



Análise quimiométrica da influência do pH e surfactante tween 80 em filmes de soro de leite

Natan da Silva Miranda Sechi¹ Simone Zulpo² Patricia Teixeira Marques³

26 junho 2017

Resumo – O impacto ambiental causado pelas embalagens sintéticas e pelo descarte inadequado de resíduos industriais tem sido muito debatido pela sociedade. Na tentativa de diminuir estes impactos ambientais, novos materiais com menor potencial poluidor são propostos na elaboração de plásticos biodegradáveis. O objetivo deste trabalho foi utilizar as proteínas presentes no soro de leite, resíduo da indústria láctea, para elaboração de filmes biodegradáveis, avaliando a influência de variáveis na solubilidade, % de alongação do filme e resistência à tração, dos filmes. As características mecânicas dos filmes e a solubilidade foram avaliados em um planejamento experimental 2², para verificar a influência de três pH (5,5, 7,0 e 8,5) e a influência de três concentrações de Tween 80 (0, 4,5 e 9% m/m). Os filmes formados em pH 5,5 apresentaram separação de fase. Os filmes formados no pH 7,0 apresentaram falhas na superfície, e aqueles formados no pH 8,5 apresentaram textura homogênea. Quanto à solubilidade em água, a interação entre o pH e o Tween 80 exerceu influência significativa. A menor solubilidade foi do filme formado no pH 8,5 e ausência de Tween 80. Esta composição apresentou melhores resultados quanto às propriedades mecânicas, com 30,64% de alongação e 1,28 MPa de tensão na ruptura.

Palavras-chave: Desnaturação. Glicerol. Micrografia. Solubilidade. Bioplástico.

1. INTRODUÇÃO

Materiais biodegradáveis, como proteínas e carboidratos, tais como amido de pinhão (LUCHESE et al., 2015), farinha de arroz (DIAS et al., 2010), amido de milho (GHASEMLOU et al., 2013), quitosana (LECETA et al., 2015) e proteínas do leite (LETENDRE et al., 2002), podem ser aplicados em formulações de embalagens. Um aspecto positivo da utilização de proteínas está relacionado à grande disponibilidade e capacidade de formação de filmes

com propriedades mecânicas e de barreira geralmente superiores às dos polissacarídeos e lipídios (KAEWPRACHU et al., 2016). As proteínas são bastante sensíveis ao pH, pois as interações eletrostáticas que estabilizam a sua estrutura podem ser rompidas em virtude do pH do meio, levando à desnaturação (CAMPBELL; FARRELL, 2011, p. 108). Em meio aquoso, esta desnaturação forma uma solução filmogênica, que após evaporação do solvente forma um filme. Fundamentando-se neste aspecto,

¹ natanmsechi@gmail.com, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

² symone_weber@hotmail.com, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

³ patriciamarques@utfpr.edu.br, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.



Azevedo et al. (2014), avaliaram a aplicação da proteína do soro de leite em formulações de embalagens biodegradáveis. Características mais hidrofóbicas, aspecto positivo em embalagens externas, podem ser alcançadas com adição de componentes como alguns surfactantes nas formulações (ZIANI et al., 2008).

Uma pesquisa feita nos laticínios do Estado do Paraná mostra que apenas 19,4% do soro de leite é utilizado em produtos alimentícios (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001). A quantidade restante é descartada na forma de resíduo industrial, agravando problemas ambientais (YOSHIDA; ANTUNES, 2009). Neste contexto, este trabalho propõe elaborar filmes a partir do soro de leite e avaliar a influência do pH e concentração do surfactante Tween 80 na solubilidade e propriedades mecânicas, com objetivo de refinar o processo de obtenção destes para futuras aplicações tecnológicas como, por exemplo, na produção de embalagens biodegradáveis.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos Filmes Biodegradáveis de Proteína do Soro do Leite

Os filmes elaborados seguiram o protocolo descrito por Gounga, Shi-Ying e Wang (2007), com algumas alterações. O soro de leite foi disperso em 50 mL de água destilada e 0,5 mL de glicerol foi adicionado. O conjunto foi mantido sob agitação com aquecimento a 90 °C por 30 minutos. O ajuste do pH foi feito após o resfriamento da solução, com NaOH, 0,1 molL⁻¹ ou CH₃COOH, 0,1 molL⁻¹. Posteriormente adicionou-se o Tween 80 nas concentrações estudadas. As soluções filmogênicas foram dispersas em placas de Petri e a evaporação do solvente foi feita em estufa com circulação de ar a 38 °C por cerca de 16 horas.

2.2 Planejamento Experimental 2²

Para verificar a influência do pH e do agente surfactante Tween 80 nas propriedades dos filmes, utilizou-se um planejamento experimental 2², sendo os filmes elaborados em diferentes valores de pH e

concentração de Tween 80. A Tabela 1 apresenta os respectivos níveis codificados e a Tabela 2 apresenta os experimentos com as combinações destes níveis. Foi adotada como resposta para este planejamento a propriedade solubilidade em água, uma das mais importantes em se tratando de filmes.

Tabela 1 – Valores reais e codificados para os fatores pH e concentração de Tween 80 utilizados no delineamento experimental para elaboração de biofilmes

	Nível		
	-1	0	1
pH	5,5	7,0	8,5
Tween 80 (%)	0,0	4,5	9,0

Tabela 2 – Matriz do planejamento fatorial 2² utilizado no delineamento experimental para elaboração de biofilmes

Experimento	Variáveis Independentes	
	pH	% Tween 80
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+
5	0	0
6	0	0
7	0	0

2.3 Solubilidade em água, Tensão na ruptura, Porcentagem de alongação e Microscopia ótica dos filmes

A porcentagem de solubilidade em água dos filmes foi determinada utilizando a metodologia descrita por Gounga, Shi-Ying e Wang (2007), com adaptações. Neste caso as dimensões dos filmes foram de 2x2 cm. Após secos e pesados, foram imersos em 25 mL de água destilada por 24 h. Posteriormente, foram retirados da água, secos e novamente pesados. A porcentagem de solubilidade em água foi calculada através da Equação (1).

$$\% M.S = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (1)$$



Na equação 1, porcentagem M.S é o percentual de material solubilizado; m_i é a massa inicial de amostra e m_f é a massa final de amostra.

A tensão na ruptura e porcentagem de alongação foram obtidas em Texturômetro TA.XT Plus, da Stable Micro System, operando de acordo com o método ASTM D 882-02 (ASTM 2002). As imagens dos filmes foram registradas em um microscópio de bancada modelo BX41.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Solubilidade em água, tensão na ruptura, porcentagem de alongação e microscopia ótica dos filmes

A solubilidade foi baixa para todos os filmes, independentemente das variáveis pH e concentração de Tween 80 apresentando valores menores que 1%. Estes resultados estão apresentados na Tabela 3, representando um aspecto positivo para aplicação em embalagens expostas a umidades elevadas. Este comportamento de baixa solubilidade é usualmente observado em valores mais elevados de pH. Estes contribuem para ionizar o grupo carboxila da proteína, desfavorecendo a interação com a água. Folegatti et al. (1998), por exemplo, observaram que um pH maior, na preparação dos filmes, levou a diminuição na solubilidade. No caso do presente trabalho, no entanto, a solubilidade foi baixa para todos os valores de pH avaliados.

Tabela 3 – Resultados do planejamento experimental 22 para o teste de solubilidade

Experimento	Variável 1 pH	Variável 2 Tween 80 (%)	Resposta Solubilidade (%)
1	-	-	0,08
2	+	-	0,03
3	-	+	0,07
4	+	+	0,06
5	0	0	0,06
6	0	0	0,06
7	0	0	0,07

Observa-se que o experimento 2, Tabela 3 (pH 8,5 e

ausência de Tween) apresentou menor porcentagem de solubilização. A influência de cada variável nesta resposta é apresentada na Tabela 4, na qual se observa que o módulo de t calculado para o pH, e para a interação pH x Tween 80, foi maior que o teórico (2,4469) ao nível de confiança de 95%. Portanto, apenas o pH e a interação pH x Tween 80 influenciaram no aumento da solubilização. Este resultado indica que o Tween 80 somente influencia na solubilidade devido aos diferentes tipos de interação com o pH, como pode ser melhor observado no gráfico de superfície de resposta apresentado na Figura 1. O campo esverdeado mostra este comportamento, sendo que a solubilidade tende a diminuir na ausência do Tween e pH maior.

Tabela 4 – Análise da influência do pH e Tween 80 na solubilidade dos filmes

Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t calculado	P	Limite Inferior	Limite Superior
Média	0,061429	0,002020	30,40559	0,000078	0,054999	0,067858
pH	-0,030000	0,005345	-5,61249	0,011181	-0,047011	-0,012989
Tween 80	0,010000	0,005345	1,87083	0,158124	-0,007011	0,027011
pH x Tween 80	0,020000	0,005345	3,74166	0,0333007	0,002989	0,037011

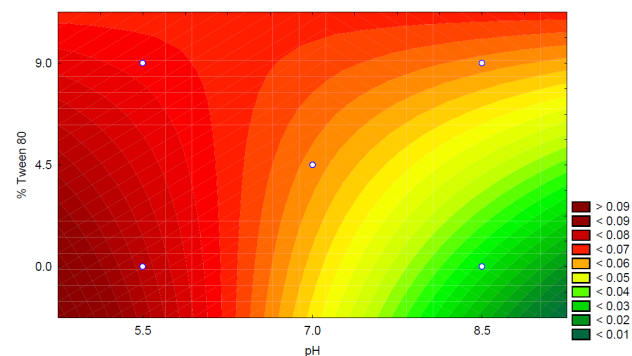


Figura 1 – Curvas de contorno para o ensaio de solubilidade

Nas imagens de microscopia ótica (Figura 2), observa-se que no filme formado com pH 5,5 (Figura 2a), há uma nítida separação de fases, provocada pelo meio ácido, que pode ter promovido a diminuição de sítios ativos que participam da interação Tween 80 x proteína. Para os filmes formados em pH 8,5 (Figura 2b), não se observam diferenças de coloração e, portanto, o filme apresenta-se homogêneo e sem fases em nível microscópico. Os resultados do planejamento experimental para as propriedades mecânicas (Tabela



5), mostram que o experimento 2 (filmes formados no pH 8,5) apresentou a maior porcentagem de alongação, 30,64%, e a maior resistência à tração, 1,28 MPa. Estes filmes formados a partir do experimento 2 também apresentaram melhor textura e homogeneidade.

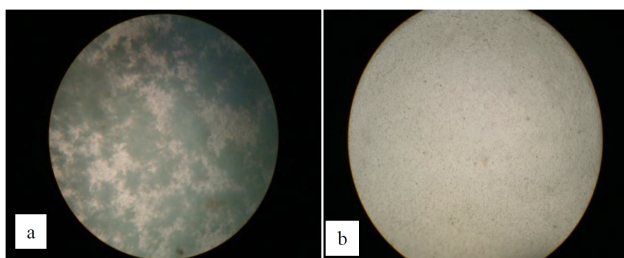


Figura 2 – Micrografias de filmes contendo 2% de Tween 80 em pH 5,5 (a) e pH 8,5 (b)

Tabela 5 – Resultados do planejamento experimental 22 para os testes mecânicos

Experimento	Variável 1 pH	Variável 2 Tween 80 (%)	Respostas	
			Elongação (%)	Resistência à Tração (MPa)
1	-1	-1	13,18	0,43
2	1	-1	30,64	1,28
3	-1	1	6,26	0,38
4	1	1	29,28	0,83
5	0	0	6,49	0,32
6	0	0	6,68	0,36
7	0	0	6,59	0,40

Os resultados da influencia significativa de cada variável nos ensaios de alongação e resistência à tração, podem ser visualizados nos gráficos de pareto das Figuras 3 e 4 respectivamente.

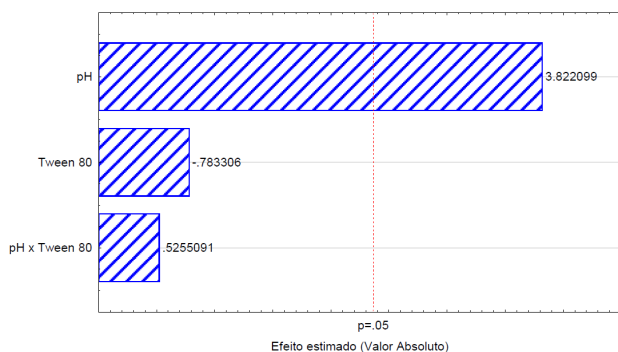


Figura 3 – Gráfico de pareto para a porcentagem de alongação dos filmes

Estes resultados mostram que o pH foi a única variável que influenciou de forma significativa nas características mecânicas dos filmes. Conforme os

resultados apresentados na Tabela 5, os filmes formados no pH 5,5 e 7,0 apresentaram menor % de alongação e baixa resistência a tração, enquanto àqueles formados no pH 8,5 tiveram valores maiores para estes dois parâmetros mecânicos.

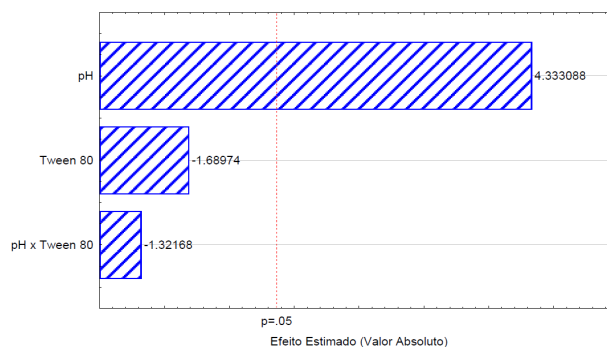


Figura 4 – Gráfico de pareto para a resistência a tração dos filmes

Possivelmente esses resultados relacionam-se com a fraca interação entre os componentes dos filmes quando em menores valores de pH, levando à formação de fases, como observado na microscopia ótica. Em pesquisa semelhante, Yoshida e Antunes (2009) observaram valores de porcentagem de alongação e resistência a tração na ordem de 68,04% e 5,5558 Mpa respectivamente, em filmes à base de soro de leite padrão formados em pH fixo 7,0 contendo 3% em massa de plastificante (glicerol), sem adição de surfactante.

Nos filmes formados no pH 8,5 a distribuição dos componentes na matriz foi melhor observada, e essa característica pode influenciar diretamente nas propriedades mecânicas observadas.

4. CONCLUSÕES

Os filmes de proteína de soro de leite apresentam características positivas para aplicação como componentes de plásticos biodegradáveis. Embora as propriedades mecânicas necessitem ser aprimoradas, os filmes mantêm sua integridade mesmo após 24 horas de imersão em água destilada. O Tween 80 isoladamente não contribui significativamente para agregar os componentes da matriz e evitar a formação de fases, assim como não contribui para melhorar as propriedades mecânicas dos filmes. O pH exerce



influência significativa, pois verificou-se solubilidade diminuída e a porcentagem de alongação e resistência à tração aumentadas para as formulações feitas com pH mais elevado.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, Viviane Machado; COSTA, Ana Letícia Rodrigues.; FUKUSHIMA, Kátia Lume; BORGES, Soraia Vilela. Propriedades de barreira, mecânicas e ópticas de filmes de concentrado proteico de soro de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 4, p. 237–247, Juiz de Fora, 2014.

CAMPBELL, Mary K.; FARRELL, Shawn O. **Bioquímica**. Bioquímica básica. v. 1. São Paulo: Cengage Learning Edições, 2011.

FOLEGATTI, Marília I.S.; ANTUNES, Aloísio José; MARCONDES, Jorge A. Mechanical and permeability properties of milk protein films. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n. 3, 1998.

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

GHASEMLOU, Mehran; ALIHEIDARI, Nahal; FAHMI, Ronak; SHOJAEE-ALIABADI, Saeedeh; KESHAVARZ, Behnam.; CRAN, Marlene J.; KHAKSAR, Ramin. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 1117–1126, 2013.

GIROTO, J.M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **Brasil Alimentos**. n. 10, p. 43–46, 2001.

GOUNGA, Mahamadou Elhadji; XU, Shi -ying; WANG, Zhang. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. **Journal of Food Engineering**. v. 83, n. 4, p. 521–530, 2007.

KAEWPRACHU, Pimonpan; OSAKO, Kazufumi; BENJAKUL, Soottawat; TONGDEESOONTORN, Wirongrong; RAWDKUEN, Saroot. Biodegradable Protein-based Films and Their Properties: A Comparative Study. **Packaging Technology and Science**, v. 29, n. 2, p. 77–90, 2016.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratório de Microscopia Óptica do Departamento de Agronomia da UTFPR/PB pelo apoio técnico, ao departamento de Engenharia Química UTFPR/FB e ao Departamento de Química da UTFPR/PB.

LECETA, Itsaso; PEÑALBA, M.; ARANA, Pilar; GUERRERO, P.; CABA, K. L. Ageing of chitosan films: Effect of storage time on structure and optical, barrier and mechanical properties. **European Polymer Journal**, v. 66, p. 170–179, 2015.

LETENDRE, M.; D'APRANO, G.; LACROIX, M.; SALMIERI, S.; ST-GELAIS, D. Physicochemical Properties and Bacterial Resistance of Biodegradable Milk Protein Films Containing Agar and Pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6017–6022, out. 2002.

LUCHESE, Cláudia Leites; FRICK, Julia Menegotto; PATZER, Vanessa Laís; SPADA, Jordana Corralo; TESSARO, Izabel Cristina. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified pinhão starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203–210, 2015.

PÉREZ-GAGO, Maria B.; NADAUD, P.; KROCHTA, John M. Water Vapor Permeability, Solubility, and Tensile Properties of Heat-denatured versus Native Whey Protein Films. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 6, p. 1034–1037, 1999.

YOSHIDA, Cristiana Maria Pedroso; ANTUNES, Aloísio José. Aplicação de filmes proteicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 29, n. 2, p. 420–430, Campinas, 2009.

ZIANI, Khalid; OSÉS, Javier; COMA, Veronique; MATÉ, Juan I. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2159–2165, 2008.



Chemometric analysis of the influence of pH and surfactante Tween 80 in whey films

Natan da Silva Miranda Sechi⁴ Simone Zulpo⁵ Patricia Teixeira Marques⁶

26 junho 2017

Abstract – The environmental impact of synthetic packaging and the improper disposal of industrial residues have been highly debated by society. In attempt to reduce these environmental impacts, new materials with lower pollution potential are proposed in the development of biodegradable plastics. The objective of this study was to use the proteins present in whey, residue of the dairy industry, for the elaboration of biodegradable films at different pH values and concentration of surfactant Tween 80. The mechanical characteristics of the films and the solubility were evaluated in an experimental design 2², to verify the effect of pH (5.5, 7.0 and 8.5) and the concentration of Tween 80 (0, 4.5 and 9%). The films formed at pH 5.5 showed phase formation. The films formed at pH 7.0 showed flaws on the surface. Only films formed at pH 8.5 showed homogeneous texture. Regarding to water solubility, the interaction between pH and Tween 80 significantly influenced. The lower solubility of the film was formed at pH 8.5 and absence of Tween 80. This composition showed better results for mechanical properties with 30.64% elongation 1.28 MPa and the stress at break.

Keywords: Denaturation. Glycerol. Micrography. Solubility.

Correspondência:

Natan da Silva Miranda Sechi

Via do conhecimento, Km 1, s/n, Fraron, Pato Branco, Paraná, Brasil.

Recebido: 31/10/2016

Aprovado: 26/06/2017

Como citar: Sechi, Natan da Silva Miranda; Zulpo, Simone; Marques, Patricia Teixeira. Análise quimiométrica da influência do pH e surfactante tween 80 em filmes de soro de leite. **Syn. scy. UTFPR**, Pato Branco, v. 12, n. 1, p. 126–131. 2017. ISSN 2316-4689 (Eletrônico). Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/synscy>>. Acesso em: DD mmm. AAAA.

DOI: "registro apenas quando a revista for depositada no portal do PERI"

Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença **Creative Commons** Atribuição 4.0 Internacional.

⁴ natanmsechi@gmail.com, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

⁵ symone_weber@hotmail.com, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

⁶ patriciamarques@utfpr.edu.br, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.