi calculada com a equação 1:

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

onde l_0 é o comprimento inicial do filme, igual ao raio da célula de medida (26,3 mm).

Permeabilidade ao vapor de água

A taxa de permeabilidade ao vapor de água foi determinada segundo método proposto por Gontard (1991), baseado no teste ASTM E96-80 (American Society for Testing and Material, 1989). Os biofilmes foram aplicados em células de permeação de vidro, contendo sílica gel. As células foram colocadas em dessecadores contendo água destilada pura. As células foram pesadas diariamente, em uma balança semi-analítica (Marte, AS2000, $\pm 0,01$ g) durante 8-9 dias. Inicialmente, calculou-se a taxa de permeabilidade ao vapor de água (Tva), com a equação 2:

$$Tva = g/tA \quad (2)$$

onde A é a área de permeação (12,29 cm²). O termo g/t foi calculado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo, no regime constante. Em seguida, a permeabilidade ao vapor de água (Pva) foi calculada utilizando-se a equação 3:

$$Pva = (g/tA)(x/\Delta P) \quad (3)$$

onde x é a espessura média dos biofilmes e ΔP é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (0) e contendo água pura (2,642 kPa, a 22°C).

Propriedades ópticas

As cores dos biofilmes foram medidas por meio dos padrões CIE Lab: L^* , variando de 0 (preto) a 100 (branco); a^* , do verde (-) ao vermelho (+); e b^* , do azul (-) ao

amarelo (+) (Gennadios et al., 1996; Kunte et al., 1997), determinados com um colorímetro Miniscan XE (HunterLab) trabalhando com D₆₅ e luz do dia. Os biofilmes foram aplicados na superfície de uma placa branca padrão, e os padrões L^* , a^* e b^* foram medidos e transferidos em tempo real, para um microcomputador. A diferença de cor (ΔE^*) foi calculada com a equação 4:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_s^*)^2 + (a^* - a_s^*)^2 + (b^* - b_s^*)^2} \quad (4)$$

onde L_s^* (94,86), a_s^* (-0,76) e b_s^* (1,96) são os padrões CIE Lab do padrão branco.

A opacidade dos biofilmes foi determinada segundo método Hunterlab (Hunter Associates Laboratory, 1997), utilizando-se o mesmo aparelho das medidas de cor. Por esse método, a opacidade (Y) da amostra é calculada como a relação entre a opacidade da amostra colocada sobre o padrão preto (Yp) e a opacidade da amostra colocada sobre o padrão branco (Yb), segundo a equação 5:

$$Y = (Yp/Yb) \times 100 \quad (5)$$

O cálculo da opacidade é realizado automaticamente no microcomputador, pelo programa Universal software 3.2 (Hunter Associates Laboratory, 1997). A opacidade assim medida (entre 0 e 100%) apresenta escala arbitrária. A determinação das propriedades óticas foram realizadas nos mesmos biofilmes utilizados para a determinação da permeabilidade ao vapor de água, considerando-se que esse teste é não-destrutivo.

Análise estatística

As regressões lineares ($Y = A + BX$) foram realizadas com o software Statistica, utilizando-se uma sub-rotina para correlação de matrizes, com nível de probabilidade $p=0,05$, para se verificar a linearidade entre as diversas propriedades e a espessura dos corpos-de-teste e entre a espessura e a massa de SF adicionada nos suportes. Realizou-se, ainda, um teste para se verificar diferenças significativas entre as inclinações das retas (B) calculadas com dados dos filmes das duas proteínas, segundo o teste t.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os biofilmes de PML de tilápia-do-nylo se mostraram mais manuseáveis, de maneira geral, do que os biofilmes à base de PML de carne bovina. À medida que se trabalhava com biofilmes mais finos ($x < 0,025$ mm), esses deixavam de ser manuseáveis (rasgavam-se ao serem retirados das placas).

Na Fig. 1 estão apresentadas as espessuras médias dos biofilmes utilizados em todos os ensaios, em função da massa de SF adicionada nos suportes. Observa-se que, em ambos os casos, a espessura média dos biofilmes aumentou linearmente com a massa de solução adicionada. As retas apresentadas nessa figura foram calculadas por meio do ajuste da equação da reta aos pontos experimentais, cujos parâmetros estão apresentados na Tabela 1, onde se pode notar que todos os parâmetros são significativos ($p < 0,05$) e os coeficientes de correlação são bons

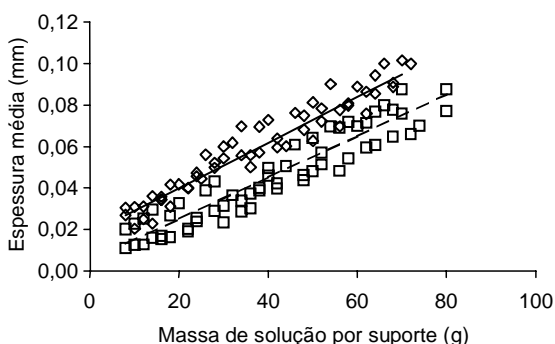


FIG. 1. Espessura média dos biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne bovina (◆) e de tilápia-do-nylo (□) em função da massa de solução filmogênica aplicada no suporte. As retas foram obtidas por regressão linear.

($R^2 > 0,88$), o que confirma a linearidade dos resultados.

A linearidade observada na Fig. 1 é possível porque a densidade do biofilme manteve-se constante, no domínio deste estudo (0,017 mm a 0,102 mm). A variação da espessura (inicial) da SF não teve implicação sobre possíveis arranjos moleculares durante o processo de secagem (Cuq et al., 1996).

Os biofilmes à base de PML de carne bovina apresentaram-se mais espessos que os biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo, para uma dada gramatura. Esse resultado deve ser consequência do menor teor de proteínas na amostra liofilizada de PML de carne bovina, de forma que, para uma mesma concentração de proteína, era necessário mais material liofilizado. Outros componentes foram carreados, sobretudo gordura, aumentando a gramatura final dos biofilmes. Um outro fator que pode ter influenciado esse comportamento é a homogeneidade dos biofilmes.

A variação nas medidas da espessura, calculada pelo desvio-padrão da média entre as nove leituras, foi linear, mas com inclinação negativa, com a espessura. Observou-se, em ambos os biofilmes, que no extremo de maior espessura a relação desvio-padrão/média variou de 5% a 13%, enquanto no limite inferior essa relação variou entre 10% e 30%. Observa-se, no trabalho de Gennadios et al. (1993c),

TABELA 1. Resultados das regressões lineares ($Y = A + BX$) das propriedades funcionais (Y) em função da espessura (X).

Propriedades	Biofilmes à base de PML de carne bovina			Biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo		
	A	B	R ²	A	B	R ²
Espessura (10 ⁻² mm) ¹	1,78*	0,11*	0,929	0,51*	0,10	0,884
Força na perfuração (N) ²	-1,18*	82,66*	0,907	-0,45*	104,04*	0,834
Deformação na ruptura (%) ²	1,58*	36,42*	0,473	3,93	19,44	0,050
Taxa de permeabilidade ao vapor de água, a 22°C/100% UR (g h ⁻¹ m ⁻²) ³	24,63	-14,79	0,075	20,99*	-66,73*	0,715
Permeabilidade ao vapor de água (10 ⁻⁴ g mm h ⁻¹ m ⁻² Pa ⁻¹) ³	0,58*	78,79*	0,959	0,32*	58,55*	0,992
Diferença de cor ³	0,23*	133,85*	0,962	0,70*	83,77*	0,910
Opacidade ³	3,41*	26,92*	0,409	1,04*	25,46*	0,568

* Significativo a 5% de probabilidade.

¹ Espessura em função da massa de solução filmogênica no suporte, n=57 placas.

² n= 33 corpos de prova.

³ n= 24 corpos de prova.

que o desvio-padrão da espessura média entre 0,064 mm e 0,101 mm variou entre 8,7% e 22,8%. Num domínio de espessura intermediário, entre 0,075 mm e 0,082 mm, Avena-Bustillos & Krochta (1993) obtiveram desvio-padrão variando entre 2,7% e 15,0% da espessura média. Em um trabalho com biofilmes mais espessos (entre 0,119 mm e 0,128 mm), Gennadios et al. (1993b) calcularam desvios-padrões menores, variando entre 6,2% e 8,8%. Esse problema ocorre por causa da dificuldade em se trabalhar com filmes abaixo de 0,025 mm de espessura.

Observa-se, na Fig. 2, que a força na perfuração também aumentou linearmente com a espessura dos biofilmes. Os parâmetros da equação da reta, apresentados na Tabela 1, também são significativos ($p < 0,05$) e os coeficientes de correlação são bons ($R^2 > 0,83$). Esses dados indicaram que o aumento da espessura dos biofilmes provocou um aumento maior na força necessária à perfuração dos biofilmes feitos à base de PML de tilápia-do-nylo, cuja inclinação da reta vale 104,04, contra 82,66 dos biofilmes feitos à base de PML de carne bovina, apesar de não haver diferença significativa ($p < 0,05$) em B, segundo o teste t. Os biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo apresentaram resistência similar à dos biofilmes à base de PM de sardinha-do-atlântico, produzidos por Cuq et al. (1996).

A relativa menor resistência dos biofilmes à base de PML de carne bovina deve ter sido conseqüência da existência de outros componentes no material,

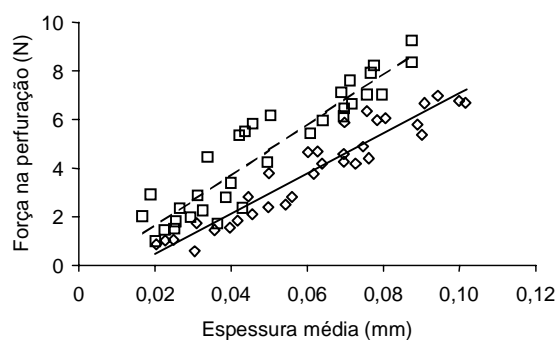


FIG. 2. Força na perfuração em função da espessura dos biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne bovina (\diamond) e de tilápia-do-nylo (\square). As retas foram obtidas por regressão linear.

que pode ter diminuído as interações entre as proteínas. Kunte et al. (1997) observaram que as proteínas isoladas (em laboratório) de soja formaram biofilmes mais resistentes que as proteínas de soja comerciais, isto é, proteínas de uso industrial, com maior teor de impurezas.

O aumento linear da resistência à perfuração de biofilmes com a espessura também foi observado por Cuq et al. (1996). Segundo esses autores, a força necessária à perfuração aumenta, por causa do aumento da quantidade de matéria seca por superfície, isto é, do número de cadeias de proteínas por superfície, o que conduz ao aumento do número potencial de interações intermoleculares. A explicação molecular desse fenômeno é ainda passível de mais discussões e estudos, dada a complexidade das configurações das proteínas, que podem apresentar interações inter e intramoleculares, além da grande variedade de grupos laterais, isto é, de resíduos de aminoácidos (Chen, 1995).

Os resultados experimentais da deformação na ruptura (Fig. 3) apresentaram considerável dispersão, acarretando baixíssimos coeficientes de correlação, em ambos os filmes e falta de significância dos parâmetros da equação da reta, no caso dos biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo (Tabela 1). Esses resultados podem explicar a dificuldade de vários autores em ajustar modelos estatísticos aos resultados de deformação na ruptura, em otimizações com metodologia de superfície de resposta (Gennadios

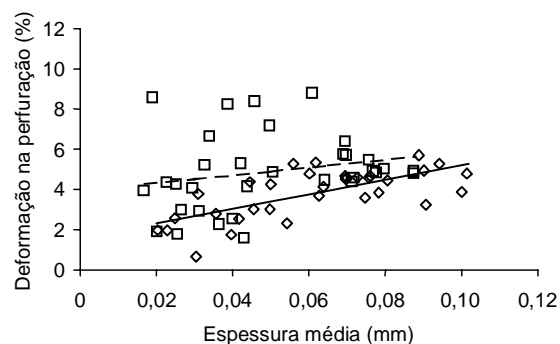


FIG. 3. Deformação na ruptura em função da espessura dos biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne bovina (\diamond) e de tilápia-do-nylo (\square). As retas foram obtidas por regressão linear.

et al., 1993a; Monterrey-Quintero & Sobral, 1998).

De maneira geral, os biofilmes mais resistentes são menos flexíveis, isto é, apresentam menor deformação na ruptura (Cuq et al., 1997; Souza et al., 1997; Ocuno et al., 1998). Porém, os resultados observados na Fig. 3 indicam que os biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo são mais flexíveis que os biofilmes à base de PML de carne bovina, apesar de serem mais resistentes (Fig. 2). Esse comportamento também deve ser consequência das diferentes interações intermoleculares nos dois casos, causadas pelas diferentes composições das PML.

A influência da espessura dos biofilmes sobre as propriedades de barreira ao vapor de água pode ser observada na Fig. 4. Teoricamente, segundo a lei de difusão de Fick, e a lei de sorção de Henry, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (Tva) varia com o inverso da espessura do filme, e a permeabilidade ao vapor de água (Pva) deve ser constante (Martin-Polo et al., 1992; Cuq et al., 1996). Observa-se, na Fig. 4, que a Tva variou negativamente com a espessura, mas com inclinação fraca, de forma que a Pva aumentou com a espessura dos biofilmes. Esse mesmo comportamento é observado nos trabalhos de Martin-Polo et al. (1992) e de Cuq et al. (1996), que trabalharam com espessuras entre 0,050 mm e 0,140 mm e 0,010 mm e 0,055 mm, respectivamente. Explicar essa tendência não é tarefa fácil. Segundo Park & Chinnan

(1995), as razões desse comportamento estão relacionadas com possíveis mudanças estruturais da matriz do filme.

Observa-se, na Tabela 1, que os parâmetros da equação da reta obtidos com os resultados da permeabilidade ao vapor de água, em ambos os filmes, foram significativos ($p < 0,05$), e os coeficientes de correlação, excelentes ($R^2 > 0,95$). No caso da Tva, os parâmetros foram significativos apenas em relação aos biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo, apesar do fraco coeficiente de correlação ($R^2 = 0,715$).

Observa-se, na Fig. 4, que, aparentemente, os biofilmes à base de PML de carne bovina foram mais permeáveis e mais dependentes da espessura ($B = 78,79$), que os biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo ($B = 58,55$), apesar de não ter havido diferença significativa ($p < 0,05$) em B, segundo o teste t, certamente por serem menos homogêneos que os biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo (Ocuno et al., 1998). Estudos da microestrutura de biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo, através de microscopia eletrônica de varredura, mostraram que esses filmes apresentaram uma matriz densa e coesa, e portanto, mais homogênea (Monterrey-Quintero, 1998).

Na Fig. 5 são mostrados os resultados das propriedades ópticas dos biofilmes. Observa-se que os biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo foram mais

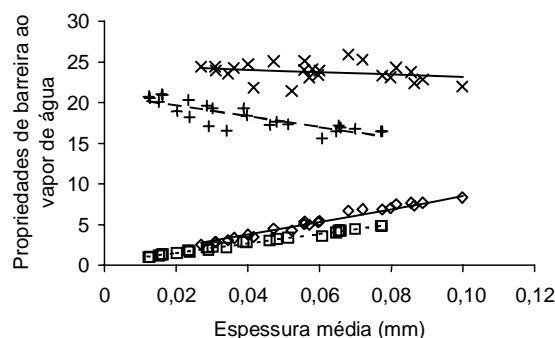


FIG. 4. Propriedades de barreira ao vapor de água em função da espessura dos biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne bovina (◇,x) e de tilápia-do-nylo (□,+), a 22°C/100% UR: taxa de permeabilidade (x,+) em $g\ h^{-1}m^{-2}$ e permeabilidade (◇,□) em $g\ mm\ h^{-1}m^{-2}Pa^{-1}$. As retas foram obtidas por regressão linear.

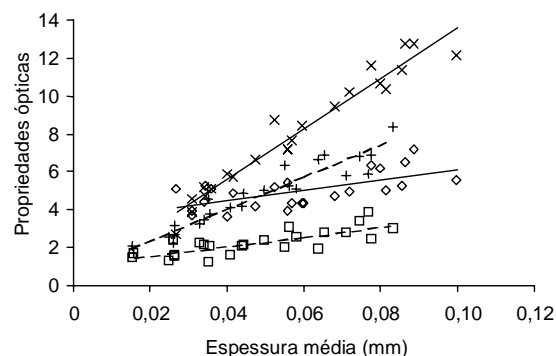


FIG. 5. Propriedades ópticas em função da espessura dos biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne bovina (◇,x) e de tilápia-do-nylo (□,+): diferença de cor (x,+) e opacidade (◇,□). As retas foram obtidas por regressão linear.

claros (menor ΔE^*) que os biofilmes à base de PML de carne bovina. Esse resultado é consequência da presença de resíduos de mioglobina nas PML de carne bovina, que conferiam uma coloração amarelada aos biofilmes (Ocuno et al., 1998). Os biofilmes produzidos neste estudo foram menos claros que os biofilmes à base de ovoalbuminas ($\Delta E^*=1,70$ a $2,32$, $x=0,099$ mm) (Gennadios et al., 1996), porém mais claros que os biofilmes feitos com proteínas de soja ($\Delta E^*=8,53$ a $11,56$, $x=0,054$ mm a $0,065$ mm) (Kunte et al., 1997). Deve-se ressaltar, entretanto, que as ovoalbuminas são proteínas solúveis e que se apresentam naturalmente incolores, contrariamente às proteínas de soja.

A variação da cor dos biofilmes com a espessura deve ocorrer por causa do aumento superficial da concentração de proteínas (gramatura). No caso dos biofilmes à base de PML de carne bovina, que apresentaram maior dependência da espessura ($B=133,85$), ocorreu também aumento superficial dos resíduos de mioglobina, intensificando ainda mais o aumento da cor.

A opacidade dos biofilmes também apresentou tendência a aumentar linearmente (praticamente em paralelo) com a espessura dos biofilmes, como se pode observar na Fig. 5, mas os coeficientes de correlação foram baixos (Tabela 1). A inclinação da reta obtida dos pontos experimentais dos biofilmes à base de PML de tilápia-do-nylo ($B=25,46$) é praticamente igual à dos biofilmes à base de PML de carne bovina ($B=26,92$) (Tabela 1), mas estes foram mais opacos que aqueles, por causa da presença de resíduos de mioglobina na PML e menor homogeneidade desses biofilmes. Esses resultados não podem ser comparados a resultados da literatura, porque o método da HunterLab não foi utilizado nos trabalhos consultados. Porém, pode-se observar que no trabalho de Cuq et al. (1996), a opacidade, medida por absorvância em espectrofotômetro, não foi influenciada pela espessura dos biofilmes, entre 0,010 mm e 0,053 mm.

CONCLUSÕES

1. A força na perfuração, a permeabilidade ao vapor de água, a diferença de cor e a opacidade dos dois biofilmes aumentam linearmente com a espessura dos corpos-de-prova.

2. A deformação na perfuração apresenta grande dispersão e não tem comportamento linear.

3. A taxa de permeabilidade ao vapor de água diminui linearmente com o aumento da espessura dos biofilmes.

4. Os biofilmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nylo são mais resistentes à perfuração, menos permeáveis ao vapor de água, menos opacos e com menos cor que os biofilmes à base de proteínas de carne bovina.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (95/9315-4) e ao acordo CAPES-COFECUB (205/97), pelos auxílios; ao CNPq, pela bolsa de pesquisador.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL (Philadelphia, Estados Unidos). Standard test methods for water vapor transmission of materials: designation E 96-80. In: _____. **Annual book of ASTM standards**. Philadelphia, 1989. p.730-739.
- AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.4, p.904-907, 1993.
- AYRANCI, E.; ÇETIN, E. The effect of protein isolate of *Pistacia terebinthus* L. on moisture transfer properties of cellulose-based edible films. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, London, v.28, n.2, p.241-244, 1995.
- CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.11, p.2563-2583, 1995.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p.580-584, 1996.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, n.3, p.622-626, 1997.

- GENNADIOS, A.; McHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. Edible coatings and films based on proteins. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster : Technomic, 1994. p.210-278.
- GENNADIOS, A.; PARK, H.J.; WELLER, C.L. Relative humidity and temperature effects on tensile strength of edible protein and cellulose ether films. **ASAE Transactions**, St. Joseph, v.36, n. 6, p.1867-1872, 1993a.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p.585-589, 1996.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.70, n.4, p.426-429, 1993b.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Property modification of edible wheat, gluten-based films. **ASAE Transactions**, St. Joseph, v.36, n.2, p.465-470, 1993c.
- GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: etude et amélioration des propriétés filmogène du gluten**. Montpellier : Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 1991. 174p. These de Doctorat.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.3-15, 1996.
- GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovation in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, London, v.14, n.6-7, p.741-751, 1997.
- HUNTER ASSOCIATES LABORATORY (Reston, Estados Unidos). **Universal software versions 3.2 and above**: User's manual: manual version 1.5. Reston, 1997.
- KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Cast films from soy protein isolates and fractions. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.74, n.2, p.115-118, 1997.
- MAHMOUD, R.; SAVELLO, P.A. Mechanical properties of water vapor transferability through whey protein films. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.4, p.942-946, 1992.
- MARTIN-POLO, M.; MAUGUIN, C.; VOILLEY, A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. I. Influence of the film preparation technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.3, p.407-412, 1992.
- MONTERREY-QUINTERO, E.S. **Caracterização físico-química de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes**. Pirassununga : USP, 1998. 83p. Dissertação de Mestrado.
- MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Preparo de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para a elaboração de biofilmes: solubilidade das proteínas em função do pH. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro : Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998. p.2086-2089.
- NISPEROS-CARRIEDO, M.O. Edible coatings and films based on polysaccharides. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster : Technomic, 1994. p.305-336.
- OCUNO, D.; SOBRAL, P.J.A.; SAVASTANO JÚNIOR, H. Influência do teor de plastificante e do tipo de ácido sobre as propriedades mecânicas de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro : Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998. p.2074-2077.
- PARK, H.J.; CHINNAN, M.S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.25, p.497-507, 1995.
- SOUZA, S.M.A.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. Desenvolvimento de filmes comestíveis à base de proteínas miofibrilares extraídas de carne bovina. In: WORKSHOP SOBRE BIOPOLÍMEROS, 1997, Pirassununga. **Anais**. Pirassununga : USP-Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, 1997. p.102-106.
- TORRES, J.A. Edible films and coatings from proteins. In: HETTIARACHY, N.S.; ZIEGLER, G.R. (Ed.). **Protein functionality in food systems**. New York : M. Dekker, 1994. p.467-507.