

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE SERICINA E
AMIDO MODIFICADOS COM DIMETILOLURÉIA,
POLIETILENOGLICOL OU ÁCIDO SUCCÍNICO**

Diego Borelli Dias

Tecnólogo em Processos Químicos, UTFPR, 2011

Orientador: Prof. Dr. Marcelino Luiz Gimenes

MARINGÁ

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE SERICINA E
AMIDO MODIFICADOS COM DIMETIOLURÉIA,
POLIETILENOGLICOL OU ÁCIDO SUCCÍNICO**

Diego Borelli Dias

Tecnólogo em Processos Químicos, UTFPR, 2011

Orientador: Prof. Dr. Marcelino Luiz Gimenes

Dissertação de Mestrado submetida à Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos necessários para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química, na área de Processos de Separação.

MARINGÁ

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da Dissertação de Mestrado apresentada por Diego Borelli Dias perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 29 de agosto de 2014.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Marcelino Luiz Gimenes
Orientador / Presidente



Profª Drª Patrícia Salomão Garcia
Membro



Prof. Dr. Sérgio Henrique Bernardo de Faria
Membro

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

D541p Dias, Diego Borelli
Preparo e caracterização de filmes de sericina e amido modificados com dimetiloluréia, polietilenoglicol ou ácido succínico / Diego Borelli Dias. -- Maringá, 2014.
94 f. : il. (algumas color.), figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Marcelino Luiz Gimenes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2014.

1. Filmes biodegradáveis. 2. Biofilme. 3. Sericina - Filmes biodegradáveis. 4. Amido - Filmes biodegradáveis. 5. Filmes reticulados. 6. Dimetiloluréia - Agente reticulante. 7. Polietilenoglicol - Agente reticulante. 8. Ácido succínico - Agente reticulante. I. Gimenes, Marcelino Luiz, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDD 21.ed. 668.43

AMMA-001842

*“Não existe triunfo sem perda, não há vitória
sem sofrimento, não há liberdade sem sacrifício.”*

(Senhor dos Anéis - O Retorno do Rei)

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todas as pessoas ou instituições que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Em primeiro lugar e principalmente quero agradecer ao professor Marcelino Luiz Gimenes, pela excelente orientação e pelos ensinamentos que ele me passou, pelas motivações quando os resultados não eram satisfatórios e por sempre ter uma tranquilidade comigo. Posso dizer que ter a oportunidade de fazer este mestrado sobre sua orientação me fez crescer profissionalmente tanto que como pessoa. Agradeço também a professora Franciele Rezende Barbosa Turbiani (UTFPR) pelo seu apoio, conselhos e dicas durante a execução do trabalho.

Agradecer também à Fiação de seda BRATAC S. A. (Mandaguaçu e Nova Esperança - PR) por ceder casulos do bicho-da-seda para a realização do trabalho, e agradecer a CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado que auxiliou para a realização do trabalho.

A todos os professores e técnicos do DEQ/UEM, e também aos colegas de curso que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e também por transmitir conhecimentos, proporcionando assim meu desenvolvimento.

Também queria agradecer a minha família e a minha namorada pelo apoio durante esse período, sempre estando do meu lado me dando forças para conclusão desta etapa da minha vida.

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE SERICINA E AMIDO MODIFICADOS COM DIMETILOLURÉIA, POLETILENOGLICOL OU ÁCIDO SUCCÍNICO

AUTOR: DIEGO BORELLI DIAS.

ORIENTADOR: MARCELINO LUIZ GIMENES.

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química;
Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, B1. E46 – 09; CEP: 87020-900
– Maringá – PR, Brasil.

RESUMO

A sericina é uma proteína natural removida da seda pelo processo de degomagem. A recuperação da sericina pode agregar valor a este resíduo e minimizar o impacto causado por efluentes não tratados e resíduos sólidos. Enquanto o amido é um polissacarídeo de baixo custo e um dos mais abundantes na natureza, podendo ser extraído de diversas plantas, como por exemplo, milho, trigo, batata, mandioca, arroz, e em outras. Biofilmes foram confeccionados por “*casting*” utilizando sericina ou amido ou “blenda” de sericina/amido, e glicerol como plastificante, os filmes foram quimicamente reticulados utilizando os agentes reticulantes dimetiloluréia (DMU), polietilenoglicol (PEG) e ácido succínico em diferentes concentrações (0,1, 0,4 e 0,7 g de agente reticulante/g de macromolécula). Os filmes foram caracterizados quanto ao aspecto visual, umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor d’água, propriedades mecânicas e analisados por espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios-X. Filmes confeccionados se apresentaram visualmente atrativos, tendo o glicerol conferido flexibilidade aos filmes. Os resultados encontrados para teor de umidade e solubilidade foram próximos aos apresentados na literatura para biofilmes desses polímeros. A permeabilidade ao vapor de água apresentou valores entre 2,63 e 17,15 g.mm/m².dia.kPa. Os efeitos provocados pelo aumento do teor do agente reticulante utilizado nos filmes foram diferentes entre a dimetiloluréia e o polietilenoglicol, diferença principalmente notada nas propriedades mecânicas.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF FILMS SERICIN AND STARCH MODIFIED WITH DIMETHYLOUREA, POLYETHYLENOGLICOL OR SUCCINIC ACID

AUTHOR: DIEGO BORELLI DIAS.

SUPERVISOR: MARCELINO LUIZ GIMENES.

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program; State University of Maringá;
Av. Colombo, 5790, B1. E46 – 09; ZIP CODE: 87020-900 – Maringá – PR, Brasil.

ABSTRACT

Sericin is a natural silk protein, which is removed from silk in a process called degumming. Sericin recovered can add value to this waste of textile industry and minimize the impact of untreated effluents and solid wastes. While starch is a polysaccharide carbohydrate inexpensive and the most abundant in nature and can be extracted from various plants, such as maize, wheat, potato, cassava, rice, and other plants. Biofilms made by casting using sericin or starch or blend sericin/starch, and the use of glycerol as plasticizer, the films were chemically crosslinked using three types of crosslinking agents in different concentrations (0,1, 0,4 e 0,7 g of crosslinking agents/g of macromolecule), namely: the dimethylolurea (DMU), polyethylene glycol (PEG) and succinic acid. The films were characterized through the analysis of visual aspects, humidity, water solubility and water vapor permeability, mechanical properties and absorption spectroscopy Fourier transform infrared (FTIR). Films prepared presented visually attractive, with glycerol conferred flexibility to the films. The results for moisture content and solubility were similar to those reported in the literature for biofilms of these polymers. The permeability to water vapor showed values between 2.63 and 17.15 g.mm/m².dia.kPa. The effects of the increased content of the crosslinking agent used in the films were different between dimethylolurea and polyethylene glycol, especially noticeable difference in the mechanical properties.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Polímeros biodegradáveis.....	4
3.2. Biofilmes.....	5
3.3. Seda	6
3.3.1. Composição do Casulo do Bicho-da-Seda	8
3.3.3.1. Fibroína.....	8
3.3.3.2. Sericina	10
3.3.3.2.1. Extração da sericina.....	14
3.4. Amido	16
3.5. Plastificantes	19
3.6. Agentes Reticulantes	20
3.7. Caracterização dos filmes/membranas biodegradáveis	21
3.7.1. Espessura.....	21
3.7.2. Propriedades de barreira.....	22
3.7.3. Propriedades mecânicas	23
3.7.4. Solubilidade em água	24
3.7.5. Intumescimento.....	25
3.8. Considerações Finais	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. Materiais	27
4.2. Métodos	27
4.2.1. Metodologia de obtenção da solução de sericina.....	27
4.2.2. Metodologia geral de preparação dos biofilmes	28
4.2.3. Caracterização dos biofilmes.....	29
4.2.3.1. Aspecto visual.....	30
4.2.3.2. Espessura	30

4.2.3.3.	Teor de umidade.....	30
4.2.3.4.	Solubilidade em água	31
4.2.3.5.	Grau de intumescimento (<i>Swelling</i>)	32
4.2.3.6.	Permeabilidade ao vapor de água.....	32
4.2.3.7.	Propriedades mecânicas.....	33
4.2.3.8.	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	35
4.2.3.9.	Difração de Raios-X.....	35
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1.	Filmes de Sericina	36
5.1.1.	Aspectos Visuais.....	37
5.1.2.	Teor de Umidade e Solubilidade em Água.....	37
5.1.3.	Grau de Intumescimento (<i>Swelling</i>).....	42
5.1.4.	Permeabilidade ao Vapor de Água e Espessura.....	44
5.1.5.	Propriedades Mecânicas	46
5.1.6.	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	49
5.1.7.	Difração de Raios-X.....	51
5.1.8.	Conclusão Parcial	53
5.2.	Filmes de Amido	54
5.2.1.	Aspectos Visuais.....	54
5.2.2.	Teor de Umidade e Solubilidade em Água.....	55
5.2.3.	Grau de Intumescimento (<i>Swelling</i>).....	58
5.2.4.	Permeabilidade ao Vapor de Água e Espessura.....	60
5.2.5.	Propriedades Mecânicas	61
5.2.6.	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	62
5.2.7.	Difração de Raios-X.....	63
5.2.8.	Conclusão Parcial	65

5.3.	Filmes de Sericina/Amido	65
5.3.1.	Aspectos Visuais.....	65
5.3.2.	Teor de Umidade e Solubilidade em Água.....	66
5.3.3.	Grau de Intumescimento (<i>Swelling</i>).....	71
5.3.4.	Permeabilidade ao Vapor de Água e Espessura.....	73
5.3.5.	Propriedades Mecânicas	75
5.3.6.	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	76
5.3.7.	Difração de Raios-X.....	78
5.3.8.	Conclusão Parcial	80
6.	CONCLUSÃO.....	81
7.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	82
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

Tabela 3.1 – Composição da sericina.....	11
Tabela 3.2 – Estrutura dos aminoácidos que compõem a sericina.....	12

Capítulo 5

Tabela 5.1 – Características relacionadas ao aspecto visual dos filmes de sericina confeccionados com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina.....	37
Tabela 5.2 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com dimetiloluréia.	38
Tabela 5.3 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com polietilenoglicol.....	38
Tabela 5.4 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com ácido succínico.....	39
Tabela 5.5 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com dimetiloluréia....	44
Tabela 5.6 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com polietilenoglicol.....	45
Tabela 5.7 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com ácido succínico.....	45
Tabela 5.8 – Classificação da permeabilidade ao vapor de água de filmes segundo Krochta e Mulder-Johnston (1997).....	46
Tabela 5.9 – Propriedades mecânicas dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com dimetiloluréia.....	47
Tabela 5.10 – Propriedades mecânicas dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com polietilenoglicol.....	47

Tabela 5.11 – Propriedades mecânicas dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina, reticulados com ácido succínico.....	47
Tabela 5.12 – Características relacionadas ao aspecto visual dos filmes de amido confeccionados com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido.....	55
Tabela 5.13 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido reticulados com polietilenoglicol.....	55
Tabela 5.14 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com ácido succínico.....	56
Tabela 5.15 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com polietilenoglicol....	60
Tabela 5.16 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com ácido succínico.....	60
Tabela 5.17 – Propriedades mecânicas dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com polietilenoglicol.....	62
Tabela 5.18 – Propriedades mecânicas dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com ácido succínico.....	62
Tabela 5.19 – Características relacionadas ao aspecto visual dos filmes de blendas de sericina (50%) e amido (50%), confeccionados com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero.....	66
Tabela 5.20 – Teor de umidade e solubilidade em água dos filmes de blenda de sericina (50%) e amido (50%), com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com dimetiloluréia.....	67
Tabela 5.21 – Teor de umidade e solubilidade em água dos filmes de blenda de sericina (50%) e amido (50%), com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol.....	67
Tabela 5.22 – Teor de umidade e solubilidade em água dos filmes de blenda de sericina (50%) e amido (50%), com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com ácido succínico.....	67
Tabela 5.23 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de blenda sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com dimetiloluréia.....	73

Tabela 5.24 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de blenda sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol.....	74
Tabela 5.25 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de blenda sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com ácido succínico.....	74
Tabela 5.26 – Propriedades mecânicas dos filmes blenda de sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com dimetiloluréia.....	75
Tabela 5.27 – Propriedades mecânicas dos filmes blenda de sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol.....	76
Tabela 5.28 – Propriedades mecânicas dos filmes blenda de sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com ácido succínico.....	76

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 3

Figura 3.1: (a) Lagarta construindo seu casulo, (b) Casulo e (c) Pupa no interior do casulo (Fonte: MARCELINO, 2008).....	7
Figura 3.2: Demonstração da metamorfose do <i>Bombyx mori</i> (Fonte: MARCELINO, 2008).....	8
Figura 3.3: Estrutura folha- β da fibroína e estrutura dos principais aminoácidos presentes na sua cadeia.....	10
Figura 3.4: Representação da estrutura da seda (Fonte: RIGUEIRO <i>et al.</i> , 2001).....	11
Figura 3.5: Representação esquemática das ligações de hidrogênio intermolecular entre fibroína e a sericina (Fonte: LEE, 2004).....	13
Figura 3.6: Representação da estrutura da amilose e sua conformação helicoidal (Fonte: MAIA <i>et al.</i> , 2000, em REIS, 2011).....	17
Figura 3.7: Representação da estrutura da amilopectina e seu formato ramificado (Fonte: MAIA <i>et al.</i> , 2000, em REIS, 2011).....	18
Figura 3.8: Representação esquemática de uma rede polimérica reticulada (Fonte: OLIVEIRA, 2009).....	20

Capítulo 4

Figura 4.1: Representação do esquema para obtenção da solução de sericina.....	28
Figura 4.2: Fluxograma geral da preparação dos biofilmes.....	29
Figura 4.3: Amostras de filmes sob agitação durante a realização das análises de solubilidade em água.....	31
Figura 4.4: Células de teflon e alumínio utilizadas na análise de permeabilidade ao vapor de água.....	33
Figura 4.5: Texturômetro utilizado para realização dos ensaios das propriedades mecânicas.....	34

Capítulo 5

Figura 5.1: Esquematização da reticulação da sericina com DMU.....	39
Figura 5.2: Esquematização da reticulação da sericina com PEG.....	40
Figura 5.3: Esquematização 2 da reticulação da sericina com DMU.....	40
Figura 5.4: Esquematização 2 da reticulação da sericina com PEG.....	41
Figura 5.5: Esquematização do succinato de sericina.....	41
Figura 5.6: Grau de intumescimento dos filmes de sericina reticulados com a) Dimetiloluréia, b) Polietilenoglicol e c) Ácido Succínico.....	43
Figura 5.7: Espectros FTIR dos filmes de sericina utilizando vários agentes reticulantes. a) Dimetiloluréia, b) Polietilenoglicol e c) Ácido Succínico.....	50
Figura 5.8: Difratoograma de Raios-X de filmes de sericina, a) reticulado com dimetiloluréia, b) reticulado com polietilenoglicol e c) reticulado com ácido succínico.....	52
Figura 5.9: Esquematização da ligação entre amido e DMU.....	57
Figura 5.10: Representação da possível reticulação entre o amido e o DMU.....	57
Figura 5.11: Representação da possível reticulação entre o amido e o PEG.....	58
Figura 5.12: Esquematização do succinato de amido.....	58
Figura 5.13: Grau de intumescimento dos filmes de amido reticulados com a) Polietilenoglicol e b) Ácido Succínico.....	59
Figura 5.14: Espectros FTIR dos filmes de amido reticulados com polietilenoglicol e ácido succínico.....	63
Figura 5.15: Difratoograma de Raios-X de filmes de amido, a) reticulado com polietilenoglicol e b) reticulado com ácido succínico.....	64
Figura 5.16: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com DMU.....	69
Figura 5.17: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com DMU por condensação.....	69
Figura 5.18: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com PEG.....	70
Figura 5.19: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com PEG por condensação.....	71
Figura 5.20: Grau de intumescimento dos filmes de blenda sericina/amido reticulados com a) Dimetiloluréia, b) Polietilenoglicol e c) Ácido Succínico.....	72

Figura 5.21: Espectros FTIR dos filmes de sericina/amido utilizando vários agentes reticulantes, a) filmes reticulados com dimetiloluréia, b) filmes reticulados com polietilenoglicol e c) filme reticulado com ácido succínico.....77

Figura 5.22: Difratoograma de Raios-X de filmes de sericina/amido, a) reticulados com dimetiloluréia, b) reticulados com polietilenoglicol e c) reticulado com ácido succínico.....79

1. INTRODUÇÃO

Os polímeros sintéticos são muito utilizados, principalmente pelo setor de embalagens alimentícias e embalagens de outros produtos perecíveis, por serem hidrofóbicos e biologicamente inertes, quesitos essenciais para o comércio desses produtos no varejo (SCOTT, 2000). Porém grande maioria dos polímeros sintéticos não são biodegradáveis, devido a este fato vem crescendo uma preocupação com os problemas ambientais causados pelo acúmulo de resíduos no meio ambiente.

Atualmente essas preocupações vêm motivando o desenvolvimento de novas tecnologias que não agridam o meio ambiente, por exemplo, os filmes biodegradáveis. Os filmes biodegradáveis são confeccionados a partir de polímeros naturais como proteínas e polissacarídeos. Outra característica que deve ser ressaltada é que estes polímeros são provenientes de fontes renováveis.

Dentre os polímeros que permitem o preparo de biofilmes está a sericina, que vem ganhado destaque. A sericina é um resíduo gerado no processo de degomagem na produção de fios de seda. A recuperação e o reaproveitamento da sericina poderiam representar uma economia no tratamento deste efluente e uma solução para o impacto ambiental causado por efluentes não tratados (ZHANG, 2002; WU *et al.*, 2007).

O amido também pode ser utilizado, sendo um polímero natural que apresenta na literatura um grande número de estudos para a finalidade de produção de biomateriais. O amido é um polissacarídeo muito abundante no meio ambiente, podendo ser obtido de diversas plantas de interesse econômico, como milho, trigo, batata, mandioca, arroz, entre outras plantas. (FEIL, 1995; ARVANITOYANNIS *et al.*, 1998; THARANATHAN, 2003). Enquanto a seda pode ser obtida dos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) que é um recurso natural renovável cultivado no Brasil e possui custo relativamente baixo (em torno de R\$ 10,00/kg de casulo verde). Segundos dados fornecidos pela empresa Fiação Bratac, a produção brasileira de seda em 2007 foi de aproximadamente 1300 toneladas.

A sericina é uma proteína globular que têm excelentes propriedades antioxidantes, antibacterianas, resistência ao UV e à umidade. Graças às características citadas, a sericina pode ser empregada em várias aplicações, por exemplo, em membranas, cosméticos, suportes para enzimas imobilizadas, matéria-prima para medicamentos, suplemento alimentar e fibras funcionais (KONGDEE *et al.*, 2004).

Neste trabalho, a sericina utilizada para a confecção dos filmes biodegradáveis foi extraída de casulos não utilizados no processo de fiação da seda, desta maneira,

reaproveitando um material que seria descartado. Além de filmes de sericina, foram preparados também filmes de amido e filmes com blendas de sericina e amido em iguais proporções. O método utilizado para produção dos biofilmes foi técnica denominada “*casting*”, sendo que esta técnica consiste na preparação de uma solução filmogênica e a transferência de quantidades determinadas da mesma para um suporte para ocorrer à formação do filme pela evaporação do solvente (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

Para tornar os filmes preparados menos quebradiços foi incorporado um agente plastificante na solução filmogênica. Com o intuito de promover a reticulação química nos filmes foram utilizado três tipos de agentes reticulantes em diferentes concentrações (0,1, 0,4 e 0,7 g de agente reticulante/g de macromolécula), sendo: a dimetiloluréia, o polietilenoglicol e o ácido succínico. Desta forma, o presente trabalho investiga o uso de dois diferentes materiais (sericina e amido) como base na preparação de filmes, com auxílio de agente plastificante e diferentes agentes reticulantes.

2. OBJETIVOS

- **Objetivos Gerais:**

Este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar biofilmes de sericina e biofilmes de sericina com a incorporação de amido de mandioca na sua formulação, através da técnica de “*casting*”, com a utilização de diferentes agentes reticulantes.

- **Objetivos Específicos:**

Avaliar a utilização de diferentes agentes reticulantes e em diferentes concentrações dos mesmos, na confecção de filmes de sericina. Sendo os seguintes agentes reticulantes utilizados: dimetiloluréia (DMU), polietilenoglicol (PEG) e ácido succínico.

Avaliar os biofilmes de sericina com a incorporação do amido, com a finalidade de melhorar as características dos biofilmes produzidos.

Para comparação, avaliar os biofilmes preparados a partir do amido, utilizando polietilenoglicol (PEG) e ácido succínico como agentes reticulantes.

Os biofilmes foram caracterizados analisando:

- Espessura;
- Umidade;
- Solubilidade em água;
- Grau de intumescimento;
- Permeabilidade ao vapor de água;
- Propriedades mecânicas;
- FTIR;
- Difração de raios-X.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Polímeros biodegradáveis

No meio ambiente, os compostos orgânicos sofrem um processo natural conhecido como biodegradação, por meio do qual são convertidos em compostos simples, que posteriormente são mineralizados e retribuídos através dos ciclos elementares do carbono, enxofre e nitrogênio (CHANDRA e RUSTGI, 1998).

Nesse processo os polímeros biodegradáveis ou biopolímeros, sofrem ataque de microrganismos (bactérias ou fungos) presentes no ambiente. Esses microrganismos secretam enzimas que quebram a cadeia dos polímeros, assim convertendo em moléculas menores (AVELLA *et al.*, 2005).

Este mesmo processo não ocorre com polímeros sintéticos não biodegradáveis quando presentes no meio ambiente, visto que as enzimas secretadas pelos microrganismos não são capazes de realizar a quebra das cadeias dos polímeros (REIS, 2011). Desta forma o descarte inadequado de embalagens confeccionadas com polímeros não biodegradáveis se torna um problema ao meio ambiente (TURBIANI, 2011).

Em 2004, Averous e Boquillon propuseram uma classificação para os polímeros biodegradáveis, dividindo-os em quatro conjuntos considerando sua origem:

- Biopolímeros oriundos da biomassa, sendo também conhecidos como agropolímeros. São formados por polissacarídeos e por proteínas de origem animal e vegetal, neste contexto fazem parte a proteína sericina e o polissacarídeo amido, os quais são usados no presente trabalho.
- Biopolímeros provenientes da fermentação abrangem os poliésteres obtidos através do processo de fermentação sem que seja necessário qualquer outro tipo de processo de transformação. Como os poli (hidroxi-alcanoatos), por exemplo, o poli (hidroxi-butilato) (PHB) e o poli (hidroxi-butilatovalerato) (PHBV).
- Biopolímeros tecnológicos, constituídos de polímeros que sofrem um processo de síntese ou polimerização convencional. Neste conjunto tem a presença dos poli (lactídeos), podendo citar o polilático (PLA) como um exemplo, que é um polímero sintetizado a partir do ácido láctico.
- Biopolímeros de origem da indústria petroquímica, apesar de serem provenientes de uma fonte não renovável que é o petróleo, esses polímeros

apresentam a biodegradabilidade. Polímeros como os poli (caprolactonas) (PCL), poli (ésteres-amidas) (PEA), co-poliésteres alifáticos e os co-poliésteres aromáticos.

Estes polímeros biodegradáveis têm aplicações nos setores agrícola, farmacêutico e alimentício. Sendo usado como filmes de revestimento para manter as boas qualidades dos alimentos no setor alimentício (BASTIOLI, 2005; REIS, 2011).

3.2. Biofilmes

Neste trabalho, biofilmes são definidos como filmes finos e flexíveis confeccionados a partir de polímeros biodegradáveis, que podem ser utilizados como embalagens, por agirem como barreira a elementos externos como umidade, óleo e gases e, portanto, protegendo o produto e lhe proporcionando um aumento a sua vida de prateleira. Estes filmes podem estar presentes na superfície do produto ou como finas camadas entre diferentes partes do produto (DEBEAUFORT *et al.*, 1998; KROCHTA, 2002; PALMU *et al.*, 2002).

O potencial de aplicação dos biofilmes nos setores alimentícios e agrícola tem motivado um elevado número de estudos no desenvolvimento e caracterização desses materiais. A utilização dos biofilmes no setor alimentício é devida a capacidade de poder controlar a migração de água, a permeabilidade de gases, como o oxigênio (O₂) e o dióxido de carbono (CO₂), a migração lipídica e, ainda os filmes podem conter aditivos como antioxidantes e antimicrobianos, com o intuito de retardar a taxa de deterioração de um produto alimentício (CHEN e NUSSINOVITCH, 2000; McHUGH e KROCHTA, 1994; KESTER e FENNEMA, 1986).

Pesquisando na literatura o processo mais recorrente para preparação de filmes é a técnica denominada “*casting*”, que consiste em duas etapas, sendo que na primeira etapa ocorre a solubilização das macromoléculas em um solvente (água, etanol, ácido acético, entre outros), podendo também ser adicionados diversos aditivos (plastificantes, agentes reticulantes, antioxidantes, entre outros) para formação da solução filmogênica. Na segunda etapa, a solução filmogênica é vertida sobre um suporte e posteriormente submetida à secagem por evaporação em estufa com circulação de ar até uma condição que permita um fácil desprendimento do suporte (KROCHTA *et al.*, 1994; CUQ *et al.*, 1995).

Somente macromoléculas com a capacidade de formar uma matriz contínua e coesa são propícias para confecção de biofilmes (GUILBERT *et al.*, 1997). De acordo com a literatura, macromoléculas que apresentam esta capacidade e que possuem uma grande disponibilidade são: as proteínas e entre essas temos a sericina (MAIKRANG e ARAMWIT, 2009; MANDAL *et al.*, 2009; SRIHANAM *et al.*, 2009; TURBIANI, 2011), o glúten (TANADA-PALMU e GROSSO, 2005), a queratina (MARTELLI *et al.*, 2006), e as proteínas do soro (CAO *et al.*, 2007), entre outras. Para os polissacarídeos temos o amido (DIAS, 2008; REIS, 2011; MATTA Jr. *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2012), os alginatos (ZACTITI e KIECKBUSCH, 2006; TURBIANI, 2007), as pectinas (BIERHALZ, 2010; CORRÊA, 2011), entre outros.

Cada tipo de biopolímero utilizado para preparação de biofilmes gera propriedades funcionais específicas nos mesmos, sendo que biofilmes preparados a partir de proteínas apresentam efetiva barreira a gases como CO₂ e O₂, mas possuem alta permeabilidade ao vapor de água devido ao seu caráter hidrofílico (KROCHTA, 2002; PALMU *et al.*, 2002). Membranas biodegradáveis confeccionados a base de polissacarídeos também apresentam alta permeabilidade ao vapor de água, contudo são eficientes barreiras contra migração de óleos e gorduras (GUILBERT *et al.*, 1997). Enquanto biofilmes desenvolvidos com a adição de lipídios exibem uma excelente propriedade de barreira contra umidade, mas podem sofrer oxidação causando a alteração das características sensoriais (GUILBERT *et al.*, 1997). Contudo, plastificantes, agentes reticulantes, antimicrobianos e antioxidantes podem ser adicionados para melhorar as propriedades funcionais desejadas para o biofilme (GENNADIOS e WELLER, 1990).

Uma alternativa utilizada para melhorar as propriedades dos biofilmes é a preparação da solução filmogênica utilizando blendas, que são combinações entre dois ou mais tipos de biopolímeros, ou seja, combinando proteínas e polissacarídeos ou a adição de fibras (GUILBERT *et al.*, 1997, WOLLERDORFER e BADER, 1998).

3.3. Seda

A seda é uma valiosa fibra têxtil produzida por diversas larvas de insetos e aranhas que fazem parte do filo *Arthropoda*. Os insetos pertencentes à família *Bombycidae*, principalmente a mariposa *Bombyx mori*, são os mais utilizados para obtenção da seda (MAUERSBERGER, 1954).

A sericultura é a atividade de produção de casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), que consiste no cultivo de amoreiras para fornecer como alimento aos bichos-da-seda durante sua criação (FREDERICO, 1997). O bicho-da-seda produz o casulo com a função de se proteger dos agentes externos durante o seu período de metamorfose de pupa para mariposa, como é demonstrado na Figura 3.1. A Figura 3.2 apresenta metamorfose sofrida pelo bicho-da-seda (MARCELINO, 2008).

Durante sua vida, o bicho-da-seda passa por quatro estágios, sendo eles, o ovo, o larval, a pupa (crisálida) e a imago (mariposa) (HOLANDA et al., 2004). A criação do bicho-da-seda deve ser feita em ambiente fechado, pois essa espécie não sobrevive por muito tempo sozinho no ambiente (FREDERICO, 1997), sendo que seu ciclo de vida tem média de duração de 55 a 60 dias, podendo variar com o tipo de ovo e as condições utilizadas para a criação. Após eclosão dos ovos, as lavras recém-nascidas se alimentam por 25 a 30 dias de folhas de amoreira picadas, fase em que o peso das larvas passa de 0,45 mg para 45 g e seu comprimento passa de 3 mm para 8 cm (MAUERSBERGER, 1954).

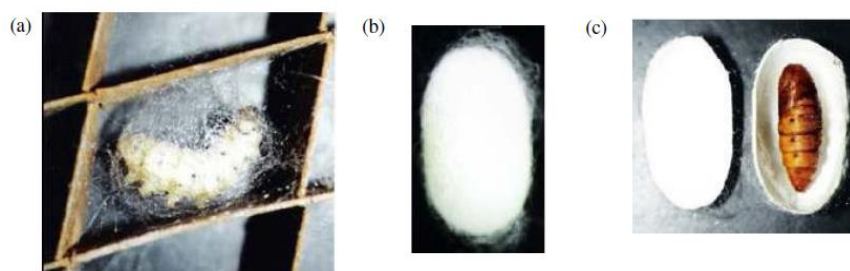


Figura 3.1: (a) Lagarta construindo seu casulo, (b) Casulo e (c) Pupa no interior do casulo (Fonte: MARCELINO, 2008).

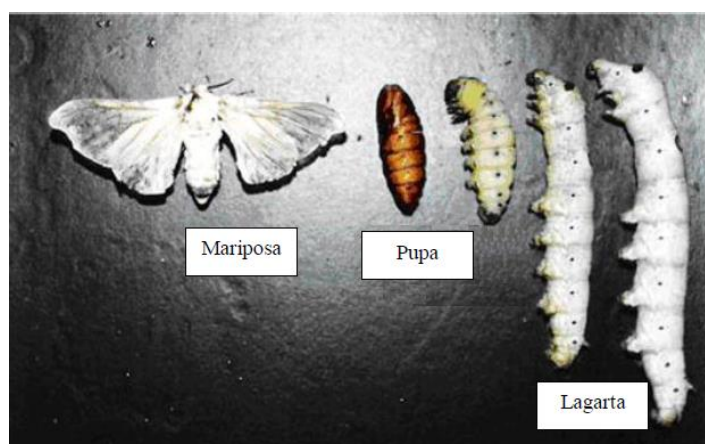


Figura 3.2: Demonstração da metamorfose do *Bombyx mori* (Fonte: MARCELINO, 2008).

Após o período de alimentação, inicia-se a construção do casulo, que dura em média de 3 a 6 dias. A larva secreta dois componentes principais para confeccionar o casulo: a fibroína que é fibra filamentosa e a sericina que tem a função unir os filamentos de fibroína uns aos outros, dessa maneira, formando um casulo rígido e coeso. Com o casulo finalizado, inicia-se a metamorfose da larva para crisálida e posteriormente de crisálida para mariposa, a duração desse processo é de 14 a 18 dias. Finalizada a metamorfose de larva para mariposa, a mariposa utiliza suco alcalino secretado pelo seu estômago para suavizar o efeito da sericina, dessa forma, lhe permitindo sair do casulo. A mariposa vive poucos dias, sendo um intervalo de tempo que abrange o período de fertilidade da fêmea, onde ela deposita seus ovos e o ciclo se reiniciar (MAUERSBERGER, 1954).

Para evitar a danificação dos fios de seda devido à saída da mariposa do casulo, durante o estágio de pupa, os casulos sofrem um processo de secagem em elevada temperatura. Este processo também tem o objetivo de eliminar a umidade excessiva presente que podem causar danos à fiação. Os fios de seda obtidos no final do processo apresentam comprimento que normalmente variam de 800 a 1500 metros, com espessura de 0,002 mm (HOLANDA *et al.*, 2004).

3.3.1. Composição do Casulo do Bicho-da-Seda

Os casulos produzidos pelos bichos-da-seda (*Bombyx mori*) são constituídos principalmente de três componentes proteicos: a fibroína, a sericina e a P25. A fibroína é o principal componente do fio da seda, corresponde a 70 a 80% da massa seca do casulo, e a sericina que é uma proteína com propriedades adesivas, sendo responsável por manter a integridade dos filamentos de fibroína, corresponde os 20 a 30% restantes (ZHANG, 2002). A P25 é uma glicoproteína de grande importância para a manutenção da integridade do fio de seda. Também pode ser encontrados nos casulos: gorduras e ceras (0,5 a 1%), carboidratos (1 a 1,5%), corantes e outros (1 a 1,5%) (PADAMWAR *et al.*, 2005).

3.3.3.1. Fibroína

O principal produto do processamento do casulo do bicho-da-seda é a fibroína, sendo uma fibra valiosa, com brilho e agradável ao tato. A fibroína é uma proteína

altamente insolúvel em água e com alta massa molecular, na ordem de 25 a 350 kDa, além de apresentar uma estrutura formada por uma série de folhas- β antiparalelas e possuir intercalações de segmentos peptídicos irregulares. Os aminoácidos glicina (Gli), alanina (Ala) e serina (Ser) representam mais que 90% dos aminoácidos presentes na fibroína (MARCELINO, 2008). Outros aminoácidos também encontrados na fibroína são: ácido aspártico, ácido glutamínico, arginina, tirosina, valina, leucina, lisina, entre outros (MAUERBERGER, 1954).

Os três principais aminoácidos da fibroína formam a repetição Gli-Ala-Gli-Ala-Gli-Ser, que é responsável pela estrutura folha- β , devido ao aumento da natureza cristalina da fibroína (MIYAGUCHI, 2005; COZZONE, 2002; LEWIN e PEARCE, 1998). Enquanto na região amorfa da fibroína está presente a maioria dos resíduos de aminoácidos com uma cadeia lateral volumosa e polar. As propriedades de resistência das fibras de seda dependem principalmente da estrutura cristalina, enquanto outras propriedades como retenção de umidade e resistência química, dependem do estado da região amorfa (MORI e TSUKADA, 2000). A Figura 3.3 apresentam a estrutura da folha- β da fibroína e os principais aminoácidos que a compõem.

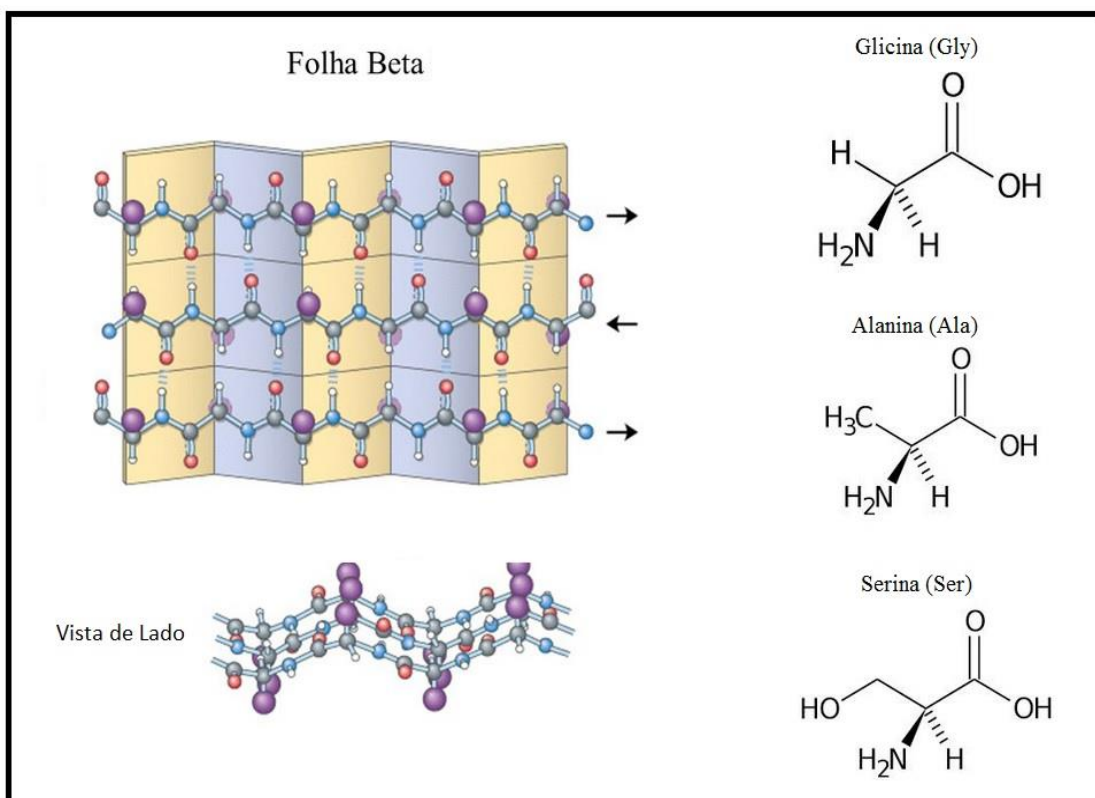


Figura 3.3: Estrutura de uma folha- β e estrutura dos principais aminoácidos presentes na cadeia da fibroína.

3.3.3.2. Sericina

A sericina é uma proteína globular altamente hidrofílica, tem excelentes propriedades antioxidantes, antibacterianas, resistência UV (ZHANG *et al.*, 2004). Esta proteína representa por volta de 20 a 30% da massa seca dos casulos, atuando como um revestimento aos filamentos de fibroína para mantê-los unidos, como é observado na Figura 3.4 (SHEN *et al.*, 1998; RIGUEIRO *et al.*, 2001; TERAMOTO *et al.*, 2006).

A sericina é constituída de vários aminoácidos, sendo a serina, glicina e o ácido aspártico os principais aminoácidos presentes, que representam um total de quase 60% do total de aminoácidos (Wu *et al.*, 2007). Nas tabelas 3.1 e 3.2 são apresentas composição e as estruturas dos aminoácidos da sericina.

Dos aminoácidos apresentados nas Tabelas 3.1, 70% apresentam características hidrofílicas. Estes aminoácidos possuem fortes grupos polares tais como hidroxil, carboxil e grupos amino, fatores que promovem a reticulação, copolimerização e blendas com outros polímeros, além de explicar a boa solubilidade e a tendência de absorver água pela sericina (ZHANG, 2002; TERAMOTO *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2007).

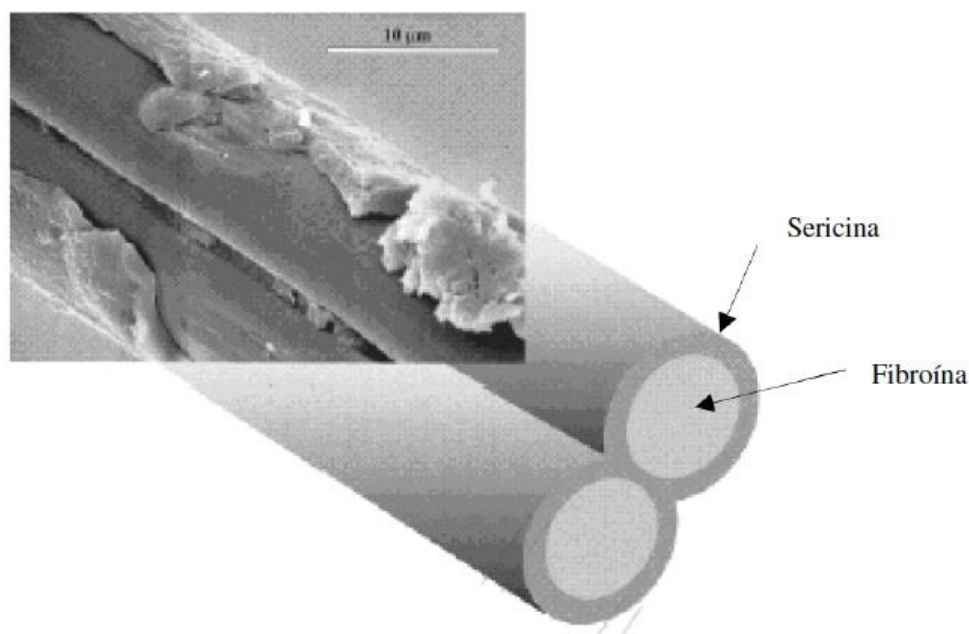


Figura 3.4: Representação da estrutura da seda (Fonte: RIGUEIRO *et al.*, 2001).

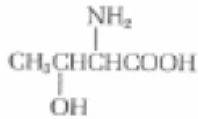
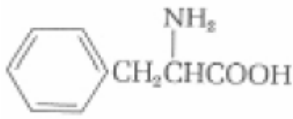
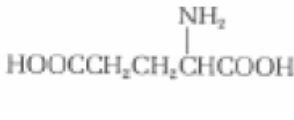
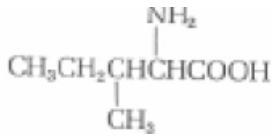

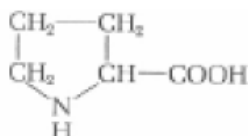
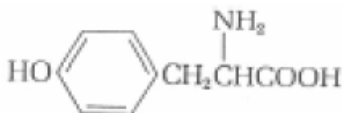

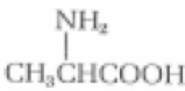
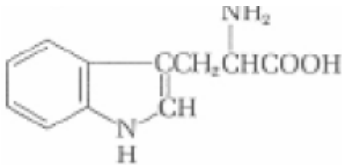
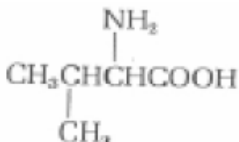
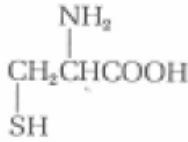
Tabela 3.1 – Composição da sericina.

Aminoácido	%
Serina	27,3
Ácido aspártico	18,8
Glicina	10,7
Treonina	7,5
Ácido glutâmico	7,2
Arginina	4,9
Tirosina	4,6
Alanina	4,3
Valina	3,8
Lisina	2,1
Histidina	1,7
Leucina	1,7
Fenilalanina	1,6
Isoleucina	1,3
Prolina	1,2
Metionina	0,5
Triptofano	0,4
Cisteína	0,3

Fonte: Wu *et al.*, 2007.

Tabela 3.2 – Estrutura dos aminoácidos que compõem a sericina.

Aminoácido	Estrutura	Aminoácido	Estrutura
Serina	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOCH}_2\text{CHCOOH} \end{array}$	Lisina	$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCOOH}$
Ácido aspártico	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOCCH}_2\text{CHCOOH} \end{array}$	Histidina	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HC}=\text{CCH}_2\text{CHCOOH} \\ \quad \\ \text{N} \quad \text{NH} \\ \\ \text{CH} \end{array}$
Glicina	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{COOH} \end{array}$	Leucina	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CHCOOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Treonina		Fenilalanina	
Ácido glutâmico		Isoleucina	
Arginina		Prolina	
Tirosina		Metionina	
Alanina		Triptofano	
Valina		Cisteína	

Fonte: (MORRISON e BOYD, 1992).

A fibroína e a sericina apresentam sequências de aminoácidos repetidas que são capaz de formar a estrutura β -folha. Sendo que fibroína tem a sequência [GAGAGS] n e a sericina possui a sequência GSVSSTGSSNTDSST, onde A, D, G, N, S, T, e V são: alanina, ácido aspártico, glicina, asparagina, serina, treonina e valina respectivamente. Na Figura 3.5 a seguir, são exemplificadas as interações intermoleculares hipotéticas entre a fibroína e a sericina.

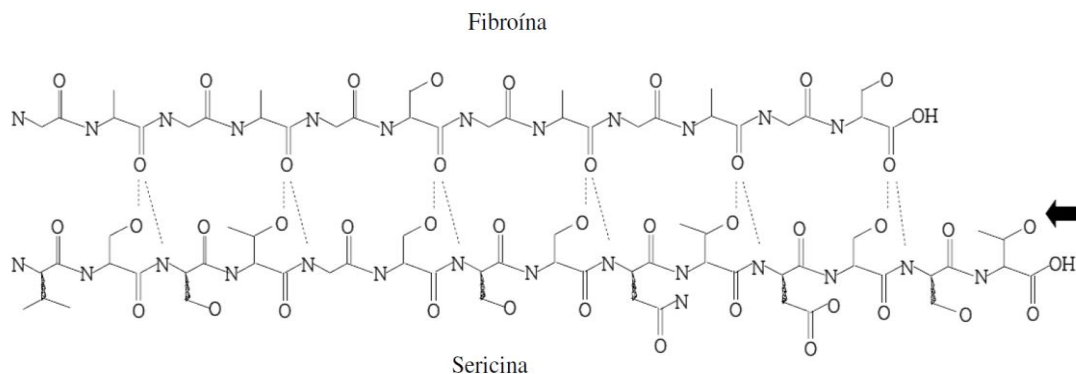


Figura 3.5: Representação esquemática das ligações de hidrogênio intermolecular entre fibroína e a sericina (Fonte: LEE, 2004).

A sericina pode ser encontrada principalmente na estrutura aleatória amorfa, porém em menor extensão pode ser encontrada na estrutura organizada do tipo folha- β (PADAMWAR *et al.*, 2005). Em estudos realizados por Tsukada *et al.*, in Hojo (1980), foi calculado a distribuição estrutural da sericina através de curvas de dicroísmo circular e foi possível observar que além da presença das estruturas aleatória amorfa e folha- β , existe a presença da estrutura α -hélice em pequenas quantidades.

A sericina ao sofrer tratamento térmico, especialmente na presença de água ou solventes orgânicos apresenta mudanças estruturais da aleatória amorfa para folhas- β , devido a sua transformação em um estado agregado pela água ou solvente orgânico, onde esses agregados contêm fortes ligações de hidrogênio. Dessa maneira, as fortes interações intermoleculares podem resultar da abundância de cadeias laterais polares presentes na sericina, tais como grupos hidroxila e carboxila, podendo resultar em ligações de hidrogênio intermoleculares com outras cadeias laterais polares ou grupos amida no peptídeo, transformando a sericina em uma estrutura folha- β com fortes ligações de hidrogênio intermoleculares (TERAMOTO e MIYAZAWA, 2005).

Dependendo do método de extração utilizado, pode resultar em uma ampla distribuição da massa molecular da sericina, variando entre 10 kDa e 300 kDa. A sericina com massa molecular maior que 20 kDa é principalmente utilizada na confecção de biomateriais (ZHANG, 2002; TERAMOTO *et al.*, 2005a). Atualmente, a sericina possui diversas aplicações, podendo citar: em cosméticos, membranas, suportes para enzimas imobilizadas, suplementos alimentares, matéria-prima para medicamentos e fibras funcionais (KONGDEE *et al.*, 2004). Em recentes estudos envolvendo a sericina, foi demonstrado que a sericina proporciona muitos efeitos fisiológicos, como um efeito anti-

oxidativo, a prevenção do câncer e o melhoramento de dermatites, entre outros. (MIYAKE *et al.*, 2003).

A sericina por ser uma proteína globular, é capaz de formar um filme protetor sobre a pele, que causa uma sensação de elasticidade e mantém a pele hidratada. Este filme permanece mesmo após frequentes lavagens. A sericina também vem sendo aplicada como biomaterial para cicatrização e hidrogéis, devido ao seu carácter hidrofílico e sua retenção de água (TSUBOUCHI, 2001; TERAMOTO *et al.*, 2005b; WU *et al.*, 2007).

Como citado anteriormente, a sericina é uma proteína hidrofílica, sendo bastante solúvel em água. Desta forma, para realizar a confecção dos biofilmes é necessário à adição de um agente reticulante para estabelecer ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas da sericina, conseqüentemente formando uma rede ou retículo, causando alterações nas propriedades material do final.

3.3.3.2.1. Extração da sericina

A degomagem é o nome dado ao processo de extração ou remoção da sericina dos casulos do bicho-da-seda, que pode ser realizada por via física ou química ou, também, por enzimas. A realização da degomagem por meios físicos são os mais conhecidos e tem como base a solubilidade da sericina em água quente, enquanto por meios químicos, se tem a utilização de detergentes, soluções ácidas ou básicas para solubilizar a sericina. O uso de enzimas para a extração ou remoção da sericina apresenta uma maior eficiência e proporciona uma economia de água, energia, produtos químicos e no tratamento de efluentes. Contudo, o elevado custo das enzimas inviabiliza a utilização desse método em escala industrial (LAMOOLPHAK *et al.*, 2008; MAHMOODI, 2010).

- **Extração com água**

O método de extração com água é o mais fácil de obter a solução de sericina. Este método consiste em ferver pedaços cortados (cerca de 1 cm²) e lavados cuidadosamente de casulos de *Bombyx mori* em água quente, em uma faixa de temperatura de 95 a 100 °C por diferentes períodos de tempo. Após a solubilização da sericina, a solução é filtrada em um filtro de microfibras de vidro para remover a fibroína da solução (TAO *et al.*, 2005; KWEON *et al.*, 2000b; KATO *et al.*, 1998; TERADA *et al.*, 2002).

- **Extração com água e pressão a 120 °C**

Como o método de degomagem em água quente é suficientemente longo, podem acabar provocando danos na fibroína. Devido a esse fator, na indústria da seda são normalmente usadas autoclaves para tratar a fibra, em temperatura de 120 °C por 1 a 2 horas (ZHANG *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2004; CHO *et al.*, 2003; AHN *et al.*, 2001; FABIANI *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 2003; TERADA *et al.*, 2005).

Em algumas vezes se tem a utilização de detergentes sintéticos para melhorar o efeito de degomagem, evitando assim que a degomagem seja incompleta. Devido a ser um processo de difícil controle, atualmente não é amplamente utilizado pela indústria da seda.

- **Extração com solução de sabão ou detergentes sintéticos**

O sabão de *Marselha* é um sabão excelente para extração de sericina e é preparado a partir do óleo de oliva. Por exemplo, esse método pode ser efetuado usando de 10 a 20 g/L de sabão, nas seguintes condições, temperatura de 92 a 98 °C por 2 a 4 horas em pH 10,2 a 10,5. Porém, esse sabão é um produto dispendioso e importado, devido a isso, a prática da degomagem acaba sendo realizada utilizando sabões nativos ou caseiros feitos à base de sódio. O uso de sabão faz com que a sericina inche, dessa maneira, provocando a emulsificação do banho de degomagem e impedindo a reutilização da sericina removida (MATSUYAMA *et al.*, 1996; MAHMOODI, 2010).

Atualmente, a indústria da seda vem substituindo o uso de sabões por detergentes sintéticos, por causarem menores danos à fibra e precisarem de um tempo menor de extração (de 30 a 40 min a 98 °C). Detergentes sintéticos não-iônicos possuem a característica de poderem reduzir o impacto sobre a resistência à ruptura das fibras durante a extração da sericina. Para esse método, se tem a utilização de 2,5 g/L de detergente sintético não-iônico durante 30 minutos em um pH de 11,5. Problemas que podem ser evidenciados nesse método são a elevada temperatura utilizada (98 °C) e o elevado pH (pH de 11,5), desta forma, para o processo de degomagem, deve-se ter um alto controle da temperatura e tempo de operação, além da quantidade de detergente utilizada para evitar danos à seda (CHO *et al.*, 2003; JIANG *et al.*, 2006; LEE, 2004; KATO *et al.*, 2004; MATSUYAMA *et al.*, 1996; TAKAHASHI *et al.*, 2003).

- **Extração com ácidos**

A degomagem também pode ser realizada utilizando soluções ácidas, como de ácidos sulfúrico, clorídrico, tartárico e cítrico. Porém esse método de extração não é muito utilizado pela indústria têxtil, uma vez que, o uso de soluções alcalinas são mais seguras para evitar danos na fibroína. A utilização de ácidos minerais fortes, como o ácido sulfúrico e clorídrico citados acima, não podem ser empregados para obter uma degomagem completa sem danificar a fibroína (JIANG *et al.*, 2006).

- **Remoção com enzimas**

As enzimas agem como biocatalisadores de reações químicas específicas e estão presentes em células vivas. Dentre essas reações químicas, diferentes enzimas podem realizar hidrólise, oxidação, redução, coagulação e reações de decomposição. A indústria da seda emprega o uso de enzimas por poderem ser utilizadas à pressão atmosférica e em condições brandas de temperatura e pH. As enzimas utilizadas são as hidrolíticas, como por exemplo, a celulase, tripsina e papaína (YAMADA *et al.*, 2001).

3.4. Amido

Polissacarídeos são macromoléculas formadas pela união de diversos monossacarídeos de fórmula estrutural $C_n(H_2O)_n$, sendo polímeros naturais de carboidratos. O amido é um polissacarídeo de baixo custo e um dos mais abundantes na natureza, podendo ser obtido de diversas plantas de interesse comercial, por exemplo, no milho, no trigo, na batata, na mandioca, no arroz, e em outras plantas. (FEIL, 1995; ARVANITOYANNIS e BILIADERIS, 1998; THARANATHAN, 2003; ZULLO e IANNACE, 2009).

Em seu estado nativo, o amido é insolúvel em água fria e em diversos solventes orgânicos, além de apresentar grânulos parcialmente cristalinos. O amido é constituído por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina (VAN SOEST e VLIEGENTHART, 1997). Sendo que a amilose é uma molécula linear, essencialmente sem ramificações, que apresenta ligações α (1 \rightarrow 4) em cadeia e, enquanto a amilopectina, demonstra uma cadeia contínua com ligações α (1 \rightarrow 4) entre as moléculas e ligações α

(1→6) para as ramificações (KORTSTEE et al., 1998), conforme apresentado nas Figuras 3.6 e 3.7.

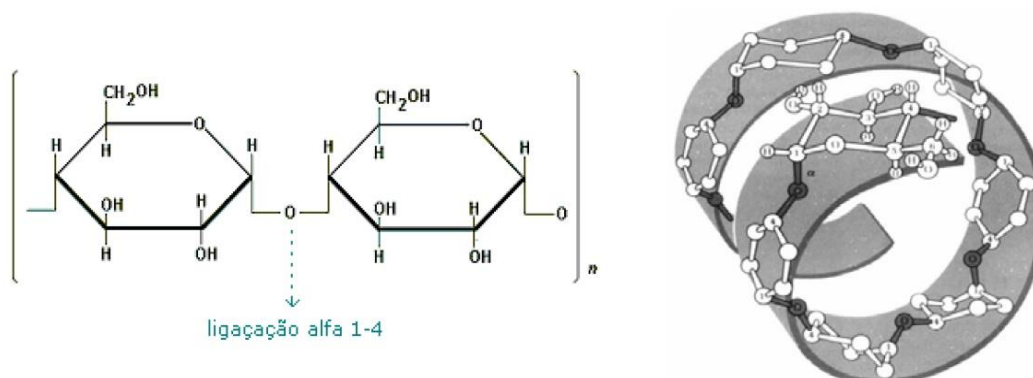


Figura 3.6: Representação da estrutura da amilose e sua conformação helicoidal (Fonte: MAIA et al., 2000).

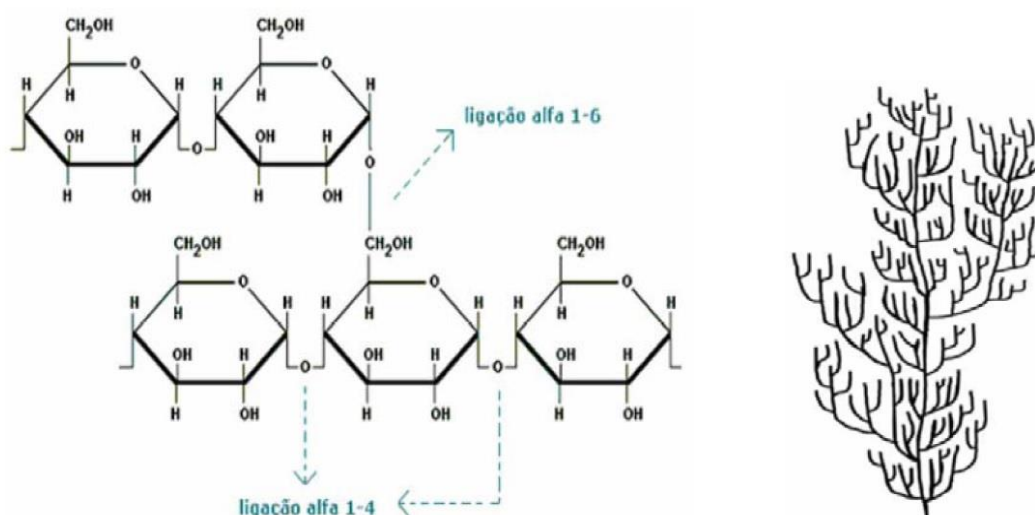


Figura 3.7: Representação da estrutura da amilopectina e seu formato ramificado (Fonte: MAIA et al., 2000).

A aplicação do amido na preparação de biofilmes é baseada nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e filmes. Devido a sua linearidade, as moléculas de amilose em solução tendem a se orientar paralelamente, dessa forma, aproximando-se o suficiente para ocorrerem ligações de hidrogênio entre as hidroxilas de amilose adjacentes. Este fator provoca uma redução da afinidade do polímero por água, promovendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (VAN SOEST e

VLIEGENTHART, 1997). Isto acontece devido ao aquecimento do amido em solução aquosa, onde se tem o rompimento das ligações de hidrogênio presentes na região amorfa, acarretando a destruição da ordem molecular e mudanças irreversíveis nas suas propriedades, como por exemplo, a cristalização (SHIMAZU *et al.*, 2007).

Os filmes de amido podem apresentar propriedades diferentes dependendo da fonte de amido utilizada, isto é atribuído ao conteúdo de amilose presente no amido, que pode variar entre 15 a 33% (GARCIA, 1999; ALVES *et al.*, 1999; WANG e WHITE, 1994). De acordo com a literatura, quanto maior for o teor de amilose presente no amido, melhor será o filme formado. Os filmes formados irão apresentar alta permeabilidade a vapores de água, devido ao seu caráter hidrofílico, mas em contrapartida, os filmes de amido são insolúveis e impermeáveis a lipídeos, além de apresentarem baixa permeabilidade de gases (CO₂ e O₂). Em questão as propriedades mecânicas, os biofilmes de amido demonstram possuir uma flexibilidade limitada em comparação aos filmes sintéticos, devido as fortes ligações polares presentes no amido gelatinizado, dessa forma, tornando os biofilmes quebradiços (LAWTON, 1996; RYU *et al.*, 2002).

Tabela 3.3 – Conteúdo de amilose de amidos naturais.

Fonte vegetal	Amilose (%)
Milho ^a	25
Batata ^a	23
Arroz ^a	15 – 25
Trigo ^a	20
Mandioca ^a	16 – 20
Inhame ^b	30
Aveia ^c	16 – 33

Fonte: (^a – GARCIA, 1999; ^b – ALVES *et al.*, 1999 e ^c – WANG e WHITE, 1994).

Apesar das qualidades citadas dos biofilmes de amido, é indicada a incorporação de diferentes compostos à matriz polimérica, como plastificantes e agentes reticulantes, ou até mesmo blendas com outros polímeros, visando torná-los mais competitivos em relação aos polímeros sintéticos que não são biodegradáveis no meio ambiente.

3.5. Plastificantes

Durante a confecção das membranas ou filmes biodegradáveis, se envolvem forças coesivas que dependem de várias propriedades, tais como, a massa molecular do polímero, polaridade, estrutura da cadeia e entre outras. Sendo que os filmes produzidos podem apresentar alta rigidez, devido a esse fator, se tornam muito quebradiços. Contudo, com a utilização de um plastificante na formulação do filme, se obtém uma diminuição das forças intermoleculares e um aumento na mobilidade das cadeias de polímero, dessa forma, melhorando a flexibilidade e o alongamento e facilitando o desprendimento da placa após a secagem (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2005; BANKER, 1966; JANGCHUD e CHINNAN, 1999).

Os plastificantes são definidos como substâncias que apresentam baixo peso molecular, alto ponto de fusão e volatilidade, que quando incluído na formulação de um biofilme provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas (McHUGH e KROCHTA, 1994).

Os plastificantes mais utilizados em biofilmes são:

- Monossacarídeos;
- Oligossacarídeos, como a glicose, frutose e sacarose;
- Polióis, como o glicerol e sorbitol;
- Lipídios, como ácidos graxos e tensoativos.

A escolha do melhor plastificante a ser empregado para produção do biofilme depende principalmente da compatibilidade do polímero e do solvente utilizados. Normalmente é obtida uma boa compatibilidade quando as estruturas químicas tanto do polímero e do plastificante são semelhantes (GUILBERT *et al.*, 1996; SOTHORNVIT e KROCHTA, 2005). Outro fator que influencia na formação do filme é a concentração de plastificante utilizado na formulação do biofilme, sendo que, geralmente as concentrações utilizadas são na faixa de 10 a 60g/100g de polímero base do filme, dependendo da flexibilidade desejável no filme (GUILBERT, 1986; IRISSIN-MANGATA *et al.*, 2001).

O uso de uma concentração de plastificante maior do que o limite de compatibilidade com o polímero pode causar uma separação de fase, sendo caracterizada por resíduos brancos na superfície do biofilme formado, chamado de *bloom* (DONHOWE e FENNEMA, 1993). Deve se ressaltar também que a principal desvantagem na utilização

de plastificantes com caráter hidrofílico, é o aumento da permeabilidade do vapor de água, devido à diminuição das forças intermoleculares. Portanto, pode-se concluir que o plastificante deve ser empregado em uma concentração que permita otimizar as propriedades mecânicas e apresentando um aumento mínimo na permeabilidade do biofilme (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2005).

3.6. Agentes Reticulantes

Em certas aplicações, as membranas ou filmes biodegradáveis devem ser parcialmente insolúveis, sendo que, geralmente é necessário que sejam insolúveis em meio aquoso. Para se alcançar essa insolubilidade, se tem a adição de um agente reticulante na formulação do filme, onde o agente reticulante promove ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, desta forma, formando uma rede ou um retículo (TSENOGLOU, 1988). A Figura 3.8 ilustra uma rede polimérica com reticulação em que as ligações cruzadas das cadeias poliméricas são representas pelos pontos azuis nas interseções das cadeias.

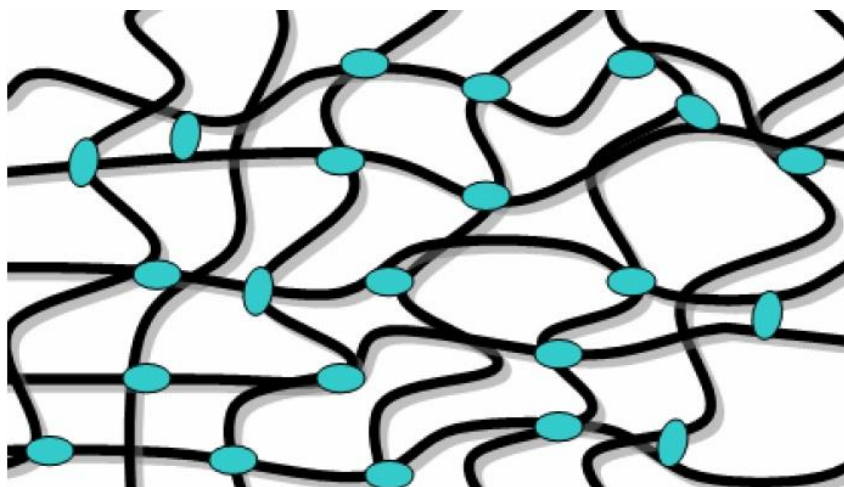


Figura 3.8: Representação esquemática de uma rede polimérica reticulada (Fonte: OLIVEIRA, 2009).

Os polímeros reticulados apresentam diferenças consideráveis em suas propriedades, dependendo do grau de reticulação e do método de preparação dos filmes. A partir da solubilidade, extensão de inchamento, tamanho dos poros e estabilidade mecânica dos filmes, pode se ter a determinação do grau de reticulação obtido nos filmes. Outra mudança que pode ser evidenciada, é que as ligações cruzadas formadas devido à reticulação, afetam a temperatura de transição vítrea (T_g) do polímero, sendo assim, com o

aumento da densidade do polímero reticulado, se tem a diminuição do volume livre e, portanto, a T_g sofre um aumento (EISENBERG, 1993). A redução do volume livre contribui de forma direta para diminuir o fluxo através do filme.

Exemplos de agentes reticulantes que podem ser utilizados para sericina e/ou amido, são o dimetiloluréia (DMU), polietilenoglicol e o ácido cítrico, entre outros. Turbiani (2011) observou que o conteúdo de umidade, a solubilidade em água e o grau de intumescimento dos filmes diminuíram devido ao aumento da quantidade de DMU presente na formulação do filme, Além disso, observou que aumento da quantidade de DMU provocou uma diminuição no alongamento e aumentou a tensão na ruptura dos filmes, outros autores como Zactiti e Kieckbusch (2006), Sothornvit e Chollakup (2009) e Mandal *et al.* (2009) também evidenciaram o mesmo efeito causado pelo aumento da quantidade de DMU utilizado.

3.7. Caracterização dos filmes/membranas biodegradáveis

As principais análises realizadas para a caracterização dos filmes/membranas biodegradáveis são as propriedades de barreira, propriedades mecânicas e solubilidade em água.

3.7.1. Espessura

Para a uniformidade dos filmes produzidos, é importante se ter um controle da espessura desses filmes, proporcionando assim uma repetitividade das propriedades que serão analisadas, conseqüentemente podendo validar as comparações entre as propriedades dos biofilmes. Na técnica “*casting*” é importante fixar um volume ou massa de solução filmogênica que será vertida nas placas para secagem e controlar o nível da superfície onde o filme será mantido para secagem, pois desníveis apresentados no suporte podem gerar diferenças na espessura nos filmes (GENNADIOS *et al.*, 1993; BIERHALZ, 2010).

Essa importância da espessura pode ser novamente destacada porque a espessura é um parâmetro base para várias outras propriedades dos filmes, como as propriedades mecânicas e as propriedades de barreira (XIE *et al.*, 2002). Chen (1995) observa que filmes feitos de proteínas de leite apresentam uma relação entre a permeabilidade ao vapor d’água e a espessura do filme. Park e Chinnan (1995) observaram que os filmes produzidos à base

de zeína, glúten e derivados de celulose, a permeabilidade e a espessura dos biofilmes apresentavam um comportamento linear, conforme se tinha a diminuição da espessura do biofilme, maior era a permeabilidade determinada.

Em filmes de proteína miofibrilar, Cuq *et al.* (1996) observaram uma relação proporcional entre a tensão na ruptura e a espessura dos filmes, acreditando assim que essa relação se deve ao aumento das interações intermoleculares nos filmes com maior espessura.

3.7.2. Propriedades de barreira

Os biofilmes devem funcionar como uma barreira para a proteção dos produtos alimentícios contra efeitos indesejáveis causados pela influência do ambiente externo da embalagem, como o crescimento de microrganismos, alterações de sabor, cor e textura, entre outras alterações. O principal fator dessas alterações é o ganho ou perda de umidade através da migração do vapor de água que pode ocorrer pela embalagem do alimento (GONTARD *et al.*, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 1996).

A migração do vapor de água através do biofilme pode ocorrer de duas maneiras, pelo escoamento capilar, por meio do qual a água atravessa a barreira por algum poro ou alguma imperfeição, e pela difusão molecular, na qual a água é adsorvida por um dos lados do filme e acaba migrando através das cadeias do filme através dos vazios molares e por fim sofre o processo de desorção do outro lado do filme. A difusão molecular é a maneira que ocorre a permeabilidade de vapor de água em biofilmes (TURBIANI, 2011).

Para os biofilmes, podemos definir a taxa de permeabilidade de vapor de água como a taxa de vapor de água permeada através de uma amostra de filme com espessura conhecida, por unidade de área, através da utilização de um gradiente de umidade de cada lado das superfícies do biofilme (DEBEAUFORT *et al.*, 1998). A permeabilidade de vapor de água pode ser analisada pelo método gravimétrico que segue a definição citada acima. O método consiste no ganho de massa de um material higroscópico devido à absorção de umidade que transpassa pelo filme (OLIVERA *et al.*, 1996).

Os principais fatores que afetam a permeabilidade ao vapor de água nos biofilmes que podemos citar são: a natureza do material permeante, o grau de reticulação, o plastificante, a polaridade e as interações entre as cadeias poliméricas (KESTER e FENNEMA, 1986). Guilbert *et al.* (1997) observaram em seus estudos que o aumento da cristalinidade, da massa molecular ou da densidade resultou em diminuição da

permeabilidade. Nas propriedades de barreira, a estrutura molecular das matrizes poliméricas também é um parâmetro de grande influência, pois, segundo estudos de McHugh e Krochta (1994), filmes que tenham baixa permeabilidade são obtidos a partir de matrizes firmadas por cadeias poliméricas lineares simples, devido ao fato de conseguirem um maior empacotamento. Matrizes que apresentam cadeias laterais acarretam a um aumento nos espaços livres (vazios molares), desta forma, promovendo a difusão do permeante pelo filme (BIERHALZ, 2010).

3.7.3. Propriedades mecânicas

Na utilização de biofilmes como embalagens para a proteção de produtos alimentícios, esses biofilmes devem apresentar uma resistência à ruptura quando são submetidos à tração, impacto e abrasão, que podem ocorrer durante o processo de manuseio, transporte e armazenamento. Além disso, devem apresentar uma flexibilidade para que sejam capazes de se adaptar a possíveis deformações sem sofrer rupturas (GONTARD e GUILBERT, 1996; ROBERTSON, 1993).

As propriedades mecânicas dos biofilmes dependem de vários fatores, entre eles a formulação do filme (polímero, solvente, plastificante e outros aditivos), da técnica empregada para sua confecção e da coesão obtida pela matriz polimérica. A coesão é o resultado da capacidade do polímero formar ligações moleculares fortes e numerosas entre suas cadeias poliméricas, dificultando assim o seu rompimento quando submetido a forças mecânicas (GONTARD *et al.*, 1993; GONTARD e GUILBERT, 1996; MALI *et al.*, 2004). Deve-se ressaltar que o teor de plastificante empregado na formulação do filme é um importante fator nas alterações das propriedades mecânicas dos biofilmes (MALI *et al.*, 2004).

A tensão de ruptura, o alongamento e o módulo de Young são as propriedades mecânicas mais estudadas na caracterização dos biofilmes. A tensão de ruptura é definida como a resistência oferecida pelo material no ponto da ruptura, sendo que sua análise oferece informações da dimensão das forças intermoleculares envolvidas na estabilidade da matriz polimérica. Pode definir alongamento como a relação percentual entre o alongamento da amostra do biofilme em teste e seu comprimento inicial, expressando assim a diferença percentual entre o comprimento inicial e o comprimento no momento da ruptura da amostra em análise. O módulo de elasticidade ou módulo de Young é dado pela relação entre a tensão de tração e a deformação na região elástica, sendo assim um

indicador da rigidez do filme, pois, quanto maior o módulo mais rígido é o biofilme (ROBERTSON, 1993; SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

Zhang (2002) obteve bons resultados nas propriedades mecânicas e na resistência térmica de biofilmes de sericina com a incorporação de álcool polivinílico (em SOTHORNVIT E CHOLLAKUP, 2009). Resultados encontrados por Coffin e Fishman (1994) mostram que biofilmes formados de amido e pectina sofrem uma redução na resistência à tração e apresentam um aumento no alongamento quando se tem a utilização de glicerol como agente plastificante durante a confecção.

3.7.4. Solubilidade em água

Galiotta *et al.* (1998) determinaram que a solubilidade de filmes em água, constitui-se da quantidade de matéria seca do filme que é solubilizada em temperatura e tempo específicos. A análise da solubilidade de filmes é fundamental para avaliar sua integridade após imersão em água e assim posar definir o seu campo de aplicação, principalmente nos biofilmes que possuam características hidrofílicas, sendo assim, susceptíveis à ação da água (TURBIANI, 2011; PLÁCIDO, 2007).

Biofilmes para aplicação na indústria alimentícia como embalagens e proteções, necessitam apresentar insolubilidade em água, para assim atuar como barreira protetora, impedindo que a umidade do meio externo seja transferida para o alimento, desta maneira, mantendo sua integridade (BIERHALZ, 2010).

O efeito de solubilização é menor em polímeros que apresentam cadeias com um melhor empacotamento, pois, a interação solvente-polímero depende da distância intramolecular (TURBIANI, 2011).

Para se reduzir a solubilidade de filmes, podem-se adicionar componentes hidrofóbicos, como ceras ou lipídios. Porém fazer uso desse método pode gerar efeitos adversos nas propriedades ópticas e mecânicas dos filmes (MARTIN-POLO *et al.*, 1992; YANG e PAULSON, 2000). Uma alternativa para redução da solubilidade de um filme é a realização do processo de reticulação, como já citado, que promove ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas (TSENOGLOU, 1988). O biofilme pode apresentar baixo nível de reticulação, gerando assim um intumescimento parcial, porque pequenas moléculas de solvente podem adentrar na fase de polímero (LUCAS *et al.*, 2001). Zactiti e Kieckbusch (2006) obtiveram uma redução para menos de 5% na solubilidade dos filmes de alginato realizando uma reticulação com íons de cálcio.

Geralmente o uso de plastificantes tende a provocar o aumento da solubilidade dos filmes, visto que a maioria apresentam propriedades hidrofílicas. Porém nos filmes em que ocorrem a reticulação, essa solubilidade provocada pelo plastificante pode apresentar uma menor evidência. Uma vez que a estrutura tridimensional formada na reticulação pode manter as moléculas de plastificante fortemente ligadas a si, evitando assim a sua liberação para a solução (IRISSIN-MANGATA *et al.*, 2001)

3.7.5. Intumescimento

O intumescimento de filmes é definido como a difusão de moléculas de solvente para o interior dos filmes, onde essas moléculas se acomodam inicialmente nos espaços vazios da fase polimérica. As cadeias poliméricas sofrem uma mudança no seu arranjo espacial devido ao intumescimento, assim gerando um aumento de volume do biofilme (LUCAS *et al.*, 2001).

A interação polímero-solvente e o grau de reticulação do polímero são fatores que influenciam no grau de intumescimento, sendo que com a maior variação do parâmetro de solubilidade do solvente ocasiona em uma maior variação do grau de intumescimento. A interação polímero-solvente sofre significativa influencia dos grupamentos químicos responsáveis pela reticulação no filme, pois são quimicamente diferentes dos segmentos das cadeias poliméricas (TURBIANI, 2011).

O processo de intumescimento pode ocorrer de duas formas: a ilimitada e a limitada. No intumescimento ilimitado, ocorre por fim espontaneamente a dissolução total do filme, pois as moléculas do solvente dispõem de uma maior mobilidade do que as moléculas do polímero. Conseqüentemente, antes das moléculas do polímero se integrar na fase do solvente, ocorrendo assim à dissolução total, o polímero absorve grande parte do solvente, dessa forma sofrendo o intumescimento. Para o intumescimento limitado, a dissolução espontânea não ocorre, pois a interação do polímero com o solvente é limitada. Este processo pode ser observado tanto em polímeros lineares como em polímeros que sofreram o processo de reticulação (TURBIANI, 2011).

Sriamornsak e Kennedy (2008) avaliaram o grau de intumescimento de biofilmes de pectina e alginato. Os biofilmes de pectina apresentaram um maior grau de intumescimento (com água) que os biofilmes de alginato e levam o dobro de tempo para atingir o equilíbrio. Os autores também analisaram o teor de cálcio presentes nos biofilmes devido à reticulação, constataram que o teor de cálcio presente nos biofilmes de pectina era

metade do teor apresentado nos biofilmes de alginato, dessa maneira, explicando a possível causa do maior grau de intumescimento.

3.8. Considerações Finais

Neste capítulo foram abordadas as características dos biofilmes, definidos como filmes finos e flexíveis que são preparados a partir de biopolímeros biodegradáveis. Atenção maior foi dada a sericina e ao amido, os quais foram utilizados no presente trabalho. A sericina é uma proteína globular altamente hidrofílica extraída dos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) que apresenta excelentes propriedades antioxidantes, antibacterianas e resistência ao UV. Enquanto o amido é um polissacarídeo de baixo custo e um dos mais abundantes na natureza. Por essas razões esses materiais foram escolhidos para ser material base dos biofilmes investigados.

Conforme reportado nesse capítulo, a técnica mais utilizada para preparação dos biofilmes em escala laboratorial é a “*casting*”, onde se prepara uma solução filmogênica que posteriormente vai sofrer secagem por evaporação. A adição de plastificantes e/ou agentes reticulantes são recursos necessários durante a formulação da solução filmogênica para se melhorar as propriedades e características dos filmes. Os plastificantes melhoram a flexibilidade e o alongamento do filme, deixando-os menos quebradiços, enquanto os agentes reticulantes promovem ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas com o intuito de diminuir a solubilidade e o fluxo através do filme.

Para determinar a área de aplicação dos filmes biodegradáveis preparados são realizadas análises de caracterização. As principais análises realizadas visam investigar as propriedades mecânicas, as propriedades de barreira e a solubilidade em água.

No capítulo seguinte apresenta-se a metodologia de preparação dos biofilmes a base de sericina e/ou de amido bem como as técnicas envolvidas na caracterização destes biofilmes.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para a confecção dos biofilmes, foram utilizados amido de mandioca (Acros Organics) e sericina, proveniente dos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), cedidos pela empresa Fiação de Seda BRATAC S/A de Mandaguaçu. Glicerol (Chemco) foi empregado como agente plastificante e dimetiloluréia (DMU) (Sigma-Aldrich), polietilenoglicol (PEG) (Marca) e ácido succínico (Marca) como agentes reticulantes dos filmes.

Além desses materiais, foram também usados outros reagentes que são reportados junto as técnicas e metodologias experimentais realizados no trabalho.

4.2. Métodos

4.2.1. Metodologia de obtenção da solução de sericina

A solução de sericina foi obtida em duas etapas. Na primeira etapa, os casulos de *Bombyx mori* foram cortados em pequenos pedaços (aproximadamente 1 cm²) e posteriormente houve a adição de água destilada na proporção 3:100 (m/v), a extração foi realizada em autoclave com água quente a 120 °C e pressão manométrica de 1 kgf/cm² durante 60 minutos.

A segunda etapa foi à precipitação da sericina na solução através do processo de congelamento, em que a solução de sericina extraída é congelada em freezer a -20 °C durante 24 horas para ocorrer à precipitação. Posteriormente a solução foi retirada do freezer e deixada em temperatura ambiente até descongelar e filtrada a vácuo para obter uma solução de sericina que foi ajustada para concentração de aproximadamente 2% (m/v). A figura 4.1 mostra a representação do esquema do processo utilizado para obtenção da solução de sericina descrito a cima.

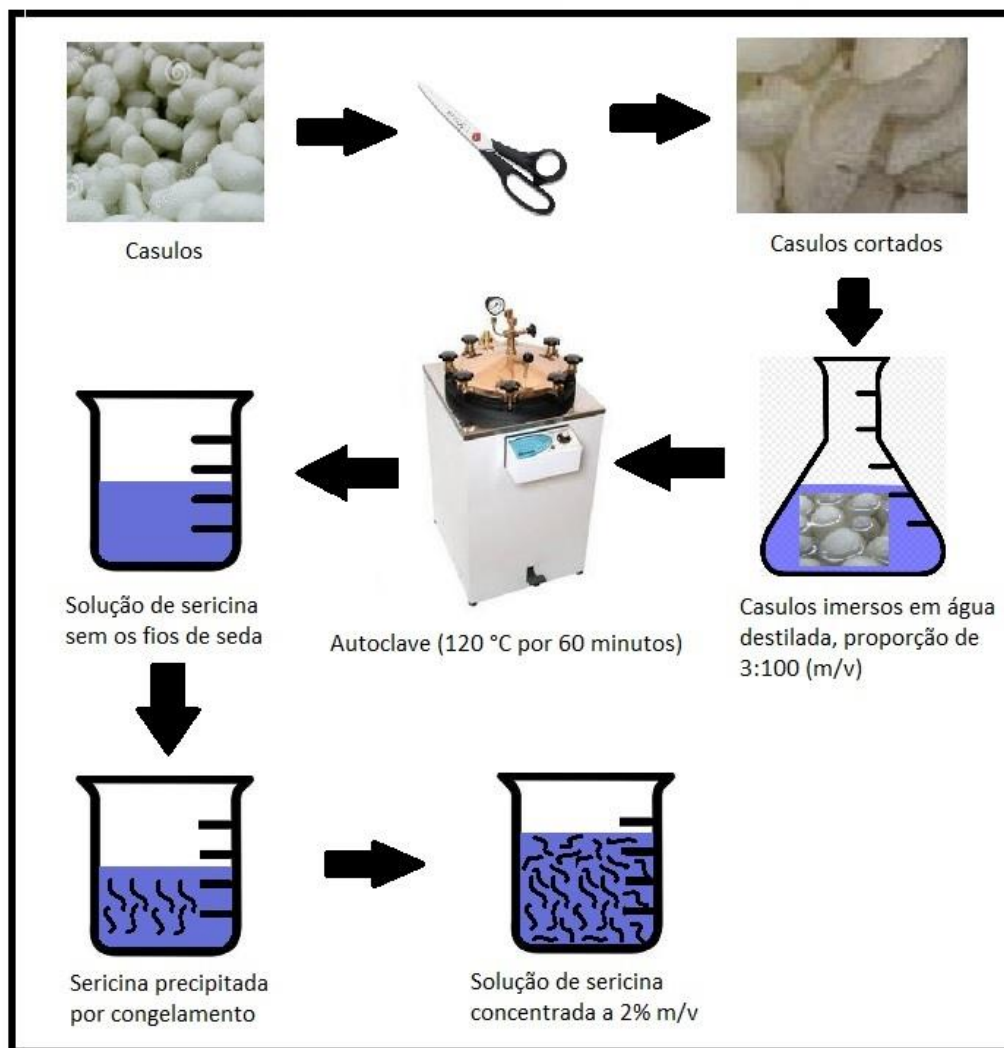


Figura 4.1: Representação do esquema para obtenção da solução de sericina.

4.2.2. Metodologia geral de preparação dos biofilmes

Os filmes foram confeccionados através da técnica de “*casting*”, que é o processo de moldagem convencional aplicado a polímeros termoplásticos e termorrígidos (CAVALCANTI *et al.*, 2002). Esse método consiste basicamente em dois passos, a preparação da solução filmogênica e a sua aplicação ou espalhamento em um suporte para ocorrer a evaporação do solvente. O fluxograma da preparação dos biofilmes é apresentado na Figura 4.2.

A partir de uma solução filmogênica com fração mássica de biopolímero (2% m/v), podendo ser somente de sericina, ou somente amido ou a mistura de sericina e amido em proporções iguais, e contendo glicerol (0,6 g de glicerol/g de polímero). Esta solução foi homogeneizada por meio de agitação mecânica a 1000 rpm por 1 hora em um agitador

(IKA RH basic KT/C) equipado com controlador de temperatura. Posteriormente, a solução foi aquecida a 70 °C e uma solução diluída do agente reticulante (com concentração de 0,1, 0,4 ou 0,7 g de agente reticulante/g de macromolécula) foi adicionada lentamente à solução filmogênica. Após manter essa solução sobre agitação durante 1 hora, alíquotas de 70 mL da solução filmogênica foram transferidas para placas de polipropileno cm diâmetro de 15 cm, e levadas a uma estufa de circulação de ar (Marconi – MA035, Brasil) a 37 °C por 14 a 18 horas para formação dos filmes por evaporação.

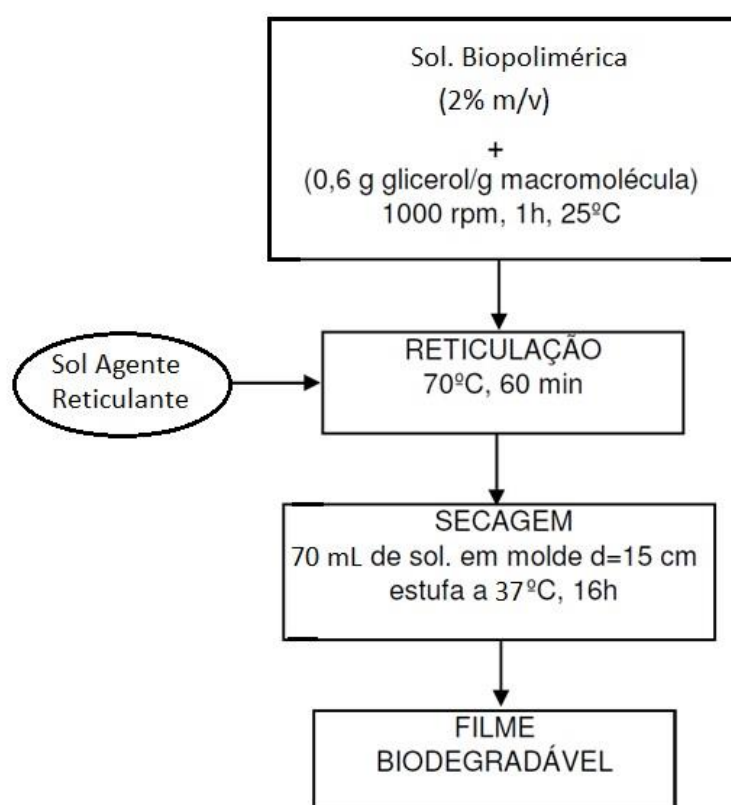


Figura 4.2: Fluxograma geral da preparação dos biofilmes.

4.2.3. Caracterização dos biofilmes

Anteriormente a caracterização, os biofilmes foram armazenados em dessecadores a uma umidade relativa de 52% e temperatura de 25 °C por 72 horas para uniformização do conteúdo de umidade. Essa umidade relativa foi mantida no dessecador com a presença de uma solução saturada de nitrato de magnésio (Sigma-Aldrich).

Os filmes foram caracterizados avaliando o aspecto visual, espessura, teor de umidade e solubilidade em água, grau de intumescimento (*swelling*), permeabilidade ao

vapor de água e propriedades mecânicas (avaliando tensão na ruptura, alongamento na ruptura e o módulo de elasticidade). Também foi realizada para os filmes as análises de espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier e análises de difração de raios-X.

4.2.3.1. Aspecto visual

A avaliação foi realizada seguindo os parâmetros estabelecidos por Gontard (1991), citados por Mali (2002). As características que foram verificadas são: continuidade, homogeneidade e manuseabilidade. Sendo a continuidade definida como a ausência de rupturas ou rachaduras após a secagem, a homogeneidade definida como a ausência de partículas insolúveis ou bolhas visíveis a olho nu ou áreas opacas ou presença de colorações diferentes nos filmes, e a manuseabilidade está relacionada à possibilidade do filme ser manipulado sem riscos de ruptura.

4.2.3.2. Espessura

Para obter controle da espessura dos filmes confeccionados, durante a preparação sempre foram vertidos 70 mL de solução filmogênica nas placas de suportes. A espessura foi determinada utilizando um micrômetro externo mecânico (Mitutoyo, modelo 103-137, graduação 0,01 mm). A espessura final dos filmes foi calculada através da média aritmética de cinco medidas aleatórias da espessura sobre uma área de 9,6 cm² (diâmetro de 3,5 m) para as análises de permeabilidade ao vapor de água. Para os ensaios de propriedades mecânicas utilizou a média aritmética de dez medidas aleatórias sobre uma área de 25,4 cm² (10 cm x 2,54 cm).

4.2.3.3. Teor de umidade

A determinação do teor de umidade (ϖ) foi realizada em triplicata para cada formulação de filme, seguindo o método descrito por Rhim *et al.* (2002). A análise ocorreu a partir da quantificação da massa inicial de amostras circulares dos filmes com diâmetro 2,5 cm, sendo posteriormente submetidos à secagem a 105 °C por 24 h em estufa e a massa seca quantificada novamente. O teor de umidade (ϖ) foi determinado pela Equação [4.1].

$$\varpi = \frac{(m_i - ms_f)}{m_i} \cdot 100 \quad [4.1]$$

Em que ϖ é a umidade do filme [%], m_i é a massa inicial a amostra [g] e ms_f é a massa seca final da amostra [g].

4.2.3.4. Solubilidade em água

A quantidade de massa solúvel em água foi determinada de acordo com Gontard *et al.* (1993) em triplicata. Amostras circulares de filmes de diâmetro de 2,5 cm foram pesadas para determinação da massa inicial dos filmes (m_o) e posteriormente a amostra foi imersa em água destilada sobre agitação branda (125 rpm) em uma incubadora refrigerada com agitação (Tecnal, TE-421, Brasil) sobre as seguintes condições, 25 °C durante 24 horas, conforme mostrado na Figura 4.3. Em seguida, a massa seca final (m_f) das amostras foram quantificadas após as amostras serem submetidas à secagem a 105 °C por 24 horas. Pela Equação [4.2] pode se calcular a quantidade de massa solubilizada.

$$S_w = \frac{m_i(1 - \varpi) - m_f}{m_i(1 - \varpi)} \cdot 100 \quad [4.2]$$

Nesta equação S_w é a quantidade de massa solúvel [%], m_i é a massa inicial a amostra [g] e m_f é a massa seca final da amostra [g].



Figura 4.3: Amostras de filmes sob agitação durante a realização das análises de solubilidade em água.

4.2.3.5. Grau de intumescimento (*Swelling*)

Os ensaios realizados para grau de intumescimento foram realizados de acordo com Bigi *et al.* (2004), em triplicata para cada formulação de filme. A massa de amostras com 2,5 cm de diâmetro foram quantificadas previamente e em seguida imersas em água destilada sob agitação branda. Em períodos de tempo definidos (0,5, 1,5, 3, 5, 7, 9, 11, 16, 21 minutos), a amostra era retirada da água e o excesso de umidade presente na superfície da amostra era removida colocando-a entre duas folhas de papel filtro, posteriormente determinando sua massa total e retornando a amostra para água. Esse processo foi realizado por várias vezes até o grau de intumescimento se estabilizar em valor constante. A Equação [4.3] foi utilizada para determinação do grau de intumescimento das amostras.

$$GI = \frac{(m_u - m_i)}{m_i} \quad [4.3]$$

Onde GI grau de intumescimento do filme, m_i é a massa inicial a amostra [g] e m_u é a massa total da amostra após a retirada da água [g].

4.2.3.6. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente em triplicada, de acordo com o método E96-95 (ASTM, 1995b). Foram utilizadas pequenas células de teflon e alumínio, onde amostras circulares de filmes com diâmetro de 5 cm foram fixadas como é mostrado na Figura 4.4. Nestas células a uma área de superfície exposta dos filmes para permeação de vapor de água é igual a 9,6 cm². As células permaneceram no interior de um dessecador com 75% UR, obtida por uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) (Nuclear). O fundo da célula foi preenchido com cloreto de cálcio granular (CaCl₂) (Sigma-Aldrich) para manter a umidade relativa dentro da célula a 2%. Durante sete dias em temperatura ambiente (25 °C), as células foram pesadas diariamente com uma balança analítica.



Figura 4.4: Células de teflon e alumínio utilizadas na análise de permeabilidade ao vapor de água.

A permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) foi determinado pela Equação [4.4].

$$K_{vap} = \frac{\overset{\circ}{G} \cdot \delta}{A_e \cdot \Delta P_{H_2O}} \quad [4.4]$$

Em que K_{vap} é a permeabilidade ao vapor de água [(g.mm)/(m².dia.kPa)], $\overset{\circ}{G}$ é a taxa constante de ganho de massa [g/dia], δ é a espessura inicial do filme [mm], A_e é a área exposta do filme e ΔP_{H_2O} é a diferença de pressão parcial do vapor de água no ambiente próximo às duas faces do filme na temperatura do teste [kPa].

4.2.3.7. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram avaliadas seguindo o método D882 (ASTM, 1995b), utilizando um texturômetro TA.XT2 (Stable Microsystems, Inglaterra), de posse do Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). As condições do ambiente para realização das análises eram de 25 ± 3 °C e umidade relativa de $55 \pm 3\%$.

Para análise das propriedades mecânicas dos filmes foram cortadas amostras com dimensões de 25,4 x 100 mm que posteriormente foram presas pelas garras do

texturômetro, como é mostrado na Figura 4.5. Para cada filme formulado foram realizados dez ensaios. A separação inicial das garras no texturômetro utilizada para os ensaios foi de 50 mm e a velocidade de realização dos ensaios foi de 1 mm/s. Com o auxílio do software Texture Exponent 32 da Stable Micro Systems, foi possível determinar a tensão na ruptura [MPa], alongamento na ruptura [%] e o módulo de Young (Y) [MPa].



Figura 4.5: Texturômetro utilizado para realização dos ensaios das propriedades mecânicas.

As Equações [4.5] e [4.6] foram utilizadas para calcular a tensão na ruptura e o alongamento na ruptura, respectivamente.

$$T = \frac{F_m}{A} \quad [4.5]$$

Onde T é a tensão no ponto de ruptura [Pa], F_m é a força máxima no momento da ruptura [N] e A é a área da seção transversal do filme [m²].

$$\varepsilon = \frac{(d_r - d_i)}{d_i} \cdot 100 \quad [4.6]$$

Nesta equação ε é o alongamento [%], d_i é a distância inicial entre as garras [cm] e d_r é a distância entre as garras no momento da ruptura [cm].

4.2.3.8. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros empregados para investigar a estrutura molecular dos biofilmes foram obtidos utilizando um espectrofotômetro marca Bruker - modelo Vertex 70v. A leitura foi realizada na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) abrangendo o número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} . Para cada medida foram realizadas 100 varreduras com uma resolução de 4 cm^{-1} . As amostras foram pastilhadas juntamente com KBr para se obter uma pastilha de 0,5% de amostra.

4.2.3.9. Difração de Raios-X

Para estudar a estrutura cristalina dos filmes, foram realizadas análises de difração de raios-X com o uso de um difratômetro de raios-X da marca Shimadzu – modelo D 6000, com fonte de Cu 40 kV e 35 mA. Os parâmetros utilizados para as análises foram: ângulo (2θ) entre 3,5 e 50°; passo de 0,015°; e velocidade do goniômetro de 0,223°/s.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na literatura se encontra a utilização do composto dimetiloluréia para promover a reticulação de filmes de sericina, mas em contrapartida não se encontrou este agente na reticulação de filmes de amido. Além do agente dimetiloluréia, no presente trabalho investigou-se a utilização de outros agentes reticulantes (polietilenoglicol e ácido succínico) nos filmes de sericina e/ou amido. O polietilenoglicol foi escolhido por possuir uma menor toxicidade do que o dimetiloluréia, sendo que, o polietilenoglicol apresenta DL50 (camundongos) de 28915 mg/kg (FISPQ - Viafarma, 2000) e o produtos com 82% de dimetiloluréia apresentaram DL50 (camundongos) entre 3200 e 8000 mg/kg (Wiley-VCH, 1993), vale ressaltar também que o agente dimetiloluréia é proveniente da ureia e do formaldeído (agente carcinogênico), desta maneira, mesmo a literatura não apresentando efeitos alérgicos causados por esse produto, a influencia tóxica do formaldeído não pode ser excluída. Outro fator que levou a escolha do polietilenoglicol foi por não se acumular no meio ambiente e ser lentamente biodegradável

O ácido succínico apesar de apresentar uma toxicidade maior (DL50 em camundongos de 2260 mg/kg) que os outros agentes reticulantes utilizados nesse trabalho, foi escolhido devido que necessita de pouquíssima quantidade (a partir de 0,005 g/g de biopolímero) para promover a reticulação, não promover acúmulo no meio ambiente e ser facilmente biodegradável (FISPQ - Merck, 2008).

Os resultados obtidos através da caracterização dos filmes confeccionados são exibidos a seguir, sendo divididos em três seções: a seção 5.1 para os filmes de sericina, a seção 5.2 para os filmes de amido e a seção 5.3 para os filmes de blendas de sericina e amido.

5.1. Filmes de Sericina

Nesta seção apresentam-se os resultados obtidos para os filmes de sericina reticulados com dimetiloluréia, polietilenoglicol ou ácido succínico e utilizando 0,6 g de glicerol/g de biopolímero como agente plastificante.

5.1.1. Aspectos Visuais

As principais características verificadas foram homogeneidade, continuidade e manuseabilidade (GONTARD, 1991, citados por Mali, 2002), sendo os resultados resumidos na Tabela 5.1. Os filmes apresentaram qualidades adequadas, independentemente do agente reticulante utilizado, porém com o aumento do teor de dimetiloluréia ou de polietilenoglicol na formulação dos biofilmes de sericina, foi apresentado uma pequena queda da homogeneidade dos filmes obtidos.

Tabela 5.1 – Características relacionadas ao aspecto visual dos filmes de sericina confeccionados com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina.

Agente Reticulante (AR)	Teor de AR			
	(g AR/g de sericina)	Homogeneidade	Continuidade	Manuseabilidade
Sem AR	0,0	A	A	A
	0,1	A	A	A
Dimetiloluréia	0,4	A	A	A
	0,7	B	A	A
Polietilenoglicol	0,1	A	A	A
	0,4	A	A	A
	0,7	B	A	A
Ácido Succínico	0,005	A	A	A

Nota: A – excelente, B – boa e C - deficiente.

5.1.2. Teor de Umidade e Solubilidade em Água

De acordo com as Tabelas 5.2 e 5.3, pode se notar que o conteúdo de umidade para as diferentes formulações de filmes de sericina apresentaram uma significativa variação com a quantidade de agente reticulante empregada nos filmes. Para os filmes reticulados com dimetiloluréia, foi apresentada uma queda na umidade presente com o aumento do agente reticulante, este efeito também observado por Turbiani (2011) no estudo dos biofilmes de sericina reticulados com dimetiloluréia. Porém para os filmes de sericina reticulados com polietilenoglicol, observou-se efeito contrário, apresentando maior

teor de umidade presente nos filmes com o aumento do teor de agente reticulante utilizado na formulação. Nos estudos realizados por Bierhalz (2010) em filmes de pectina e pectina BTM/alginato reticulados com cálcio e nos estudos de Norajit et al (2010) em filmes de alginatos contendo extrato de ginseng, encontram menores valores de teor de umidade comparados com os encontrados no presente trabalho.

Na Tabela 5.4, a utilização do ácido succínico como agente reticulante não apresentou uma variação significativa, apresentando valores próximos. Possivelmente a pequena quantidade de agente reticulante do ácido succínico usado não contribui para alterar de maneira significativa os valores de umidade e solubilidade. É interessante ressaltar que o agente ácido succínico não foi um agente que permitiu formar filmes em concentrações superiores.

Tabela 5.2 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com dimetiloluréia.

Teor de Dimetiloluréia (g DMU/g de sericina)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	17,85 ± 0,42 ^b	17,87 ± 0,15 ^c
0,1	21,76 ± 1,39 ^a	20,39 ± 0,40 ^a
0,4	17,17 ± 0,25 ^b	19,17 ± 0,38 ^b
0,7	11,14 ± 0,29 ^c	18,08 ± 0,12 ^c

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.3 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de sericina)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	17,85 ± 0,42 ^a	17,87 ± 0,15 ^a
0,1	18,09 ± 0,92 ^a	15,91 ± 1,39 ^a
0,4	27,65 ± 1,35 ^b	8,79 ± 0,93 ^b
0,7	30,62 ± 0,36 ^b	3,43 ± 0,27 ^c

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.4 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de sericina)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	17,85 ± 0,42 ^a	17,87 ± 0,15 ^a
0,005	17,49 ± 1,60 ^a	15,53 ± 1,92 ^a

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Os filmes reticulados com polietilenoglicol apresentaram a característica da redução da quantidade de massa solúvel com o aumento do teor de agente reticulante empregado na confecção dos filmes, enquanto nos filmes reticulados com dimetiloluréia inicialmente foi notado um leve aumento na solubilidade, porém com o aumento do teor de dimetiloluréia a solubilidade se aproximou da solubilidade do filme sem agente reticulante. Em estudos realizados por Zactiti e Kieckbusch (2006) que analisaram filmes de alginato de sódio reticulados com CaCl_2 e por Turbiani (2011) em filmes de sericina com glicerol reticulados com dimetiloluréia, identificaram a redução da solubilidade com o aumento do teor de agente reticulante. Deve ser ressaltado que os valores encontrados para a quantidade de massa solúvel dos filmes foram menores do que os encontrados por Turbiani (2011), principalmente nos filmes de sericina reticulados com polietilenoglicol.

A Figura 5.1 a seguir, é uma representação da reticulação da sericina utilizando dimetiloluréia como agente reticulante, baseado na condensação entre os grupos N-metilol do DMU e grupos hidroxila da sericina (GIMENES *et al.*, 2007).



Figura 5.1: Esquemática da reticulação da sericina com DMU.

Seguindo o mesmo método para reticulação da sericina com DMU, devido ao fato do polietilenoglicol possuir grupamentos semelhantes ao DMU, a Figura 5.2 representa a reticulação da sericina com o uso de polietilenoglicol.

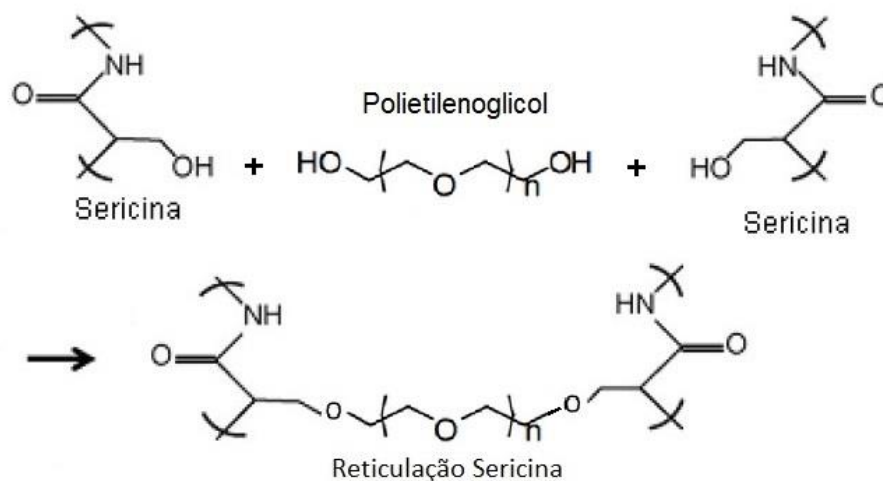


Figura 5.2: Esquemática da reticulação da sericina com PEG.

Para ambos os agentes reticulantes, essas ligações poderiam ser formadas de acordo com as Figuras 5.3 e 5.4 representadas a seguir. Onde o grupo hidroxila do agente reticulante reage com o grupo amida da sericina, formando uma ligação e deixando o outro grupo hidroxila do reagente reticulante disponível para se ligar com outra cadeia de sericina.

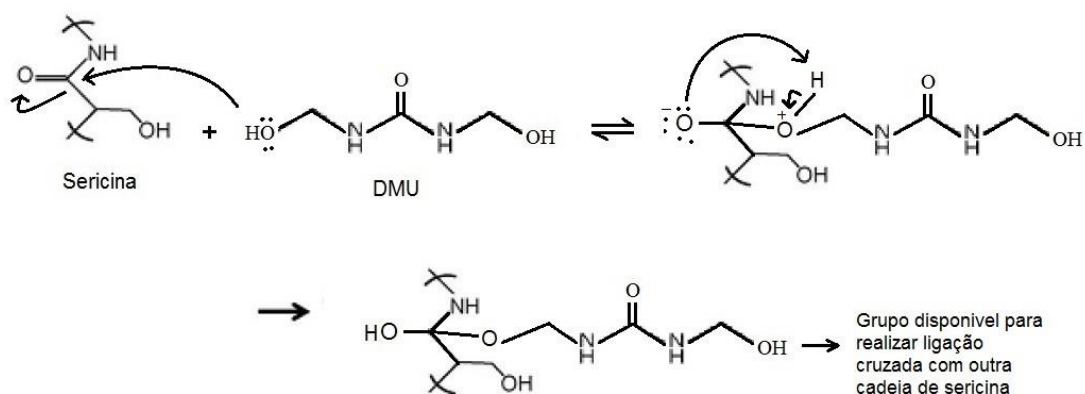


Figura 5.3: Esquemática 2 da reticulação da sericina com DMU.

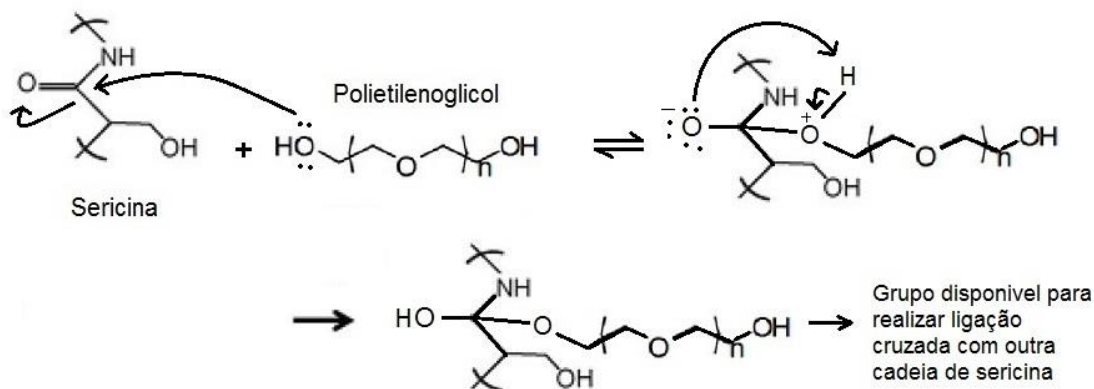


Figura 5.4: Esquemática 2 da reticulação da sericina com PEG.

Pelo fato do ácido succínico ser um ácido dicarboxílico, a sua esquematização de reticulação não poderia ser feita seguindo o mesmo conceito demonstrado anteriormente. Alguns ácidos dicarboxílicos, como o ácido críico e ácido maleico, conseguem formar ligações cruzadas por meio de reações de esterificação com a necessidade de combinação de um ativador/catalisador, como por exemplo, o hipofosfito de sódio (HFS). Porém para o ácido succínico, por não ter instauração, impossibilita a reação de adição eletrofílica onde o HFS atua como doador de eletrófilo. Desta maneira por não possuir uma estrutura condizente para tal, nem por intermédio do uso de HFS, o ácido succínico é capaz de formar ligações cruzadas (GARCIA, 2014).

Figura 5.5 representa a ligação monoéster formada pelo ácido succínico com a sericina, originando o succinato de sericina com um grupo carboxílico livre, onde atuaria como plastificante interno (SHI *et al.*, 2008).

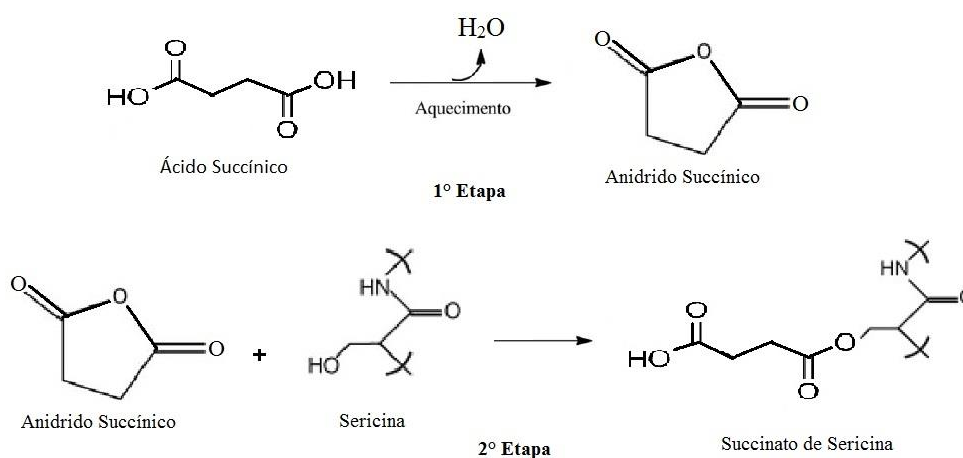


Figura 5.5: Esquemática do succinato de sericina.

5.1.3. Grau de Intumescimento (*Swelling*)

A Figura 5.6 apresenta a cinética de intumescimento observado para os filmes de sericina confeccionados utilizando três tipos de agentes reticulantes em concentrações variadas.

Pode ser observado na figura a seguir, que os picos de intumescimento para os filmes com o teor de agente reticulante igual ou menores que 0,4 g/g de sericina, se apresentam por volta dos 0,5 minutos, enquanto para concentrações maiores os picos apresentam um deslocamento para direita por volta dos 1,5 minutos. Podemos atribuir esta característica ao fato que o uso de concentrações maiores que 0,4 g/g sericina de agente reticulante resulta em uma maior heterogeneidade, desta maneira, uma camada de agente reticulante se deposita na superfície dos filmes que causa a retardação na absorção de moléculas de água (TURBIANI, 2011).

Como se observa na Figura 5.6, o máximo de absorção de água acontece no começo da análise e posteriormente ocorre o equilíbrio em um grau de intumescimento menor. Na literatura se encontra outros estudos que apresentam o máximo de grau de intumescimento no início da análise, como por exemplo, nos estudos em filmes de alginato realizado por Zactiti e Kieckbusch (2006). Isto ocorre devido à sequência de mecanismos vários envolvidos, onde a água é rapidamente absorvida pelo filme e posteriormente é promovida uma relaxação na estrutura reticular do filme, facilitando assim a solubilização na água. Desta maneira, a redução dos valores de grau de intumescimento deve-se não apenas a uma menor retenção de água pela estrutura reticular enfraquecida dos filmes, mas também pela perda de massa por lixiviação.

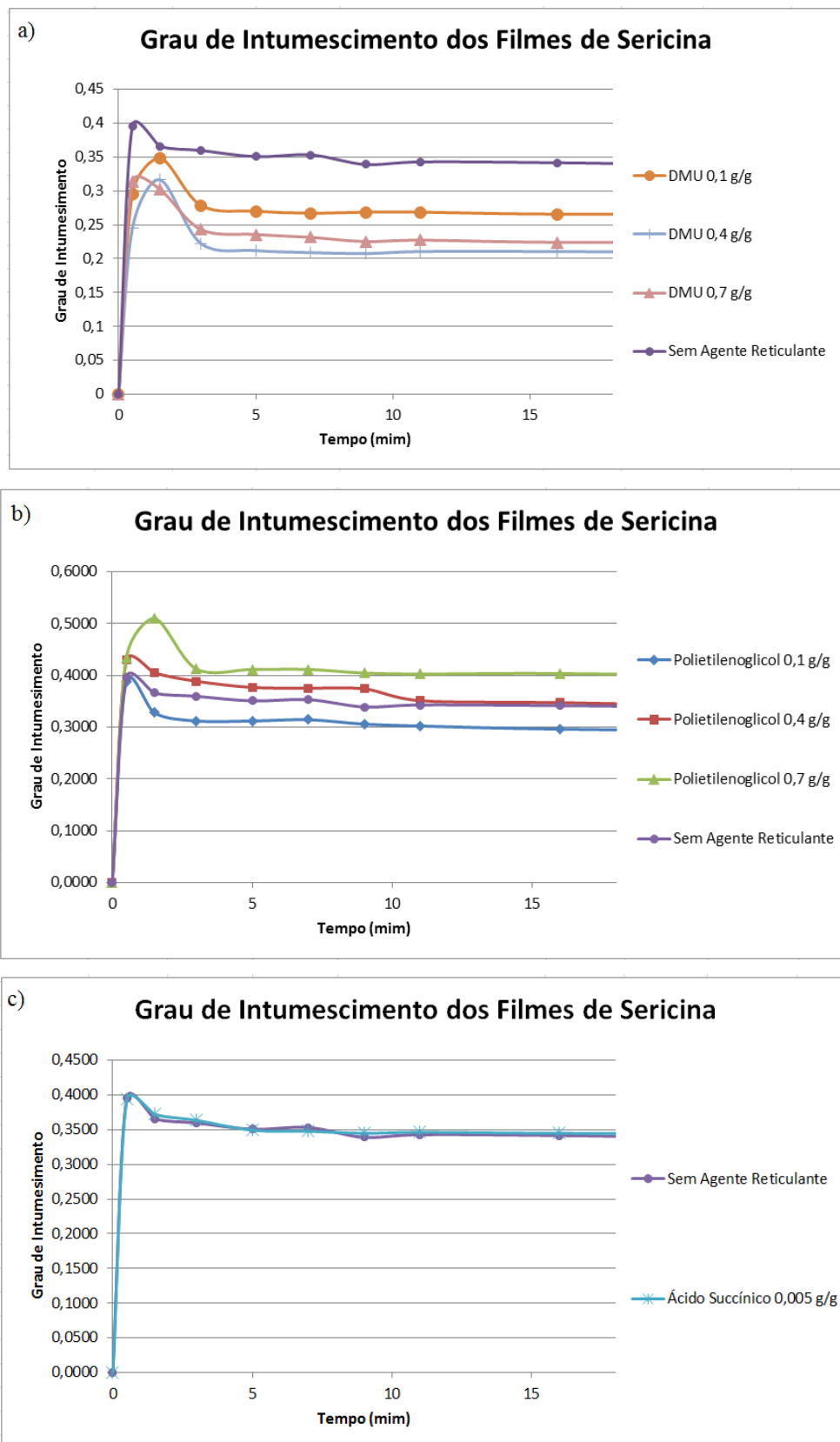


Figura 5.6: Grau de intumescimento dos filmes de sericina reticulados com a) Dimetiloluréia, b) Polietilenoglicol e c) Ácido Succínico.

Em geral os filmes reticulados com polietilenoglicol apresentaram os maiores graus de intumescimento, em torna de 40 a 50%. Os filmes reticulados com dimetiloluréia apresentaram valores entre 31 a 36%. Enquanto os filmes reticulados com ácido succínico e sem agente reticulantes exibiram comportamento muito semelhantes, em decorrência, como já comentado anteriormente, da pequena quantidade de agente reticulante.

Ressalta-se que após a realização do processo, os filmes de sericina ainda mantiveram sua integridade e boa aparência como era vista antes do processo.

5.1.4. Permeabilidade ao Vapor de Água e Espessura

Os filmes de sericina confeccionados possuem espessuras (δ) entre $0,12 \pm 0,00$ mm (filmes de sericina sem agente reticulante) e $0,19 \pm 0,01$ mm (filmes de polietilenoglicol com teor de 0,7 g/g de sericina), como se apresentam nas Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7. Nas mesmas tabelas, o valor da permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) é expresso independente da espessura (conforme a Equação [4.4]).

Tabela 5.5 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicero/g de sericina e reticulados com dimetiloluréia.

Teor de Dimetiloluréia (g DMU/g de sericina)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	$0,12 \pm 0,00^a$	$2,75 \pm 0,15^a$
0,1	$0,12 \pm 0,01^a$	$4,84 \pm 0,20^c$
0,4	$0,12 \pm 0,01^a$	$4,66 \pm 0,27^{bc}$
0,7	$0,17 \pm 0,01^b$	$3,72 \pm 0,34^{ab}$

Nota: Média \pm Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.6 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de sericina)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	0,12 ± 0,00 ^a	2,75 ± 0,15 ^a
0,1	0,12 ± 0,01 ^a	3,65 ± 0,51 ^a
0,4	0,15 ± 0,01 ^b	7,11 ± 0,49 ^b
0,7	0,19 ± 0,01 ^c	14,62 ± 0,70 ^c

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.7 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de sericina)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	0,12 ± 0,00 ^a	2,75 ± 0,15 ^a
0,005	0,14 ± 0,02 ^a	6,05 ± 0,52 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Os valores encontrados para a permeabilidade ao vapor de água são valores próximos aos encontrados por Turbiani (2011) para os filmes de sericina reticulados com dimetiluréia. Os valores também estão próximos aos encontrados por Bierhalz (2010) para filmes de pectina BTM e pectina BTM/alginado reticulados com cálcio, principalmente para os filmes de sericina reticulados com DMU, e para o filme de sericina com teor de 0,1 g de PEG/g de sericina e nos filmes sem nenhum agente reticulante.

Deve-se notar também que a permeabilidade ao vapor de água encontrada nos filmes reticulados por DMU, apresentam uma redução com o aumento do teor do agente reticulante, como citado no trabalho de Turbiani (2011). Mas em contrapartida os filmes reticulados com dimetiluréia apresentaram maiores valores de permeabilidade ao vapor de água comparados com o filme sem agente reticulante, pode ser devido que não se tenha sido formado muitas ligações cruzadas que causaria uma menor empacotamento das cadeias e proporcionando um maior espaço para o vapor de água permear.

De forma inversa, os filmes reticulados com PEG exibem um aumento conforme o aumento da quantidade de agente reticulante empregado. Acreditamos que esse fato seja devido ao polietilenoglicol podendo estar atuando mais como um agente plastificante do que agente reticulante, como vai poder ser visto a seguir com os testes mecânicos.

Para o filme reticulado com ácido succínico, apresentou um aumento significativo na permeabilidade do vapor de água, acreditamos que esse aumento seja causado pelo ácido succínico não possibilitar a formação de ligações cruzadas e agir como um plastificante interno.

De acordo com Krochta e Mulder-Johnston (1997) na Tabela 5.8, quase todos os filmes apresentaram permeabilidade ao vapor de água moderada, o que é característico de filmes de materiais hidrofílicos.

Tabela 5.8 – Classificação da permeabilidade ao vapor de água de filmes segundo Krochta e Mulder-Johnston (1997).

Propriedades	K_{vap} * [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
Pobre	10 - 100
Moderada	0,10 – 10
Boa	0,01 – 0,1

*38 °C e 90% UR.

5.1.5. Propriedades Mecânicas

Determinadas aplicações dos biofilmes requerem grandes esforços ou ter maleabilidade, desta maneira, é extremamente importante ter o conhecimento das propriedades mecânicas dos biofilmes. Em determinadas aplicações, por exemplo, tem-se a necessidade de materiais mais resistentes à tração ou compressão, mas que também possuam elasticidade apropriada para a aplicação em questão, devido a este conhecimento pode-se escolher o material mais adequado para esta aplicação. As Tabelas 5.9, 5.10 e 5.11 apresentam os resultados dos ensaios mecânicos realizados nos filmes de sericina reticulados com dimetiloluréia, polietilenoglicol e ácido succínico respectivamente.

Tabela 5.9 – Propriedades mecânicas dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com dimetiloluréia.

Teor de Dimetiloluréia (g DMU/g de sericina)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,12 ± 0,00 ^a	16,84 ± 1,99 ^b	2,10 ± 0,66 ^c	9,08 ± 1,01 ^a
0,1	0,11 ± 0,01 ^a	11,74 ± 0,83 ^c	28,83 ± 3,81 ^a	4,32 ± 0,58 ^b
0,4	0,12 ± 0,01 ^a	14,39 ± 1,24 ^{bc}	19,70 ± 4,06 ^b	5,13 ± 0,88 ^b
0,7	0,15 ± 0,00 ^b	27,30 ± 3,13 ^a	2,32 ± 0,70 ^c	10,28 ± 1,73 ^a

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.10 – Propriedades mecânicas dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de sericina)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,12 ± 0,00 ^a	16,84 ± 1,99 ^a	2,10 ± 0,66 ^d	9,08 ± 1,01 ^a
0,1	0,11 ± 0,00 ^a	11,14 ± 0,42 ^b	55,28 ± 8,98 ^a	4,06 ± 0,48 ^b
0,4	0,14 ± 0,01 ^b	8,03 ± 0,34 ^c	36,32 ± 3,35 ^b	2,06 ± 0,13 ^c
0,7	0,16 ± 0,01 ^c	5,16 ± 0,44 ^d	25,68 ± 2,74 ^c	1,28 ± 0,17 ^c

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.11 – Propriedades mecânicas dos filmes de sericina com teor de 0,6 g de glicerol/g de sericina, reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de sericina)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,12 ± 0,00 ^a	16,84 ± 1,99 ^a	2,10 ± 0,66 ^a	9,08 ± 1,01 ^a
0,005	0,11 ± 0,01 ^a	7,47 ± 1,44 ^b	1,66 ± 0,82 ^a	5,36 ± 1,81 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Os filmes de sericina reticulados com DMU apresentaram as mesmas características que os biofilmes de sericina estudados por Turbiani (2011), sendo que com o aumento do teor de DMU utilizado, a tensão na ruptura apresentou aumento e em

contrapartida o alongamento dos filmes foi reduzido. O aumento na tensão de ruptura causado pelo aumento do teor de DMU nos biofilmes é o reflexo de uma reticulação mais eficiente entre os grupos hidrofílicos presentes na sericina e no DMU, e desta maneira, com o aumento da resistência à ruptura, se tem a diminuição do alongamento.

Na literatura podem se encontrar diversos estudos deste efeito causado pela influência do agente reticulante nas propriedades mecânicas dos filmes hidrofílicos (ZACTITI e KIECKBUSCH, 2006; SOTHORNVIT e CHOLLAKUP, 2009; MANDAL *et al.*, 2009). Porém os valores encontrados no presente trabalho diferem dos encontrados por Turbiani (2011), sendo a tensão na ruptura maior, enquanto o alongamento foi menor.

O módulo de Young exibiu um aumento com o aumento do teor de DMU utilizado, apontando assim, um aumento da rigidez nos filmes confeccionados, se apresentando mais quebradiços. Nos estudos de Sothornvit e Chollakup (2009) em que incorporaram cera de abelha em filmes compostos de sericina e glucomanana, este aumento de rigidez também foi notado.

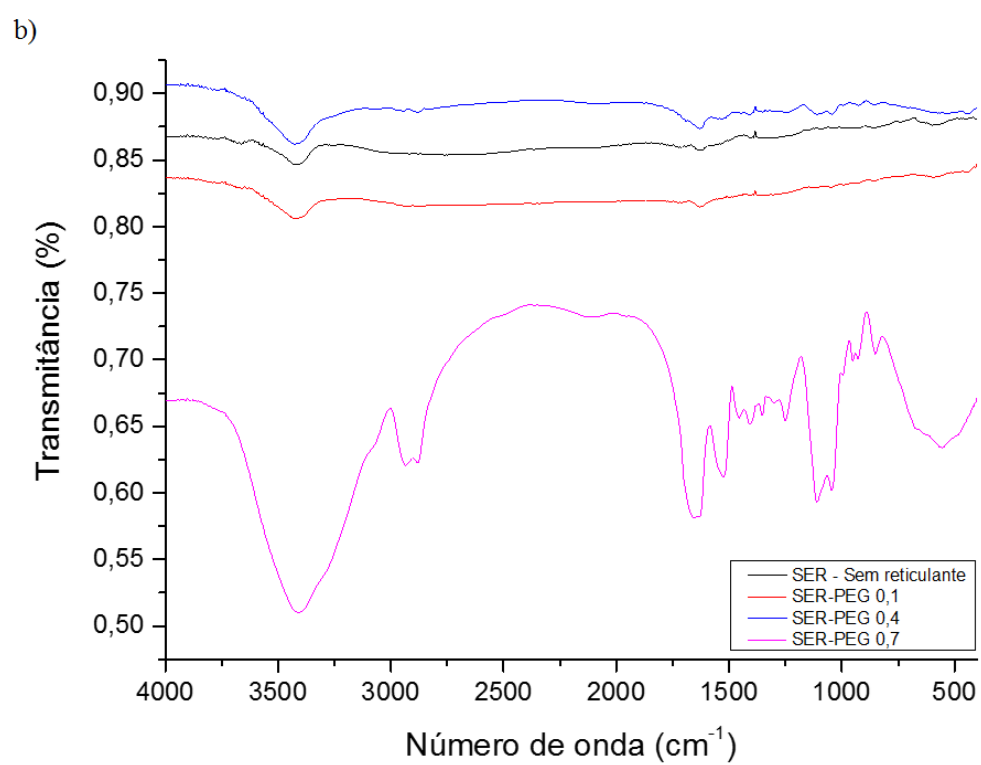
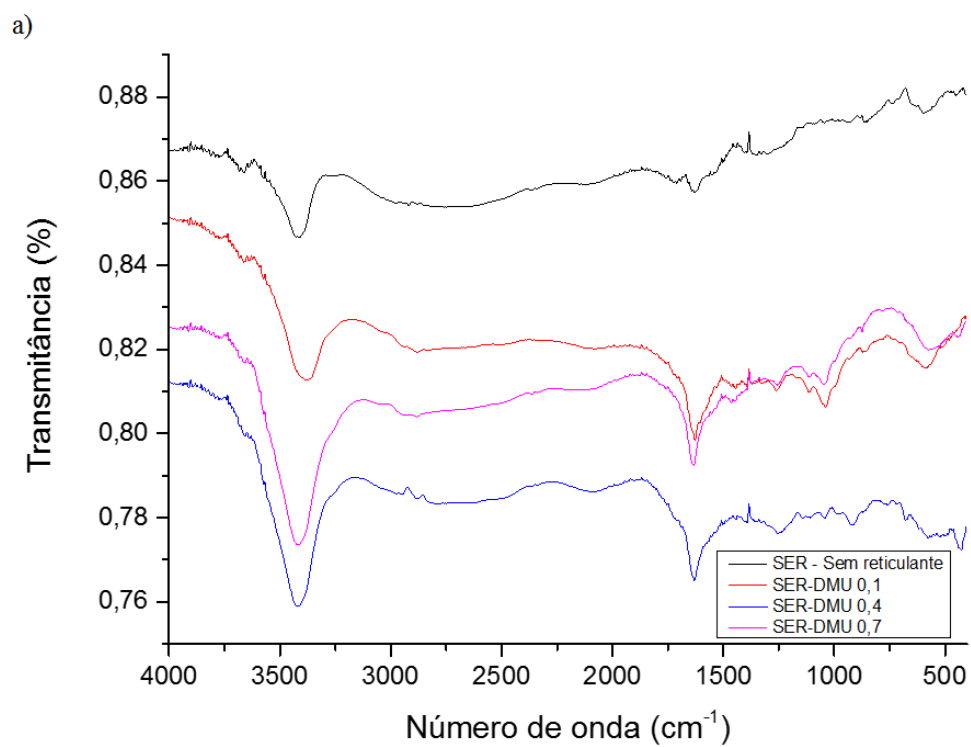
Os filmes de sericina reticulados com polietilenoglicol, apresentaram tanto uma redução na tensão na ruptura como uma redução no alongamento conforme se aumentava o teor do polietilenoglicol utilizando. Um efeito similar foi observado por Andreani (2005) estudando filmes de pectina cítrica e poli(4-estirenosulfonato de sódio) (PSS), onde com o aumento do PSS nas blendas ocasionou uma redução da tensão na ruptura e do alongamento dos filmes, indicando uma possível diminuição na rigidez do sistema. Devesse ressaltar também que os filmes reticulados com polietilenoglicol apresentaram altos valores de elasticidade e baixos valores de tensão na ruptura, podendo considerar que o polietilenoglicol possa ter agido mais como agente plastificante do que reticulante, pois a adição de um agente plastificante tem como objetivo aumentar a elasticidade e reduzir a tensão de ruptura do material.

Os filmes reticulados com ácido succínico também apresentam valores baixos de tensão na ruptura e alongamento comparados com os filmes sem agente reticulante, sendo assim, podemos acreditar que a adição de ácido succínico na solução filmogênica provocou uma leve diminuição na rigidez do sistema, em comparação aos filmes sem agente reticulante algum.

5.1.6. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Como descrito na literatura, a sericina apresenta bandas de absorção características de amida, sendo que podem ser identificados quatro diferentes bandas de vibrações, sendo eles: amida I (1616 cm^{-1}), amida II (1530 cm^{-1}), amida III (1242 cm^{-1}) e amida IV (667 cm^{-1}). Sendo que absorção amida I é devido às vibrações de estiramento C=O presentes no grupo amida, a absorção amida II abrange contribuições de N-H e vibrações de estiramento C-N e enquanto a amida III aparece principalmente em razão de vibrações de estiramento C-N unidas à vibração N-H em plano. Em torno de 3300 cm^{-1} a absorção de estiramento N-H de grupos amida é sobreposta com a forte absorção O-H devido a aminoácidos hidroxil residuais, como por exemplo, a serina e a treonina. As cadeias de aminoácidos hidroxil também influenciam em absorção em bandas de 1394 e 1065 cm^{-1} , sendo características de vibração C-H e O-H e vibrações de estiramento C-OH (TERAMOTO e MIYAZAWA, 2005).

Na Figura 5.7 pode se observar que o filme de serina sem agente reticulante não apresenta nenhuma nova banda de absorção no espectro comparado com os filmes reticulados com dimetiloluréia, o que poderiam estar relacionado com a formação de novas ligações, como as ligações cruzadas provocadas pelo agente reticulante. Os espectros dos filmes de sericina reticulados com dimetiloluréia apresentam bandas moderadas na região de amida I, além de apresentar leves bandas para amida III e amida VI. Todos os filmes apresentam uma elevação por volta de 3450 cm^{-1} , deve-se ressaltar que nessa banda, a presença do DMU aparenta diminuir a intensidade da banda de absorção referente ao grupo hidroxila (-OH), o que pode ser atribuído a interação entre as cadeias de sericina e as moléculas de DMU.



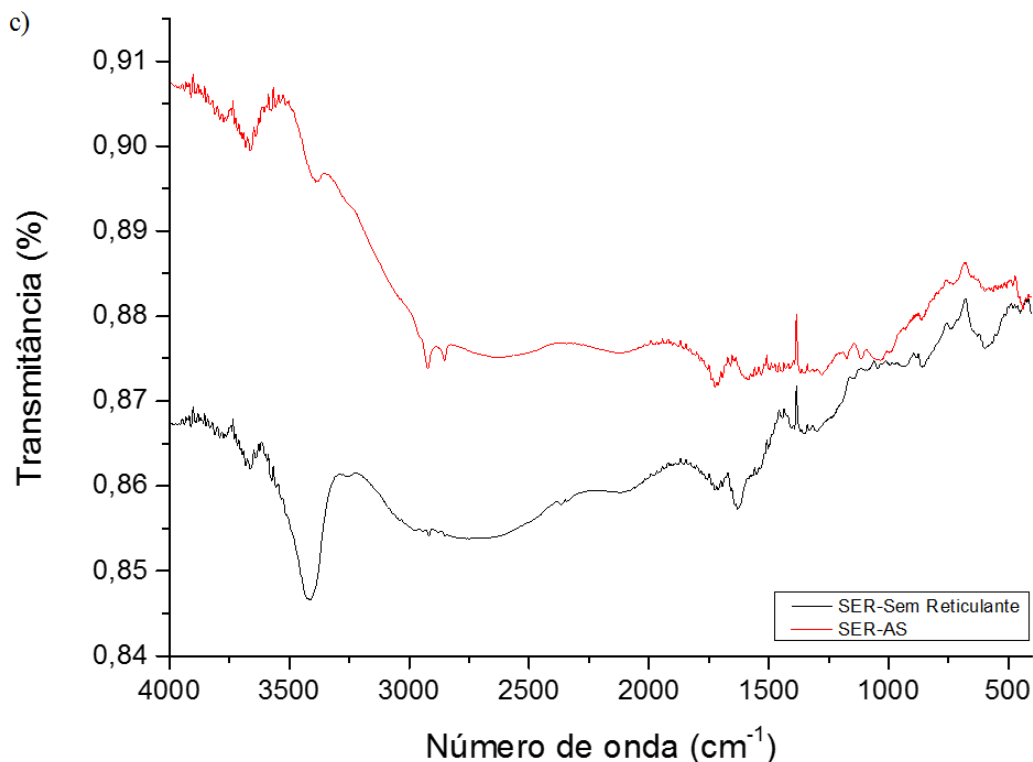


Figura 5.7: Espectros FTIR dos filmes de sericina utilizando vários agentes reticulantes. a) Dimetiloluréia, b) Polietilenoglicol e c) Ácido Succínico.

Os filmes de sericina reticulados com polietilenoglicol não apresentaram bons espectros para avaliação, buscando realizar em trabalhos futuros o uso da técnica de ATR (*Attenuated Total Reflectance* – Reflexão Total Atenuada) para a análise de FTIR, com o objetivo de obter melhores espectros. Para o filme de sericina reticulado com ácido succínico também pode ser considerado a utilizar a técnica de ATR, pois bandas não aparecem bem definidas.

5.1.7. Difração de Raios-X

A análise da difração de raios-X teve o objetivo de estudar as possíveis mudanças na cristalinidade dos biofilmes em relação ao agente reticulante utilizado e a concentração utilizada dos mesmos. A Figura 5.8 mostra as curvas obtidas pela técnica de difração de raios-X para os filmes de sericina reticulados com dimetiloluréia, polietilenoglicol e ácido succínico.

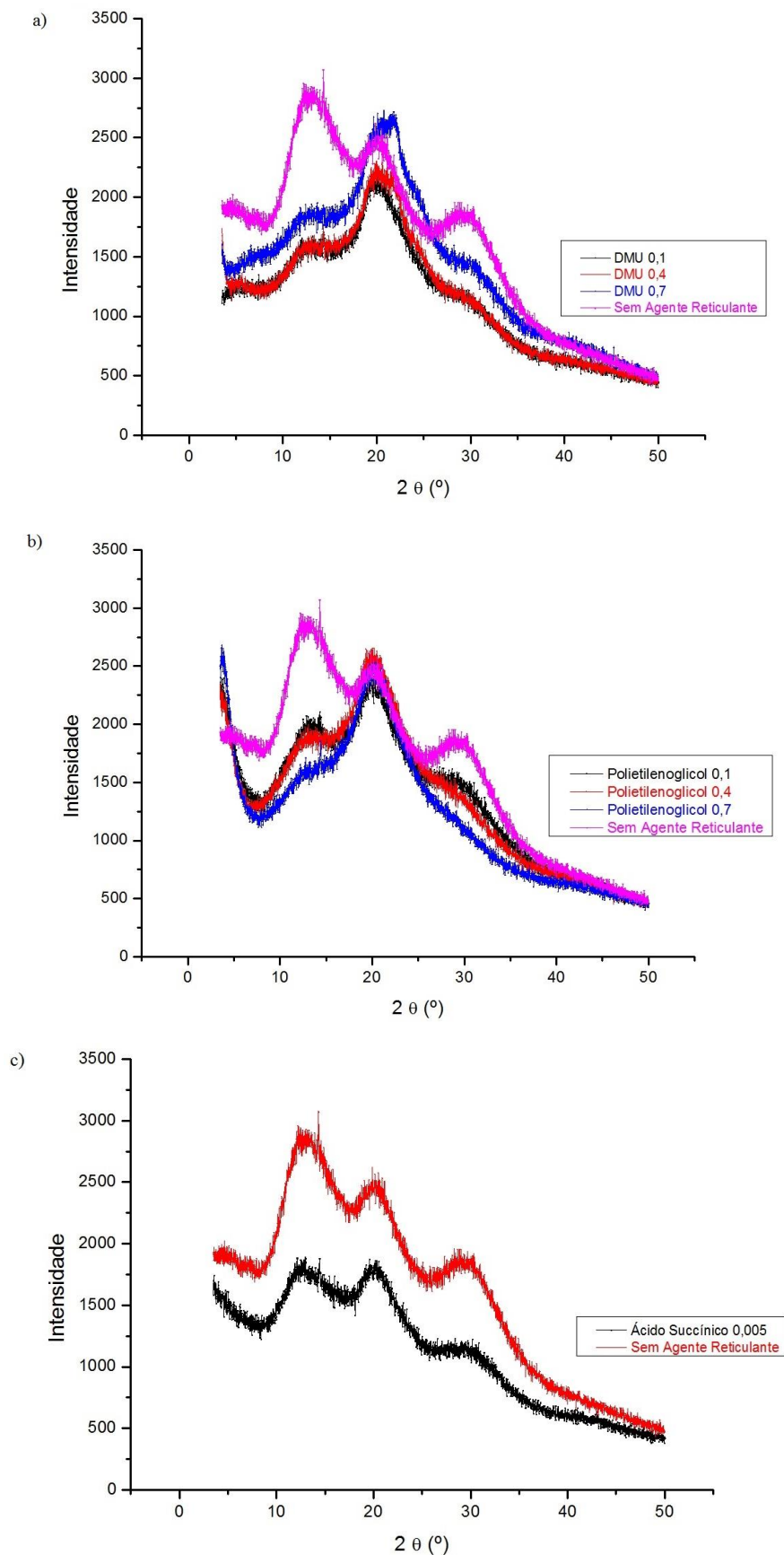


Figura 5.8: Difratoograma de Raios-X de filmes de sericina, a) reticulado com dimetiloluréia, b) reticulado com polietilenoglicol e c) reticulado com ácido succínico.

Os filmes sem a presença de agente reticulante na sua formulação apresentaram picos em torno de 13,5°, 20,5° e 29,5°. Em estudos da sericina, Tomadon Jr. (2011) encontrou um principal pico em 19,2° com um ombro 22,4°, sendo que, de acordo com Lee *et al.* (2003), o pico representa as pontes de hidrogênio intramoleculares da sericina que correspondem à estrutura folha- β . Além de Tomadon Jr. (2011), Silva (2013) também estudando a sericina, não encontrou picos acentuados em 14° e 30° no difratograma da sericina como no trabalho presente.

Turbiani (2011) estudando filmes de sericina reticulados com dimetiloluréia obteve um pico mais elevado em torno de 20,6° e ombros em torno de 14°, 24,7° e 29,5°. Picos e ombros semelhantes foram encontrados nos filmes reticulados com dimetiloluréia no presente trabalho, pico em 22° e ombros em torno de 14°, 24,5° e 30°. Comparado os filmes reticulados com dimetiloluréia com os filmes sem agente reticulante, evidenciou em alguns pontos das curvas de difração que o emprego desse agente reticulante promoveu um leve aumento na orientação molecular da sericina.

Os filmes reticulados com polietilenoglicol apresentaram picos semelhantes aos filmes reticulados com dimetiloluréia e em intensidades muito próximas. Pode se notar, que em ambos os agentes reticulantes, o aumento do teor de agente reticulante, aumentou a intensidade dos picos. Em contrapartida os filmes reticulados com ácido succínico apresentou a menor intensidade nos picos.

5.1.8. Conclusão Parcial

Os filmes confeccionados de sericina independentemente do agente reticulante utilizado apresentaram boas qualidades visuais, possuindo coloração levemente amarelada, transparência, sendo homogêneos e flexíveis. Deve ressaltar-se que a flexibilidade obtida foi pela presença de agente plastificante, sendo utilizado o mesmo teor de glicerol (0,6 g/g de biopolímero) em todos os filmes.

Cada reagente reticulante utilizado resultou em características diferentes conforme o aumento da sua concentração. Para os filmes reticulados com dimetiloluréia estas características foram a redução no conteúdo de umidade de equilíbrio, na solubilidade em água e na permeabilidade de vapor de água, e nos testes mecânicos este aumento do teor de dimetiloluréia provocou um aumento na tensão na ruptura e diminuiu o alongamento dos filmes. Para os filmes reticulados com polietilenoglicol, tem-se um aumento na permeabilidade de vapor com o aumento do teor de agente reticulante. Nos testes de

avaliação das propriedades mecânicas o aumento da concentração do agente reticulante resulta em uma redução da rigidez do sistema, desta maneira, reduzindo a tensão na ruptura e o alongamento.

Na maioria das análises, os filmes reticulados por ácido succínico apresentam valores próximos aos filmes de sericina sem o uso de agente reticulantes. Onde podemos atribuir ao fato do ácido succínico não formar ligações cruzadas e atuar mais como um plastificante interno, como descrito anteriormente.

5.2. Filmes de Amido

Nesta seção irão ser exibidos os resultados obtidos para os filmes de amido reticulados com polietilenoglicol ou reticulado com ácido succínico, além da utilização de 0,6 g glicerol/g de biopolímero como agente plastificante.

5.2.1. Aspectos Visuais

Os aspectos visuais dos filmes de amido estão apresentados na Tabela 5.12. A característica mais evidente dos filmes de amido que tiveram agente reticulante na sua formulação foi à fragilidade, pois se rompiam facilmente durante o manuseio. Também foi possível notar nos filmes de amido reticulados com polietilenoglicol algumas sutis rachaduras perto das extremidades do filme. Porém, os filmes de amido apresentam uma excelente homogeneidade.

Filmes de amidos reticulados com dimetiloluréia e polietilenoglicol com teor de 0,7 g/g de amido, não se formaram adequadamente, desta maneira, exibindo péssimas qualidades. Os filmes apresentavam várias rachaduras ao longo de toda sua superfície e uma baixa homogeneidade. Desta forma esses filmes não foram avaliados ou considerados no estudo.

Tabela 5.12 – Características relacionadas ao aspecto visual dos filmes de amido confeccionados com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido.

Agente Reticulante (AR)	Teor de AR (g AR/g de amido)	Homogeneidade	Continuidade	Manuseabilidade
Sem AR	0,0	A	B	A
Polietilenoglicol	0,1	A	B	C
	0,4	A	B	C
Ácido Succínico	0,005	A	A	B

Nota: A – excelente, B – boa e C - deficiente.

5.2.2. Teor de Umidade e Solubilidade em Água

Semelhante aos filmes de sericina, os filmes de amido reticulados com polietilenoglicol também apresentaram um aumento no teor de umidade presente nos filmes como é demonstrado na Tabela 5.13. Os valores encontrados apresentam-se próximos aos encontrados por Machado (2013) no estudo de biofilmes de amido e bagaço de cevada utilizando glicerol como agente plastificante, sendo que somente os filmes (deste trabalho) que foram reticulados com um teor de 0,4 g de PEG/g de amido, exibiram um teor de umidade ligeiramente maior. Enquanto na Tabela 5.14 o uso de ácido succínico como agente reticulante não apresentou um aumento significativo na umidade do filme obtido.

Tabela 5.13 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de amido)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	16,36 ± 2,66 ^a	18,59 ± 1,73 ^a
0,1	19,52 ± 1,80 ^a	30,09 ± 0,56 ^b
0,4	30,18 ± 0,98 ^b	33,36 ± 0,86 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.14 – Teor de umidade (ϖ) e solubilidade em água (S_w) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com ácido succínico.

Teor de AR Ácido Succínico (g AS/g de amido)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	16,36 ± 2,66 ^a	18,59 ± 1,73 ^a
0,005	19,88 ± 2,45 ^a	15,48 ± 0,78 ^a

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Comparando a solubilidade dos filmes de amido com respectivos filmes de sericina, quase todos os filmes apresentaram uma maior solubilidade em água, somente os filmes de amido reticulados com ácido succínico exibiu solubilidade ligeiramente menor do que seu respectivo filme de sericina. Os filmes reticulados com polietilenoglicol foram os filmes que apresentaram a maior solubilidade dos filmes confeccionados para o trabalho. Mesmo com estes valores elevados, eles são compatíveis com os valores para solubilidade de filmes de amido encontrados na literatura, como por exemplo, nos estudos de Farias *et al.* (2012) com filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (glicerol como agente plastificante) foi observada uma solubilidade na faixa de 16,8 a 52,9% e nos estudos de Mali *et al.* (2002) com filmes de amido de inhame e glicerol foram encontrados resultados de 19,34 a 30,76% para solubilidade em água. Da mesma maneira para a umidade, o uso de ácido succínico como agente reticulante para o amido não apresentou uma redução significativa para o teor de massa solúvel do filme.

Como citado anteriormente os filmes de amido reticulados com dimetiloluréia não se formaram adequadamente, podendo considerar que a reticulação não tenha acontecido. Na Figura 5.9 é apresentada uma possível reação entre o amido e o dimetiloluréia através do grupo hidroxila presente no amido e do grupo amida presente no DMU. Porém essa reação ela não permitiria a formação de ligações cruzadas. Em uma menor possibilidade, poderia ter acontecido a reticulação entre o amido e o DMU por meio da condensação entre os grupos N-metilol do DMU e grupos hidroxila do amido, sendo representada na Figura 5.10.

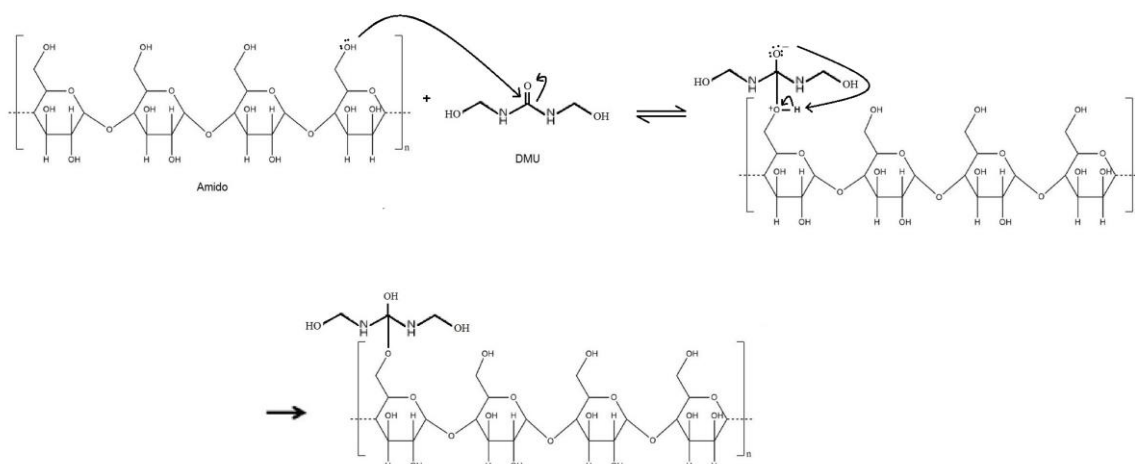


Figura 5.9: Esquemática da ligação entre amido e DMU.

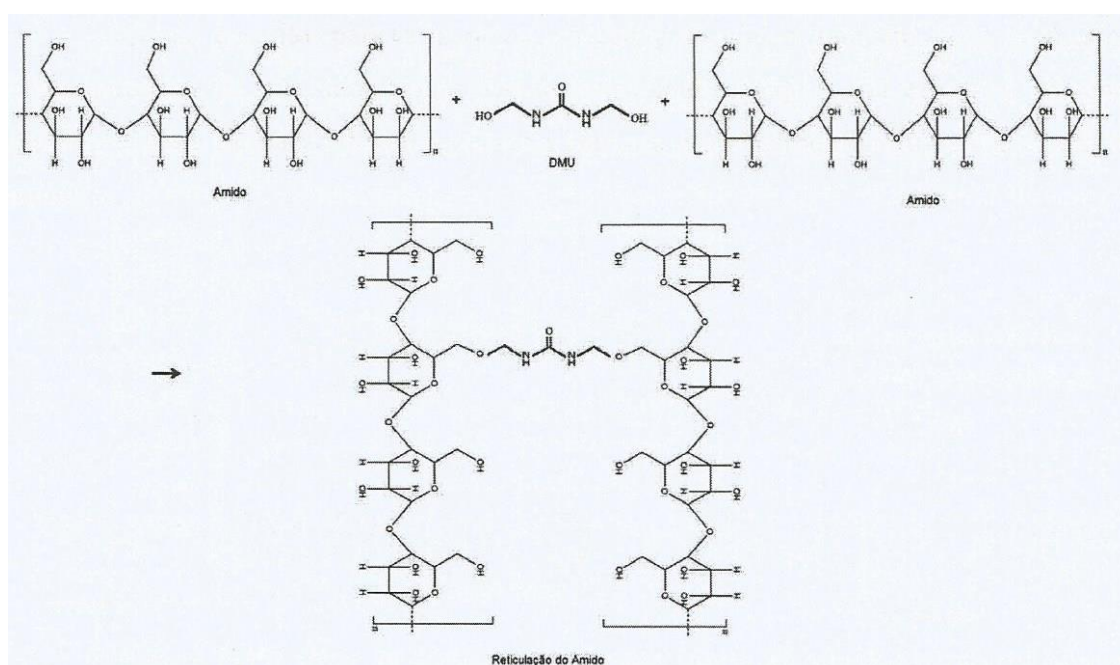


Figura 5.10: Representação da possível reticulação entre o amido e o DMU.

O polietilenoglicol não apresenta um grupamento amida ou carboxílico para correr a reação exemplificada na Figura 5.9, sendo assim, podemos considerar que a reticulação entre amido e PEG aconteça possivelmente através da condensação dos grupamentos hidroxila presentes em ambos os compostos. Na figura 5.11 pode ser vista a representação dessa possível reticulação.

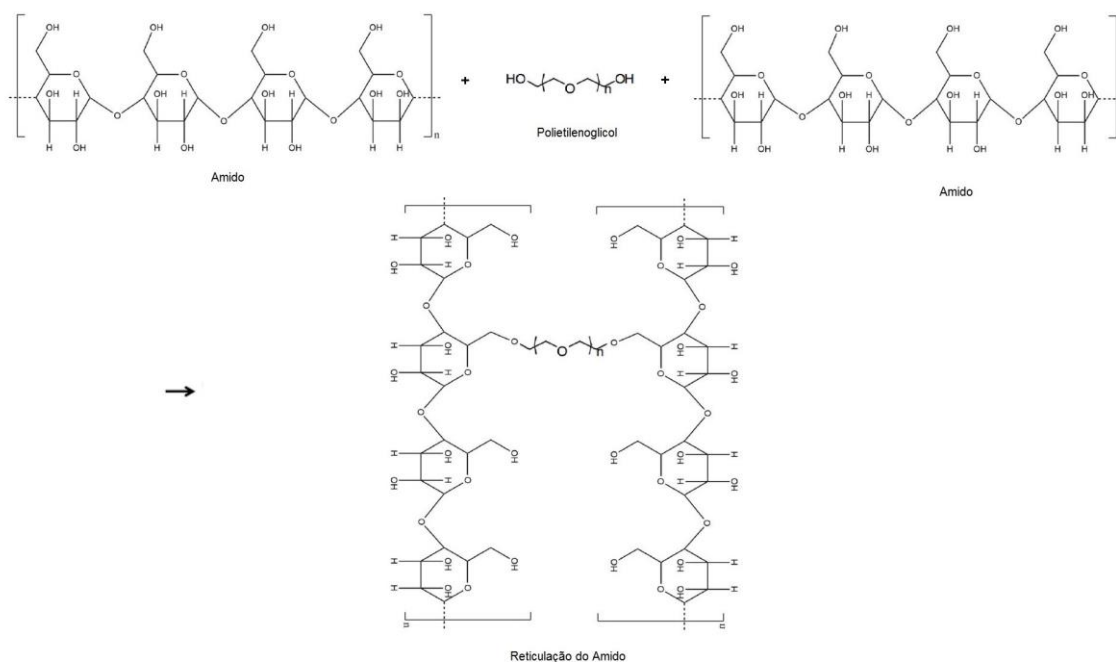


Figura 5.11: Representação da possível reticulação entre o amido e o PEG.

Como descrito para a sericina, o ácido succínico também teria o mesmo comportamento de não atuar como agente reticulante, devido a sua estrutura, somente possibilitando a formação de um monoéster com um grupo carboxílico livre (succinato de amido), que é representado na Figura 5.12 (GARCIA, 2014).

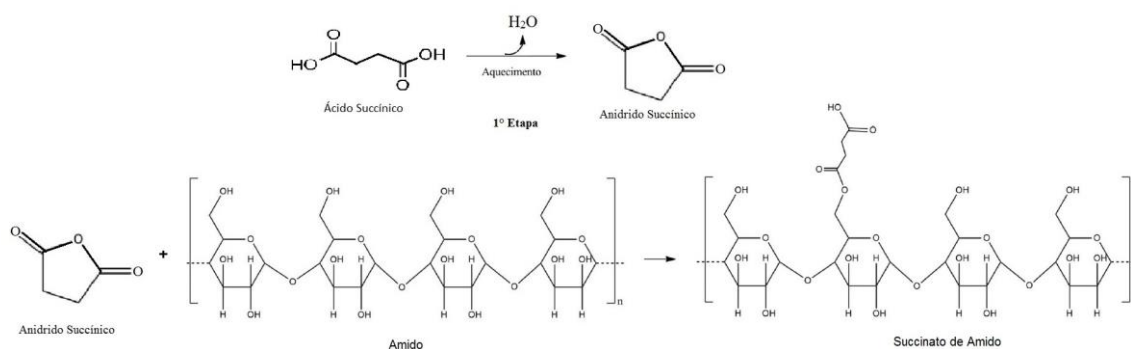


Figura 5.12: Esquemática do succinato de amido.

5.2.3. Grau de Intumescimento (*Swelling*)

Ao contrário do que foi visto nos filmes de sericina, os filmes de amido não mantiveram sua integridade e sofreram vários rompimentos devido a sua fragilidade durante o processo, como pode ser visto na Figura 5.13.

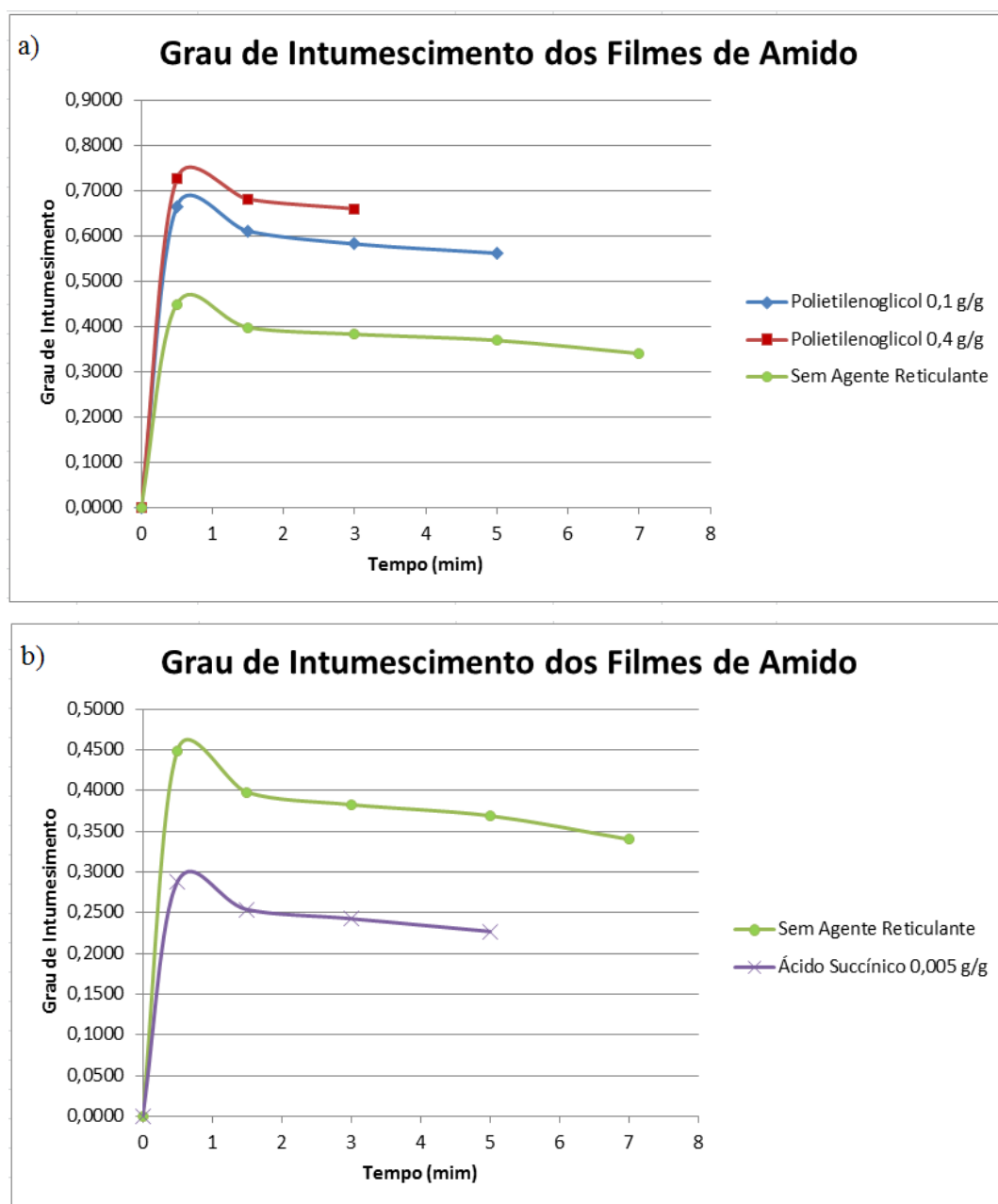


Figura 5.13: Grau de intumescimento dos filmes de amido reticulados com a) Polietilenoglicol e b) Ácido Succínico.

Como os filmes de sericina, os filmes de amido também apresentaram seus picos de intumescimento por volta de 0,5 minutos. Os valores apresentados para o grau de intumescimento dos filmes de amido reticulados com polietilenoglicol são maiores para os respectivos filmes de sericina, por volta de 68% a 76%. Enquanto para filmes reticulados com ácido succínico apresentou uma redução no grau de intumescimento. Pode ser visto

que o grau de intumescimento dos filmes de amido, foi reduzindo com o passar o tempo, isto é devido principalmente pela solubilização dos filmes na água.

5.2.4. Permeabilidade ao Vapor de Água e Espessura

Os filmes de amidos preparados apresentaram espessuras (δ) entre $0,05 \pm 0,00$ mm (filmes de amido sem agente reticulante) e $0,09 \pm 0,01$ mm (filmes de polietilenoglicol com teor de 0,4 g/g de amido), conforme apresentados nas Tabelas 5.15 e 5.16.

Tabela 5.15 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de amido)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	$0,05 \pm 0,00^a$	$3,72 \pm 0,81^a$
0,1	$0,06 \pm 0,01^{ab}$	###
0,4	$0,09 \pm 0,01^b$	###

Nota: Média \pm Desvio Padrão, ### - Sem resultado devido a amostra sempre se rasgar durante o teste. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.16 – Espessura (δ) e permeabilidade ao vapor de água (K_{vap}) dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de amido)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	$0,05 \pm 0,00^a$	$3,72 \pm 0,81^a$
0,005	$0,07 \pm 0,01^a$	$7,29 \pm 1,07^b$

Nota: Média \pm Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Não foi possível realizar as análises de permeabilidade ao vapor de água para os filmes de amido reticulados com polietilenoglicol. Esses filmes eram muito frágeis e após

um período de tempo preso nas células de teflon rompiam-se, desta forma, impossibilitando sua análise.

Os filmes de amido sem agente reticulante apresentam valores próximos aos encontrados por Machado (2013) no seu estudo de filmes a base de amido de mandioca e bagaço de cevada utilizando glicerol como agente plastificante. Enquanto o filme de amido reticulado com ácido succínico apresentou um aumento na permeabilidade ao vapor de água, como também ocorreu para o filme de sericina reticulado com esse composto.

5.2.5. Propriedades Mecânicas

Pode ser visto nas Tabelas 5.17 e 5.18 que os resultados encontrados para a tensão na ruptura para os filmes reticulados com polietilenoglicol e ácido succínico são baixas, proporcionando uma grande fragilidade, notada claramente ao manusear os filmes, pois se rompiam com facilidade.

Também foi notada a redução da tensão de ruptura com aumento do teor de polietilenoglicol nos filmes, mesma característica notada dos filmes de sericina. Enquanto a elasticidade inicialmente aumentou e posteriormente voltou a se aproximar do filme de amido sem agente reticulante. Pode-se ressaltar que tanto o polietilenoglicol e o ácido succínico contribuíram para o enfraquecimento da matriz polimérica dos filmes que é observado através da redução do Módulo de Young.

No estudo de filmes de amido de milho, Vasques (2007) encontrou os seguintes valores tensão na ruptura e alongamento: $29,7 \pm 4,9$ MPa e $2,2 \pm 0,8$ % respectivamente, sendo próximos aos valores apresentados para os filmes sem agente reticulante na Tabela 5.9. A adição do ácido succínico como agente reticulante, provocou uma redução na tensão na ruptura e um aumento no alongamento.

Tabela 5.17 – Propriedades mecânicas dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de amido)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,05 \pm 0,01 ^a	39,77 \pm 2,56 ^a	3,35 \pm 0,24 ^a	17,03 \pm 0,97 ^a
0,1	0,06 \pm 0,01 ^a	2,53 \pm 0,23 ^b	12,22 \pm 1,82 ^b	0,68 \pm 0,46 ^b
0,4	0,09 \pm 0,01 ^b	0,69 \pm 0,17 ^c	4,04 \pm 1,42 ^a	0,17 \pm 0,02 ^b

Nota: Média \pm Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.18 – Propriedades mecânicas dos filmes de amido com teor de 0,6 g de glicerol/g de amido e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de amido)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,05 \pm 0,01 ^a	39,77 \pm 2,56 ^a	3,35 \pm 0,24 ^a	17,03 \pm 0,97 ^a
0,005	0,08 \pm 0,01 ^b	2,51 \pm 0,37 ^b	15,01 \pm 2,96 ^b	0,35 \pm 0,05 ^b

Nota: Média \pm Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

5.2.6. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

De acordo com a literatura, o amido apresenta banda na região de 2900 a 3000 cm^{-1} que corresponde à absorção do estiramento C–H, além de apresentar bandas em 1163, 1150, 1124 e 1103 cm^{-1} , que correspondem à absorção do estiramento C–O e C–C com contribuição do estiramento C–OH. Enquanto a parte amorfa dos grânulos apresenta absorção na faixa espectral de 1550-1750 cm^{-1} e as ligações glicosídicas, sendo o estiramento C–O–C possuir absorção na região de 900-950 cm^{-1} do infravermelho (van SOEST *et al.*, 1995; KIZIL *et al.*, 2002). O amido também pode apresentar absorção na região de 3000-3600 cm^{-1} que provocada pelos grupos hidroxilas presentes (PAVLOVIC e BRANDÃO, 2003).

Comparando com a literatura, os espectros encontrados para os filmes de amido na Figura 5.14, apresentam bandas causadas pela absorção correspondente ao estiramento C–O e C–C com contribuição do estiramento C–OH, na faixa de 1100-1200 cm^{-1} , notadas

nos filmes sem agente reticulantes e reticulados com 0,4 g de PEG/g de macromolécula. O filme de amido reticulado com ácido succínico não apresenta uma banda de absorção entre 1550-1750 cm^{-1} como nos demais filmes que é referente à vibração da ligação C=O, onde poderia ser atribuída ao éster de formado entre amido e o ácido ou mesmo do próprio ácido. Os filmes sem agente reticulante e reticulados com polietilenoglicol apresentam uma banda de absorção em 2900 cm^{-1} que referente à absorção do estiramento C-H. Todos os filmes apresentaram uma banda de absorção entre 3000-3600 cm^{-1} que é referente aos grupos hidroxilas presentes.

O filme reticulado com ácido succínico é o espectro que demonstra as bandas com menor visibilidade e menos definidas. O filme de amido reticulado com 0,1 g de polietilenoglicol/g de macromolécula não apresentou boas características mecânicas e de resistência à umidade, sua análise de FTIR não foi realizada.

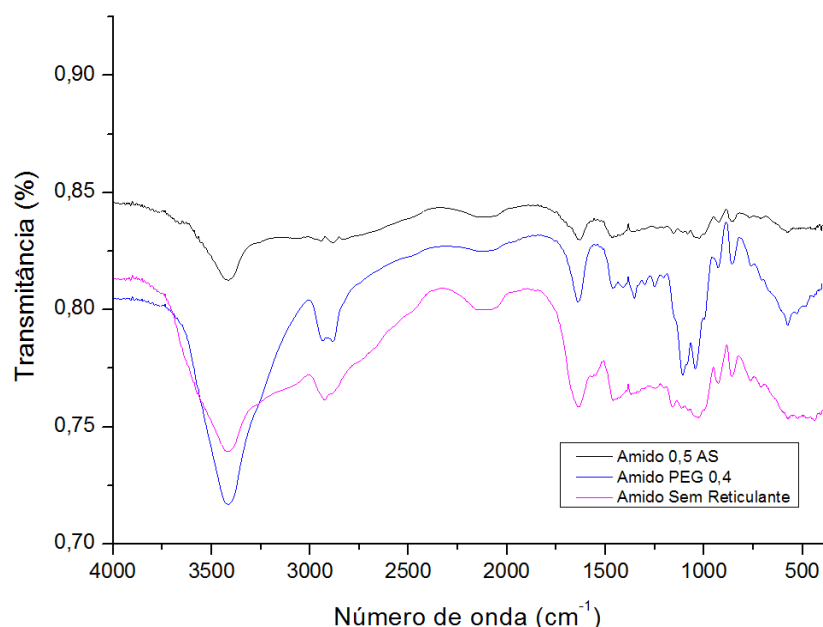


Figura 5.14: Espectros FTIR dos filmes de amido reticulados com polietilenoglicol e ácido succínico.

5.2.7. Difração de Raios-X

As curvas obtidas pela técnica de difração de raios-X para os filmes de amido reticulados com polietilenoglicol e ácido succínico são mostradas na Figura 5.15.

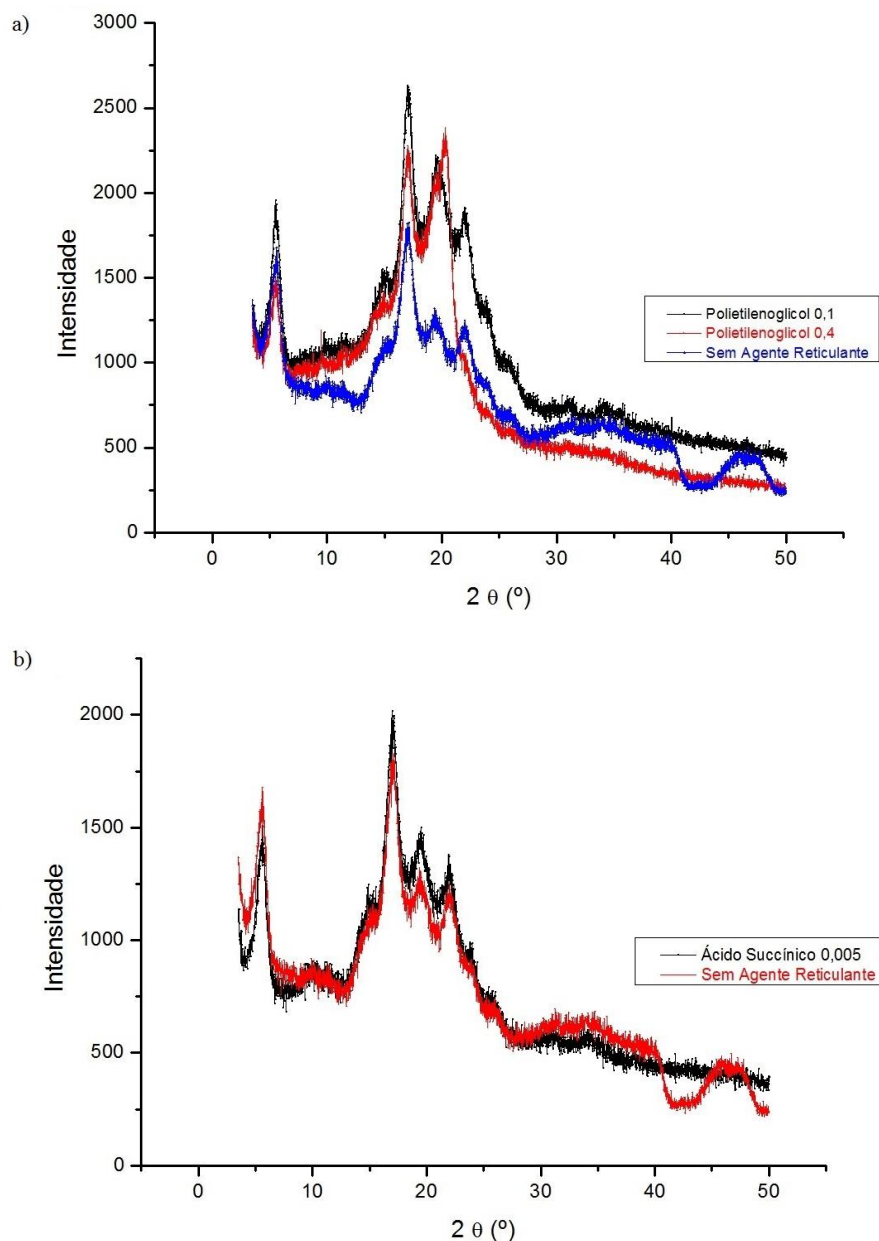


Figura 5.15: Difratoograma de Raios-X de filmes de amido, a) reticulado com polietilenoglicol e b) reticulado com ácido succínico.

As curvas encontradas para os filmes de amidos foram semelhantes à curva encontrada por Beninca (2008) para amido de mandioca em estudo do emprego de técnicas termoanalíticas na análise de amidos natural e quimicamente modificados. As curvas da Figura 5.12 apresentam picos em 17° e 21° , além de um ombro em 15° . Exceto para os filmes reticulados com teor de 0,4 g polietilenoglicol/g de amido, as curvas também apresentaram outro pico em 23° . Na literatura também se encontra picos em 5° e 6° que pode ser associado ao pico presente no início das curvas (CHEETHAM e TAO, 1998; CEREDA et al., 2001; JAYAKODY e HOOVER, 2002).

Ao contrário do que aconteceu nos filmes de sericina, o uso agente reticulantes em filmes de amido não promoveu um aumento na orientação molecular do amido, pois como citado, as curvas encontradas foram semelhantes entre si e também às encontradas na literatura para o amido puro.

5.2.8. Conclusão Parcial

Os filmes de amido preparados exibiram coloração levemente esbranquiçada, transparência e homogeneidade, porém os filmes eram muito frágeis. Altas concentrações de polietilenoglicol (0,7 g/g de amido) ou uso de dimetiloluréia como agente reticulante não permitiu a formação de filmes adequados.

Os filmes reticulados com polietilenoglicol que foram analisados apresentam propriedades mecânicas com baixos valores para as três propriedades analisadas e altos valores de solubilidade em água. Os filmes reticulados com ácido succínico exibiram propriedades moderadas de barreira ao vapor de água e o mais alto alongamento dos filmes de amido, porém uma baixa resistência à ruptura. Enquanto os filmes de amido sem agente reticulante demonstram também qualidades moderadas de barreira ao vapor de água, e nos testes mecânicos exibiu uma alta resistência à ruptura e baixo alongamento.

5.3. Filmes de Sericina/Amido

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos para os filmes de blendas de sericina (50%) e amido (50%) reticulados com polietilenoglicol ou reticulado com ácido succínico, além da utilização de 0,6 g glicerol/g de biopolímero como agente plastificante.

5.3.1. Aspectos Visuais

De acordo com a Tabela 5.19, os resultados obtidos mostram que os biofilmes feitos com blendas de sericina/amido apresentam características visuais melhores que os filmes de cada biopolímero puro.

Os filmes de sericina/amido apresentaram um excelente manuseabilidade, não se rompendo durante sua manipulação. É possível atribuir essa característica a sericina presente. Enquanto o amido contribuiu para melhorar a homogeneidade dos filmes,

principalmente nos filmes reticulados com dimetiloluréia com o teor de 0,7 g/g de polímero (sericina + amido).

Tabela 5.19 – Características relacionadas ao aspecto visual dos filmes de blendas de sericina (50%) e amido (50%), confeccionados com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero.

Agente Reticulante (AR)	Teor de AR (g AR/g de polímero)	Homogeneidade	Continuidade	Manuseabilidade
Sem AR	0,0	A	A	A
Dimetiloluréia	0,1	A	A	A
	0,4	A	A	A
	0,7	A	A	A
Polietilenoglicol	0,1	A	A	A
	0,4	A	A	A
	0,7	B	A	A
Ácido Succínico	0,005	A	A	A

Nota: A – excelente, B – boa e C - deficiente.

5.3.2. Teor de Umidade e Solubilidade em Água

Na Tabela 5.20, pode ser visto que os valores de umidade para os filmes de sericina/amido reticulados com DMU, apresentam valores próximos aos encontrados para os filmes somente de sericina (Tabela 5.2). Enquanto na Tabela 5.21, os filmes reticulados com polietilenoglicol exibiram o mesmo comportamento de aumento de umidade conforme se tem o aumento do teor de agente reticulante utilizado. Vale ressaltar que os valores obtidos apresentam ser maiores do que os valores obtidos para filmes de sericina pura reticulados com PEG. Este efeito pode ser atribuído ao amido presente, sendo que os filmes de amido reticulados com PEG apresentam altos valores de umidade. Na Tabela 5.22 é demonstrado que o filme de sericina/amido reticulado com ácido succínico apresentou um valor maior de teor de umidade do que filmes de sericina ou amido reticulados com o mesmo agente reticulante, podendo atribuir esse fato ao caráter hidrofílico que ambos os biopolímeros possuem.

Tabela 5.20 – Teor de umidade e solubilidade em água dos filmes de blenda de sericina (50%) e amido (50%), com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com dimetiloluréia.

Teor de Dimetiloluréia (g DMU/g de polímero)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	21,36 ± 2,06 ^a	30,24 ± 1,09 ^a
0,1	17,19 ± 0,67 ^{ab}	13,58 ± 1,22 ^c
0,4	14,40 ± 1,64 ^b	16,22 ± 1,67 ^{bc}
0,7	12,50 ± 0,60 ^b	19,73 ± 0,41 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.21 – Teor de umidade e solubilidade em água dos filmes de blenda de sericina (50%) e amido (50%), com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de polímero)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	21,36 ± 2,06 ^a	30,24 ± 1,09 ^a
0,1	25,75 ± 0,86 ^a	16,25 ± 0,52 ^c
0,4	31,41 ± 0,75 ^b	17,39 ± 0,13 ^c
0,7	33,99 ± 0,49 ^b	25,56 ± 0,40 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.22 – Teor de umidade e solubilidade em água dos filmes de blenda de sericina (50%) e amido (50%), com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de polímero)	ϖ [g/100g _{filme}]	S_w [%]
0,0	21,36 ± 2,06 ^a	30,24 ± 1,09 ^a
0,005	32,11 ± 1,36 ^b	13,64 ± 1,66 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Ao contrario dos filmes de sericina reticulados com DMU, os filmes de blenda sericina/amido apresentam um aumento na solubilidade em água, conforme se tem o aumento do teor de DMU utilizado, acreditamos que esse efeito seja devido ao DMU não reticular bem o amido e/ou pelo caráter hidrofílico do amido, como já citado, mas comparado ao controle houve uma redução. O mesmo efeito pode ser visto nos filmes de blenda sericina/amido reticulados com PEG, onde podemos atribuir à mesma causa a uma possível baixa reticulação do amido pelo polietilenoglicol e/ou pelo caráter hidrofílico do amido, como foi para os filmes de blenda de sericina/amido reticulados com dimetiluréia.

Os valores de solubilidade em água dos filmes de sericina/amido reticulados com DMU se apresentam próximo aos encontrados para seus respectivos filmes de sericina. Entretanto, para os filmes reticulados com polietilenoglicol, os resultados encontrados foram bem maiores do que os apresentados para os filmes de sericina, sendo bem próximo dos valores encontrados para os filmes de amido. Nos filmes de sericina/amido reticulados com ácido succínico foi encontrado valor próximo aos encontrados para os filmes de sericina e os filmes de amido reticulados com o mesmo.

A Figura 5.16 representa a possível reticulação entre a sericina e o amido com o DMU, como citado anteriormente, enquanto a Figura 5.17 demonstra a ligação por condensação entre os grupamentos N-metilol do DMU com os grupos hidroxilas dos polímeros. Como visto anteriormente, em prática os filmes de amido reticulados com DMU não são formados, então acreditamos que no caso da mistura sericina/amido, o amido pode ficar amarrado entre as ligações cruzadas entre a sericina e o DMU.

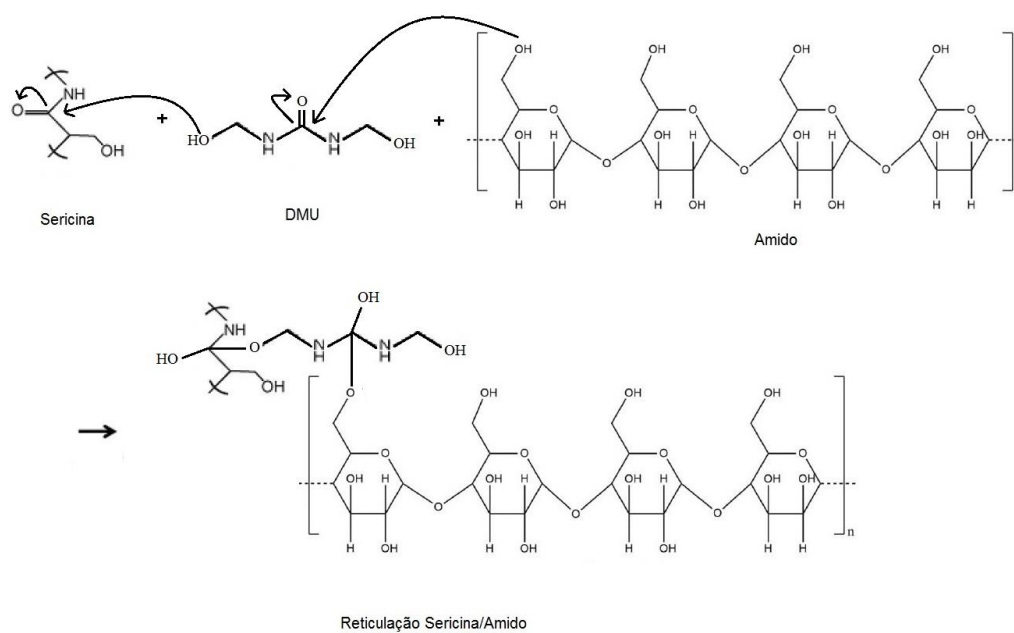


Figura 5.16: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com DMU.

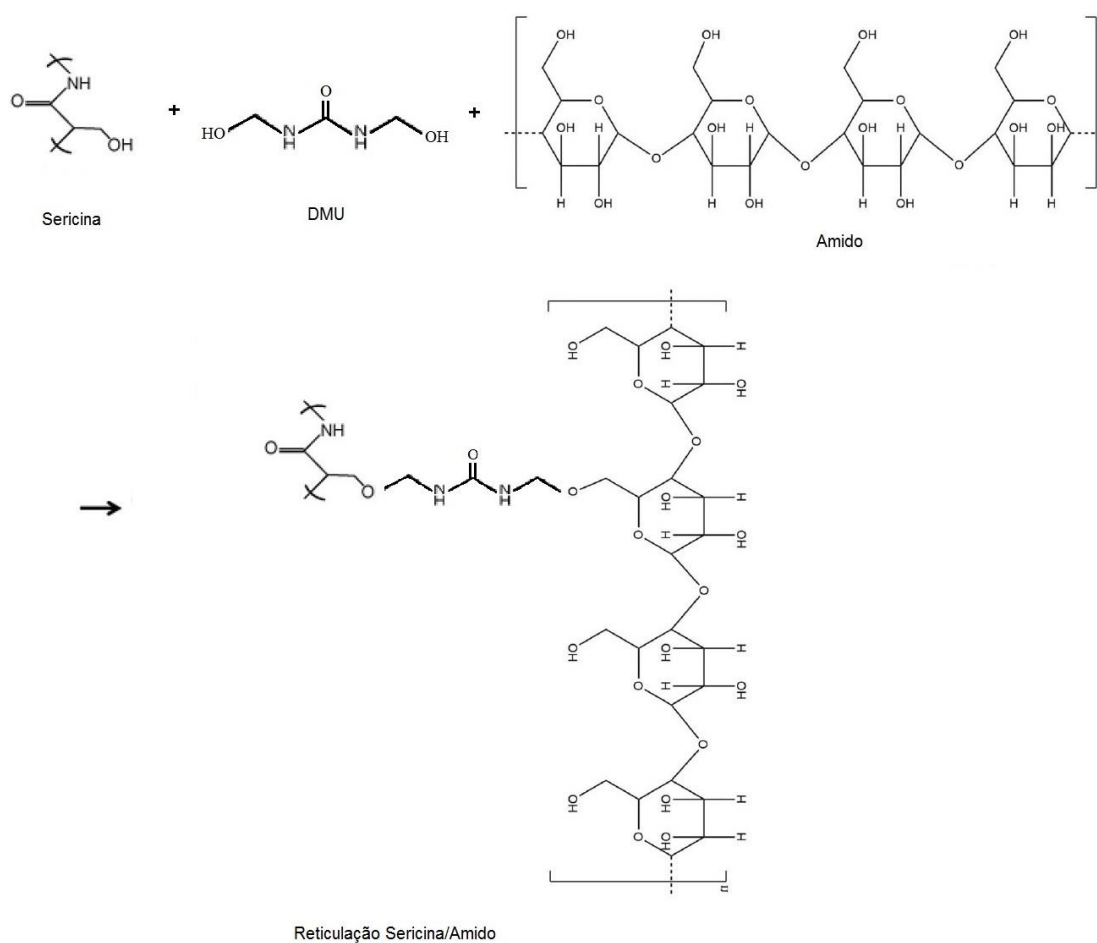


Figura 5.17: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com DMU por condensação.

A Figura 5.18 é uma esquematização da possível reticulação entre sericina e amido com polietilenoglicol, considerando a reação do grupo hidroxila do polietilenoglicol com o grupo amida da sericina e reação por condensação e entre as hidroxilas do amido e do polietilenoglicol. E a figura 5.19 representa a reticulação considerando a condensação entre os grupos hidroxila da sericina e do amido com os grupos hidroxila do polietilenoglicol.

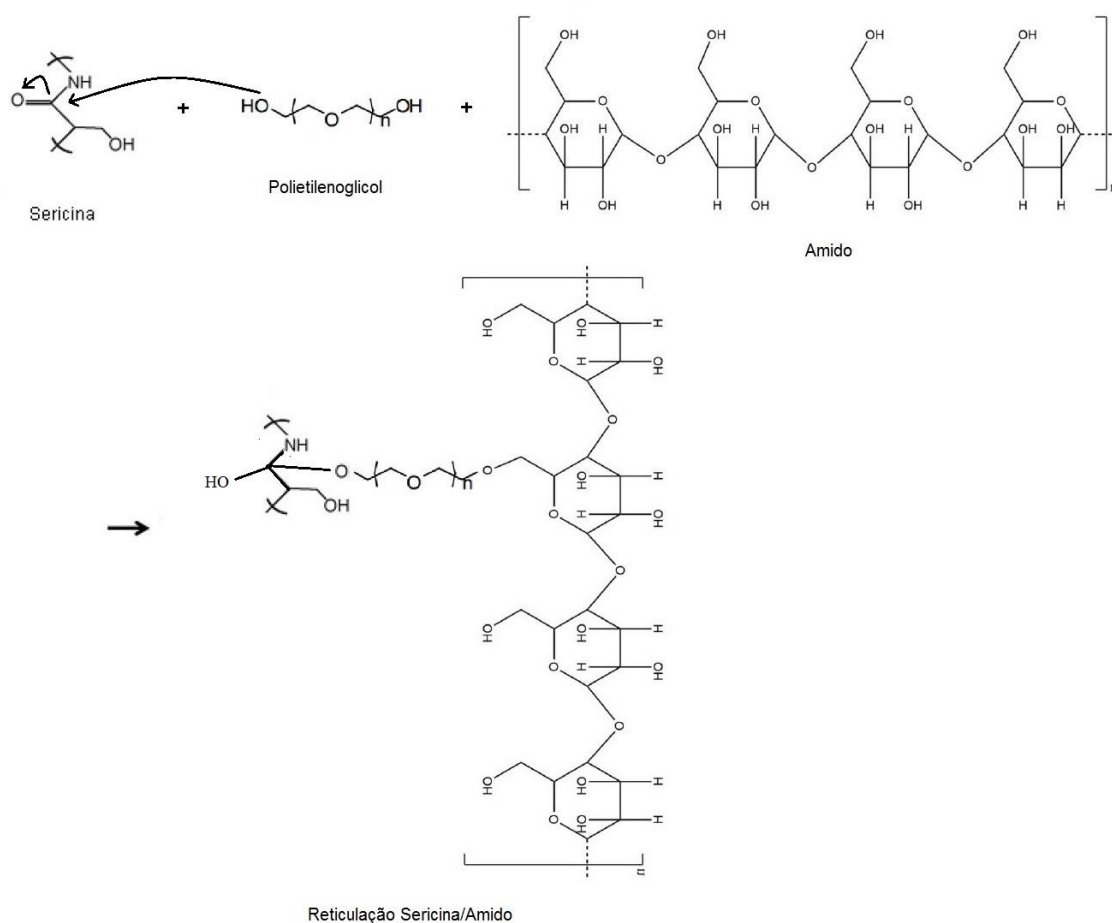


Figura 5.18: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com PEG.

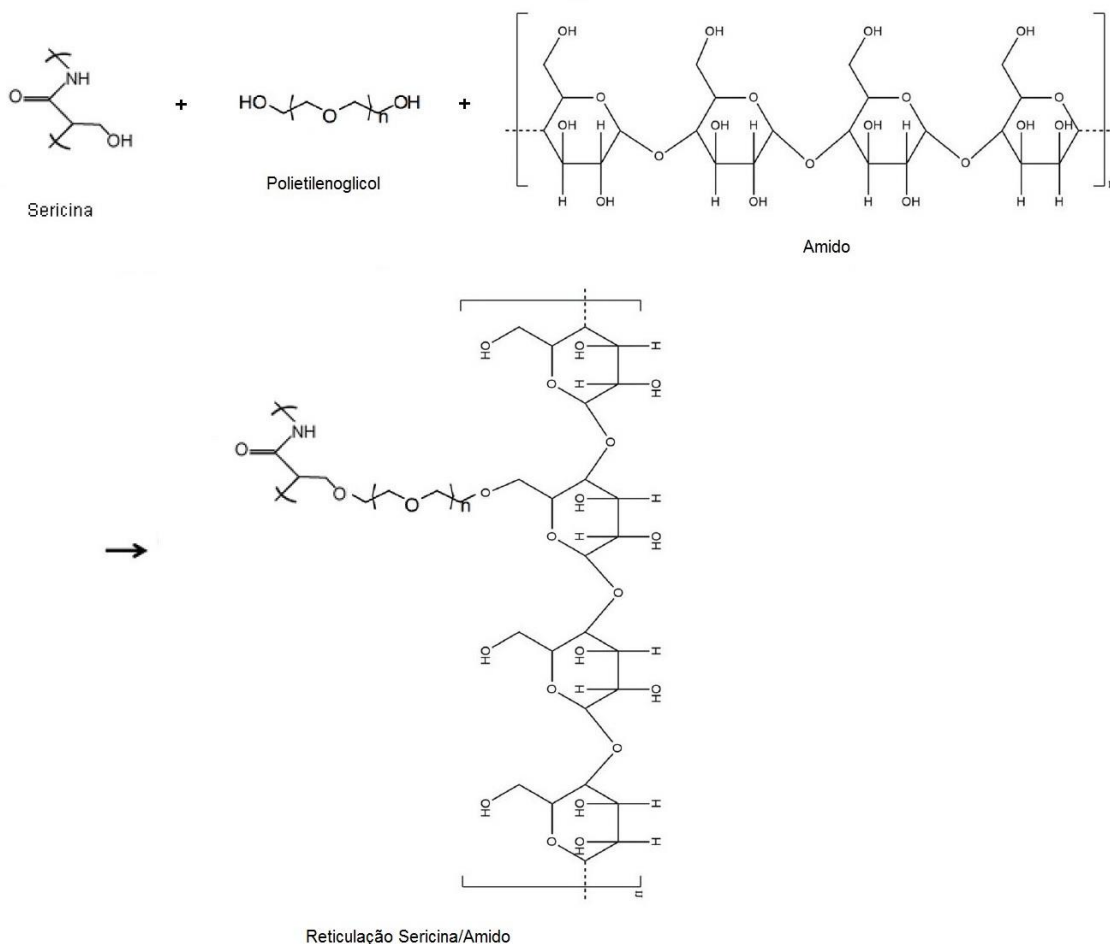


Figura 5.19: Esquematização da reticulação da sericina e do amido com PEG por condensação.

Como citado anteriormente, o ácido succínico somente formaria uma ligação monoéster com a sericina ou com o amido e ficando com um grupo carboxílico livre.

5.3.3. Grau de Intumescimento (*Swelling*)

Na Figura 5.20 podemos ver que os filmes de blendas de sericina e amido sem agente reticulante apresentaram altos valores de grau de intumescimento comparados com os filmes de sericina e filmes de amido sem agente reticulante. Como ambos os biopolímeros possuem caráter hidrofílico, uma blenda entre eles poderia apresentar essa maior absorção de água vista.

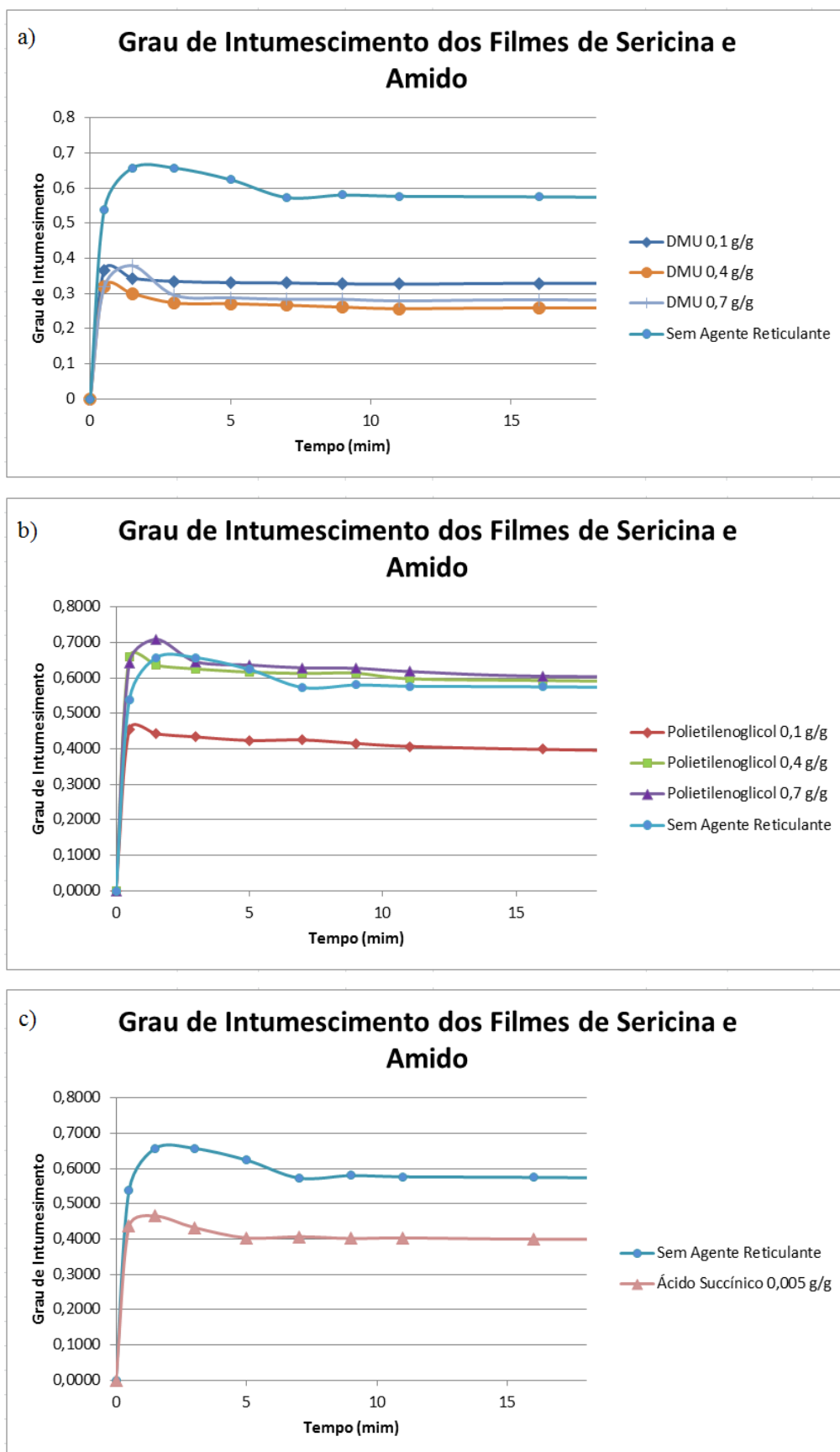


Figura 5.20: Grau de intumescimento dos filmes de blenda sericina/amido reticulados com a) Dimetiluréia, b) Polietilenoglicol e c) Ácido Succínico.

Filmes da blenda sericina/amido reticulados com ácido succínico e polietilenoglicol, também apresentam uma elevação dos valores comparados com os respectivos filmes somente de sericina, valores por volta de 60% a 71% para os reticulados por polietilenoglicol e 47% para os reticulados por ácido succínico. Efeito que também pode ser atribuído pela presença do amido. Porém os filmes da blenda reticulados com dimetiloluréia apresentou a mesma faixa de valores do que os filmes de sericina reticulados com este agente.

A relação entre os picos de intumescimento e o teor de agente reticulado empregado descrita no item 5.1.3, também é presente nos filmes de blendas de sericina e amido.

5.3.4. Permeabilidade ao Vapor de Água e Espessura

As espessuras (δ) encontradas para os filmes de sericina/amido estão em torno de $0,10 \pm 0,01$ mm, sendo os filmes reticulados com dimetiloluréia utilizando o teor de 0,4 g/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol empregando 0,1 g/g de biopolímero, e $0,17 \pm 0,02$ mm, sendo os filmes reticulados com polietilenoglicol utilizando o teor de 0,4 g/g de biopolímero, como apresentado nas Tabelas 5.23, 5.24 e 5.25.

Tabela 5.23 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de blenda sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com dimetiloluréia.

Teor de Dimetiloluréia (g DMU/g de polímero)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	$0,12 \pm 0,02^{ab}$	$3,61 \pm 0,50^a$
0,1	$0,13 \pm 0,01^a$	$7,87 \pm 0,55^b$
0,4	$0,10 \pm 0,01^b$	$3,88 \pm 0,24^a$
0,7	$0,14 \pm 0,01^a$	$3,02 \pm 0,43^a$

Nota: Média \pm Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.24 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de blenda sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de polímero)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	0,12 ± 0,02 ^{ab}	3,61 ± 0,50 ^a
0,1	0,10 ± 0,01 ^a	4,44 ± 0,16 ^a
0,4	0,17 ± 0,02 ^c	12,39 ± 0,86 ^b
0,7	0,15 ± 0,01 ^{bc}	17,15 ± 0,54 ^c

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.25 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de blenda sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de polímero)	δ [mm]	K_{vap} [(g.mm)/(m ² .dia.kPa)]
0,0	0,12 ± 0,02 ^a	3,61 ± 0,50 ^a
0,005	0,13 ± 0,02 ^a	6,98 ± 0,32 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Os filmes de sericina/amido apresentam permeabilidade ao vapor de água bem próximo aos filmes de sericina presentes na Tabela 5.3, porém mais elevados, o que podemos atribuir a presença do amido nos filmes, devido ao seu caráter mais hidrofílico, que contribui para com o efeito de absorção de água na monocamada, mesmo efeito proporcionado pelo polietilenoglicol. Quase todos os filmes também apresentam características moderadas de permeabilidade ao vapor de água, de acordo com a Tabela 5.8.

Estes filmes também apresentam o mesmo padrão em relação a quantidade de agente reticulante empregado para sua confecção, sendo que o aumento do teor de DMU, provoca uma redução na permeabilidade, e contrariamente o aumento do teor de PEG, provoca um aumento na permeabilidade dos filmes, como citado anteriormente para os

filmes de sericina, provavelmente o polietilenoglicol deve estar agindo mais como agente plastificante do que agente reticulante.

5.3.5. Propriedades Mecânicas

Os valores exibidos nas Tabelas 5.26, 5.27 e 5.28 apresentam as mesmas influências causadas pelos agentes reticulantes como foi citado anteriormente na seção 5.1.5. Como por exemplo, o aumento do teor de DMU, provoca o aumento da tensão na ruptura e a redução do alongamento, enquanto o aumento do teor de PEG provoca a redução de ambo os parâmetros.

Pode se notar uma diferença entre os valores presentes nas tabelas dessa seção para as tabelas da seção 5.1.5, praticamente em todos os valores, tanto tensão na ruptura, alongamento ou módulo de Young, apresentam valores menores, podemos atribuir esta consequência à adição do amido para formação de blendas. Como visto nos resultados encontrados para os filmes de amido nas tabelas da seção 5.2.5, eles são valores baixos comparados com os resultados dos filmes de sericina, sendo assim, deve ter provocado a diminuição da rigidez do sistema, tornando o material mais frágil.

Tabela 5.26 – Propriedades mecânicas dos filmes blenda de sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com dimetiloluréia.

Teor de Dimetiloluréia (g DMU/g de polímero)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	$0,11 \pm 0,01^a$	$8,29 \pm 2,24^a$	$1,69 \pm 0,75^a$	$5,77 \pm 1,02^a$
0,1	$0,10 \pm 0,01^a$	$11,88 \pm 1,25^b$	$10,10 \pm 5,64^c$	$4,92 \pm 0,43^{ac}$
0,4	$0,11 \pm 0,01^a$	$17,85 \pm 1,28^c$	$7,86 \pm 3,85^{bc}$	$7,32 \pm 0,68^{bc}$
0,7	$0,14 \pm 0,01^b$	$18,85 \pm 2,18^c$	$4,88 \pm 1,22^{ab}$	$6,92 \pm 0,81^b$

Nota: Média \pm Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Tabela 5.27 – Propriedades mecânicas dos filmes blenda de sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com polietilenoglicol.

Teor de Polietilenoglicol (g PEG/g de polímero)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,11 ± 0,01 ^a	8,29 ± 2,24 ^a	1,69 ± 0,75 ^a	5,77 ± 1,02 ^a
0,1	0,10 ± 0,01 ^a	9,02 ± 0,70 ^a	19,20 ± 3,75 ^c	3,25 ± 0,51 ^b
0,4	0,14 ± 0,01 ^b	4,41 ± 0,44 ^b	25,48 ± 3,74 ^d	1,00 ± 0,11 ^c
0,7	0,15 ± 0,01 ^c	2,16 ± 0,19 ^c	10,13 ± 1,66 ^b	0,50 ± 0,03 ^c

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

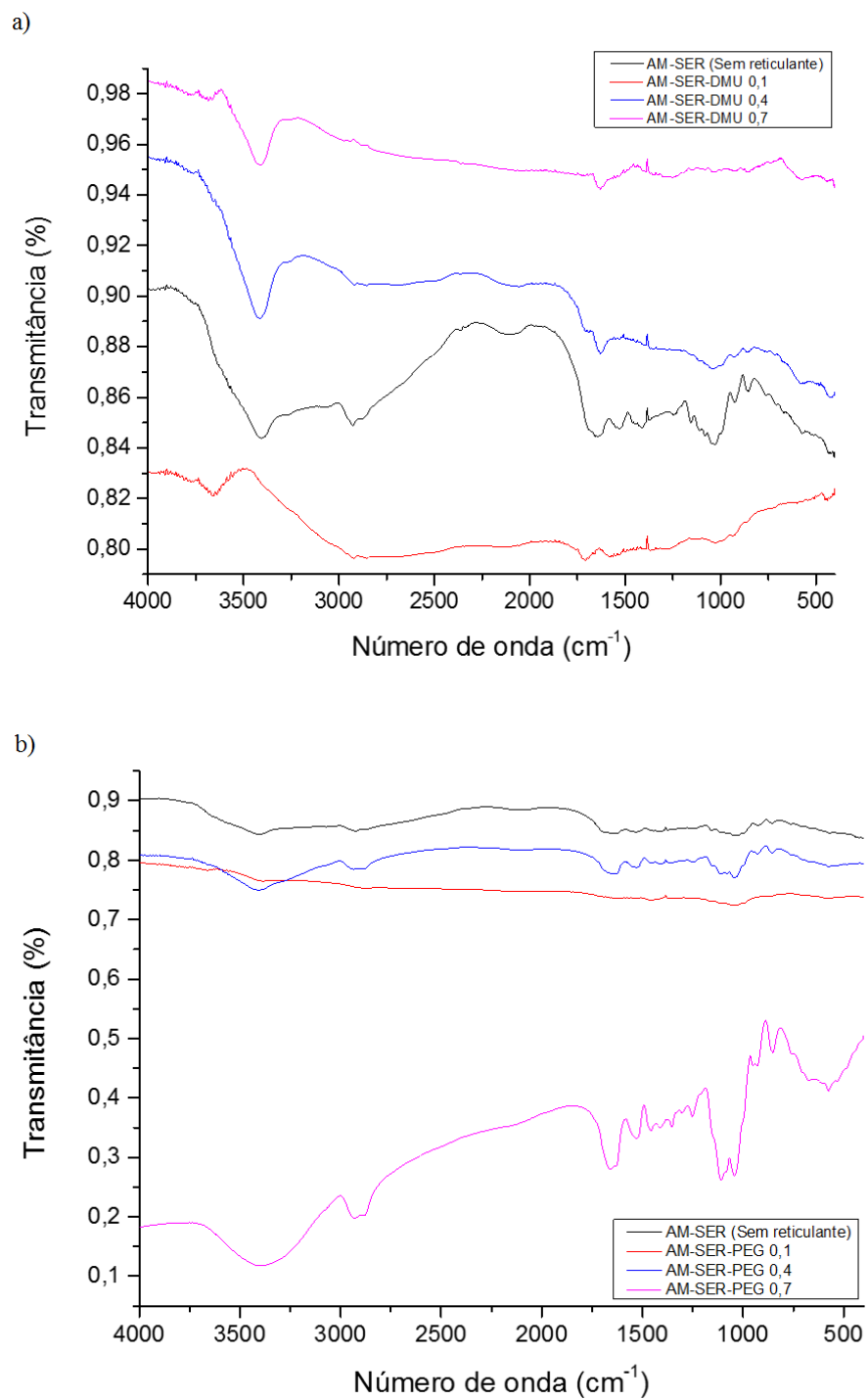
Tabela 5.28 – Propriedades mecânicas dos filmes blenda de sericina (50%) e amido (50%) com teor de 0,6 g de glicerol/g de biopolímero e reticulados com ácido succínico.

Teor de Ácido Succínico (g AS/g de polímero)	δ [mm]	T [MPa]	ε [%]	Y [MPa]
0,0	0,11 ± 0,01 ^a	8,29 ± 2,24 ^a	1,69 ± 0,75 ^a	5,77 ± 1,02 ^a
0,005	0,14 ± 0,02 ^b	6,60 ± 1,21 ^a	10,85 ± 3,16 ^b	2,20 ± 0,86 ^b

Nota: Média ± Desvio Padrão. Nota: Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

5.3.6. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Foram citadas anteriormente as bandas características da sericina e do amido. Nos espectros apresentados na Figura 5.21, os filmes da mistura de sericina e amido reticulados com dimetiluréia somente banda de absorção da amida I é a que aparece mais claramente das características da sericina. Também pode se observar uma banda entre 1200 e 1000 cm^{-1} que são características de vibração C–H e O–H e vibrações do estiramento C–OH. Quase todos os filmes também apresentam uma banda em 3500 cm^{-1} , como foi citado, podendo ser atribuída à absorção de estiramento N–H de grupos amida sobreposta com a forte absorção O–H, além de poder observar uma banda de absorção em 2900 cm^{-1} no filme sem agente reticulante.



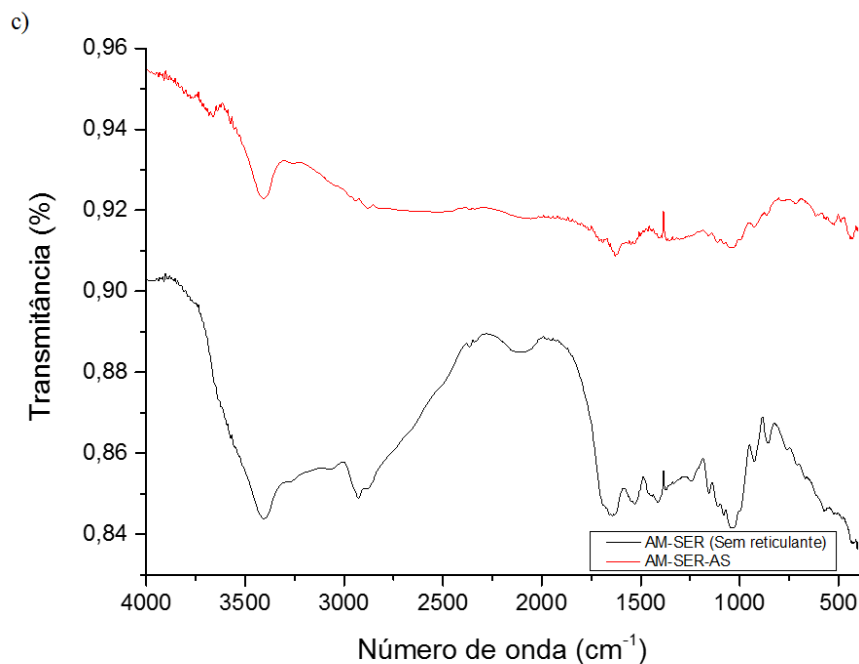


Figura 5.21: Espectros FTIR dos filmes de sericina/amido utilizando vários agentes reticulantes, a) filmes reticulados com dimetiloluréia, b) filmes reticulados com polietilenoglicol e c) filme reticulado com ácido succínico.

Os filmes da brenda de sericina e amido reticulados com polietilenoglicol e ácido succínico também não apresentaram bons espectros para avaliação, dessa forma também se indica utilização da técnica de ATR em futuras análises de FTIR.

5.3.7. Difração de Raios-X

Para os filmes de sericina/amido reticulados com dimetiloluréia, polietilenoglicol e ácido succínico foram obtidas as curvas mostradas na Figura 5.22 nas análises de difração de raios-X.

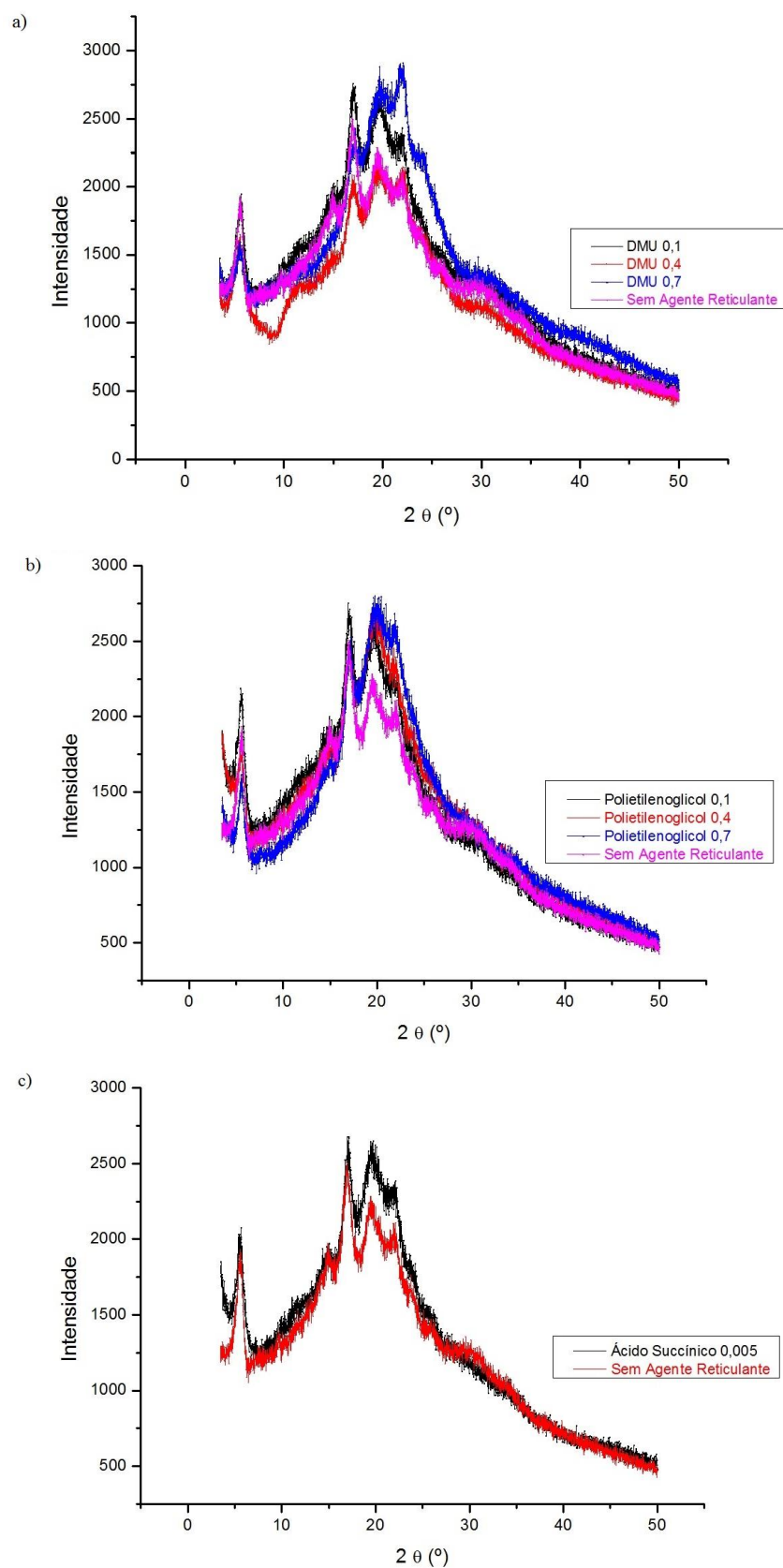


Figura 5.22: Difratoograma de Raios-X de filmes de sericina/amido, a) reticulados com dimetiloluréia, b) reticulados com polietilenoglicol e c) reticulado com ácido succínico.

As curvas obtidas para os filmes de sericina/amido apresentam características tanto de sericina quanto de amido em seus picos. As características associadas ao amido são as que mais se destacam, sendo elas, o pico inicial em 6° , um pico em $17,5^\circ$ e um duplete em 21° e $23,5^\circ$. Enquanto as características da sericina são mais modestas, podendo ser notadas pelos ombros em $13,5^\circ$ e $30,5^\circ$.

Da mesma maneira que os filmes de amidos, os filmes de sericina/amido não apresentaram leve aumento na orientação molecular devido ao emprego de agentes reticulantes em sua formulação. Pode-se notar também que o aumento do teor de dimetiloluréia ou de polietilenoglicol nos filmes de sericina/amido, promoveu uma elevação do pico em $23,5^\circ$.

5.3.8. Conclusão Parcial

Os filmes da blenda de sericina e amido apresentaram boas qualidades visuais, possuindo coloração amarelada menor da que a apresentada nos filmes somente de sericina, além de serem transparentes, homogêneos e flexíveis.

As influências causadas pelo aumento do teor do agente reticulante utilizado, foram semelhantes às provocadas nos filmes somente de sericina. Exceto nas análises de solubilidade que exibiram um aumento de valores com o aumento no teor de agente reticulante utilizado.

Devido ao amido não sofrer boa reticulação com dimetiloluréia e polietilenoglicol, e também seu caráter hidrofílico, provocou um aumento nos valores de solubilidade e permeabilidade ao vapor de água, comparados aos mesmos filmes somente de sericina. Enquanto os filmes reticulados por ácido succínico destacaram pela menor solubilidade apresentada.

6. CONCLUSÃO

1 – Os filmes que possuíam sericina apresentaram boas qualidades visuais, tons levemente amarelados, homogeneidade e flexíveis. Enquanto os filmes de amido apresentavam leves tons esbranquiçados e uma grande fragilidade ao manuseio. Os filmes de sericina/amido produzidos apresentaram homogeneidade e flexibilidade, além de serem quase transparentes, com tons bem leves de amarelo.

2 – A maioria dos filmes apresentaram moderadas propriedades de barreira ao vapor de água, exceto para os filmes de sericina reticulados com 0,7 g de PEG/g de sericina e os filmes de sericina/amido reticulados também polietilenoglicol, nas concentrações de 0,4 e 0,7 g de PEG/g de biopolímero. Sendo que o aumento do teor de dimetiloluréia provocou uma redução na permeabilidade ao vapor de água do filme, enquanto o aumento do teor de polietilenoglicol proporcionou uma elevação da permeabilidade.

3 – O aumento do teor de dimetiloluréia nos filmes apresentou um aumento na resistência à ruptura e uma redução ao alongamento. Porém o aumento do teor de polietilenoglicol ocasionou tanto uma redução na tensão de ruptura como no alongamento.

4 – Os filmes reticulados com ácido succínico apresentaram bons resultados para os filmes de sericina e filmes de blenda de sericina/amido. Porém para os filmes de amido, a incorporação de ácido succínico como agente reticulante provocou um grande enfraquecimento na rigidez do sistema.

5 – De modo geral, considerando os valores mais adequados e visando a menor utilização de agente reticulante, os filmes que mais se destacaram foram os reticulados com dimetiloluréia e polietilenoglicol com o teor de 0,1, tanto para os filmes de sericina como para os filmes de sericina/amido. Deve se ressaltar que cada tipo de aplicação requerem propriedades específicas, dessa forma deve se avaliar o filme que melhor se adequa.

6 – Em termos ecológicos, o melhor agente reticulante a ser utilizado deve ser o polietilenoglicol, por apresentar uma toxidez muito baixa, a menor entre três agentes reticulantes utilizados, além de não se acumular no meio ambiente e principalmente por ser biodegradável.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Continuar a investigando a utilização de outros agentes reticulantes que sejam compatíveis para a sericina, focando principalmente em agentes reticulantes cada vez menos tóxicos.
- Realizar a caracterização de filmes de misturas de sericina e outros polímeros, como por exemplo, o alginato de sódio, quitosana, entre outros. Utilizando o polietilenoglicol como agente reticulante, por apresentar melhorias nas propriedades dos filmes e por possuir baixa toxicidade.
- Investigar as propriedades das misturas entre sericina e outros polímeros em diferentes frações de mistura, uma vez que no presente trabalho somente foi utilizada a fração de 50% sericina/50% amido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHN, J. S.; CHOI, H. K.; LEE, K. H.; NAHM, J. H.; CHO, C. S. Novel mucoadhesive polymer prepared by template polymerization of acrylic acid in the presence of silk sericin. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 80, p. 274-280, 2001.
- ALVES, R. M. L.; GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F. Pre-gelatinized starch of *Dioscorea alata* – functional properties. *Food Chemistry*, Oxon, v. 67, n. 2, p.1 23-127, 1999.
- ANDREANI, L. *Propriedades térmicas, mecânicas e estabilidade de filmes de pectina cítrica e poli(4-estirenosulfonato de sódio)*. Florianópolis: Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 29 p., Trabalho de Conclusão de Curso, 2005.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. *Food Chemistry*, v. 62, n. 6, p. 333-342, 1998.
- ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G.; OGAWA, H.; KAWASAKI, N. Biodegradable films made from low-density polyethylene (LDPE), rice starch and potato starch for food packaging applications: Part 1. *Carbohydrate Polymers*, v. 36, p. 89-104, 1998.
- ASTM. *Standard test methods of water vapor transmission of materials*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, E 96-95, 1995b.
- AVELLA, M.; VIEGGER, J. J.; ERRICO, M. E.; FISCHER, S.; VACCA, P.; VOLPE, M. G. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chemistry*, v. 93, p. 467-474, 2005.
- AVÉROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. *Carbohydrates Polymers*, v.56, p.111-122, 2004.
- BANKER, G. S. Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Science*, Washington, v. 55, n. 1, p. 81-89, 1966.
- BASTIOLI, C. *Handbook of Biodegradable Polymers*. 1. ed. Shawbury: Rapra Technology Limited, 2005. 533 p.
- BENINCA, C. *Emprego de técnicas termoanalíticas na análise de amidos nativos e quimicamente modificados de diferentes fontes botânicas*. Ponta Grossa: Programa de Pós-Graduação Stricto sensu, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 74 p. Dissertação de Mestrado, 2008.
- Bierhalz, A. C. K. *Confecção e caracterização de biofilmes ativos à base de pectina btm e de pectina btm/alginato reticulados com cálcio*. Campinas: Faculdade De Engenharia Química, Universidade Estadual De Campinas, 126 p., Dissertação de Mestrado, 2010.

BIGI, A.; PANZAVOLTA, S.; RUBINI, K. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. *Biomaterials*, v. 25, p. 5675-5680, 2004.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food hydrocolloid*, v.21, p.1153-1162, 2007.

CAVALCANTI, O. A.; VAN DEN MOOTER, G.; CARAMICO-SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings. permeability and swelling properties of casted films. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v.28, n. 2, p. 157-164, 2002.

CEREDA, M. P.; CHUZEL, G. C.; VILPOUX, O.; NUNES, O. L. G. da S. Modificação de fécula por fermentação, In: LIMA U. de A. *Biotecnologia Industrial*, v. 3, cap. 20, São Paulo: Edgard Blücher Ltda, p. 413-417, 2001.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Progress in Polymers Science*, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHEETHAM, N. W. H.; TAO, L. Variation i crystalline type with amylose contente in maize starch granules: na X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate Polymers*, n. 36, p. 277-284, 1998.

CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. *Journal of Dairy Science*, v.78, n.11, p.2563-2583, 1995.

CHEN, S.; NUSSINOVITCH, A. The role of xanthan gum in traditional coatings of easy peelers. *Food Hydrocolloids*, v. 14, n. 4, p. 319-326, 2000.

CHO, K. Y.; MOON, J. Y.; LEE, Y. W.; LEE, K. G.; YEO, J. H.; KWEON, H. Y.; KIM, K. H.; CHO, C. S. Preparation of self-assembled silk sericin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 32, p. 36-42, 2003.

COFFIN, D. R.; FISHMAN, M. Physical and mechanical properties of highly plasticized pectin/starch films. *Journal of Applied Polymer Science*, v.54, n.9, p.1311-1320, 1994.

CORRÊA, S. J. P. *Utilização de filmes a base de pectina contendo extrato de própolis vermelha para recobrimento de sementes de girassol*. Aracaju: Programa De Pós-Graduação Em Saúde E Ambiente, Universidade Tiradentes, 80 p., Dissertação de Mestrado, 2011.

COZZONE, A.J. *Proteins: Fundamental Chemical Properties - Institute of Biology and Chemistry of Proteins. Encyclopedia of Life Sciences*, Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group, France, 2002.

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*, 61.,3, p.580-584, 1996.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In *Active Food Packaging*, M. Rooney (Ed.), p. 111-142, 1995.

DAVANCO, T.; TANADA-PALMU, P.; GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou caprótico: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 27, n. 2, p. 408-416, 2007.

DEBEAUFORT, F.; QUEDAZA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings, tomorrow's packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science*, v.38, p. 299-313, 1998.

DIAS, A. B. *Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz*. Florianópolis: Programa De Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal De Santa Catarina, 103 P., Dissertação de Mestrado, 2008.

DONHOWE, G.; FENNEMA, O. The effects of plasticizers on cristallinity, permeability, and mechanical properties of methylcelulose films. *Journal of Food Processing Preservation*, v.17, p.247-257, 1993.

EISENBERG, A. *The glassy state and the glass transition*, In: MARK, J. E.; EISENBERG, A.; GRAESSLEY, W. W.; MALDELKERN, L.; SAMULSKI, E. T.; KOENIG, J. L. WIGNAL, G. D. *Physical Properties of Polymers*. Washington: American Chemical Society, 1993, pp.88-89.

FABIANI, C.; PIZZICHINI, M.; SPADONI, M.; ZEDDITA, G. Treatment of waste water from silk degumming processes for protein recovery and water reuse. *Desalination*, v. 105, p. 1-9, 1996.

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 (*malphigiaemarginata*d.c.). *Quimica Nova*, São Paulo, v. 35, n. 3 p.546-552, 2012.

FEIL, H. Biodegradable plastics from vegetable raw materials. *Agro Food Industry HiTech* Julho/Agosto, 1995.

FISPQ – Merck - <http://www.icb.ufmg.br/portal/index.php/2013-09-06-19-55-46/2013-09-06-20-05-05/gerencia-de-residuos/category/37-fispq-merck?download=602:cido-succinico&start=80>, acessado dia 3 de julho de 2014, às 16:40.

FISPQ – Viafarma – <http://www.viafarmanet.com.br/site/downloads/fispqs/POLIETILENOGLICOL%20400.pdf> f. Acessado dia 3 de julho de 2014, às 16:53.

FREDERICO, G. *An Economic History of the Silk Industry - 1830-1930*, United Kingdom, Cambridge University Press, p. 1-7, 1997.

GALIETTA, G.; DI GIOLA, L.; GUILBERT, S.; CUQ, B. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 3123-3130, 1998.

GARCIA, M. A. *Desarrollo de recubrimientos de matriz amilósica para vegetales*. 1999. Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Facultad de Ciência Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

GARCIA, P. S. *Ação compatibilizante de ácido carboxílico, anidrido e sericina em filmes tubulares de amido e poliéster produzidos por extrusão-reativa*. Londrina: Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimento, Universidade Estadual de Londrina, 159 p., Dissertação de Doutorado, 2014.

GENNADIOS, A.; BRANDENBURG, A. H.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.41, p.1835-1839, 1993.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technology*, v. 44, p. 63-69, 1990.

GIMENES, M. L.; LIU, L.; FENG, X.; Sericin/poly(vinyl alcohol) blend membranes for pervaporation separation of ethanol/water mixtures. *Journal of Membrane Science*, v. 295, p. 71-79, 2007.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: Technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. *Boletim SBCTA*, v. 30, p. 3-15, 1996.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier property of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, v. 58, n.1, p. 206-211, 1993.

GONTARD, N.; MARCHESSEAU, C., J.L.S.; GUILBERT, S. Water vapour permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. *International Journal of Food Science and Technology*, v.30, p.49-56, 1995.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In *Food Packaging and Preservation*. M. Mathlouthi (Ed), Elsevier Applied Science Publishers, Ltd, New York, p. 371-394, 1986.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Additives and Contaminants*, London, v. 14, n. 6-7, p. 741-751, 1997.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L. G. M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, v.29, n.1-2, p.10-17, 1996.

HOJO N.; KOMATSU, K. *in Structural basis of silk fibre; in Structure of silk yarn vol I biological and physical aspects*, Oxford, Science Publishers, Inc: 1980.

HOLANDA, P. R. H.; MATA S. F.; LIMA, A. G. B. Propriedades físicas e secagem de casulos do bicho-da-seda em leito fixo: uma investigação teórica e experimental. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v.6, n. 2, p.101-114, 2004.

- IRISSIN-MANGATA, J.; BAUDUIN, G.; BOUEVIN, B.; GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. *European Polymer Journal*, v.37, p.1533-1541, 2001.
- JANGCHUD, A.; CHINNAN, M.S. Properties of Peanut Protein Film: Sorption isotherm and plasticizer effect. *Technology*, v.32, p.89-94, 1999.
- JAYAKODY, L.; HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. *Food Research International*, n. 35, p. 665-680, 2002.
- JIANG, P.; LIU, H.; WANG, C.; WU, L.; HUANG, J.; GUO, C. Tensile behaviour and morphology of differently degummed silkworm (*Bombyx mori*) cocoon silk fibers. *Materials Letters*, v. 60, p. 919-925, 2006.
- KATO, H.; HATA, T.; TSUKADA, M. Potentialities of natural dyestuffs as antifeedants against varied carpet beetle *Anthrenus verbasci*. *Japan Agricultural Research Quarterly*, v. 38, p. 241-251, 2004.
- KATO, N.; SATO, S.; YAMANKA, A.; YAMADA, H.; FUWA, N.; NOMURA, M. Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 62, p. 145-147, 1998.
- KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.
- KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 3912-3918, 2002.
- KONGDEE, A.; BECHTOLD, T.; TEUFEL, L. Modification of Cellulose Fiber with Silk Sericin. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 96, p.1421-1428, 2004.
- KORTSTEE, J. A.; SUURS, L. C. J. M.; VERMEESCH, A. M. G.; KEETELS, C. J. A. M.; LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch/Stärke*, Weinheim, v. 56, n. 8, p. 348-356, 1998.
- KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunities. In: GENNADIOS, A. *Protein-Based Films and Coatings*. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2002. 672p.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. D. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technology*, v. 51, p. 61-73, 1997.
- KROTCHA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPERO-CARRIEDO, M. O.; In: *Edible Coating and Films to Improve Food Quality*. Ed. Technomic Publishing Company, Inc. USA., 10a. ed., 1994, 379p.
- KWEON, H. Y.; UM, I. C.; PARK, Y. H. Thermal behavior of regenerated *Antheraea pernyi* silk fibroin film treated with aqueous methanol. *Polymer*, v. 41, p. 7361-7367, 2000b.

LAMOOLPHAK, W.; DE-EKNAMKUL, W.; SHOTIPRUK, A. Hydrothermal production and characterization of protein and amino acids from silk waste. *Bioresearch Technology*, v. 99, p.7678–7685, 2008.

LAWTON, J. W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. *Carbohydrate Polymers*, v. 29, p. 203-8, 1996.

LEE, K. G.; KWEON, H. Y.; YEO, J. H.; WOO, S. O.; LEE, Y. W.; CHO, C. S.; KIM, K. H.; PARK, Y. H. Effect of methyl alcohol on the morphology and conformational characteristics of silk sericin. *Biological Macromolecules*, v. 33, p. 75-80, 2003.

LEE, K. H. Silk sericin retards the crystallization of silk fibroin. *Macromolecular Rapid Communications*, v. 25, p. 1792-1796, 2004.

LEWIN, M.; PEARCE, E. M. *Handbook of Fiber Chemistry*, Ed. Marcel Dekker, 2^aed.-Revisada e Expandida, 1083p., Nova York, 1998.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. *Caracterização de Polímeros – determinação de peso molecular e análise térmica*. Editora e-papers, Rio de Janeiro-RJ, 2001.

MACHADO, T. R. *Elaboração e avaliação de filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca e bagaço de cevada*. Anápolis: Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, 56 p., Trabalho de Conclusão de Curso, 2013.

MAHMOODI, N. M.; ARAMI, M.; MAZAHARI, F.; RAHIMI, S. Degradation of sericin (degumming) of Persian silk by ultrasound and enzymes as a cleaner and environmentally friendly process. *J. Cleaner Prod.*, v. 18, p. 146-151, 2010.

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: Aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – B. CEPPA*, v. 18, n. 1, p. 105-128, 2000.

MAIKRANG, K.; ARAMWIT, P. Preparation of sericin film with different polymers. *Proceedings*, v. 23, p. 1356-1358, 2009.

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

MALI, S.; GROSSMAN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N. ZARITZKY, N. E.; Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, v. 50, n. 1 p.379 - 386 2002.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, v. 56, p. 129-135, 2004.

MANDAL, B. B.; PRIYA, A. S.; KUNDU, S. C. Novel silk sericin/gelatin 3-D scaffolds and 2-D films: Fabrication and characterization for potential tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, v. 5, p. 3007-3020, 2009.

MARCELINO, A. G. *Desenvolvimento tecnológico da extração da sericina e preparação de nanopartículas para aplicação em cosméticos*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 146 p., Dissertação de Mestrado, 2008.

MARTELLI, S. M.; MOORE, G.; PAES, S. S.; GANDOLFO, C.; LAURINDO, J. B. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. *Food Science and Technology*, v. 39, p.292-301, 2006.

MARTIN-POLO, M.; MAUGUIN, C.; VOILLEY, A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. *Journal of Agricultural Chemistry*, v. 40, p. 407-412, 1992.

MATSUYAMA, H.; TERAMOTO, M.; SAKAKURA, H.; IWAI, K. Facilitated transport of CO₂ through various ion exchange membranes prepared by plasma graft polymerization. *Journal of Membrane Science*, v. 117, p. 251-260, 1996.

MATTA, M. D. J.; SARMENTO, S. B. S.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. *Polímeros*, v. 2, n.3, p. 11-12, 2011.

MAUERSBERGER, Herbert R. *MATTHEWS`TEXTILE FIBERS Their Physical, Microscopic, and Chemical Properties*. 6^o ed. Chapman & Hall, Londres, 1954.

McHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Milk-protein-based edible films and coating. *Food Technology*, v. 48, n. 1, p. 97-103, 1994.

MIYAGUCHI, Y.; HU, J. Physicochemical properties of silk fibroin after solubilization using calcium chloride with or without ethanol. *Food Sci.Technol. Res.*, v. 11, n. 1, p.37-42, 2005.

MIYAKE, H.; WAKISAKA, H.; YAMASHITA, Y.; NAGURA, M. Moisture characteristic and structure of high molecular weight sericin films. *Polymer Journal*, v. 35, n. 8, p. 683-687, 2003.

MORI, H.; TSUKADA, M. New silk protein: modification of silk protein by gene engineering for production of biomaterials. *Rev. Mol. Biotechnol.*, v. 74, p. 95–103, 2000.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. *Organic Chemistry*, 6th ed., Prentice Hall, 1992.

NORAJIT, K.; KIM, K. M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering*, v. 98, p. 377–384, 2010.

OLIVEIRA, A. F., *Desenvolvimento, caracterização e aplicação de biofilmes e esferas obtidos a partir de carboximetilcelulose e alginato de sódio em processos de liberação*

controlada de nutrientes. Florianópolis: Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 150 p., Dissertação de Doutorado, 2009.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; PADULA, M.; GARCIA, E. E. C.; COLTRO, L. *Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis*. Campinas: CETEA/ITAL, 202 p., 1996.

PADAMWAR, M. N.; PAWAR, A. P.; DAITHANKAR, A.V.; MAHADIK, K.R. Silk Sericin as a moisturizer: an in vivo study. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v.4, p. 250-257, 2005.

PALMU, P. T.; FAKHOURI, M. F.; GROSSO, C. R. F. Extensão da vida útil de frutas tropicais. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, p. 12-17, 2002.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. S. Gas and water barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *Journal of Food Engineering*, v. 25, p. 497-507, 1995.

PAVLOVIC, S.; BRANDÃO, P. R. G. Adsorption of Starch, Amylose, Amylopectin and Glucose Monomer and their Effect on the Flotation of Hematite and Quartz. *Minerals Engineering*. 16, 1117-1122. 2003

PLÁCIDO, G. R. *Extração, caracterização e uso da queratina de penas de frango para a obtenção de filmes biodegradáveis*. Florianópolis: Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 128p., Dissertação de Doutorado, 2007.

REIS, L. C. B., *Formulação e caracterização de filmes biodegradáveis de fécula de mandioca incorporados com polpa de manga e extrato de erva-mate, e seu efeito na preservação de alimentos*, Salvador: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 151 p., Dissertação de Mestrado, 2011.

RHIM, J. W.; GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. Sodium dodecyl sulfate treatment improves properties of cast films from soy protein isolate. *Industrial Crops and Products*, v.15, n. 2, p.199–205, 2002.

RIGUEIRO, J. P.; ELICES, M.; LLORCA, J.; VINEY, C. Tensile properties of silkworm silk obtained by forced silking. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 82, p. 1928-1935, 2001.

ROBERTSON, G. L. Optical and mechanical properties of thermoplastic polymers, in *Food Packaging: Principles and Practice*, New York, Marcel Dekker, p. 63-107, 1993.

RYU, S. Y.; RHIM, J. W.; ROH, H. J.; KIM, S. S. Preparation and Physical Properties of Zein-Coated High-Amylose Corn Starch Film. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, London, v. 35, n. 8, p. 680-686, 2002.

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*. 1. ed. Campinas: CETEA/ITAL, 267 p., 2002.

SCOTT, G. “Green” polymers. *Polymer Degradation and Stability*, v. 68, p. 1-7, 2000.

SHEN, Y.; JOHNSON, M. A.; MARTIN, D. C. Microstructural characterization of bombyx mori silk fibers. *Macromolecules*, v. 31, p. 8857-8864, 1998.

SHI, R.; BI, J.; ZHANG, Z.; ZHU, A.; CHEN, D.; ZHOU, X.; ZHANG, L.; TIAN, W. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. *Carbohydrate Polymers*, v. 74, p. 763-770, 2008.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.

SILVA, V. R. *Obtenção e análise de sericina de alta massa molar mediante extração aquosa e ultrafiltração e avaliação do seu potencial biossortivo*. Curitiba: Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 180 p., Dissertação de Doutorado, 2013.

SOTHORNVIT, R.; CHOLLAKUP, R. Properties of sericin-glucomannan composite films. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 44, p. 1395, 1400, 2009.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. Ed. HAN, J. H. In: *Innovations in Food Packaging*. Elsevier, 2005.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I.; Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola, *Quim. Nova*, Vol. 35, No. 2, 262-267, 2012.

SRIAMORNSAK, P.; KENNEDY, R. A. Swelling and diffusion studies of calcium polysaccharide gels intended for film coating. *International Journal of Pharmaceutics*, v.358, p.205-213, 2008.

SRIHANAM, P.; SIMCHEUR, W.; SRISUWAN, Y. Study on silk sericin and chitosan blend film: morphology and secondary structure characterizations. *Pak. J. Biol. Sciences*, 12: 1487-1490, 2009.

TAKAHASHI, M.; TSUJIMOTO, K.; YAMADA, H.; TAKAGI, H.; NAKAMORI, S. The silk protein, sericin, protects against cell death caused by acute serum deprivation in insect cell culture. *Biotechnology Letters*, v. 25, p. 1805-1809, 2003.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Effect of edible wheat gluten-based films and coating on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Postharvest Biology and Technology*, v.36, p.199-208, 2005.

TAO, W.; LI, M.; XIE, R. Preparation and structure of porous silk sericin materials. *Macromolecular Materials and Engineering*, v. 290, p. 188-194, 2005.

TERADA, S.; NISHIMURA, T.; SASAKI, M.; YAMADA, H.; MIKI, M. Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology*, v. 40, p. 3-12, 2002.

TERADA, S.; SASAKI, M.; YANAGIHARA, K.; YAMADA, H. Preparation of silk protein sericin as mitogenic factor for better mammalian cell culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 6, p. 667-671, 2005.

TERAMOTO, H.; KAKAZU, A.; ASAKURA, T. Native structure and degradation pattern of silk sericin studied by ¹³C NMR spectroscopy. *Macromolecules*, v. 39, p. 6-8, 2006.

TERAMOTO, H.; NAKAJIMA, K.; TAKABAYASHI, C. Chemical modification of silk sericin in lithium chloride/dimethyl sulfoxide solvent with 4-cyanophenyl isocyanate. *Biomacromolecules*, v. 5, p. 2049-2057, 2005a.

TERAMOTO, H.; NAKAJIMA, K.; TAKABAYASHI, C. Preparation of elastic silk sericina hydrogel. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, v.69, p.845-847, 2005b.

TERAMOTO, J.; MIYAZAWA, M. Molecular orientation behaviour of silk sericin film as revealed by ATR infrared spectroscopy. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 2049-2057, 2005.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trends in Food Science and Technology*, v. 14, p. 71-78, 2003.

The MAK-Collection for Occupational Health and Safety de Wiley-VCH - <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb14095kske0005/full>, acessado dia 3 de julho de 2014, às 16:59.

TOMADON Jr., J. *Obtenção da proteína sericina, com alta massa molecular, a partir de casulos Bombyx mori*. Maringá: Departamento De Engenharia Química, Universidade Estadual De Maringá, 158 p., Dissertação de Mestrado, 2011.

TSENOGLOU, C. *Rubber elasticity modulus of interpenetrating heteropolymer networks*, In: DICKIE, R. A.; LABANA, S. S.BAUER, R. S. *Cross-linked Polymers: Chemistry, Properties and Applications*. Washington: American Chemical Society, pp.60-61, 1988.

TSUBOUCHI, K. *Wound dressing material containing silk fibroin and sericin as main component and method for preparing same*, US Patent No. 6,175,053, 2001.

TURBIANI, F. R. B. *Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de sericina e PVA reticulados com dimetiloluréia*. Maringá: Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 124 p., Dissertação de Doutorado, 2011.

VAN SOEST, J. J. G.; TOURNOIS, H.; de WIT, D.; VLIEGENTHART, J. F. G. Short-range structure en (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, v. 279, p. 201-214, 1995.

VAN SOEST, J. J. G.; VLIEGENTHART, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. *Trends in Biotechnology*. v. 15, n. 6, p. 208 – 213, 1997.

VASQUES, C. T. *Preparação e caracterização de filmes poliméricos a base de amido de milho e polipirrol para aplicação como biomaterial*. Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 124 p., Dissertação de Doutorado, 2007.

WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amylopectin and intermediary materials of oat starches. *Cereal Chemistry*, London, v. 71, n. 3, p. 263-268, 1994.

WING, R. Corn fiber citrate: preparation and ion-exchange properties. *Industrial Crops and products*, v. 5, p. 301-305, 1996.

WOLLERDORFER, M.; BADER, H. Influence of natural fibers on the mechanical properties of biodegradable polymers. *Industrial Crops and Products*, v. 8, p. 105-112, 1998.

WU, J. H.; WANG, Z.; XU, S.Y. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food Chemistry*, v. 103, p.1255–1262, 2007.

XIE, L.; HETTIARACHCHY, N. S.; JU, Z. Y.; MEULLENET, J.; WANG, H.; SLAVIK, M.F.; JANES, M. E. Edible film coating to minimize eggshell breakage and reduce post-wash bacterial contamination measured by dye penetration in eggs. *Journal of Food Science*, v. 67, n. 1, p. 280-284, 2002.

YAMADA, H.; NAKAO, H.; TAKASU, Y.; TSUBOUCHI, K. Preparation of undegraded native molecular fibroin solution from silkworm cocoons. *Materials Science and Engineering*, v. 14, p. 21-46, 2001.

YANG, C. Q.; CHEN, D.; GUAN, J.; HE, Q. Cross-Linking Cotton Cellulose by the Combination of Maleic Acid and Sodium Hypophosphite. 1. Fabric Wrinkle Resistance. *Industrial Engineering Chemistry Research*, v. 49, p. 8325–8332, 2010.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, v.33, p.563-570, 2000.

ZACTITI, E. M.; KIECKBUSCH, T. G. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. *Journal of Food Engineering*, v. 77, p. 462-467, 2006.

ZHANG, Y. Q. Application of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnology Advances*, v. 20, p. 91-100, 2002.

ZHANG, Y. Q.; TAO, M. L.; SHEN, W. D.; MAO, J. P.; CHEN, Y. Synthesis of silk sericina peptides-L-asparaginase bioconjugates and their characterization. *Journal of Chemical Thechnology and Biotechnology*, v. 81, p. 136-145, 2006.

ZHANG, Y. Q.; TAO, M. L.; SHEN, W. D.; ZHOU, Y. Z.; DING, Y.; ZHOU, W. L. mobilization of L-asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein and its characters. *Biomaterials*, v. 25, p. 3751-3759, 2004.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic Starch. Correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. *Carbohydrate Polymers*, v. 77, n. 2, p.376-383, 2009.